

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
Escola de Enfermagem  
Programa de Pós-graduação em Nutrição e Saúde

Karin Alessandra Honorato

**Efeito do jejum agudo no período ativo sobre os peptídeos gastrointestinais  
em mulheres eutróficas e com obesidade**

Belo Horizonte, MG

2023

Karin Alessandra Honorato

**Efeito do jejum agudo no período ativo sobre os peptídeos gastrointestinais  
em mulheres eutróficas e com obesidade**

Dissertação apresentada à Pós-graduação em  
Nutrição e Saúde da Escola de Enfermagem da  
Universidade Federal de Minas Gerais, como  
requisito parcial à obtenção do título de Mestre em  
Nutrição e Saúde.

**Linha de Pesquisa: Nutrição Clínica e Experimental**  
**Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup>. Adaliene Versiani Matos Ferreira**  
**Coorientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup>. Ana Leticia Malheiros Silveira**

Belo Horizonte - MG  
2023

H774e Honorato, Karin Alessandra.  
Efeito do jejum agudo no período ativo sobre os peptídeos gastrointestinais em mulheres eutróficas e com obesidade [recursos eletrônicos]. / Karin Alessandra Honorato. - - Belo Horizonte: 2023.  
90f.: il.  
Formato: PDF.  
Requisitos do Sistema: Adobe Digital Editions.

Orientador (a): Adaliene Versiani Matos Ferreira.  
Coorientador (a): Ana Leticia Malheiros Silveira.  
Área de concentração: Nutrição e Saúde.  
Dissertação (mestrado): Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Enfermagem.

1. Receptores dos Hormônios Gastrointestinais. 2. Jejum. 3. Obesidade. 4. Adipocinas. 5. Fome. 6. Dissertação Acadêmica. I. Ferreira, Adaliene Versiani Matos. II. Silveira, Ana Leticia Malheiros. III. Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Enfermagem. IV. Título.

NLM: WK 170

Bibliotecário responsável: Fabian Rodrigo dos Santos CRB-6/2697



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

ESCOLA DE ENFERMAGEM  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO E SAÚDE

**ATA DE NÚMERO 98 (NOVENTA E OITO) DA SESSÃO DE ARGUIÇÃO E DEFESA DA DISSERTAÇÃO APRESENTADA PELA CANDIDATA KARIN ALESSANDRA HONORATO PARA OBTENÇÃO DO TÍTULO DE MESTRE EM NUTRIÇÃO E SAÚDE.**

Aos 29 (vinte e nove) dias do mês de setembro de dois mil e vinte e três, às 14:00 horas, realizou-se no Auditório da Pós-Graduação (sala 432) da Escola de Enfermagem da Universidade Federal de Minas Gerais, a sessão pública para apresentação e defesa da dissertação **"EFEITO DO JEJUM AGUDO NO PERÍODO ATIVO SOBRE OS PEPTÍDEOSGASTROINTESTINAIS EM MULHERES EUTRÓFICAS E COM**

**OBESIDADE"**, da aluna *Karin Alessandra Honorato*, candidata ao título de “Mestre em Nutrição e Saúde”, linha de pesquisa “Nutrição Clínica e Experimental”. A Comissão Examinadora foi constituída pela Profa. Dra. Adaliene Versiani Matos Ferreira, Dra. Ana Leticia Malheiros Silveira, Dra. Lais Bhering Martins e Profa. Dra. Simone de Vasconcelos Generoso, sob a presidência da primeira. Abrindo a sessão, a Senhora Presidente da Comissão, após dar conhecimento aos presentes do teor das Normas Regulamentares do Trabalho Final, passou a palavra à candidata para apresentação de seu trabalho. Seguiu-se a arguição pelos examinadores com a respectiva defesa da candidata. Logo após, a Comissão se reuniu sem a presença da candidata, para julgamento e expedição do seguinte resultado final:

APROVADO;

APROVADO COM AS MODIFICAÇÕES CONTIDAS NA FOLHA EM ANEXO;  REPROVADO.

O resultado final foi comunicado publicamente à candidata pela Senhora Presidente da Comissão. Nada mais havendo a tratar, eu, Adaliene Versiani Matos Ferreira, Presidente da Comissão Examinadora, lavrei a presente Ata, que depois de lida e aprovada será assinada por mim e pelos demais membros da Comissão Examinadora.

