

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO**  
**CAMPUS UFRJ-MACAÉ PROFESSOR ALOÍSIO TEIXEIRA**  
**CURSO DE NUTRIÇÃO**

**YASMIN RIBEIRO LEMOS**

**EFEITO DO JEJUM INTERMITENTE SOBRE LIPÍDIOS, GLICEMIA, ENZIMAS  
HEPÁTICAS E MORFOMETRIA DE TECIDO ADIPOSO EM RATAS TRATADAS  
COM DIETA OBESOGÊNICA.**

**MACAÉ**

**2020**

**YASMIN RIBEIRO LEMOS**

**EFEITO DO JEJUM INTERMITENTE SOBRE LIPÍDIOS, GLICEMIA ENZIMAS  
HEPÁTICAS E MORFOMETRIA DE TECIDO ADIPOSEO EM RATAS TRATADAS  
COM DIETA OBESOGÊNICA.**

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado ao Curso de Graduação  
em Nutrição da Universidade Federal do  
Rio de Janeiro, Campus UFRJ-Macaé  
como parte dos requisitos necessários à  
obtenção grau de bacharel em Nutrição.

**Orientadora:** Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Kelse T. de Albuquerque

**MACAÉ**

**2020**

CIP - Catalogação na Publicação

R561e      Ribeiro Lemos, Yasmin  
              EFEITO DO JEJUM INTERMITENTE SOBRE  
              LIPÍDIOS, GLICEMIA, ENZIMAS HEPÁTICAS E  
              MORFOMETRIA DE TECIDO ADIPOSEO EM RATAS  
              TRATADAS COM DIETA OBESOGÊNICA. /  
              Yasmin Ribeiro Lemos. -- Rio de Janeiro, 2020.  
              62 f.

Orientadora: Kelse Albuquerque .

Trabalho de conclusão de curso (graduação)  
- Universidade Federal do Rio de Janeiro,  
Campus Macaé Professor Aloísio Teixeira,  
Bacharel em Nutrição, 2020.

O presente estudo foi desenvolvido no Laboratório de Nutrição Experimental (LABNEX) e biotério do polo universitário, coordenados pela orientadora do estudo, com partes do protocolo desenvolvido no laboratório de Fisiopatologia (LAPISP) do DPbio, sob a colaboração da Profa. Rosane Aparecida Ribeiro. Os dados parciais foram apresentados no XVIII Congresso Brasileiro de Obesidade e síndrome metabólica (ABESO) e na 10ª semana de integração acadêmica (SIAC).

**EFEITO DO JEJUM INTERMITENTE SOBRE LIPÍDIOS, GLICEMIA, ENZIMAS  
HEPÁTICAS E MORFOMETRIA DE TECIDO ADIPOSEO EM RATAS TRATADAS  
COM DIETA OBESOGÊNICA.**

**Yasmin Ribeiro Lemos**

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado ao Curso de Graduação  
em Nutrição da Universidade Federal do  
Rio de Janeiro, Campus UFRJ-Macaé  
como parte dos requisitos necessários à  
obtenção grau de bacharel em Nutrição.

**Comissão Examinadora**

---

Profª Drª Kelse Tibau de Albuquerque – Presidente  
<http://lattes.cnpq.br/9165447377966536>

---

Profª Drª Katia Calvi Lenzi de Almeida <http://lattes.cnpq.br/1125679004149616>

---

Profª Drª Juliana Tomaz Pacheco Latin <http://lattes.cnpq.br/4232978216805700>

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, pela saúde e amparo em todos esses anos.

Aos meus pais, Camila e Fábio, por todo o suporte e amor.

Ao meu parceiro, Victor, por toda ajuda e conselhos.

Aos meus amigos, por toda compreensão, força e palavras de apoio.

As minhas parceiras de laboratório, Carolina, Rafaela e Juliana, vocês me mostram como é incrível trabalhar em equipe.

A minha orientadora, Kelse Tibau, por todo suporte acadêmico e por acreditar em mim.

A minha coorientadora de iniciação científica, Mariana Alejandra Rosa Fernández, por todo ensinamento.

*“Tenho em mim todos os sonhos do mundo.”*

Fernando Pessoa

Lemos, Yasmin Ribeiro. **Efeito do jejum intermitente sobre lipídios, glicemia, enzimas hepáticas e morfometria de tecido adiposo em ratas tratadas com dieta obesogênica.** Macaé - Rio de Janeiro, 2020. Trabalho de Conclusão de Curso – Curso de Nutrição, Campus UFRJ-Macaé, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2020.

**Introdução:** Com a epidemia da obesidade é necessário adotar estratégias que levam ao déficit energético, tanto por questões estéticas quanto por comorbidades relacionadas à doença. Atualmente, a estratégia que ganhou evidência foi o jejum intermitente (JI), aplicado à perda de peso corporal e na melhora do perfil lipídico e glicêmico, contudo as evidências científicas dos efeitos do JI são controversas.

**Objetivo:** avaliar o efeito do JI sobre: massa corporal, ingestão alimentar/energia, marcadores séricos e histologia de adipócitos retroperitoneal (RET). **Metodologia:** Os animais foram organizados 4 grupos: Controle (CP), Controle Palatável (CPL), Restrito padrão (RP) e Restrito Palatável (RPL), onde os animais CPL e RPL iniciavam com uma dieta palatável (PL), sendo uma ração hiperlipídica e uma solução a 20% de sacarose e o CP e RP com uma dieta comercial. O JI foi aplicado para os animais RP e RPL, o qual consistiu na oferta de 50% do consumo do CP, sendo 2 dias de JI e 3 de livre acesso, ambos os grupos que praticavam o JI utilizaram uma dieta comercial neste período. Nos primeiros e últimos 15 dias do tratamento os grupos consumiram respectivamente dieta controle e PL conforme tratamento. O JI teve duração de 30 dias e seguiu após os primeiros 15 dias do tratamento. Os dados foram apresentados com média e erro padrão da média e, assumindo normalidade, foram submetidos à ANOVA de uma via seguida do teste de múltiplas comparações de Bonferroni, utilizando-se o pacote estatístico GraphPad Prism v.6.01. **Resultado:** Foi verificada hiperfagia do RP e aumento da enzima ALT, porém não houve diferença de peso entre os animais. Observou-se maior tolerância à glicose nos grupos restritos, mas não houve diferença na glicemia e lipidemia. Os grupos RP e RPL apresentaram hipertrofia dos adipócitos RET, entretanto não foi observada hiperplasia. **Conclusão:** O JI melhorou a tolerância à glicose, e aumentou a capacidade dos adipócitos para armazenar gordura podendo levar a uma disfunção celular.



**Palavras-chave:** Jejum intermitente, dieta hiperlipídica, hiperfagia, hipertrofia retroperitoneal.

## LISTA DE FIGURAS

<b>FIGURA 1.</b> DESENHO EXPERIMENTAL .....	16
<b>FIGURA 2.</b> AVALIAÇÃO DA INGESTÃO ENERGÉTICA ACUMULADA NO PERÍODO PRÉ-JEJUM INTERMITENTE, DURANTE E APÓS.. .....	20
<b>FIGURA 3.</b> AVALIAÇÃO DA MASSA CORPORAL EM RELAÇÃO AO PERÍODO PRÉ JEJUM INTERMITENTE,DURANTE E APÓS. ....	21
<b>FIGURA 4.</b> AVALIAÇÃO DO TEOR SÉRICO DO COLESTEROL-HDL,OCOLESTEROL TOTAL E DE TRIGLICERÍDEOS EM PROTOCOLO OBESOGÊNICO E TRATADAS COM JEJUM INTERMITENTE. ... ..	23
<b>FIGURA 5.</b> AVALIAÇÃO DO TEOR SÉRICO DE GLICOSE DE JEJUM DAS RATAS EM PROTOCOLO OBESOGÊNICO E TRATADAS COM JEJUM INTERMITENTE.. .....	23
<b>FIGURA 6.</b> AVALIAÇÃO DO COMPORTAMENTO DA GLICEMIA NOS TEMPOS 0, 30, 60, 120 E 180 MINUTOS E DA ÁREA ABAIXO DA CURVA (AUC), EM PROTOCOLO OBESOGÊNICO E TRATADAS COM JEJUM INTERMITENTE. ....	24
<b>FIGURA 7.</b> AVALIAÇÃO DAS ENZIMAS HEPÁTICAS EM PROTOCOLO OBESOGÊNICO E TRATADAS COM JEJUM INTERMITENTE. ....	25
<b>FIGURA 8.</b> MÉDIA DOS DIÂMETROS, QUANTIDADE DE ADIPÓCITO POR CAMPO E GRAMATURA DO RET, EM PROTOCOLO OBESOGÊNICO E TRATADAS COM JEJUM INTERMITENTE. ....	26
<b>FIGURA 9.</b> IMAGENS DAS LÂMINAS DE HISTOLOGIA DO TECIDO ADIPOSEO RETROPERITONEAL EM PROTOCOLO OBESOGÊNICO E TRATADAS COM JEJUM INTERMITENTE. ....	27

## LISTA DE ABREVEITURAS E SIGLAS

<b>JI</b>	Jejum intermitente.
<b>RET</b>	Tecido adiposo retroperitoneal.
<b>TAB</b>	Tecido adiposo branco.
<b>TAM</b>	Tecido adiposo marrom.
<b>ALT</b>	Alanina aminotransferase.
<b>AST</b>	Aspartato aminotransferase.
<b>HDL</b>	High Density Lipoprotein.
<b>LDL</b>	Low Density Lipoproteins.
<b>TAG</b>	Triacilglicerídeos.
<b>OMS</b>	Organização mundial de saúde.
<b>IMC</b>	Índice de massa corporal.
<b>CP</b>	Controle Padrão.
<b>CPL</b>	Controle Palatável.
<b>RP</b>	Restrito Padrão.
<b>RPL</b>	Restrito Palatável.
<b>NPY</b>	Neuropeptídeo Y
<b>AgRP</b>	Peptídeo agouti
<b>CART</b>	Transcrito regulado pela cocaína e anfetaminas
<b>POMC</b>	Pró-opiomelanocortin

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	1
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	2
2.1.1 Obesidade .....	2
2.1.2 Tecido adiposo branco .....	4
2.1.3 Homeostase glicêmica .....	7
<b>3 OBJETIVOS</b> .....	14
3.1 Geral .....	14
3.2 Específicos .....	14
<b>4 METODOLOGIA</b> .....	14
4.1 Ética e condições experimentais.....	14
4.2 Ração palatável e hiperenergética .....	15
4.3 Protocolo de restrição alimentar intermitente.....	15
4.4 Avaliação do consumo alimentar e a massa corporal .....	16
4.5 Extração do soro .....	17
4.5.1 Análise sérica.....	17
4.5.2 Análise de HDL.....	17
4.5.3 Análise da concentração sérica da alanina (ALT) e aspartato (AST) aminotransferases .....	17
4.6 Teste de tolerância a glicose (TTG).....	18
4.7 Quantificação do tecido adiposo retroperitoneal (RET) .....	18
4.8 Histologia do tecido adiposo retroperitoneal .....	18
4.9 Análise dos dados .....	19
<b>5. RESULTADOS</b> .....	19
5.1 Consumo energético pré-jejum intermitente (JI), durante e após o JI.....	19
5.2 Peso corporal pré-jejum intermitente (JI), durante e após o JI .....	21
5.3 Avaliação sérica de triglicerídeos, colesterol total e colesterol-HDL após o tratamento.....	22
5.4 Concentração sérica de glicose após o jejum intermitente .....	23
5.5 Teste a tolerância de Glicose .....	23
5.6 Perfil das enzimas hepáticas ao final do tratamento .....	24
5.7 Quantificação do tecido adiposo retroperitoneal após o jejum intermitente .....	25
<b>6 DISCUSSÃO</b> .....	28

<b>7 CONCLUSÃO</b> .....	34
<b>8 REFERÊNCIAS</b> .....	35
<b>9 ANEXOS</b> .....	48
<b>9.1 Aprovação do Comitê de Ética e Uso dos Animais</b> .....	48
<b>9.2 Certificados dos trabalhos apresentados</b> .....	49

## 1 INTRODUÇÃO

A obesidade é uma doença com avanço epidemiológico significativo, sem limitação geográfica, e por isso tornou-se um problema mundial de saúde pública. Define-se como uma condição de acúmulo excessivo de tecido adiposo, o que provoca alterações funcionais no próprio tecido, representando risco para outras doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) (OMS, 2016), como hipertensão, doenças cardiovasculares, doenças respiratórias, neoplasias e diabetes. Tem como um dos principais fatores causais a mudança de hábito de vida, incluindo alimentar e atividade física. A obesidade pode ser classificada como hiperplásica ou hipertrófica. Na hiperplasia, é possível vê a expansão do número de célula do tecido adiposo branco e na hipertrófica, é observado o aumento do diâmetro dessa célula ( QUEIROZ; ALONSO-VALE; CURI et al 2009)

O tecido adiposo ganha protagonismo quando falamos da obesidade, é um tecido dinâmico, que secreta diversos fatores chamados adipocinas. Na obesidade, esse tecido está aumentado podendo provocar uma anormalidade na homeostase glicêmica, lipídica e energética. Entre os depósitos, o tecido adiposo visceral é destacado pela secreção de adipocinas pró-inflamatória (HERMSDORFF & MONTEIRO, 2004), como as interleucinas (IL-1, 6 e 8) e o fator de necrose tumoral alfa (TNF-alfa).

O tecido adiposo branco é distribuído em vários compartimentos e especialmente o visceral, o qual impõe expressivo risco à saúde. Dentre os depósitos viscerais estão o retroperitoneal e o mesentérico. O tecido retroperitoneal, é encontrado atrás do peritônio, sua expansão resulta em aumento da circunferência abdominal sendo um fator de risco para doenças cardiometabólicas e hiperinsulinemia. O aumento do risco dessa doença se dá pela expressão de citocinas pró-inflamatórias que o tecido é capaz de expressar quando está aumentado, interferindo na atuação da insulina e comprometendo a função endotelial (XU H, BARNES GT, YANG Q et al,2003).

Com a globalização, a indústria alimentícia aumentou a oferta de alimentos ultraprocessados, o que provocou um aumento na ingestão energética e

estabeleceu um estado crônico de balanço energético positivo na população e impulsionando a epidemiologia, da obesidade (SWINBURN, 2011).

Diante da epidemiologia da obesidade e dos riscos de comorbidades, além da própria questão estética de interesse popular, se estabeleceu uma pressão social para a redução destes números e com isso tem se popularizado a prática do Jejum intermitente, como estratégia de emagrecimento e para a melhora dos parâmetros bioquímicos. Contudo, os achados científicos ainda não são claros e muitos ainda controversos, abrindo uma nova janela investigativa.

O presente estudo avaliou, em modelo animal, a relação entre o jejum intermitente e o consumo de dieta obesogênica a fim de analisar os efeitos sobre a glicemia, lipidemia, enzimas hepáticas e histologia do tecido adiposo visceral.

## **2 REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1.1 Obesidade**

A obesidade é definida por acúmulo excessivo de tecido adiposo em uma extensão que prejudica a saúde psicossocial e o bem-estar. (NASE, 2006). Contudo, a obesidade é uma patologia multifatorial, incluindo entre outros fatores genéticos, ambientais e é mais prevalente na população feminina, devido a sua disposição de gordura corporal. (SIQUEIRA, SOUZA, MESAS et al 2015)

A OMS define como ponto de corte o índice de massa corporal (IMC) maior ou igual a 25. Contudo, essa classificação trivial é contraditória por não levar em conta a complexidade fenotípica e etiológica da doença, já que o excesso de adiposidade ou gordura corporal, pode ou não se manifestar metabolicamente, somente, em tamanho corporal (HU, 2008).

É bem estabelecida como um problema de saúde pública e atinge na atualidade 39% de adultos no mundo, resultando em 650 milhões de pessoas obesas de todos os graus (OMS, 2018) e é fator de risco para o desenvolvimento de diversas doenças crônicas não transmissíveis (DCNT). No Brasil, é evidente a mudança de hábitos alimentares, na última Pesquisa de Orçamento Familiares (POF 2017-2018), que mostrou que a alimentação fora de casa ganhou mais

importância no orçamento das famílias brasileiras e também mostro um aumento no número de indivíduos obesos.(IBGE, 2019).

A obesidade resulta do balanço energético positivo crônico, período em que o excesso de energia é convertida em gordura e estocada como tecido adiposo. No entanto, foi observado que apenas 1,5 % dos genes pode ser responsável pela obesidade, causando modificação do índice de massa corporal (IMC) (SPELIOTE, 2010). Logo, fatores ambientais são os que mais interferem no IMC e na gordura corporal do indivíduo.

O estilo de vida, pode impactar nos parâmetros lipídicos séricos, podendo levar a uma dislipidemia secundária, quando associada com a obesidade (BURNS,LEE, BACHA et al, 2014). Um dos parâmetros que sofrem queda, é o HDL (lipoproteína de alta densidade), o qual possui função de captar colesterol sanguíneo e levar até o fígado, além de terem propriedades anti-inflamatórias,antioxidativas, antiagregantes, anticoagulantes e pró-fibrinolíticas (NISSEN, TSUNODA,TUZCU et al , 2003). Com os teores de HDL-c baixo, triacilgliceróis circulantes aumentados e o LDL-c aumentado, há uma probabilidade maior do indivíduo sofrer de doenças cardiovasculares (ITOH, SUGANAMI, HACHIYA, ET AL, 2011).

A gordura visceral, tem sido o depósito com maior atividade lipolítica, e com isso, liberando maior quantidade de ácido graxos livres e glicerol, transportados para o fígado, provocando alterações no metabolismo lipídico ( CHIARELLI, 2008). Com um estilo de vida sedentário é possível que haja gordura intra-hepática, aumento da alanina aminotransferase (ALT) e aspartato aminotransferase(AST) (ORCI, GARIANI,OLDANI et al, 2016). As aminotransferases são marcadores de lesão hepatocelular e no metabolismo participam da gliconeogênese. A AST não é tão sensível ao fígado, devido sua presença nas isoenzimas citosólicas e mitocondriais, que são encontradas no fígado, músculo esquelético, músculo cardíaco, cérebro, rins, entre outros órgãos.

Já a ALT é uma enzima citosólica encontrada em altas concentrações no fígado, mostrando uma lesão hepatocelular e não necessariamente a apoptose é uma gatilho para liberação desta enzima (RIBEIRO,YANG,PATEL et al, 2019). A.



Devido os neutrófilos infiltrantes no tecido, os hepatócitos apoptóticos localizam e desencadeiam a apoptose, contudo esse dano tecidual pode ocorrer devido o aumento do TNF- $\alpha$ . (GUICCIARDI, 2005)

Portanto, o comportamento alimentar, a depender dos componentes da dieta e a forma como a ingestão é conduzida, pode impactar no metabolismo, de forma a tornar-se um fator pró-obesogênico, no médio e longo prazo e, neste sentido, o tecido adiposo é o órgão que pode explicar de que forma este impacto acontece e os desdobramentos que dele pode decorrer, como órgão secretor de várias adipocinas, incluindo as pró-inflamatórias. Esta resposta guarda uma relação com a regulação da ingestão alimentar, influenciando a liberação de fatores anorexígenos ou orexígenos, estabelecendo-se o ciclo da obesidade.

### **2.1.2 Tecido adiposo branco**

O tecido adiposo está dividido em tecido adiposo branco (TAB), tecido adiposo bege e tecido adiposo marrom (TAM). O tecido bege, consiste em células semelhantes à célula marrom, porém, dentro dos depósitos do tecido branco. (ISHIBASHI, SEALE, 2010, PETROVIC et al, 2010; SEALE et al, 2008). O tecido adiposo branco (TAB) é encontrado em diversas regiões do organismo, podendo envolver um órgão ou até estar infiltrado no mesmo, prejudicando o seu funcionamento, nesse caso, sendo um processo patológico, pode gerar doença crônica não transmissíveis.

O tecido adiposo branco (TAB) é essencial para funcionalidade do organismo, ele confere proteção mecânica evitando choques e traumatismo interno, atua como isolante térmico, localizado entre a derme e o tecido subcutâneo, importante para manter a homeostase da temperatura corporal e também é um tecido fornecedor de energia. Possui a função de ser um órgão secretor, podendo secretar citocinas e hormônios (COELHO et al, 2013).

O tecido adiposo possui função de regulação sobre a homeostase para finalidade de armazenamento de gordura, a qual é fundamental para a sobrevivência dos mamíferos, para garantir o aporte energético durante período de

escassez. Os lipídios são hidrofóbicos, fáceis de armazenar em grandes quantidades (MCLAUGHLIN, 2006).

As células adiposas, adipócitos, são especializadas em armazenar lipídio na forma de triacilglicerol (TAG). Esse processo acontece devido às enzimas e proteínas que a célula possui para sintetizar ácidos graxos, denominado lipogênese. A energia estocada como gordura é mobilizada em períodos de restrição energética, e essa regulação ocorre por meio de nutrientes, sinais aferentes de tradicionais sistemas neurais, hormonais e necessidades energética do indivíduo (AHIMA, 2000).

Os compartimentos desse tecido exercem diferentes quantidades de secreção de adipocinas e o depósito visceral é mais sensível a lipólise, via catecolaminas e  $\beta$ -adrenérgica, também é mais resistente a insulina, havendo uma liberação maior de ácido graxos livres via veia-porta (ARNE, 2003). O TAB retroperitoneal (RET) é alvo de pesquisas em modelo animal, principalmente roedores, a fim de avaliar respostas frente a diferentes aspectos, visto ser um depósito que representa a gordura abdominal nesses animais (KREIR, FLIERS, VOSHOL et al, 2002).

O tecido adiposo branco se distribui em dois tipos de depósitos, e são classificados anatomicamente como: tecido adiposo subcutâneo, que se encontra abaixo da pele, e o tecido adiposo visceral, que se encontra próximo ou até mesmo no interior de vísceras da cavidade abdominal, e são o TA Mesentério – tecido mais profundo, sendo encontrado entre os intestinos; o TA Omental – tecido circunjacente aos intestinos e o TA RET – próximo aos rins, localizado na região dorsal da cavidade abdominal (LEE, DESPRES, KOH et al, 2013).

O RET possui diferentes funções imunomoduladoras e respondem de forma diferente ao exercício físico, contudo o seu aumento, está fortemente relacionado a diversas doenças como cardiometabólicas e diabetes (ROSENBAUM.2001). Os compartimentos desse tecido possuem diferentes quantidades de secreção de adipocinas.

Quando não há um gasto energético eficiente, esses adipócitos aumentam de tamanho, ocasionando a hipertrofia dessa célula ou/e hipertrofiando e esse

fenômeno pode acarretar no aumento do número de células, caracterizando a adipogênese (HACZEYNI, 2017). Para uma armazenamento eficaz, é necessário que haja o aumento do número de adipócitos a fim de que se mantenha a homeostase do metabolismo, esse achado histológico é observado até mesmo em pessoas obesas saudáveis (STEPHENS, 2012).

Os adipócitos unilocular são vistos majoritariamente em adulto. Esse tecido possui uma trama de vasos, nervos e fibras reticulares para a sustentabilidade das células adiposas. É possível armazenar os triacilgliceróis através da alimentação, da síntese hepática ou da própria síntese celular. Esses triacilgliceróis estocados no tecido podem rapidamente serem mobilizados pela ação hidrolítica de três principais lipases: a sensível à hormônio, a lipase do triacilglicerol e a lipase do monoacilglicerol (LAFONTAN e LANGIN, 2009).

A composição de ácido graxos dos tecidos adiposos reflete tanto a ingestão dietética de ácidos graxos como o processamento endógeno da gordura, logo, lipólise ou lipogênese. Diversos estudos apontam sua composição e risco para doenças cardiovasculares e resistência à insulina (PEDERSEN, RINGSTAD, ALMENDINGEN et al., 2000; KUNEŠOVÁ, HLAVATÝ, TVRZICKÁ et al, 2012). Esse processo vem correlacionado a uma inflamação subclínica, a qual pode estar associada com a obesidade, a hipóxia desse tecido pode sustentar a inflamação, que facilita o recrutamento dos macrófagos, promovendo uma resistência insulínica (YE, 2008; ZEYDA, 2012).

A obesidade causa desregulação na homeostase energética, interferindo nos processos fisiológicos, o balanço energético é controlado por uma rede coordenada de mecanismos e sinais periféricos os quais são encontrados no tecido adiposo, estômago, pâncreas e outros órgãos (KLAAUW, FAROOQI, 2015).

Devido a massa adiposa elevada, indivíduos obesos possuem ácidos graxos livres plasmáticos em alta concentração, sendo alocados em lipossomas, que são pequenas organelas citoplasmáticas, podendo causar processo patológico, como esteatose, caso essa organela com ácido graxo esteja presente no fígado (TCHKONIA et al, 2013; HEYMSFIELD et al, 2015). O gatilho da esteatose pode ser a resistência à insulina causada nos hepatócitos, com isso aumentando a

atividade da lipase hormônio sensível do tecido adiposo, acarretando no aumento da lipólise, havendo uma grande liberação de ácidos graxos não esterificados para o fígado (HARRISON; DAY 2007).

Na esteatose hepática não alcoólica, a qual é a principal característica hepática na síndrome metabólica, alguns hormônios ganham protagonismo, como a adiponectina, leptina, glucagon, GLP-1 e IGF-1 (LIMA; VIERA 2017), esses hormônios contribuem para a lesão, manutenção e agravamento da doença;. Entretanto, a ingestão crônica de alimentos palatáveis, contribuem para a desregulação dos hormônios envolvidos nessa patologia, contribuem para a expansão do tecido adiposo e resistência a insulina. Já foi vistos em modelos experimentais que uma dieta rica em gordura e sacarose promoveu uma esteatose hepática mais grave com inflamação de baixo grau e fibrose (ISHIMOTO, LANASPA, RIVARD et al 2013)

O TAB possui funções endócrinas secretando adipocitocinas, sendo assim um órgão dinâmico o qual possui uma grande relevância nos processos metabólicos e fisiológicos (FONSECA-ALANIZ et al,2005 TAKADA et.al, 2008 ALONSO-VALE et al. Lima, 2006). Entre as adipocitocinas estão a leptina, a adiponectina, a resistina e a visfatina, as quais desempenham função importante para manter a homeostase do corpo (KOCOT, 2017). A leptina atua no núcleo arqueado do hipotálamo, controlando a ingestão calórica, estimulando fatores anorexígenos e inibindo orexígenos (ZHOU, 2014).

### **2.1.3 Homeostase glicêmica**

A homeostase glicêmica é a maior fonte de energia as células dos mamíferos, em especial, as do sistema nervoso central, que exigem um suprimento contínuo de glicose para garantir o seu bom funcionamento e manter a homeostase metabólica. Para tal, existem mecanismos fisiológicos que promovem a homeostase glicêmica (VERBERNE, SABETGHADAM,KORIM, 2014).

No momento pós-prandial, há um aumento rápido na quantidade de glicose sanguínea, a qual estimula a insulina acarretando hiperinsulinemia (MULUKUTLA, YONGKY, LE et al 2016). O aumento das concentrações de insulina e glicose

sanguíneas inibem a gliconeogênese e glicólise pelo fígado e facilita a captação da mesma pelos tecidos sensíveis à insulina (SPRAGUE, ARBELÁEZ, 2011).

Nos hepatócitos e nas células  $\beta$ -pancreáticas, o transporte da glicose é mediado para os compartimentos intracelulares através do transportador de glicose 2 (GLUT-2), já os tecidos muscular e adiposo utilizam o transportador de glicose 4 (GLUT-4), para se translocar para o meio intracelular mediado pela ação da insulina (HASSAN, BOURRON, HAJDUCH, 2014). Esse hormônio polipeptídico, possui expressiva ação no controle da homeostase glicêmica por meio de estímulo à captação de glicose nos tecidos sensíveis à insulina, com músculos esqueléticos e tecido adiposo e da inibição da liberação de glicose pelo fígado (KAHN, FLIER, 2000).

A produção e secreção da insulina é feita pelas células  $\beta$ -pancreáticas, as quais respondem a diversos nutrientes na circulação sanguínea, contudo, a glicose é o primeiro estímulo para a secreção da insulina pois é o principal componente alimentar e pode ser acumulado imediatamente após a ingestão. Essas células não possuem receptores de membrana para glicose, porém possuem receptores sensíveis ao aumento da glicose sanguínea, e o acesso celular ocorre por difusão facilitada (FU, GILBERT, LIU, 2013).

A secreção da insulina apresenta um padrão bifásico, ocorrendo um pico inicial, durante 10 minutos e em seguida há uma fase de sustentabilidade, onde há uma secreção de insulina menor e mais prolongada (YAN, 2014). Esse processo potencializado pela ingestão oral de glicose se deve a ativação de polipeptídeo inibitório gástrico (GIP) e peptídeo semelhante ao glucagon-1 (GLP-1) (YANG, VIJAYAKUMAR & KAHN 2018).

Contudo, há hormônios contrarregulatórios os quais agem quando há queda na glicemia plasmática, caracterizando hipoglicemia (SPRAGUE, ARBELÁEZ, 2011). Um dos efeitos imediatos a hipoglicemia é a redução da secreção de insulina, enquanto o glucagon é liberado quando os valores se mantêm abaixo do mínimo fisiológico. Esse hormônio, secretado pelas células  $\alpha$ -pancreáticas, é o principal contrarregulador e age rapidamente a fim de evitar a hipoglicemia. Quando secretado atua nos hepatócitos aumentando a produção de glicose, estimulando

então a glicogenólise hepática e também estimulando a gliconeogênese, com a oxidação hepática de ácido graxos e cetogênese (CRYER, 2012).

Existem outros hormônios contrarregulatórios de ação lenta, como o hormônio do crescimento (GH) e o cortisol, os quais possuem a função de deslocar o metabolismo dos tecidos não neurais para outras vias que não a da utilização da glicose. O cortisol ativa utilização de gordura, gliconeogênese e cetogênese, já o GH aumenta a lipólise, a oxidação de ácidos graxos e induz a resistência à insulina (GAISANO, MACDONALD, VRANIC, 2012). Esses dois hormônios não tem um papel imediato na recuperação da glicemia, portanto, possuem papel de destaque em hipoglicemias prolongadas (MC CRIMMON, 2008).

Contudo, há alguns fatores que podem contribuir para desestabilizar a homeostase, um desses fatores é o aumento do tecido adiposo, que na maioria das vezes está relacionado com a obesidade. Nessa condição, os mecanismos moleculares tendem ao desenvolvimento de uma resistência à insulina, uma das explicações é o excesso de tecido adiposo branco e o consumo de dietas hipercalóricas, visto que, esses fatores ativam proteínas pró-inflamatórias que influenciam na via intracelular, prejudicando na translocação do GLUT4 para a membrana plasmática (HOLLAND, 2011).

Assim, conseqüente ao aumento do tecido adiposo se estabelece a obesidade com todas as suas conseqüências sobre a estrutura dos adipócitos, a homeostase glicêmica e lipídêmica. Contudo, a obesidade, *per se*, impõe em muitos indivíduos, motivações comportamentais em busca do emagrecimento rápido e sem muitas restrições alimentares, alternativas estas que por vezes não têm base científica consolidada sobre os efeitos fisiológicos. Nesse sentido, tem se popularizado a prática de restrição alimentar, que configura jejum intermitente como estratégia que promove acelerado emagrecimento e trás melhora dos parâmetros bioquímicos. Os achados científicos ainda não são claros e outros controversos, abrindo uma nova janela investigativa, especialmente quando trata-se de indivíduo que não desenvolve hábitos alimentares saudáveis e são sedentários.