**Belo Horizonte, 29 de setembro de 2023.**

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Adaliene Versiani Matos Ferreira  
Orientadora (UFMG)

Dr<sup>a</sup>. Ana Leticia Malheiros Silveira  
Coorientador (UFMG)

Dr<sup>a</sup>. Lais Bhering Martins  
Membro Titular (UTHealth Houston)

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Simone de Vasconcelos Generoso  
Membro Titular (UFMG)



Documento assinado eletronicamente por **Adaliene Versiani Matos Ferreira, Coordenador(a) de curso de pós-graduação**, em 26/10/2023, às 09:52, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Ana Leticia Malheiros Silveira, Usuária Externa**, em 26/10/2023, às 10:43, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Lais Bhering Martins, Usuário Externo**, em 27/10/2023, às 04:33, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Simone de Vasconcelos Generoso, Professora do Magistério Superior**, em 08/11/2023, às 18:26, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).

A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [https://sei.ufmg.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **2731855** e o código CRC **13D97EA4**.

## AGRADECIMENTOS

A Deus, à todas as forças espirituais e da vida que me guiaram e me fortaleceram para não desistir de realizar este sonho.

Ao meu marido Antonio, aos meus filhos Achille e Maria Catarina e à minha mãe Edna, que estiveram ao meu lado, me apoiando e me ajudando sempre nos meus períodos de ausência para estudar.

Aos meus colaboradores e pacientes da Clínica Trinutrix, que tanto me ajudaram e compreenderam minha ausência para honrar meus compromissos com este curso.

A minha admirável nutricionista, mestre, orientadora e pessoa, a professora Adaliene Versiani Ferreira, que abriu as portas para esta oportunidade e me recebeu com carinho para realizar o sonho de estar nesta instituição, sendo orientada por ela, que sempre foi uma profissional exemplar, com tantos conhecimentos e sabedoria. Agradeço os aprendizados recebidos com sua capacidade única de ensinar e acima de tudo sua magia e elegância para orientar, apoiar e corrigir, me mostrando também os ensinamentos de uma pessoa sábia, mas acima de tudo, humana e nobre.

A minha espetacular coorientadora Ana Letícia Malheiros Silveira, que conseguiu com sua experiência de mestre estar ao meu lado em todos os momentos desta caminhada. Aninha foi um anjo especial nesta história, me ensinando com disciplina, dedicação e carinho. Me ensinou a nobre arte de superar as dificuldades com humor, curtindo todo o processo do curso.

Aos participantes do grupo Imunometabolismo pelas trocas, carinhos e ajudas constantes em especial para Jennefer Tibaes que me permitiu participar do seu projeto de pesquisa, Laís Bhering que também me ajudou a entrar no grupo, Gabriela Barbosa Fagundes com seus ensinamentos e atenção, Ana Maria Rodrigues com suas dicas valiosas, Joyce com sua disposição a todo momento para colaborar, Paula Palhares e Wagner Reis pelo apoio emocional e humano nas dificuldades e apoio com as tarefas, Mariele e Adma pelas tantas contribuições.

A Universidade Federal de Minas Gerais que me recebeu para realizar o sonho de fazer parte da sua instituição e me proporcionou excelentes professores na pós graduação, que também agradeço por receber tantos ensinamentos em cada disciplina.