#### 2.1.4 Jejum Intermitente e homeostase energética

Do ponto de vista fisiológico, o jejum é comum no período da noite e durante o sono. O organismo está adaptado a curtos períodos de jejum e ao jejum noturno, momento em que os hormônios contrarreguladores da glicemia ganham protagonismos, como o GH e o cortisol. Contudo atualmente, alguns indivíduos vêm utilizando a estratégia do jejum intermitente a fim de promover um balanço energético negativo. (MATTSON, 2014).

O jejum intermitente (JI) é uma prática ampla, a qual engloba uma gama de variedade de protocolos que excluem algumas refeições, utilizando jejum de curto prazo, severos ou moderados, com o objetivo de melhorar a composição corporal e o teor sérico, levando a uma melhora na saúde geral (TINSLEY & LA BOUNTY, 2015).

O aumento da massa corporal gera insatisfação corporal e com isso, muitas pessoas adotam essas estratégias rápidas de perda de peso. A utilização do JI se remete ao Ramadã, no qual o JI era praticado com fins religiosos, no entanto os estudos realizados nessa população mostraram, melhoras no perfil lipídico e da glicose de jejum (PERSYNAKI et al, 2017). A partir disso, novos protocolos de JI surgiram, tentando mimetizar os benefícios da prática do Ramadã. O protocolo de *Leangains*, criado por Martin Berkhan em 2010, consiste em uma janela para alimentação de 8 horas de uma privação alimentar de 16 horas. O jejum utilizado no Ramadã, denomina-se de *EAT-STOP-EAT*, esse termo foi criado por Brad Pilon em 2007. Outra forma de realizar JI é pelo protocolo de 3:2, que consiste em alimentação à vontade por 3 dias da semana e 2 dias de restrição ou alimentar parcial, e por último, o Warrior Diet, caracteriza-se em 2 ciclos: jejum de 20 horas, de preferência de dia e 4 horas para alimentação (PARK, 2016).

O JI possui benefícios que embora descritos na literatura, são ainda controversos e com resultados inclusive que se opõem como é o caso da homeostase glicêmica, redução nos estoques de glicogênio e consequente mobilização dos ácidos graxos como fonte de energia, proporcionando a redução do tecido adiposo branco, com possível melhora no teor de adiponectina (WAN CAMANDOLA, MATTSON et al, 2010). Tomados juntos estes resultados poderiam

levar à conclusão de que o JI de fato é um benefício à saúde. Entretanto, existem estudos que mostram que o JI não promoveu alteração periférica mediada pela insulina, sensibilidade pela insulina hepática e aumento da sensibilidade do tecido adiposo branco. (SOETERS, 2009).

DORIGHELLO ROVANI LUHMAN et al, (2004) realizou um estudo com camundongos e JI e sua conclusão foi que, em roedores, esta prática induziu a compulsão alimentar, aumentando o consumo acima das suas necessidades diárias, com isso houve um agravamento no desenvolvimento de aterosclerose aguda. O resultado indicou que os benefícios da restrição alimentar não são aplicáveis em um cenário de hipercolesterolemia familiar por causa do defeito no receptor de LDL.

O jejum intermitente é usado como uma estratégia de emagrecimento em obesos, contudo quando praticado por período superior a mais de uma ou duas semanas é difícil para a maioria dos indivíduos, pois alguns tendem a desenvolver dores de cabeça, tonturas, irritabilidade e pode também acarretar em uma compulsão alimentar, desregulando a homeostase energética.(HEIBRONN, CIVITARESE, BOGACKA. et al, 2005).

A regulação da homeostase energética é fundamental para manter o peso e a ingestão alimentar adequada, para a realização dessa função, o sistema nervoso central (SNC) é responsável nesse controle através de diferentes circuitos neuronais (ZORZANO & CLARET, 2015). O hipotálamo desempenha um papel crucial na modulação do comportamento alimentar e gasto de energia, gerando então, resposta adequada a diferentes órgãos (LENARD, 2008), as áreas que possuem papel importante para a homeostase energética são: núcleo arqueado, núcleo paraventricular, área lateral, núcleo dorsomedial e núcleo ventromedial (LOPEZ.2013).

No núcleo arqueado, há duas populações neuronais que são consideradas principais para a regulação do balanço energético, uma delas expressa os neuropeptídeos orexígenos, como NPY e AgRP, enquanto a outra população expressa neuropeptídeos anorexígenos, como CART e POMC. Essa população responde a hormônios como leptina, insulina e hormônios intestinais como a grelina, peptídeo-1 semelhante ao glucagon, peptídeo YY e a colecistocinina (STANLEY et



al 2005). Dessa forma, as respostas suscitadas por esses sinais periféricos são mediados pela influência da expressão de neuropeptídeos orexígenos ou anorexígenos (DIANO 2013).

A leptina tem um papel crucial no hipotálamo, sua ligação ao receptor LepR-b ativa uma cascata de sinalizações, a qual leva a ativação de STAT3 (signal transducers and activators of transcription) e logo após despolarizando os neurônios da POMC, conseqüentemente, havendo uma hiperpolarização dos neurônios NPY/AgRP/GABA, produzindo um efeito anorexígeno (BELGARDT et al. 2010; ERNST, 2009).

Entretanto, apesar de na obesidade, ocorrer aumento na secreção de leptina e acentuada expressão dos receptores Ob-Rb, essa leptina não regula a saciedade desses indivíduos em função do processo de resistência à ação do hormônio (SCARPACE, ZHANG, 2009). No JI, alguns estudos com animais apontam a diminuição do leptina circulante (CHO, HONG, KIM et al 2019; LESSAN, & ALI. 2019), contudo, tais resultados não são vistos em modelo humano (CHAN, BULLEN, LEE et al 2004), gerando ambigüidade e dúvida sobre os efeitos do JI frente a leptina.

Assim como a leptina, a melhora das taxas de insulina também é verificada na prática do JI (HALBERG, HENRIKSEN, SÖDERHAMN et al 2005), porém nem sempre esse resultado se reproduz em humanos (HARVIE , WRIGHT , PEGINGTON et al 2013; HARVIE , PEGINGTON , MATTSON et al 2011), levando tais resultados para o campo da controvérsia, embora nem todas as respostas a partir de animais correspondam em humanos, posto que a fisiologia é similar, mas não necessariamente os ajustes seguem a mesma resposta fisiológica.

### **2.1.5 Fatores dietéticos que afetam a homeostase energética**

Os alimentos palatáveis são alimentos com alta densidade calórica, pois são ricos em açúcar e gordura saturada, além de se caracterizar por ser saboroso. De acordo com Velloso et al 2009, a gordura saturada provoca inflamação no hipotálamo, levando a desregularização no hormônio leptina, responsável por trazer saciedade após o período prandial. O consumo frequente desses alimentos promove ativação de células que expressam prepronociceptina na amígdala central,

trazendo como consequência o aumento da ingestão alimentar desse alimento, e assim, compulsão alimentar, o que resulta no aumento do IMC (HARDAWAY, HALLADAY, MAZZONE ET AL 2019).

Também é visto um sistema de recompensa nos sistemas mesolímbicos cerebrais, principalmente, os que envolvem a dopamina, o qual está relacionado com o sistema de recompensa mesmo com a ausência do prazer (LEMMENS, RUTTERS, BORN ET AL 2011). Alguns estudos apontam que pessoas obesas apresentam uma prevalência maior de ativação dopaminérgica ao ver uma imagem de alimentos hiperlipídicos (ROTHERMUND, PREUSCHHOF, BOHNER et al 2007).

Com a vida cada vez mais agitada, são escolhidos alimentos palatáveis e que são preparados de forma rápida ou até mesmo que já são vendidos prontos. Esse tipo de ambiente, onde há grande oferta de alimentos palatáveis induzindo o consumo, é denominado ambiente obesogênico, ele está relacionado com as possíveis causas da obesidade (Fisberg ,2016).

Em modelos experimentais animal é usada a dieta palatável, a qual consiste em uma alimentação hipercalórica. Uma forma de aumentar a energia na ração dos animais, é utilizando uma abordagem de dieta hiperlipídica. Essa alimentação promove algumas desordens metabólicas em animais, como o aumento do RET, mudança no perfil lipídico, pode resultar numa resistência periférica à insulina, provocando uma hiperglicemia (DUARTE, FONSECA, MANZONI et al 2006).

A alimentação rica em gordura, além de induzir a obesidade, interrompem a homeostase do ciclo circadiano e remodelam o metabolismo do fígado, porém esses efeitos podem ser reversíveis através de mudança da dieta (ECKEL-MAHAN & Kristin 2013; MARTINS, CAMPOS , PAGAN ET AL 2015 ). Alguns estudo relatam que esse tipo de dieta é capaz de induzir a hiperfagia através de vários mecanismos diferentes (SAVASTANO & COVASA 2005; WHITE. CERCATO, ARAÚJO ET AL 2013; PRIOR, WU,GU ET AL 2008).

Uma dieta a base de gordura pode estimular células imunes e levar a uma inflamação pós-prandial, podendo alterar o sistema imunológico e com isso contribuir para o estado inflamatório do corpo, geralmente, uma inflamação de baixo grau (FRITSCH 2015).

A literatura mostra que o alto teor de gordura na dieta pode provocar prejuízo ao metabolismo da glicose, estimular alterações na gliconeogênese a partir do lipídio em excesso, causar a hiperinsulinemia e conseqüentemente levar a uma resistência à insulina (DE SOUZA, ARAUJO, BORDIN ET AL 2005). Porém, ainda na literatura existem controvérsias em seus resultados, visto que alguns estudos não mostraram diferença significativa.

Considerando os achados científicos contraditórios em relação a melhora de parâmetros bioquímicos, perda de peso, teor de insulina, entre outros, foi objetivo investigar se o JI, tipo moderado, associado a padrão alimentar hiperenergético, funciona como gatilho para o processo obesogênico em ratas wistar.

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 Geral**

Avaliar se o jejum intermitente alternando com uma dieta obesogênica em ratas promove alterações nos parâmetros bioquímicos e sobre o tecido adiposo retroperitoneal..

#### **3.2 Específicos**

- Acompanhar o consumo alimentar e a massa corporal;
- Avaliar o teor sérico de glicose, colesterol total, fração HDL-c, triacilgliceróis e das enzimas alanina aminotransferase (ALT) e aspartato aminotransferase (AST);
- Avaliar a tolerância à glicose;
- Quantificar e avaliar a morfometria do tecido adiposo retroperitoneal

### **4 METODOLOGIA**

#### **4.1 Ética e condições experimentais**

Fêmeas Wistar, a partir do 45º dia de vida, considerado a fase jovem (adolescência), foram distribuídas aleatoriamente em quatro grupos: Controle (CP); Controle palatável (CPL); Restrito padrão (RP) e Restrito palatável (RPL). Todas as ratas foram pesadas no início, durante e no final do tratamento. Durante todo o

período do estudo, os grupos foram mantidos em condições controladas de luz (12/12h claro/ escuro) e temperatura ( $24 \pm 1$  °C), no Biotério de Experimentação no Polo Universitário - Campus UFRJ-Macaé e tiveram acesso livre à água e ração, exceto no período de restrição alimentar. No 105º de vida, as ratas foram eutanasiadas e coletadas amostras de sangue para processamento do plasma e tecido adiposo retroperitoneal para análises. O protocolo de estudo foi aprovado pelo comitê de ética e uso de animais, do Campus UFRJ - Macaé da Universidade Federal do Rio de Janeiro (CEUA).

#### **4.2 Ração palatável e hiperenergética**

A ração rica em energia e hiperlipídica foi preparada no Laboratório de Nutrição Experimental - LABNEX a partir de ração comercial Nuvilab ® (60%), com adição de sacarose (10%), caseína (20%), banha de porco (18%), óleo de soja (2%) e butil-hidroxitolueno - BHT, como agente antioxidante, a 0,02% do teor de gordura adicionada. Todos os ingredientes foram misturados e adicionado água filtrada para formar o pellet com textura adequada. Os pellets foram confeccionados manualmente e mantidos em estufa com circulação e renovação de ar, a temperatura constante de 60°C por 48 horas. Após a secagem, as rações foram reservadas em embalagens exclusivas e mantidas refrigeradas para posterior oferta aos animais conforme a demanda e protocolo de intervenção. A solução de sacarose a 20% foi oferecida aos grupos CPL e RPL durante o período de oferta de dieta obesogênica. Assim no período considerado obesogênico os animais tiveram livre acesso com exclusividade ração hiperenergética e solução aquosa de sacarose a 20% como única fonte hídrica.

#### **4.3 Protocolo de restrição alimentar intermitente**

O grupo CPL (n=13) recebeu dieta palatável (ração hiperlipídica com 45% de gordura e solução de sacarose a 20%) durante 15 dias, após isso recebeu água filtrada e ração padrão durante 30 dias, retornando à dieta palatável nos últimos 15 dias de tratamento. O grupo RP (n=13), foi alimentado com ração comercial e água filtrada durante 15 dias, seguido de Jejum intermitente (JI) a 50% do consumo dos animais C por 30 dias, sendo 2 dias de restrição e 3 dias de alimentação *ad libitum*, seguido de ração padrão por mais 15 dias. O RPL (n=13), recebeu ração palatável

durante os primeiros 15 dias, seguindo por JI da mesma forma que o RP por 30 dias, e finalmente ofertada ração obesogênica nos últimos 15 dias. o grupo C (n=14) teve livre acesso à ração padrão e água filtrada durante todo o período do tratamento (figura 1).

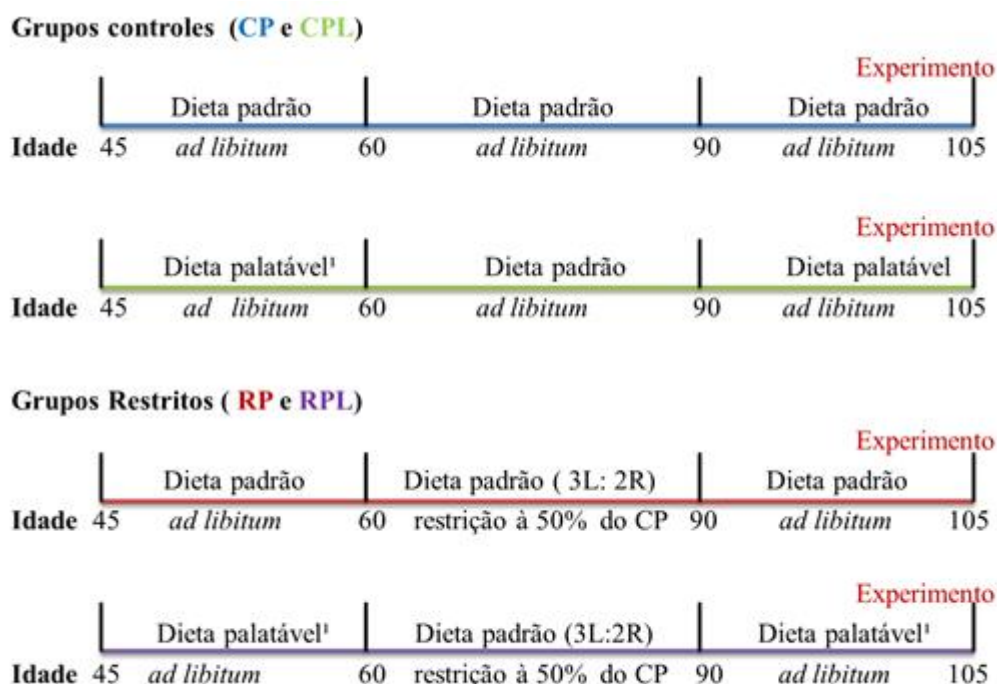


Figura 1: Desenho experimental.

#### 4.4 Avaliação do consumo alimentar e a massa corporal

O consumo alimentar e a massa corporal foram realizados todos os dias entre 7h – 8h aproximadamente, utilizando balança comercial (SF-400, capacidade 7 kg; precisão 1g). Para medir o consumo da ração, uma quantidade conhecida foi colocada nas gaiolas e após 24h o consumo foi avaliado pela diferença do peso entre a oferta e a sobra na gaiola. Da mesma forma as garrafas contendo água ou sacarose foram pesadas e o consumo foi avaliado pela diferença de peso após 24h.

Durante o período de restrição, o consumo alimentar de todos os grupos foi avaliado diariamente, a fim de permitir a padronização da restrição de 50% de consumo dos grupos restritos.

## **4.5 Extração do soro**

As amostras de sangue dos grupos foram coletadas após a eutanásia aos 105 dias de vida a partir da decapitação dos animais, em guilhotina. O sangue foi centrifugado a 3.500 r.p.m. durante 20 minutos para obter o soro, usado em posterior avaliações.

### **4.5.1 Análise sérica**

As análises de glicose, triacilglicerol e colesterol total foram realizadas por ensaio enzimático - colorimétrico, utilizando kit comercial Analítica ® para cada um. Foram pipetados 2 µl de soro em duplicata e adicionados 200 µl de reagente em placa de microensaio. A placa foi incubada à 37 °C durante 15 minutos. Após incubação foi realizada a leitura em espectrofotômetro de varredura (ASYS®) com comprimento de onda de 505 mn.

### **4.5.2 Análise de HDL**

A análise da fração colesterol-HDL foi realizada por ensaio enzimático-colorimétrico com kit comercial Analítica ®. Após isso, foram pipetados 150 µl de soro e 150 µl de precipitante em um microtubo de 600 µl, foi agitado no vortex por 30 segundos, e submetido à centrifugação a 3.500 r.p.m. Na microplaca foram pipetados 10 µl de sobrenadante em duplicada e 100 µl de reativo de cor. Foi incubado por 37 °C por 10 minutos, depois desse tempo, a placa foi submetida a leitura espectrofotométrica a 505 nm.

### **4.5.3 Análise da concentração sérica da alanina (ALT) e aspartato (AST) aminotransferases**

A análise do AST foi realizada por ensaio enzimático-colorimétrico com kit comercial Analítica ®. Foram pipetados 250 µl de substrato de AST e incubado em banho maria por 2 minutos, após o que foi pipetado 100 µl de amostra e incubado em banho maria à 37 °C por 30 minutos. Logo após esse tempo foi pipetado 250 µl de reagente de cor e foi deixado em temperatura ambiente por 20 minutos. Na última etapa foi pipetado 2,5 µl de NaOH e deixado 5 minutos em temperatura ambiente. A placa foi submetida a leitura espectrofotométrica em comprimento de 505 mn.

Para análise da ALT foram pipetados na placa de microensaio 250µl de ALT-substrato e foi incubado em banho Maria a 37 °C por 2 minutos, após isso foi pipetado 50 µl de amostra, a qual também foi incubada em banho Maria à 37 °C por 30 minutos. Logo após esse tempo, foram pipetados 250 µl de reagente de cor e deixado em temperatura ambiente por 20 minutos. Na última etapa, foram pipetados 2,5 µl de NaOH, também foi deixado em temperatura ambiente por 5 minutos. A placa foi submetida ao leitor de placa com comprimento de 505 mn.

#### **4.6 Teste de tolerância a glicose (TTG)**

Para realizar o TTG as ratas foram colocadas em jejum de 12h. A partir da coleta de gotícula de sangue por punção na calda, foi medida a glicemia basal (tempo 0) utilizando fita reagente e glicômetro (ACCU-CHECK®), em seguida foi colocada solução de glicose a 50% (preparada previamente) por via intraperitoneal, a partir desse momento a glicose foi avaliada nos tempos 30, 60, 120 e 180 minutos. Os resultados para cada grupo foram expressos como a média das diferenças entres os valores da glicemia em observação e glicemia em jejum, bem como as respectivas área sob a curva - AUC.

#### **4.7 Quantificação do tecido adiposo retroperitoneal (RET)**

Após a eutanásia, o depósito de gordura RET foi retirado e pesado em balança analítica.

#### **4.8 Histologia do tecido adiposo retroperitoneal**

A retirada do tecido ocorreu no 105° dia, após a eutanásia. O tecido foi armazenado no tampão de Carson (Formaldeído, Metanol e PBS) por 24 horas, depois disso, foi lavado em água corrente durante 30 minutos e depois armazenado em álcool 70% até o processamento da amostra.

Para emblocamento do tecido em parafina, o material foi submetido a banhos de álcoois sequenciais 80%, 90% 100%, xilol ½ + álcool e banhos sequenciais de xilol I,II,III durante 20, 25, 20, 25, 25, 25 minutos respectivamente. Por último foi colocado em parafina, em estado líquido, I,II, III durante 40 minutos cada em uma estufa de 60° graus. Uma vez a parafina endurecida, foram realizados cortes com

espessura de 3  $\mu\text{m}$  em micrótomo (Lupetec, MRP2015), seguido de montagem em lâmina.

As lâminas foram, foram submetidas a xilol, álcool decrescente 100%, 90%, 80% e 70% durante 3 minutos respectivamente. Após esse procedimento as lâminas foram colocadas em contato com a hematoxilina e eosina por 3 minutos cada. Depois desse processo, foram novamente submetidas a uma sequência de álcool crescente 70%, 80% e 100% por 2 minutos cada. Para finalizar essa etapa, as amostras passam por xilol por 2 minutos cada.

Foi avaliado o tamanho dos adipócitos utilizando no programa *ImageJ*, para isso, foram tomadas medidas do perímetro vertical e o perímetro horizontal. Também foram contabilizados o número de adipócitos por campo.

#### **4.9 Análise dos dados**

Os dados foram apresentados com média e erro padrão da média, e assumindo distribuição normal, foram submetidos à ANOVA de uma via seguida do teste de múltiplas comparações de Bonferroni, utilizando-se o GraphPad Prism v.6.01, sendo considerado nível de significância  $p < 0,05$ .

### **5. RESULTADOS**

#### **5.1 Consumo energético pré-jejum intermitente (JI), durante e após o JI**

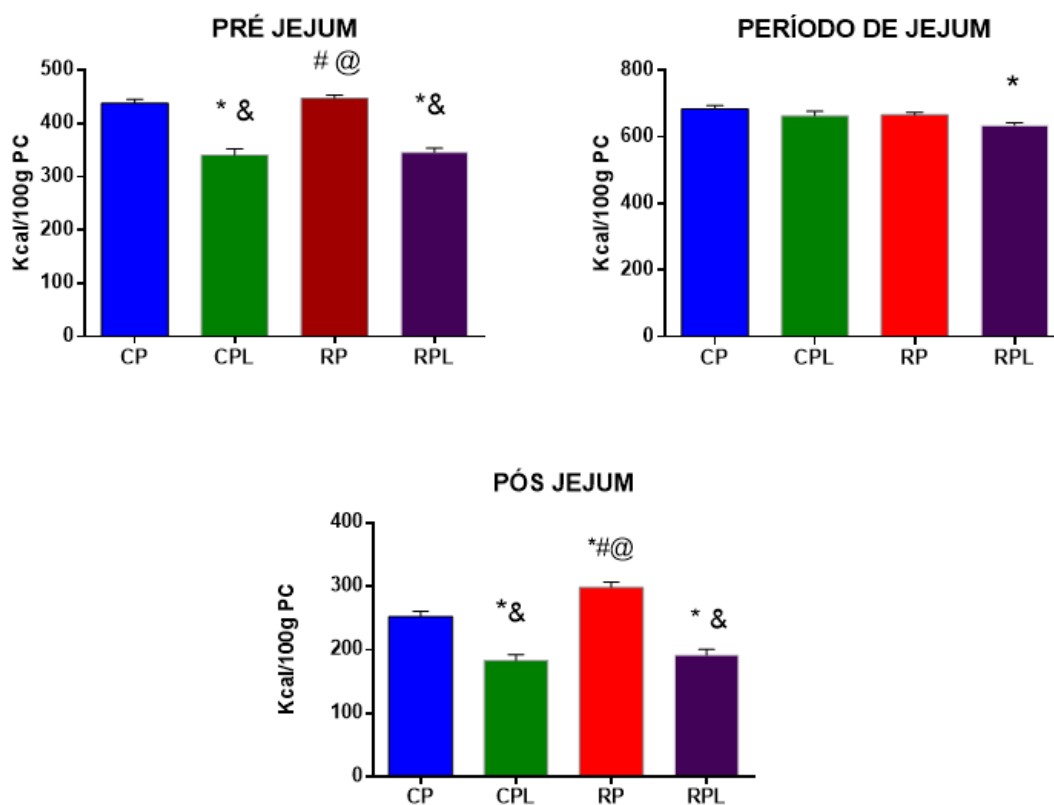
A avaliação do consumo alimentar (figura 2) pré-jejum intermitente (painel A) demonstrou que os grupos CPL ( $334,31 \pm 11,17$  kcal ;  $p < 0,0001$ ) e RPL ( $339,50 \pm 7,83$  Kcal;  $p < 0,0001$ ) apresentaram menor consumo energético comparado ao grupo CP ( $440,68 \pm 7,65$  kcal) e ao grupo RP ( $447,15 \pm 6,15$  kcal;  $p > 0,0001$ ) e o grupo RP ( $p < 0,0001$ ) apresentou maior consumo vs. o grupo CPL ( $334,31 \pm 11,17$  kcal ;  $p < 0,0001$ ).

Durante o JI (painel B) foi observado que o RPL ( $634 \pm 7,67$  Kcal;  $p = 0,0072$ ) apresentou um menor consumo comparado ao controle (CP= $683,56 \pm 10,69$ ), enquanto os demais grupos não diferiram entre si.

Após o período de jejum (painel C), o CPL ( $172,44 \pm 9,27$  kcal;  $p < 0,0001$ ) e o RPL ( $182,25 \pm 9,29$  kcal;  $p < 0,0001$ ) consumiram menos energia que o CP



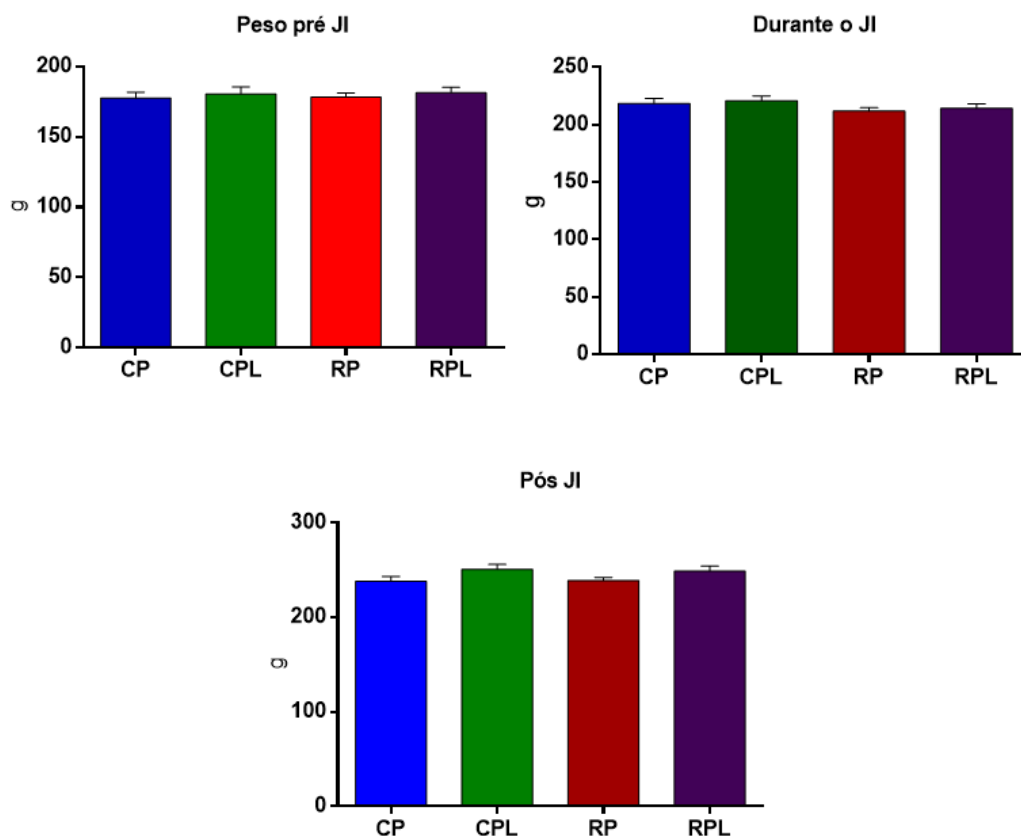
(252,49 ± 8,24), contudo o RP (282,19 ± 23,76 kcal; p = 0,0027) consumiu mais energia que o CP e RPL (p < 0,0001).



**Figura 2** O painel A mostra a ingestão energética acumulada no período pré-jejum intermitente (CPL = <0,0001; RP= <0,0001; RPL= <0,0001), o painel B durante (RPL = 0,0072) e o painel C após (CPL= <0,0001; RP= 0,0027; RPL= 0,0001; RPL=0,0001). Número de avaliações: CP, n = 14; CPL, RP e RPL. Número de avaliações = 13/grupo. \*vs. CP, # vs.CPL, &. vs RP, @ vs RPL.

## 5.2 Peso corporal pré-jejum intermitente (JI), durante e após o JI

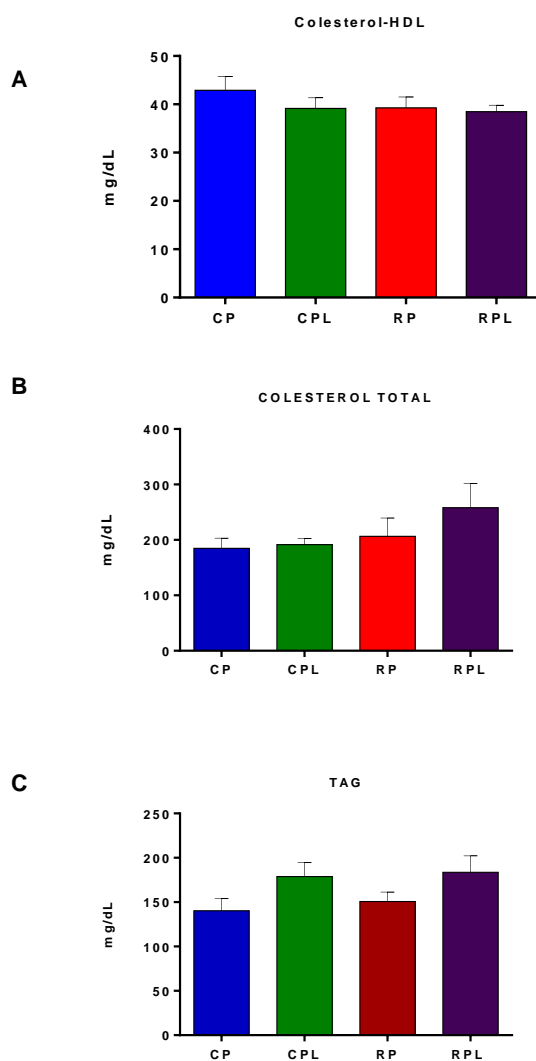
A figura 3 demonstra as avaliações da massa corporal ao longo do período estudado. Verifica-se que no período pré-jejum intermitente (painel A) os grupos CP ( $177,8 \pm 16,78$  g), CPL ( $180,8 \pm 19,58$  g), RP ( $178 \pm 3,14$  g) e RPL ( $181,5 \pm 15,17$  g) não diferiram entre si. Do mesmo modo, durante o JI (painel B) nenhum dos grupos apresentaram massa corporal diferente (CP:  $218,8 \pm 16,84$  g; CPL:  $220,9 \pm 16,63$  g; RP:  $211,9 \pm 3,24$  g; RPL:  $214,4 \pm 14,73$  g), o que se reproduziu no pós JI (CP:  $238,3 \pm 16,84$  g; CPL:  $251 \pm 19,94$  g; RP:  $239,2 \pm 3,42$  g; RPL:  $249,1 \pm 19,92$  g).



**Figura 3.** Avaliação da massa corporal em relação ao período de jejum intermitente, considerando os períodos pré- (painel A), durante (painel B) e após (painel C). Número de avaliações: CP, n = 14; CPL, RP e RPL. Número de avaliações = 13/ grupo.