## RESUMO

**Introdução:** A prática do jejum tem mostrado resultados benéficos no que diz respeito aos parâmetros metabólicos e perda de peso. Essa prática tem sido frequentemente realizada ao longo do dia, durante as atividades de vida diária dos indivíduos. Dentre os efeitos do jejum sobre o metabolismo intermediário, destaca-se seu potencial em modular a secreção de peptídeos gastrointestinais relacionados ao controle da fome e regulação metabólica. Por outro lado, é desconhecido os efeitos do jejum agudo durante as atividades de vida diária, diferentemente do realizado durante a noite, e ainda se indivíduos eutróficos e com obesidade respondem da mesma forma. **Objetivo:** Investigar o efeito do jejum agudo realizado durante o período ativo sobre os peptídeos gastrointestinais em mulheres eutróficas e com obesidade. **Métodos:** Trata-se de ensaio clínico não randomizado, estratificado por estacionutricional em dois grupos de acordo com o Índice de Massa Corporal (IMC): (i) grupo eutrófico (IMC > 18,5 kg/m<sup>2</sup> e < 24,9 kg/m<sup>2</sup>) e (ii) grupo obesidade (IMC > 35 kg/m<sup>2</sup>). A amostra foi composta por mulheres adultas, com idade entre 18 a 60 anos. A avaliação inicial foi realizada no período da manhã, após 10h de jejum noturno, em que as seguintes medidas foram aferidas e os dados pessoais foram coletados: antropometria, calorimetria indireta e composição corporal. As participantes foram submetidas à coleta de 5 mL de sangue, para análise dos peptídeos gastrointestinais (GIP, GLP-1, PP, PYY e grelina), adiponectina, insulina (glicose e índices HOMA). Em seguida, foi ofertado desjejum padronizado com valor calórico correspondente a 20% da necessidade energética estimada calculada após a coleta dos dados iniciais. Após, as voluntárias foram dispensadas para realização das atividades diárias habituais e foi orientado a manutenção do jejum por 10h ao longo do dia. As voluntárias retornaram ao final do dia para repetição dos procedimentos realizados na primeira avaliação e coleta de sangue. As análises estatísticas foram efetuadas com o auxílio dos programas *Statistical Package for the Social Sciences for Windows Student Version*® (SPSS) versão 20.0 e os gráficos foram criados por meio do programa *GraphPad Prism* versão 8.0.1, adotando-se nível de significância de 5%. **Resultados:** 54 mulheres foram incluídas no estudo, sendo 29 no grupo eutrófico e 25 no grupo com obesidade. O jejum no período ativo promoveu redução nas concentrações de insulina e adiponectina e nos índices HOMA-IR e HOMA-BETA, além de aumento no polipeptídeo pancreático (PP) circulante, tanto nas mulheres eutróficas como nas mulheres com obesidade. Somente o grupo com obesidade teve redução na leptina e aumento no peptídeo-1 semelhante ao glucagon (GLP-1) após o jejum diurno. Entre os grupos, eutrofia versus obesidade, as concentrações de leptina e insulina foram maiores no grupo obesidade após o jejum no período ativo. Já os peptídeos GIP, grelina e peptídeo YY (PYY) não tiveram mudanças após o jejum no período ativo quando comparados ao jejum noturno. **Conclusão:** O jejum durante as

atividades diárias diminui os hormônios anorexígenos insulina e leptina. No entanto, também aumenta o PP e o GLP-1, especialmente em mulheres com obesidade. O jejum durante as atividades diárias pode reorganizar uma intrincada rede de sinais endócrinos que de alguma forma podem modular o comportamento alimentar homeostático e hedônico.

**Palavras- chave:** Jejum no período ativo; Obesidade; Peptídeos gastrointestinais e adipocitocinas.

## ABSTRACT

**Introduction:** Fasting practice has shown beneficial results concerning metabolic parameters and weight loss. This practice is often performed throughout the day during individuals daily life activities. Among the effects of fasting on intermediary metabolism, its potential to modulate the secretion of gastrointestinal peptides related to hunger control and metabolic regulation stands out. On the other hand, the effects of acute fasting during daily activities, unlike fasting during the night, and whether eutrophic and individuals with obesity respond in the same way are unknown. **Objective:** To investigate the effect of acute fasting during the active period on gastrointestinal peptides in eutrophic women and with obesity. **Methods:** This was a non-randomized clinical trial, stratified by nutritional status into two groups according to Body Mass Index (BMI): (i) eutrophic group ( $BMI > 18.5 \text{ kg/m}^2$  and  $< 24.9 \text{ kg/m}^2$ ) and (ii) group with obesity ( $BMI > 35 \text{ kg/m}^2$ ). The sample consisted of adult women aged 18 to 60 years. The initial evaluation was conducted in the morning after a 10-hour overnight fasting, during which the following measurements were taken, and personal data were collected: anthropometry, indirect calorimetry, and body composition. Participants had 5 mL of blood collected for the analysis of gastrointestinal peptides (GIP, GLP-1, PP, PYY, and ghrelin), adiponectin, insulin (glucose and HOMA indices). Then, a standardized breakfast with a caloric value corresponding to 20% of the estimated energy needs calculated after the initial data collection was provided. Afterward, the participants were released to perform their usual daily activities and were instructed to maintain fasting for 10 hours throughout the day. Participants returned at the end of the day for the repetition of the procedures performed in the initial assessment and blood collection. Statistical analyses were performed using the Statistical Package for the Social Sciences for Windows Student Version® (SPSS) version 20.0, and the graphs were created using the GraphPad Prism version 8.0.1 program, adopting a significance level of 5%. **Results:** 54 women were included in the study, with 29 in the eutrophic group and 25 in the group with obesity. Fasting during the active period led to a reduction in insulin and adiponectin concentrations and in HOMA-IR and HOMA-BETA indices, as well as an increase in circulating pancreatic polypeptide (PP), both in eutrophic women and with obesity. Only the group with obesity experienced a reduction in leptin and an increase in glucagon-like peptide-1 (GLP-1) after daytime fasting. Between the eutrophic group and with obesity, leptin and insulin concentrations were higher in the group with obesity after fasting during the active period. GIP, ghrelin, and peptide YY (PYY) did not show changes after fasting during the active period when compared to overnight fasting. **Conclusion:** Fasting during daily activities reduces anorexigenic hormones insulin and leptin. However, it also increases PP and GLP-1, especially in women with obesity. Fasting during daily activities may reorganize a complex network of