### 5.3 Avaliação sérica de triglicerídeos, colesterol total e colesterol-HDL após o tratamento

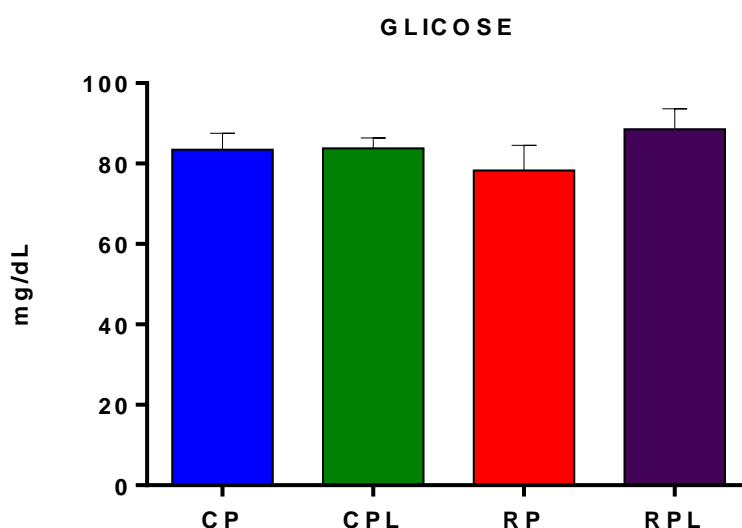
Quanto às análises séricas (figura 4), o teor de colesterol-HDL (painel A) após o JI, não apresentou diferença (CP:  $41,74 \pm 2,09$  mg/dL; CPL:  $38,97 \pm 1,91$  mg/dL; RP:  $46,50 \pm 4,94$  mg/dL; RPL:  $38,48 \pm 1,32$  mg/dL). O teor de colesterol-total (painel B) após o JI não apresentou diferença (CP:  $147 \pm 8,63$  mg/dL; CPL:  $179,71 \pm 9,91$  mg/dL; RP:  $232,66 \pm 28,06$  mg/dL; RPL:  $223,15 \pm 22,67$  mg/dL). Do mesmo modo, quanto ao teor sérico do triacilglicerol (painel C) também não houve diferença (CP:  $145,41 \pm 7,64$  mg/dL; CPL:  $168,63 \pm 9,69$  mg/dL; RP:  $145,54 \pm 7,2$  mg/dL; RPL:  $163,43 \pm 11,64$  mg/dL).



**Figura 4.** O painel A demonstra o teor sérico do colesterol-HDL após o tratamento, o painel B demonstra o colesterol total e o painel C demonstra o teor sérico de triglicerídeos . Número de avaliações = 7/ grupo.

#### 5.4 Concentração sérica de glicose após o jejum intermitente

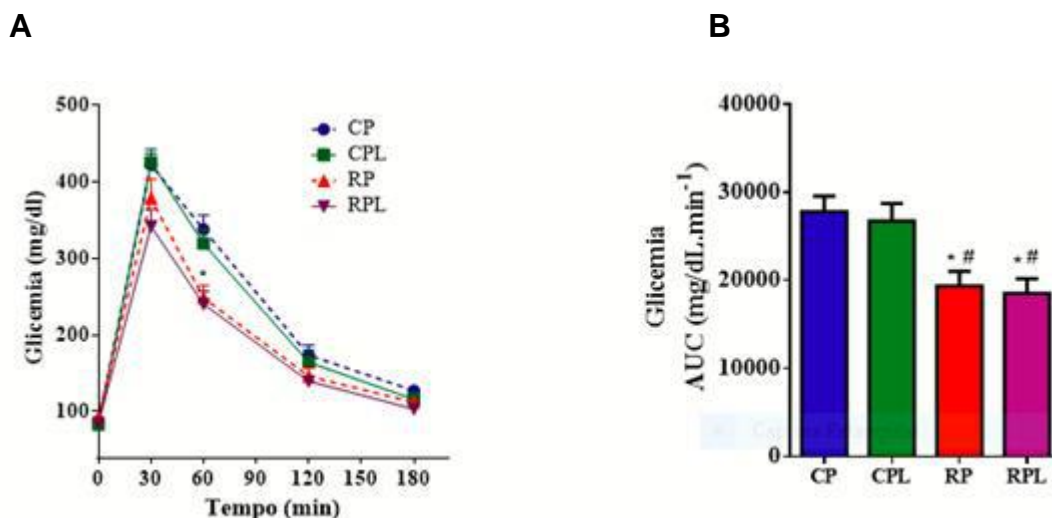
O teor sérico de glicose (figura 5) dos grupos não apresentou diferença significativa (CP:  $78,78 \pm 3,38$  mg/dL; CPL:  $78,36 \pm 3,13$  mg/dL; RP:  $88,31 \pm 4,32$  mg/dL; RPL:  $97,77 \pm 6,14$  mg/dL).



**Figura 5.** Teor sérico de glicose de jejum das ratas em protocolo obesogênico e tratadas com jejum intermitente. Número de avaliações = 9/ grupo.

#### 5.5 Teste a tolerância de Glicose

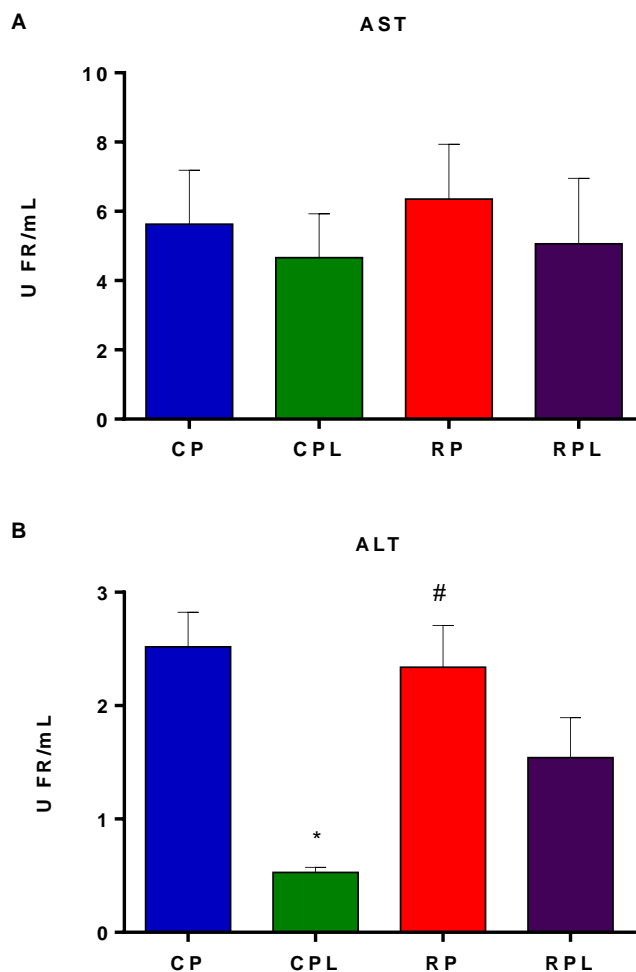
Quanto a curva glicêmica (figura 6), verifica-se (painel A) que os grupos restritos (RP:  $154,4 \pm 13,92$  mg/dL;  $p=0,0069$ ; RPL:  $187,4 \pm 13,92$  mg/dL;  $p=0,0031$ ) mostraram glicemia menor do que o grupo controle padrão (CP:  $244 \pm 17,8$  mg/dL) no tempo 60, enquanto a área abaixo da curva (painel B), ambos grupos restritos (RP:  $17.3357,4 \pm 3.260$  mg/dL;  $p=0,0114$ ; RPL:  $24.414,4 \pm 3.228,9$  mg/dL;  $p = 0,0143$ ) tiveram glicemia menor do que seus controles (CP:  $19.731,4 \pm 3.205,7$  mg/dL; CPL:  $11.802,1 \pm 3.558,5$  mg/dL).



**Figura 6.** O painel A mostra o comportamento da glicemia nos tempos 0, 30, 60, 120 e 180 minutos (T60: RP,  $p=0,0069$ ; RPL,  $p=0,0031$ ; RP,  $p=0,0401$ ; RPL,  $p=0,0194$ . \* $p$  vs.CP, # vs CPL). Enquanto que o painel B mostra a área abaixo da curva (AUC) (RP,  $p=0,0114$ ; RPL,  $p=0,0050$ ; RP,  $p=0,0313$ ; RPL,  $p=0,0143$ . \* $p$  vs.CP, # $p$  vs CPL). Número de avaliações =8/ grupo.

### 5.6 Perfil das enzimas hepáticas ao final do tratamento

Quanto ao teor da aspartato aminotransferase (AST) (painel A, figura 7) não houve diferença significativa (CP=  $5,62 \pm 1,63$  UFR/mL; CPL=  $5,03 \pm 1,31$  UFR/mL; RP=  $6,35 \pm 2,07$  UFR/mL ;RPL=  $5,06 \pm 1,68$  UFR/mL). Porém, na avaliação da concentração da alanina aminotransferase (ALT) (painel B, figura 7) foi observada diferença significativa entre os grupos CP ( $2,51 \pm 0,30$  UFR/mL) e RP ( $2,33 \pm 0,37$  UFR/mL  $p=0,0017$ ) em relação ao CPL ( $0,53 \pm 0,004$  UFR/mL;  $p=0,0004$ ), onde o CPL apresentou valor muito menor comparado aos referidos grupos.



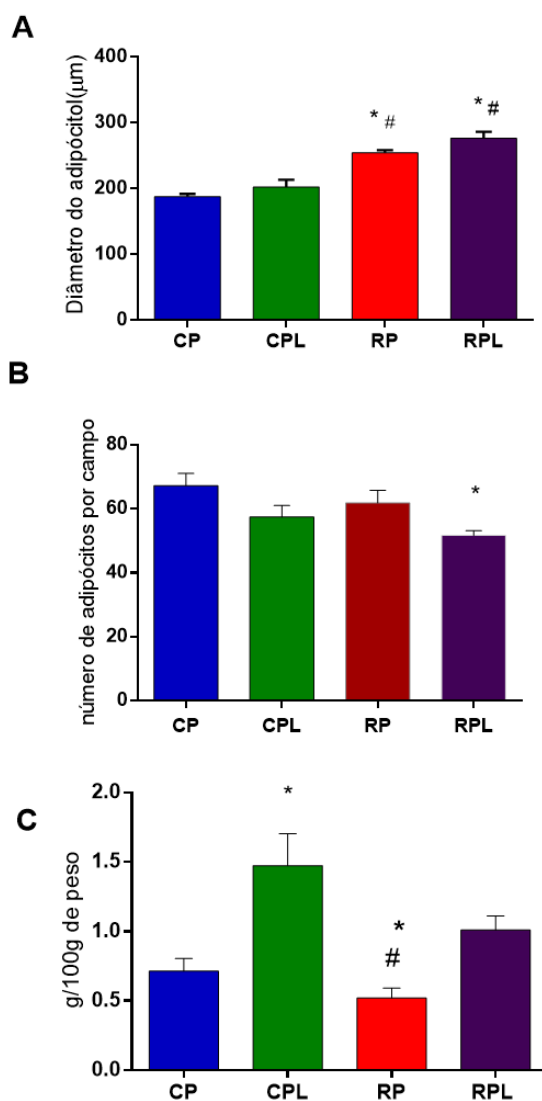
**Figura 7.** O painel A avalia o AST nos seguintes, número de avaliações grupos CP = 10; CPL = 10; RP= 8; RPL= 7. O painel B avalia o ALT( CPL= 0,0004 ; RP= 0,0017). Número de avaliações: (C= 9; CPL=7; RP=8 ; RPL= 6). \*vs.CP ; # vs.CPL.

### 5.7 Quantificação do tecido adiposo retroperitoneal após o jejum intermitente

Na figura 8, está apresentado o diâmetro do adipócito RET (painel A), que apontou diferença significativa entre os grupos restritos (RP:  $245,12 \pm 4,05$   $\mu\text{m}$ ;  $p < 0,0001$ ; RPL:  $276,22 \pm 9,82$   $\mu\text{m}$ ;  $p < 0,0001$ ) e seus respectivos controles (CP:  $187,59 \pm 4,14$   $\mu\text{m}$ ; CPL:  $202,16 \pm 10,88$   $\mu\text{m}$ ). Os resultados demonstram efeito hipertrófico do jejum intermitente sobre o adipócito RET.

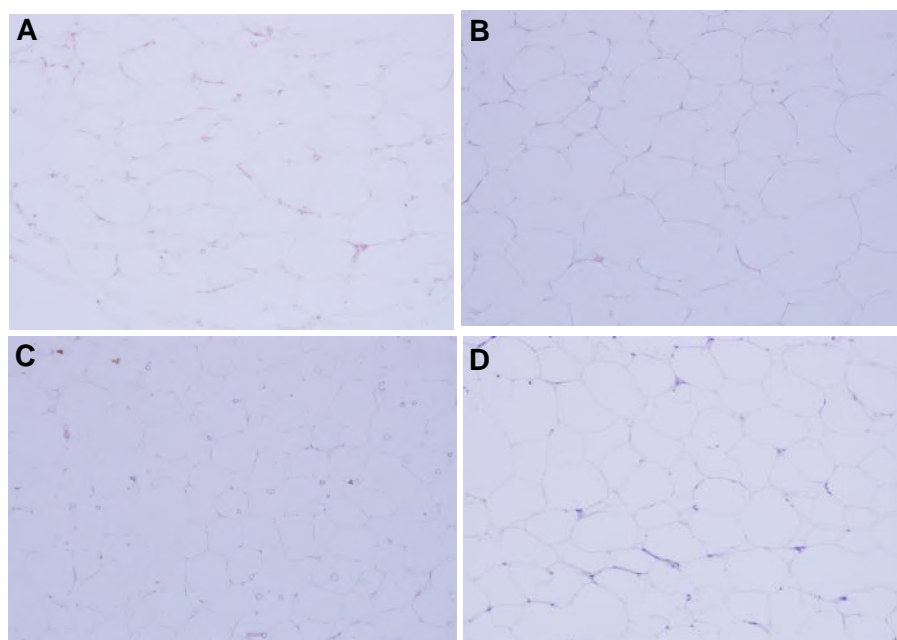
Em relação ao número de células adipocitária RET (painel B), analisada a quantidade de adipócito por campo, verifica-se menor quantitativo celular entre o RPL ( $51,71 \pm 1,45$ ;  $p = 0,0133$ ) vs. o grupo CP ( $67,2 \pm 16,38$ ) Quanto a massa do depósito adiposo RET (painel C), foi verificada diferença significativa entre o CPL

( $0,61 \pm 0,45$  g/100g de peso;  $p = 0,0038$ ) vs. CP ( $0,84 \pm 0,13$  g/100g) e RP ( $0,64 \pm 0,13$  g/100g de peso;  $p = 0,0004$ ), que apresentaram teor menor do tecido. Embora o RPL não tenha diferido estatisticamente, sugere-se que o jejum intermitente tenha promovido desaceleração do depósito que acompanharia o grupo CPL.



**Figura 8.** O painel A mostra o média dos diâmetros de cada campo que corresponde com ao grupo (RP= <0,0001; ;RPL= <0,0001 ;RP= <0,0001 ;RPL= <0,0001). O painel B mostra a quantidade de adipócito por campo ( RPL=0,0133).O painel C mostra a gramatura do RET ( CPL= 0,0038; RP= 0,0004) . Número de avaliações: (CP= 8; CPL = 8; RP = 6; RPL= 7). \* vs CP; # vs CPL.

A figura 9, demonstra a lâmina histológica do tecido adiposo branco retroperitoneal (RET). Os adipócitos são células uniloculares e seu núcleo está localizado periféricamente. Na imagem C e D, o adipócito está hipertrofiado em relação as imagens A e B. É encontrado na imagem D, a ruptura de membrana da célula e deposição de cálcio, caracterizando uma necrose.



**Figura 9.** No painel A um temos o grupo CP (n= 8), no B, temos o grupo CPL (n=8), no C, o grupo RP (n=6) e no D, o grupo RPL (n= 7). As imagens estão no aumento de 20x.