endocrine signals that can somehow modulate homeostatic and hedonic eating behavior.

Keywords: Fasting during the active period; Obesity; Gastrointestinal peptides and adipocytokines.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Peptídeos e hormônios reguladores do apetite.....	19
Figura 2 - Vias de regulação da fome e saciedade.....	22
Figura 3 - Delineamento experimental do estudo.....	38
Figura 4 - Fluxograma do estudo.....	43
Figura 5 - Variação média ( $\Delta$ ) do PYY, PP, GLP-, GIP e Grelina no jejum no período ativo em mulheres eutróficas e com obesidade .....	46
Figura 6 - Variação média ( $\Delta$ ) da Leptina e adiponectina no jejum no período ativo em mulheres eutróficas e com obesidade.....	46
Figura 7 - Variação média ( $\Delta$ ) da insulina e valores dos índices HOMA-IR e HOMA-BETA no jejum no período ativo em mulheres eutróficas e com obesidade.....	47

## **LISTA DE TABELAS**

Tabela 1 – Características das participantes do estudo.....	43
Tabela 2 – Efeito do jejum no período ativo nos peptídeos gastrointestinais e hormônios em mulheres eutróficas e com obesidade.....	45

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- ACTH: *Adrenocorticotropic hormone* - hormônio adrenocorticotropina
- AdipoR: *Adiponectin receptor* - receptor de adiponectina
- AgRP: *Agouti-related protein* - proteína relacionada à agouti
- AMPK: *Adenosine monophosphate activated protein kinase* - proteína quinase ativada por monofosfato de adenosina
- $\alpha$ -MSH:  *$\alpha$ -melanocyte-stimulating hormone* - hormônio estimulador de  $\alpha$ -melanócitos
- ARC: *Arcuate nucleus* - núcleo arqueado
- CART: *Cocaine- and amphetamine regulated transcript* - transcrição regulada por cocaína-anfetamina
- CO<sub>2</sub>: Dióxido de carbono
- DM2: Diabetes mellitus tipo 2
- FCR: *Food cue reactivity* - reatividade aos estímulos alimentares
- GABA: *Gamma-aminobutyric acid* - ácido gama-aminobutírico
- GER: Gasto energético de repouso
- GIP: *Glucose-dependent insulintropic polypeptide* - polipeptídeo insulínico dependente de glicose
- GLP-1: *Glucagon-like peptide-1* - peptídeo-1 semelhante ao glucagon
- GLP1-Ras: *Glucagon-like peptide-1 receptor agonists* – agonista do receptor do peptídeo-1 semelhante ao glucagon
- GLP-2: *Glucagon-like peptide-2* - peptídeo-2 semelhante a glucagon
- GLUT: *Glucose transporter* - transportador de glicose
- IMC: Índice de massa corporal
- HbA1c: Hemoglobina glicada
- HOMA-IR: *Homeostasis model assessment of insulin resistance* - modelo de avaliação da homeostase da resistência à insulina
- HOMA-BETA: *Homeostasis model assessment of  $\beta$ -cell function* - modelo de avaliação da homeostase da função das células beta
- NPY: Neuropeptídeo Y
- NPYRs: *Neuropeptide Y receptors* - receptores de NPY
- OMS: Organização Mundial da Saúde

POMC: Pró-opiomelanocortina

PP: Polipeptídeo pancreático

PVN: *paraventricular nucleus* - núcleo paraventricular

PYY: Peptídeo YY

QR: Quociente respiratório

SNC: Sistema nervoso central

UFMG: Universidade Federal de Minas Gerais

VCO<sub>2</sub>: Volume de dióxido de carbono

VIGITEL: Vigilância dos fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico

VMN: *ventromedial nucleus* - núcleo ventromedial

VO<sub>2</sub>: Volume de oxigênio

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>14</b>
<b>2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>16</b>
<b>2.1 Jejum.....</b>	<b>16</b>
<b>2.2 Vias de regulação da fome e da saciedade.....</b>	<b>19</b>
2.2.1 Neuropeptídeos e controle da ingestão alimentar .....	21
2.2.2 Peptídeos gastrointestinais e controle da ingestão alimentar .....	25
2.2.3 Adipocitocinas e controle da ingestão alimentar .....	31
<b>2.3 Obesidade .....</b>	<b>34</b>
<b>3 OBJETIVO.....</b>	<b>36</b>
<b>3.1 Objetivo geral.....</b>	<b>36</b>
<b>3.2 Objetivos específicos.....</b>	<b>36</b>
<b>4 MÉTODOS.....</b>	<b>37</b>
<b>4.1 Caracterização do estudo .....</b>	<b>37</b>
<b>4.2 População do estudo .....</b>	<b>37</b>
<b>4.3 Questões éticas .....</b>	<b>37</b>
<b>4.4 Cálculo amostral.....</b>	<b>38</b>
<b>4.5 Protocolo do estudo .....</b>	<b>38</b>
4.5.1 Desjejum padronizado .....	39
4.5.2 Antropometria e composição corporal .....	40
4.5.3 Calorimetria indireta e gasto energético de repouso (GER).....	41
4.5.4 Análise séricas e plasmáticas .....	41
4.5.4.1 Peptídeos gastrointestinais e adiponectina .....	41
4.5.4.2 Análise da insulina, glicose e índices HOMA .....	41
<b>4.6 Análises estatísticas .....</b>	<b>42</b>
<b>5 RESULTADOS .....</b>	<b>43</b>
<b>5.1 Efeito do jejum no período ativo sobre peptídeos gastrointestinais e adipocitocinas.....</b>	<b>44</b>
<b>6 DISCUSSÃO .....</b>	<b>48</b>
<b>7 CONCLUSÃO.....</b>	<b>56</b>

<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>57</b>
<b>APÊNDICES .....</b>	<b>87</b>
<b>ANEXO (ARTIGO) .....</b>	<b>95</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A alimentação influencia diretamente a saúde dos humanos (TANG et al., 2023b). Por isso, vários modelos ou estilos de alimentação são estudados há tempos para contribuir com a melhora da saúde, o tratamento de doenças e o controle de peso (CHESTER et al., 2019). Além da quantidade e qualidade dos alimentos, a duração temporal do consumo alimentar e o horário das refeições também parecem ser importantes para a saúde e tem ganhado atenção recentemente (ALMOOSAWI et al., 2019; MANOOGIAN; CHAIX; PANDA, 2019). O perfil alimentar atual apresenta intervalos curtos entre as refeições (exemplo: a cada três horas), induzindo o estado pós-prandial (após alimentação) bastante frequente, o que influencia o perfil de secreção hormonal (KAHLEOVA et al., 2017; KANALEY et al., 2014). Por outro lado, o período do jejum, fase do período onde não há ingestão de alimento, apresenta-se reduzido ao longo do dia (KAHLEOVA et al., 2017; TAYLOR; GARROW, 2001). Dados observacionais mostram que intervalos maiores de jejum parecem ser benéficos em relação à parâmetros metabólicos e controle de peso (OHKAWARA et al., 2013; PAOLI et al., 2019).

Nesse contexto, o protocolo de jejum atualmente aplicado na clínica é caracterizado pela alteração da frequência do consumo alimentar, em que o tempo de alimentação e o tempo do intervalo do jejum são controlados por horas ou dias (DI FRANCESCO et al., 2018). Nos últimos anos, a estratégia do jejum intermitente tem recebido maior atenção científica devido a indicação de que fazer o jejum além do período noturno, pode melhorar potencialmente a saúde (DI FRANCESCO et al., 2018; TAYLOR et al., 2022). Essa premissa deve-se aos estudos que demonstraram os benefícios do jejum na prevenção e resistência ao desenvolvimento de várias doenças (HOFER et al., 2022; TAYLOR et al., 2022).