## 6 DISCUSSÃO

Avaliamos, em fêmeas Wistar, se o jejum intermitente intercalado com dieta obesogênica, seria capaz de modificar enzimas hepáticas, a homeostase glicêmica e lipídica, bem como alteração na massa corporal, ingestão alimentar e perfil morfométrico do tecido adiposo retroperitoneal.

Verificamos que o grupo restrito padrão apresentou hiperfagia após a prática do JI sem entretanto alterar a massa corporal, embora pareça que este grupo tenha tido comportamento hiperfágico desde o início do tratamento, quando já apresentou maior consumo. Os marcadores lipídicos, neste estudo, não permitiram construir uma relação com o JI, mas quanto a glicemia, embora não tenha havido diferença entre os grupos, observou-se que o JI de fato melhorou a tolerância à glicose.

Do mesmo modo, o nosso estudo apontou que o JI afeta a morfometria dos adipócitos retroperitoneal, aumentando o diâmetro, sem interferência no número de adipócitos, embora a conjugação JI alternada com dieta hiperlipídica sugira diminuição no número de adipócitos em resposta a ingestão de gordura. Associado àquele marcador, o JI não parece afetar expressivamente o teor do depósito adiposo retroperitoneal, mas foi capaz de regular para baixo o efeito da dieta hiperlipídica no grupo restrito palatável, que não diferiu estatisticamente, mas evidencia possível alteração com impacto fisiológico.

O jejum intermitente (JI) é utilizado para a perda de peso, entre outros outros benefícios, como redução da gordura visceral, melhora no perfil lipídico e glicêmico (WAN, WEIGAND, BATEMAN et al., 2014). Contrariando alguns estudos, nossos resultados não demonstraram alteração da massa corporal induzida pelo JI no protocolo aplicado (3:2) e protocolo de ingestão de dieta hiperlipídica, o que pode estar diretamente relacionado ao comportamento, caracterizado como hiperfágico, verificado nos grupos restrito padrão e restrito palatável, que mesmo em restrição alimentar, não apresentaram menor ingestão energética total comparada ao seus pares, denotando que houve uma compensação no consumo alimentar nos dias de livre acesso.

Corroborando com o comportamento hiperfágico verificado, CHAUSSE et al. (2014) encontraram o mesmo. ROSAS FERNÁNDEZ, VILCA, BATISTA ET AL

(2017) analisaram em fêmeas submetidas ao jejum intermitente, sem uso da dieta hiperlipídica, e verificaram que o grupo JI a 3:2 não promoveu perda de massa corporal, em parte, tal resultado justifica-se por exposição maior ao estresse, causando uma desregulação no eixo hipotálamo-hipófise-adrenal, dificultando a perda de peso.

Considerando a análise de alteração adipocitária, DING, ZHENG, GARCIA-RUIZ et al.(2016), verificaram que o JI mobilizou mais tecido adiposo visceral do que o tecido adiposo subcutâneo, o que parece correlacionar-se com a observação de redução nos depósitos de gordura visceral mesentérico e epididimal da expressão de RNAm de PPAR $\gamma$ 2 (peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$ 2) e SREBP-1c (sterol regulatory element binding protein 1c), ambos fatores de transcrição lipogênicos.

Também inclui-se nesse mecanismo regulatório lipídico, a diminuição da expressão de genes das enzimas lipoproteína lipase e ácido graxo sintetase e do transportador de glicose tipo 4. TANG, TANG, MAN, et al. (2017) observaram que o JI de curto prazo foi capaz de aumentar mitocôndria do tecido adiposo marrom tendo um poder de termogênese maior do que o subcutâneo na fase inicial do JI.

Em relação a regulação para baixo do tecido adiposo retroperitoneal, sugerimos transição do tecido branco para o bege, aumentando o gasto energético, mesmo em período de hiperfagia, e preferência do tecido adiposo retroperitoneal para a lipólise. Alguns estudos mostram, que o JI, pode ativar mecanismo de mudança das células adiposas brancas para beges, promovendo um maior gasto energético, isso devido ao aumento de UCP-1 (proteína desacopladora 1), ativando seletivamente, os adipócitos beges (LI, XIE, LU et al, 2017).

Por outro lado, o grupo RPL não apresentou hiperfagia, o que pode estar relacionado ao fato da dieta hiperlipídica interferir na resposta do sistema grelina, com inibição do efeito orexígeno (GARDINER, CAMPBELL, PATTERSON et al, 2010). Também dieta hiperlipídica parece inibir o efeito hiperfágico e estimulante do hormônio de crescimento, conforme observado em resposta à administração aguda e crônica em camundongos obesos expostos à dieta hiperlipídica (IWAKURA, AKAMIZU, ARIYASU et al, 2007).

Quanto às enzimas hepáticas, a AST não teve alteração, mas observou-se alteração do teor da ALT nos grupos RP e CP. Possivelmente tais alterações

ocorreram muito provavelmente em função do comportamento atípico do grupo CPL que demonstrou valor muito baixo para a enzima. Contudo este resultado permite demonstrar que a dieta hiperlipídica, independente do jejum intermitente, não provocou no grupo hiperlipídico alteração hepática que pudesse comprometer o modelo aplicado.

Estudos apontam que a dieta hiperlipídica promove aumento das enzimas hepáticas por efeito rebote de uma esteatose hepática comum a elevada ingestão de gordura (FAN ZHENG & YING CAI 2019; MILANSKI , DEGASPERI E , COOPE et al, 2008), porém um quadro de alteração hepática guarda uma relação com concentração de gordura na dieta muito maior do que a do presente estudo, a qual foi da ordem de 20%, enquanto nos estudos com reporte de esteatose e infiltração, esse valor sobe para em torno de 40% ou mais (LAVOIE, YASARI, ABDENNADHER et al, 2005). Ainda que estudos relacionem a ativação do PPAR-alfa no jejum intermitente (KERSTEN, SEYDOUX, PETERS et al 1999) e que esse fator tem capacidade de induzir esteatose hepática, no referido estudo, o modelo do JI utilizado diferiu bastante do nosso, sendo prolongado, (YAN, WANG, XU et al 2014), contudo reiteramos o entendimento que no caso do nosso estudo, trata de resultado atípico no grupo CPL.

O jejum intermitente neste estudo não promoveu alteração nos marcadores séricos lipídicos e da glicose, contudo contribuiu para melhor resposta à descarga sérica de glicose, com menor área da curva glicêmica nos grupos restritos submetidos ao teste de tolerância à glicose. De fato, a literatura realça os benefícios sobre marcadores periféricos com a aplicação dessa estratégia, como a melhora da glicemia em jejum e o perfil lipídico (ANTONI JOHNSTON, COLLINSMAS et al, 2017). A melhora da resposta nos grupos restritos do presente estudo pode ser devido a hiperinsulinemia compensatória, porém a insulina não foi avaliada. BONAZZA 2018, observou que o JI aumentou a insulina plasmática basal e a secreção da insulina após uma carga de glicose. Todos os restritos apresentaram uma menor glicemia vs. controles.

SHIN, KANG, KIM et al. 2018 submeteram fêmeas a JI de três horas, e observaram menores ingestão diária e gordura visceral. Em relação ao perfil lipídico, o JI se mostrou benéfico para a redução de triglicerídeos, contudo houve prejuízo no teor de HDL-c e no metabolismo do colesterol, sendo um alerta, que essa prática

não traz benefícios para organismos que possuem uma disfunção no metabolismo de lipídeos. E ainda que haja limitações na extrapolação de resultados de estudos animais para humanos, de fato o jejum intermitente se mostra benéfico para a redução da glicose e melhora no perfil lipídico (HIGASHIDA , FUJIMOTO , HIGUCHI M et al.2013), mesmo com dieta hiperlipídica (YANG , CAO , MAO et al, 2016). Mesmo com a literatura relatando o benefício do jejum intermitente na melhora do teor sérico de glicose e do perfil lipídico, no atual estudo acredita-se que o teor de gordura da dieta não tenha sido suficiente para provocar alteração nos marcadores lipídicos do grupo CPL e também o JI não suscitou nenhuma alteração no padrão sérico.

O jejum intermitente provocou hipertrofia dos adipócitos retroperitoneal independente da dieta hiperlipídica. O aumento dos adipócitos pode resultar em prejuízos, como o aumento da secreção de NF-kB e TNF-alfa, levando a uma inflamação de baixo grau, como ocorre na obesidade (MAURY , NOEL , DETRY et al 2009 ; ARNER , ANDERSSON , THORNE et al 2013), essa hipertrofia também está fortemente associada a problemas cardíacos (LAFORREST, LABRECQUE, MICHAUD et al 2015). Contudo, em humanos, a hipertrofia pode inibir a hiperplasia no tecido omental (MICHAUD , BOULET, VEILLEUX et al 2014).

Apesar da hipertrofia dos adipócitos, a massa do tecido adiposo retroperitoneal foi menor no grupo restrito padrão e observamos redução fisiológica no grupo restrito palatável comparado ao par controle palatável. É dito que a dieta hiperlipídica aumenta o acúmulo de depósito adiposo retroperitoneal (COLLIN, PASCAL CHAPADOS ET AL 2006), contudo o JI parece ter regulado esse tecido posto que o grupo RPL tende a diminuição em relação ao seu par, enquanto a redução significativa no RP se explica em parte por não ter consumido dieta hiperlipídica, lembrando que o grupo RP teve hipertrofia pós jejum e essa medida do tecido adiposo evidenciou ainda mais o efeito do JI sobre a regulação do depósito retroperitoneal. Parece-nos uma tentativa compensatória de conter a expansão do depósito. Discute-se maior oxidação lipídica do RET no JI (CHAUSSE, SOLON, CALDEIRA DA SILVA ET AL 2014). Poucos são os estudos relacionando JI e adipócitos retroperitoneal, mais próximo do nosso modelo, com JI alternado com

dieta hiperlipídica, foi observada redução do depósito epididimal (DE DEDUAL, WUEEST BORSIGOVA et al 2019)

Diante de elevada ingestão energética, ocorre a hipertrofia do adipócito (RAVUSSIN & SMITH 2002), com o propósito de aumentar células de gorduras funcionais para manter a função do tecido adiposo. Contudo, essa hipertrofia pode resultar em uma disfunção celular. É sabido, que se a energia está se acumulando em adipócitos já existentes, não havendo a diferenciação desse tecido com novas células, isso pode gerar uma resposta patológica, contribuindo para doenças metabólicas (WEYER, FOLEY, BOGARDUS et al 2000 ; DUBOIS, HEILBRONN, SMITH et al 2006) .

A necrose é uma lesão irreversível acarretando em uma disfunção tecidual. Com esse dano, há o recrutamento de macrófagos devido a inflamação no local. SHIN, JEONG, KIM et al (2015) analisou a inflamação no tecido visceral em camundongos e concluíram que essa condição leva a danos cerebrais. Além desse achado, é encontrado na literatura, que essa condição pode levar a perturbação da homeostase energética, resistência a insulina e a síndrome metabólica (LÓPEZ-JARAMILLO, GOMEZ-ARBELÁES, LÓPEZ-LÓPEZ et al., 2014)

Em humanos com elevada ingestão energética, o surgimento de doença metabólica está mais relacionado com a forma com que a gordura é armazenada do que simplesmente com a quantidade do tecido adiposo (HALLER , LEONHARDT, HANEFELD et al 1979). Essa hipertrofia é considerada um gatilho para os eventos relacionados à perda da sensibilidade à insulina tanto em indivíduos magros ou indivíduos obesos (COTILLARD, POITOU, TORCIVIA et al 2014).

Resumindo, no presente estudo, fêmeas Wistar foram submetidas à um modelo de emagrecimento a partir da cultura popular, conjugando um consumo de dieta hiperlipídica e restrição moderada alimentar, perfazendo um protocolo com dois períodos de 15 dias inicial e final com dieta hiperlipídica e período intermediário de 30 dias de restrição alimentar intermitente, tipo 3 dias livres e 2 dias restritos a 50% do controle. Verificamos que o JI melhorou a tolerância à glicose e promoveu hipertrofia adipocitária retroperitoneal, embora possamos sugerir que o JI teve potencial para conter o aumento no número de adipócitos RET. Do ponto de vista da saúde, estes resultados se contrapõem e colocam a prática do jejum intermitente

como uma estratégia que precisa ser melhor avaliada pois parece suscitar prejuízos e benefícios que demandam uma crescente nos estudos.

## 7 CONCLUSÃO

O presente estudo, que avaliou a aplicação do jejum intermitente, do tipo 3 dias livres:2 dias restritos, intercalado com períodos de dieta hiperlipídica (palatável) em fêmeas Wistar, permite sinalizar que o jejum intermitente foi capaz de promover uma tolerância a glicose contudo contribuiu para a hipertrofia dos adipócitos do RET, logo, não sendo um resultado benéfico.

## 8 REFERÊNCIAS

- AHIMA RS, Flier JS. Adipose tissue as an endocrine organ. **Trends Endocrinol Metab.** 2000;11:327-32.
- ARNER P, ANDERSSON DP, THORNE A, et al. Variations in the size of the major omentum are primarily determined by fat cell number. **J Clin Endocrinol Metab** 2013;98:E897
- ARNER P. The adipocyte in insulin resistance: key molecules and the impact of the thiazolidinediones. **Trends Endocrinol Metab** 2003;14(3):137-45.
- ARORA S. Molecular basis of insulin resistance and its relation to metabolic syndrome. In: Insulin Resistance. Rijeka, Croatia: **InTech Europe**; 2012.21;965-87
- ARRUDA AP, MILANSKI M, ROMANATTO T, et al. Hypothalamic actions of tumor necrosis factor alpha provide the thermogenic core for the wastage syndrome in cachexia. **Endocrinology.** 2010, 151:683-94.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NUTRIÇÃO. Jejum intermitente. **Parecer técnico** no 01/2019 ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NUTRIÇÃO. Estudo vê o risco do jejum intermitente de 24h por 24h. **Portal de notícias.** 2018
- BARBARROJA N, LOPEZ-PEDRERA C, GARRIDO-SANCHEZ L, et al. Progression from high insulin resistance to type 2 diabetes does not entail additional visceral adipose tissue inflammation. **PLoS One.** 2012; 7: e4815
- BELGARDT BF, BRUNING JC. CNS leptin and insulin action in the control of energy homeostasis. **Ann N Y Acad Sci** (2010)
- BURNS,S.F. LEE, S. BACHA, F. TFAYL,I H, HANNON, T.S. ARSLANIAN, S.A.. Pre-diabetes in overweight youth and early atherogenic risk. **Metabolism.** 2014 Dec;63(12):1528-35.
- CANNON B, NEDERGAARD J. Brown adipose tissue: function and physiological significance. **Physiol Rev** 2004;84:277-359.
- CHAN, J. L., BULLEN, J., LEE, J. H., YIANNAKOURIS, N., & MANTZOROS, C. S. (2004). Ghrelin Levels Are Not Regulated by Recombinant Leptin Administration and/or Three Days of Fasting in Healthy Subjects. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, 89(1), 335–343.
- CHARLES, M.A.; FANSKA, R.; SCHMID, F.G. et al. Adenosine 3',5'-monophosphate in pancreatic islets: glucose-induced insulin release. **Science**; 179 (73): 569-71,



1973. 31.

CHAUSSE, B., SOLON, C., CALDEIRA DA SILVA, C. C., MASSELLI DOS

AHIMA RS, Flier JS. Adipose tissue as an endocrine organ. **Trends Endocrinol Metab.** 2000;11:327-32..

CHIARELLI F, MARCOVECCHIO ML. Insulin resistance and obesity in childhood. **Eur J Endocrinol** 2008;159 (Suppl 1):S67-74.

CHO, Y., HONG, N., KIM, K., CHO, S. JOON, LEE, M., LEE, Y., LEE, B.-W. (2019). The Effectiveness of Intermittent Fasting to Reduce Body Mass Index and Glucose Metabolism: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Journal of Clinical Medicine.**, 8(10), 1645.

COELHO, M. OLIVEIRA, T. FERNANDES, R. Biochemistry of adipose tissue: an endocrine organ. **Endocrinology** 2013;9 (2): 191-200.

COLLIN, PASCAL, CHAPADOS, NATALIE, DUFRESNE, ELISE, CORRIVEAU, PIERRE, IMBEAULT, PASCAL, LAVOIE, JEAN-MARC. Time course of changes in in vitro lipolysis of intra-abdominal fat depots in relation to high-fat diet-induced hepatic steatosis in rats. **The British journal of nutrition.** 96. 268-75. 10.1079/BJN20061775.

COTILLARD A, POITOU C, TORCIVIA A, ET AL. Adipocyte size threshold matters: link with risk of type 2 diabetes and improved insulin resistance after gastric bypass. **J Clin Endocrinol Metab.** 2014;99: E1466–70

CRYER, P.E. Minireview. Glucagon in the pathogenesis of hypoglycemia and hyperglycemia in diabetes. **Endocrinology.**; 153 (3): 1039-48, 201

CRYER, P.E. Minireview: Glucagon in the pathogenesis of hypoglycemia and hyperglycemia in diabetes. **Endocrinology**; 153 (3): 1039-48, 2012.

DAMIANI, D. Sinalização cerebral do apetite. **Revista da Sociedade Brasileira de Clínica Médica**, v. 9, p. 138–145, 2011.

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

WUEEST, S. D. BORSIGOVA, M. KONRA, D. Intermittent fasting improves metabolic flexibility in short-term high-fat diet-fed mice. **Am J Physiol Endocrinol Metab.** 2019.1 de novembro; 317 (5): E773-E782 DIANO. S. Role of reactive oxygen

species in hypothalamic regulation of energy metabolism. **Endocrinol Metab** (2013)

DING H, ZHENG S, GARCIA-RUIZ D, HOU D, WEI Z, LIAO Z, et al. Fasting induces a subcutaneous-to-visceral fat switch mediated by microRNA-149-3p and suppression of PRDM16. **Nat Commun**. 2016;7:11533

DORIGHELLO,G.G ;ROVANI. J.C; LUHMAN.C.J.F; PAIM.B.A; RAPOSO,H.F; VERCESI,A.E; OLIVERA , H.C.F. Food restriction by intermittent fasting induces diabetes and obesity and aggravates spontaneous atherosclerosis development in hypercholesterolaemic mice. **British Journal of Nutrition**; 2014,111,979-986

DUARTE,A.C.G.O;FONSECA.D.F;MANZONI.M.S.J;SOAVE.C.F;SENEFIORERSE, M; DÂMASO,A.R; CHEIK,A.C. High-fat diet and secretory capacity of insulin in rats. **VerNutr**.v19 n.3 Campinas maio/jun.2006.

DUBOIS,S.G HEILBRONN, L.K. SMITH ,S.R, ALBU, J.B. KELLEY, D.E. RAVUSSIN, E. Diminuição da expressão de genes adipogênicos em indivíduos obesos com diabetes tipo 2. **Obesidade**.; 14 (9), 1543 a 1552 ( 2006 )

ECKEL-MAHAN, KRISTIN L. et al. Reprogramming of the circadian clock by nutritional challenge. **Cell**, v. 155, n. 7, p. 1464-1478, 2013.

EINSTEIN, F. H; ATZMON,G; YANG,x.m;MA,X.H; RINCON,M.;RUDIN,E; MUZUMDAR, R; BARZILAI,N. Differential response of visceral and subcutaneous fat depots to nutrients. **Diabetes** , v.54,n3, Mar,p.672

EPEL E, LAPIDUS R, MCEWEN B, BROWNELL K. (2001). Stress may add bite to appetite in women: a laboratory study of stress-induced cortisol and eating behavior. **Psycho neuroendocrinology** 26:37–49.

ERNST, MB;WUNDERLICH ,CM; HESS, S;PAEHLER ,M; MESAROS, A; KORALOV ,SB et al. Enhanced Stat3 activation in POMC neurons provokes negative feedback inhibition of leptin and insulin signaling in obesity. **J Neurosci** (2009)

ERSHOW ,AG. Environmental influences on type 2 diabetes and obesity: challenges in prevention and management. **J Diabetes Sci Technol**. 2009; 3 (4): 727-734.

ESSER, N.L'HOMME, L. DE ROOVER, A. et al. Obesity phenotype is related to NLRP3 inflammasome activity and immunological profile of visceral adipose tissue. **Diabetologia**. 2013;56:2487–97.

FIOLET,T; SROUR ,B; SELLEM, L; KESSE-GUYOT, E; ALLÉS ,B; MÉJEAN, C; et al. Consumption of ultraprocessed foods and cancer risk: results from nutriNet-Santé prospective cohort. **BMJ** 2018; 36:322.

FISBERG,M; MAXIMINO,P; KAIN,J.;KOVALSKYS,I. Ambiente obesogênico - oportunidades de intervenção. **J. Pediatr.**(Rio J.) vol.92 no.3 supl.1 Porto Alegre May/June 2016

FRITSCHKE KL (2015) The science of fatty acids and inflammation. **Adv. Nutr** 6, 293S–301S.

FU, Z.; GILBERT, E. R.; LIU, D. Regulation of Insulin Synthesis and Secretion and Pancreatic Beta-Cell Dysfunction in Diabetes. **Curr Diabetes.**; Rev; 9 (1): 25-53, 2013.

FUJIMORI,N. TANAKA,N. KIMURA,T. SANO,K. HORIUCHI,A. KATO,N. TAKAHASHI,Y. KURIBAYASHI,N. SUGIURA,A. YAMAZAKI,T. JOSHITA,S. UMEMURA, T. MATSUMOTO,A. TANAKA,E. Long-term luseogliflozin therapy improves histological activity of non-alcoholic steatohepatitis accompanied by type 2 diabetes mellitus. **Clinic J Gastroenterol.**; 2019,v.12,p.1-7

GARDINER, J. V., CAMPBELL, D., PATTERSON, M., KENT, A., GHATEI, M. A., BLOOM, S. R., & BEWICK, G. A. (2010). The Hyperphagic Effect of Ghrelin Is Inhibited in Mice by a Diet High in Fat. **Gastroenterology**, 138(7), 2468–2476.e1. doi:10.1053/j.gastro.2010.02.012

HACZEYNI, F.; BELL-ANDERSON, K. S.; FARRELL, G. C. Causes and mechanisms of adipocyte enlargement and adipose expansion. **Obes Rev**, Dec 2017. ISSN 1467-789X

HALBERG, N., HENRIKSEN, M., SÖDERHAMN, N., STALLKNECHT, B., PLOUG, T., SCHJERLING, P., & DELA, F. (2005). Effect of intermittent fasting and refeeding on insulin action in healthy men. **Journal of Applied Physiology**, 99(6), 2128–2136.

HALL,K.D;AYUKETAH. A;BRYCHTa,R; WALTER,P.J;YANG,S; ZHOU,M.Ultra-Processed Diets Cause Excess Calorie Intake and Weight Gain: An Inpatient Randomized Controlled Trial of Ad Libitum Food Intake. **Cell Metabolism** 30, 1-11, August 6,2019Haller

HARDAWAY, J.A; HALLADAY,R.L; MAZZONE,C.M;BULIK,C.M;HOLMES,A; KASH,T.L. Central Amygdala Prepronociceptin-Expressing Neurons Mediate Palatable Food Consumption and Reward. **Neuron** 102,1-16,June 5,2019

HARVIE M, WRIGHT C, PEGINGTON M, MCMULLAN D, MITCHELL E, MARTIN B, et al. The effect of intermittent energy and carbohydrate restriction v. Daily energy

restriction on weight loss and metabolic disease risk markers in overweight women.

**Br. J. Nutr.** 2013;110: 1534–47

HARVIE MN, PEGINGTON M, MATTSON MP, FRYSTYK J, DILLON B, EVANS G, et al. The effects of intermittent or continuous energy restriction on weight loss and metabolic disease risk markers: a randomized trial in young overweight women. **Int J Obes.** 2011;35:714–27

HASSAN, H.R.; BOURRON, O.; HAJDUCH, E. Defect of insulin signal in peripheral tissues: Important role of ceramide. **World J Diabetes;** 15; 5 (3): 244-57, 2014.

HERMSDORFF,H.H.M; MONTEIRO,J.B.R. Gordura visceral, subcutânea ou intramuscular: onde está o problema?. **Arq Bras Endocrinol Metab** vol 48 nº 6 Dezembro 2004

HEYMSFIELD ,SB;HU ,HH; SHEN W;CARMICHAEL, O. Emerging technologies and their applications in lipid compartment measurement. **Trends Endocrinol Metab.,** 2015;26:688-98.

KLAAUW, AA; FAROOQI, IS. The hunger genes: pathways to obesity. **Cell** 2015;161:119-32.

HIGASHIDA, K., FUJIMOTO, E., HIGUCHI, M., & TERADA, S. (2013). Effects of alternate-day fasting on high-fat diet-induced insulin resistance in rat skeletal muscle. **Life Sciences,** 93(5-6), 208–213. doi:10.1016/j.lfs.2013.06.007

HOLLAND WL, et al. Lipid-induced insulin resistance mediated by the proinflammatory receptor TLR4 requires saturated fatty acid-induced ceramide biosynthesis in mice. **The journal of clinical investigation .;**2011;121(5)

HOTAMISLIGIL, G.S.; SHARGILL, N.S.; SPIEGELMAN, B.M. Adipose expression of tumor necrosis factor- $\alpha$ : Direct role in obesity-linked insulin resistance. **Science.**;1993, 259, 87–91, doi:10.1126/science.7678183. HRUBY, A., & HU, F. B.

(2014). The Epidemiology of Obesity: A Big Picture. **PharmacoEconomics,** 33(7), 673–689. doi:10.1007/s40273-014-0243-x

HUTTON ,JC;DAVIDSON ,HW. Ciclagem induzida por citocinas e splicing na célula  $\beta$  e a resposta imune na diabetes tipo 1. **Diabetes.** 2010; 59 (2): 335-336.

IBGE. **Pesquisa de orçamentos familiares (POF 20017-20018).**

ITOH M, SUGANAMI T, HACHIYA R, OGAWA Y. Adipose tissue remodeling as homeostatic inflammation. **Int J Inflamm.** 2011;2011:720926.

IWAKURA, H., AKAMIZU,T., ARIYASU,H. et al. Efeitos da administração de grelina

na diminuição do status do hormônio do crescimento em animais obesos. **Am J Physiol Endocrinol Metab.** 2007 ; 293: E819-E825

KAHN, B.B.; FLIER, J.S. Obesity and insulin resistance. **J Clin Invest;** 106 (4): 473-81, 2000.

KASUGA ,M. Resistência à insulina e insuficiência de células  $\beta$  pancreáticas. **J Clin Invest.** 2006; 116 (7): 1756-1760.

KERSTEN,S. SEYDOUX, J. PETERS ,J.M. GONZALEZ ,F.J., DESVERGNE ,B., WAHLI,W. Peroxisome proliferator-activated receptor alpha mediates the adaptive response to fasting. **Journal of Clinical Investigation.**1999;103:1489-1498

KLEMPPE,L.M.C,KROEGER,C.M,BHUTANI,S,etal. Intermittent fasting combined with calorie restriction is effective for weight loss and cardio-protection in obese women. **Nutr J.**2012;11:98. doi:10.1186/1475-2891-11-98.

KOCOT,J; DZIEMIDOK, P; KIEŁCZYKOWSKA, M; HORDYJEWSKA, A; SZCZEŚNIAK, G., & MUSIK, I. (2017). Adipokine Profile in Patients with Type 2 Diabetes Depends on Degree of Obesity. **Medical Science Monitor**, 23

.KREIER F, FLIERS E, VOSHOL PJ, EDEN CG, HAVEKES LM, KALSBECK A, et al. Selective parasympathetic innervation of subcutaneous and intra-abdominal fat – functional implications. **J Clin Invest.** 2002;110:1243-50.

KUNEŠOVÁ, M. et al. Fatty Acid Composition of Adipose Tissue Triglycerides After Weight Loss and Weight Maintenance: the diogenes Study. **Physiol Res**, v.61, n.6, p.597–607, 2012.

LAFONTAN, M.; LANGIN, D. Lipolysis and lipid mobilization in human adipose tissue. **Progr Lip Res**, v.48, p. 275–297, 2009.

LAFOREST, S., LABRECQUE, J., MICHAUD, A., CIANFLONE, K., & TCHERNOF, A. (2015). Adipocyte size as a determinant of metabolic disease and adipose tissue dysfunction. **Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences**, 52(6), 301–313.

LEE HY, DESPRES JP, KOH KK. **Perivascular adipose tissue in the pathogenesis of cardiovascular disease. Atherosclerosis.**; 2013 Oct;230(2):177-

84.LESSAN, & ALI. (2019). Energy Metabolism and Intermittent Fasting: The Ramadan Perspective. **Nutrients**, 11(5), 1192. doi:10.3390/nu11051192

LI, G., XIE, C., LU, S., NICHOLS, R. G., TIAN, Y., LI, L.,GONZALEZ, F. J. (2017). Intermittent Fasting Promotes White Adipose Browning and Decreases Obesity by Shaping the Gut Microbiota. **Cell Metabolism**, 26(4), 672–685.e4.

doi:10.1016/j.cmet. 2017.08.019

LIU, B., PAGE, A. J., HATZINIKOLAS, G., CHEN, M., WITTERT, G. A., & HEILBRONN, L. K. (2018). Intermittent Fasting Improves Glucose Tolerance and Promotes Adipose Tissue Remodeling in Male Mice Fed a High-Fat Diet. **Endocrinology**, *160*(1), 169–180. doi:10.1210/en.2018-00701

LOPEZ ,M; ALVAREZ ,CV; NOGUEIRAS, R; DIEGUEZ ,C. Energy balance regulation by thyroid hormones at central level. **Trends Mol Med** (2013)

MARCOLIN, M. DE L., BENITZ, A. DE N. D., ARCEGO, D. M., NOSCHANG, C., KROLOW, R., & DALMAZ, C. (2012). Effects of early life interventions and palatable diet on anxiety and on oxidative stress in young rats. **Physiology & Behavior**, *106*(4), 491–498. doi:10.1016/j.physbeh.2012.03.025

MARTINS, F; CAMPOS,D.H.S; PAGAN, L.U; MARTINEZ,P.F; OKOSHI,K; OKOSHI,M.P; PADAVANI,C.R; SOUZA, A.S; CICOGNA, OLIVEIRA, S.A. Dieta hiperlipídica promove remodelação cardíaca em modelo experimental de obesidade.**Arq. Bras. Cardiol.** 2015, vol.105, n.5, pp.479-486.doi:10.5935/abc.20150095

MATTSON, M.P. ALLISON, D.B.; FONTANA, L. et al. Meal frequency and timing in health and disease. **Proc Natl Acad Sci U S A**; 111(47): 16647-53, 2014.

MAURY E, NOEL L, DETRY R, BRICHARD SM. In vitro hyperresponsiveness to tumor necrosis factor-alpha contributes to adipokine dysregulation in omental adipocytes of obese subjects. **J Clin Endocrinol Metab** 2009;94:1393–400.

MAZZOTTI, A., CALETTI, M. T., BRODOSI, L., DI DOMIZIO, S., FORCHIELLI, M. L., PETTA, S., MARCHESINI, G. (2018). An internet-based approach for lifestyle changes in patients with NAFLD: Two-year effects on weight loss and surrogate markers. **Journal of Hepatology**. doi:10.1016/j.jhep.2018.07.013

MCCRIMMON, R. The mechanisms that underlie glucose sensing during hypoglycaemia in diabetes. **Diabet Med**; 25: 513522, 2008.

MCLAUGHLIN, T.; CRAIG, C.; LIU, L.F.; PERELMAN, D.; ALLISTER, C.; SPIELMAN, D.; CUSHMAN, S.W. Adipose cell and regional fat deposition as predictors of metabolic response to overfeeding in insulin resistant and insulin-sensitive humans. **Diabetes.**; 2016, 65, 1245–1254

MENDONÇA, RD; LOPES, ACS; PIMENTA, AM; GEA, A; MARTINEZ-GONZALES ,MA; RASTROLLO ,MB. Ultra-processed food consumption and the incidence of

hypertension in a Mediterranean cohort: the Seguimiento Universidad de Navarra Project. **Am J Hypertens** 2017; 30:358-66.

MENEZES; A. M. B; OLIVEIRA, P. D.; WEHRMEISTER, F. C.; ASSUNÇÃO, M; C. F., OLIVEIRA, I. O., TOVO-RODRIGUES, L., GONÇALVES, H. (2019). Association of modifiable risk factors and IL-6, CRP, and adiponectin: Findings from the 1993 Birth Cohort, Southern Brazil. **PLOS ONE**, 14(5), e0216202. doi:10.1371/journal.pone.0216202

MICHAUD A, BOULET MM, VEILLEUX A, et al. Abdominal subcutaneous and omental adipocyte morphology and its relation to gene expression, lipolysis and adipocytokine levels in women. **Metabolism** 2014;63:372–81.

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

MIRIAM, H. FONSECA-ALANIZ. TAKADA, J. Alonso-Vale, M. LIMA, F. B. O Tecido Adiposo Como Centro Regulador do Metabolismo. Departamento de Fisiologia e Biofísica, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP. **Arq Bras Endocrinol Metab** vol 50 nº 2 Abril 2006

MULUKUTLA, B. C., YONGKY, A., LE, T., MASHEK, D. G., & HU, W.-S. (2016). Regulation of Glucose Metabolism – A Perspective From Cell Bioprocessing. **Trends in Biotechnology**, 34(8), 638–651.

NASER, KA; GRUBER, A; THOMSON, GA. The emerging pandemic of obesity and diabetes: are we doing enough to prevent a disaster? **Int J Clin Pract**. 2006;60(9):1093–1097.

NEWELL-PRICE, J. BERTAGNA, X. DISGUSTING MAN, A. B. NIEMAN, L. K. Cushing's syndrome. **Lancet**., 2006; 367 (9522): 1605-1617

NISSEN SE, TSUNODA T, TUZCU EM, SCHOENHAGEN P, COOPER CJ, YASIN M, et al. Effect of recombinant ApoA-I Milano on coronary atherosclerosis in patients with acute coronary syndromes: a randomized controlled trial. **JAMA**. 2003; 290: 2292-300

OMS. Obesity and overweight. **World health organization**. February 2018. ORCI, L. A., GARIANI, K., OLDANI, G., DELAUNE, V., MOREL, P., & TOSO, C. (2016). Exercise-based Interventions for Nonalcoholic Fatty Liver Disease: A Meta-

analysis and Meta-regression. **Clinical Gastroenterology and Hepatology**, 14(10), 1398–1411.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. Aumento do sobrepeso e obesidade em adultos. **OMS.**; 2016

PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION; World Health Organization. Ultra-processed food and drink products in Latin America: trends, impact on obesity, policy implications. **Washington DC: Pan American Health Organization**; 2015.

PARK, S., AHN, I. S., & KIM, D. S. (2010). Central infusion of leptin improves insulin resistance and suppresses  $\beta$ -cell function, but not  $\beta$ -cell mass, primarily through the sympathetic nervous system in a type 2 diabetic rat model. **Life Sciences**, 86(23-24), 854–862

PARK, Sunmin et al. Intermittent fasting reduces body fat but exacerbates hepatic insulin resistance in young rats regardless of high protein and fat diets. **The Journal Of Nutritional Biochemistry**, [s.l.], v. 40, p.14-22, out. 2016.

PEDERSEN, J.I. et al. Adipose tissue fatty acids and risk of myocardial infarction - a case-control study. **Eur J Clin Nutr**, v.54, 618-625, 2000.

PERSYNAKI, A; KARRAS ,S; PICHARD, C. Unraveling the metabolic health benefits of fasting related to religious beliefs: a narrative review. **Nutrition**. 2017;35:14–20.

PORET, J. M., SOUZA-SMITH, F., MARCELL, S. J., GAUDET, D. A., TZENG, T. H., BRAYMER, H. D.,PRIMEAUX, S. D. (2017). High fat diet consumption differentially affects adipose tissue inflammation and adipocyte size in obesity-prone and obesity-resistant rats. **International Journal of Obesity**,. 2015; 29 (5): 661-670

PRIOR RL, WU X, GU L, HAGER TJ, HAGER A, HOWARD LR. Whole Berries versus Berry Anthocyanins: interactions with dietary fat levels in the C57BL/6J mouse model of obesity. **J Agric Food Chem**. 2008;56:647-53.

PROCACCINI,C; LA ROCCA,C; CARBONE ,F; DE ROSA,V; GALGANI ,M; MATARESE,G. Leptin as immune mediator: interaction between neuroendocrine and immune system, **Dev. Comp. Immunol**. 66 (2017) 120–129

QUEIROZ, J. C. F. DE; ALONSO-VALE, M.I.C; CURI,R; LIMA, B. L. Controle da adipogênese por ácidos graxos. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 53, n. 5, p. 582–594, jul. 2009. GUICCIARDI, M. E. Apoptosis: a mechanism of acute and chronic liver injury. **Gut**, v. 54, n. 7, p. 1024–1033, 1 jul. 2005.



LIMA,P.L ; VIERA, A.L.R .Doença hepática gordurosa não alcoólica, hormônios e exercício físico: uma abordagem fisiológica. **Revista Brasileira de Fisiologia do Exercício**, v. 16, n. 5, p. 304–318, 2017.

ISHIMOTO, T. et al. High-fat and high-sucrose (western) diet induces steatohepatitis that is dependent on fructokinase. **Hepatology**, v. 58, n. 5, p. 1632–1643, 8 out. 2013.

SIQUEIRA, D. G. B. et al. Diferenças entre sexos nos determinantes da obesidade abdominal em adultos de 40 anos ou mais: estudo de base populacional. **Revista de Nutrição**, v. 28, n. 5, p. 485–496, out. 2015.

RAVUSSIN, E. SMITH, S.R. O aumento da ingestão de gordura, a oxidação diminuída da gordura e a falha na proliferação das células de gordura resultam em armazenamento de gordura ectópica, resistência à insulina e diabetes mellitus tipo 2. **Ann. NY Acad. Sci.** 967, 363 -378 ( 2002 ).

RIBEIRO AJS, YANG X, PATEL V, MADABUSHI R, STRAUSS DG. Liver Microphysiological Systems for Predicting and Evaluating Drug Effects. **Clin. Pharmacol. Ther.** 2019 Jul;106(1):139-147.

ROSENBAUM ,M; PIETROBELLI ,A; VASSELI ,JR; HEYMSFIELD,SB;LEIBEL, RL. Sexual dimorphism in circulating leptin concentration is not accounted for by differences in adipose tissue distribution. **Int J Obes Relat Metab Disord.**; 2001;25:1365-71.

ROSITO, GA; MASSARO, JM; HOFFMANN, U;RUBERG ,FL; MAHABADI ,AA; VASAN, RS; O'DONNELL, CJ;FOX,CS. Pericardial fat, visceral abdominal fat, cardiovascular disease risk factors and vascular calcification in a community-based sample: the study of the framed heart. **Circulation.** 2008; 117: 60

SAVASTANO DM & COVASA M (2005) Adaptation to a high-fat diet leads to hyperphagia and diminished sensitivity to cholecystokinin in rats. **J Nutr** 135, 1953–1959.

SCARPACE,PJ; ZHANG, Y. Leptin resistance: a predisposing factor for diet-induced obesity. **I am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.** 2009; 296 (3): R493-R500.

SCHAAB, M; KRATZSCH, J. The soluble leptin receptor. **Endocr Rev**, v.32, p.272–311, 2011. T

SHIN, B. K., KANG, S., KIM, D. S., & PARK, S. (2018). Intermittent fasting protects against the deterioration of cognitive function, energy metabolism and dyslipidemia

in Alzheimer's disease-induced estrogen deficient rats. **Experimental Biology and Medicine**, 243(4).

SOETERS, M.R.; LAMMERS, N.M.; DUBBELHUIS, P.F.; ACKERMANS, M.T.; JONKERS-SCHUIJTEMA, C.F.; FLIERS, E.; SAUERWEIN, H.P.; AERTS, J.M.; SERLIE, M.J. Intermittent fasting does not affect whole-body glucose, lipid, or protein metabolism. **Am J Clin Nutr.**; 2009;90:1244-51.

SPALDING, K.L.; ARNER, E.; WESTERMARK, P.O., et al. Dynamics of fat cell turnover in humans. **Nature**. 2008;453:783–7

SPELIOTES, EK; WILLER, CJ; BERNDT, SI; MONDA, KL; THORLEIFSSON, G; PHILLIPS, LS; RATNER, RE; BUSE, JB; KAHN, SE. We can change the natural history of type 2 diabetes. **Diabetes Care** 2014;37:2668–2676

SPELIOTES, EK; WILLER, CJ; BERNDT, SI; MONDA, KL; THORLEIFSSON, G; JACKSON, AU, et al. Association analyses of 249,796 individuals reveal 18 new loci associated with body mass index. **Nat Genet.** 2010;42(11):937–48.

SPRAGUE, J.E.; ARBELÁEZ, A.M. Glucose counterregulatory responses to hypoglycemia. **Pediatr Endocrinol Rev**; 9 (1): 46373; quiz 474-5, 2011.

STANLEY, S.; WYNNE, K.; MCGOWAN, B.; BLOOM, S. Hormonal regulation of food intake. **Physiol Rev** (2005) 85:1131–58. doi:10.1152/physrev.00015.2004

STEPHENS, J. M. The fat controller: adipocyte development. **PLoS Biol**, v. 10, n. 11, p. e1001436, 2012. ISSN 1545-7885.

STIENSTRA, R.; STEFAN, N. Tipping the inflammatory balance: inflammasome activation distinguishes metabolically unhealthy from healthy obesity. **Diabetologia**. 2013;56:2343–6. 40.

SUTTER, A. G., PALANISAMY, A. P., LENCH, J. H., JESSMORE, A. P., & CHAVIN, K. D. (2015). Development of steatohepatitis in Ob/Ob mice is dependent on Toll-like receptor 4. **Annals of Hepatology**, 14(5), 735–743.

SWINBURN, BA; SACKS, G; HALL, KD; et al. The global obesity pandemic: shaped by global drivers and local environments. **Lancet** 2011;378(9793):804–14.

TAKAHASHI, KA; CONE, RD. Fasting induces a large, leptin-dependent increase in the intrinsic action potential frequency of orexigenic arcuate nucleus neuropeptide Y/agouti-related protein neurons. **Endocrinology**. 2005;146:1043–1047

TANG, H.-N., TANG, C.-Y., MAN, X.-F., TAN, S.-W., GUO, Y., TANG, J., ZHOU, H.-D. (2017). Plasticity of adipose tissue in response to fasting and refeeding in male

mice. **Nutrition & Metabolism**, 14(1). doi:10.1186/s12986-016-0159-x TCHKONIA ,T; THOMOU ,T;ZHU, Y et al. Mechanisms and metabolic implications of regional differences among fat depots. **Cell Metab** 2013;17:644-56.

ROTHEMUND,Y. PREUSCHHOF, C. BOHNER,G. BAUKNECHT,H.C. KLINGEBIEL,R. FLOR,H. *et al.*Differential activation of the dorsal striatum by high-calorie visual food stimuli in obese individuals. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, v.279, p.E83-E87, 2000.

VAN HAEFTEN, TW; PIMENTA ,W; MITRAKOU, A et al. Relative contributions of beta-cell function and tissue insulin sensitivity to fasting and postglucose-load glycemia. **Metabolism.**; 2000;49:1318–1325

VERBERNE, A.J.; SABETGHADAM, A.; KORIM, W.S. neural pathways that control the glucose counterregulatory response. **Front Neurosci**; 26 (8): 38, 2014.

VERBERNE, A.J.; SABETGHADAM, A.; KORIM, W.S. Neural pathways that control the glucose counterregulatory response. **Front Neurosci**; 26 (8): 38, 2014.

WAN R, WEIGAND LA, BATEMAN R, GRIFFIOEN K, MENDELOWITZ D, MATTSON MP. Evidence that BDNF regulates heart rate by a mechanism involving increased brainstem parasympathetic neuron excitability. **J. Neurochem.** 2014;129:573–580

WAN, R; CAMANDOLA, S; MATTSON, M.P; 2003. Intermittent food deprivation improves cardiovascular and neuroendocrine responses to stress in rats. **J. Nutr.** 133, 1921–1929

WARD, WK; BOLGIANO ,DC;MCKNIGHT, B; HALTER, JB;PORTE, D ,Jr..Decreased ability of B-cell secretion in patients with non-insulin dependent diabetes mellitus. **J Clin Invest.**; 1984; 74 : 1318–1328

WEYER, C. FOLEY,J.E. BOGARDUS, C. TATARANNI, P.A. PRATLEY, R.E. O tamanho adipocitário abdominal subcutâneo aumentado, mas não a obesidade, prediz diabetes tipo II independente da resistência à insulina. **Diabetologia**, 43 (12), 1498 -1506 ( 2000 )

XU, H; BARNES, G.T; YANG,Q; TAN,G; YANG,D; CHOU,C.J; SOLE,J; NICHOLS,A; ROSS,J.S; TARTAGLIA,L.A; CHEN,H. Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance. **J Clin Invest**;2003;112(12):1821-30

- YAN, F., WANG, Q., XU, C., CAO, M., ZHOU, X., WANG, T., ZHAO, J. (2014). Peroxisome Proliferator-Activated Receptor  $\alpha$  Activation Induces Hepatic Steatosis, Suggesting an Adverse Effect. **PLoS ONE**, 9(6), e99245.
- YAN, L. J. Pathogenesis of chronic hyperglycemia: from reductive stress to oxidative stress. **J Diabetes Res**; 2014: 137919, 2014.
- YANG W, CAO M, MAO X ET AL. (2016) Alternate-day fasting protects the livers of mice against high-fat diet-induced inflammation associated with the suppression of Toll-like receptor 4/nuclear factor  $\kappa$ B signaling. **Nutr Res** 36, 586–593.
- YANG, Q., VIJAYAKUMAR, A., & KAHN, B. B. **Metabolites as regulators of insulin sensitivity and metabolism. Nature Reviews Molecular Cell Biology**, 2018
- YE, J. Emerging role of adipose tissue hypoxia in obesity and insulin resistance. **Int J Obes**, v.33,p.54–66, 2009.
- ZEYDA, M. et al. Treatment with long chain n-3 polyunsaturated fatty acids improves adipose tissue hypoxia and alters macrophage polarization in severely obese subjects. **Exp Clin Endocrinol Diabetes**, v.120, p.A39, 2012.
- ZHANG, L.-N. et al. Physiological and behavioral responses to intermittent starvation in C57BL/6J mice. **Physiology & Behavior**, v. 105, n. 2, p. 376–387, 2012b.
- ZORZANO, A.; CLARET, M. Implications of mitochondrial dynamics on neurodegeneration and on hypothalamic dysfunction. **Front Aging Neurosci**, 2015.

## 9 ANEXOS

### 9.1 Aprovação do Comitê de Ética e Uso dos Animais



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO  
CAMPUS UFRJ-MACAÉ  
Professor Aloísio Teixeira



Macaé, 17 de Dezembro de 2015

Prezado

A Comissão de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal do Rio de Janeiro – Campus UFRJ – Macaé Prof. Aloísio Teixeira certifica que o projeto sob sua coordenação e intitulado **"Efeito de nutrientes, plantas, algas e atividade física sobre a lipogênese, regulação da ingestão alimentar, programação metabólica e marcadores de síndrome metabólica."**, onde é previsto protocolo com utilização de animais, foi aprovado por esta comissão, sob o número de referência MAC030 possuindo validade de 4 (quatro) anos.

Atenciosamente,

Prof. Andre Gustavo Calvano Bonavita  
Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais  
SIAPE: 2738212  
Campus UFRJ – Macaé Prof. Aloísio Teixeira

## 9.2 Certificados dos trabalhos apresentados