Apesar do termo “jejum intermitente” ser amplamente utilizado na prática clínica, entre os profissionais de saúde e na mídia, essa nomenclatura é representativa ao que se refere a “alimentação com restrição de tempo” e o “jejum em dias alternados” (ANTONI et al., 2018; DI FRANCESCO et al., 2018). A alimentação com restrição de tempo é um modelo de jejum diário, com o consumo alimentar ocorrendo apenas em um período de quatro a 12 horas (janela de alimentação), todos os dias, sem restrição calórica (DI FRANCESCO et al., 2018). Já, o jejum em dias alternados ou dieta “5:2” representa dois dias da semana em jejum (completo ou parcial)

e cinco dias de consumo alimentar normal (TANG et al., 2023a). Nos últimos anos vários trabalhos têm demonstrado que todos os modelos de jejum utilizados atualmente parecem trazer impactos positivos à saúde, independente das vias e mecanismos fisiológicos ativados naquele protocolo (ZEB et al., 2021). Dentre os efeitos mediados pelo jejum destaca-se a regulação do apetite (TANG et al., 2023a) por meio de modificações na resposta dos neurônios presentes no hipotálamo com consequente modificações na síntese de hormônios e peptídeos que respondem ao consumo alimentar (VOHRA et al., 2022).

O centro de controle da fome e da saciedade responde pelos neurônios anorexígenos (i) pró-opiomelanocortina (POMC) e (ii) transcrição regulada por cocaína-anfetamina (*cocaine-and amphetamine-regulated transcript* - CART) e pelos neurônios orexígenos (i) neuropeptídeo Y (NPY) e (ii) proteína relacionada à agouti (*agouti-related protein* - AgRP) (VOHRA et al., 2022). Além dos neurônios, o controle da fome e da saciedade é dependente de vários hormônios oriundos do sistema digestivo, dentre eles a grelina, peptídeo semelhante ao glucagon-1 (*glucagon-like peptide-1*: GLP-1), peptídeo YY (PYY), polipeptídeo insulínico dependente de glicose (*glucose-dependent insulintropic polypeptide* - GIP), polipeptídeo pancreático (PP) e insulina; ou ainda por hormônios oriundos do tecido adiposo como a leptina (PANDA, 2016).

A desregulação das vias centrais e periféricas que controlam o apetite promove o consumo excessivo de calorias, aumentando assim, a incidência de obesidade e de várias doenças metabólicas (ADAN et al., 2019; AUKAN et al., 2022; KOLB; MARTIN, 2017; KRASHES et al., 2011; RIOBO, 2018). Nesse contexto, com base em dados anteriores do nosso grupo de pesquisa, que indicam um aumento na fome e no desejo por alimentos em mulheres, principalmente com obesidade, durante o jejum no período ativo, suspeitamos que as concentrações dos peptídeos gastrointestinais desempenhem um papel crucial nesse fenômeno. Portanto, nossa hipótese é que o jejum no período ativo leva a alterações significativas nas concentrações desses peptídeos gastrointestinais, o que, por sua vez, desencadeia repercussões metabólicas que contribuem para o aumento da fome e do desejo por alimentos. O jejum de 10 horas durante o período ativo foi adotado, devido à rotina comum a qual normalmente envolve um intervalo sem alimentação durante a noite. Essa abordagem nos permitirá uma maior probabilidade de comparação dos resultados com estudos clínicos, facilitando a análise e interpretação dos dados coletados.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Jejum

O jejum intermitente é uma estratégia que começou a receber mais atenção científica nos últimos 10 anos (HODDY et al., 2020). No entanto, o jejum começou ser usado como prática médica há milhares de anos por médicos chineses, gregos e romanos (WEINDRUCH, 1996) e também religiosa. Há tempos muitos grupos religiosos realizam períodos de jejum em seus rituais, incluindo muçulmanos, cristãos, judeus, budistas e hindus, que costumam realizar o jejum em determinados dias da semana ou ano civil (LONGO; MATTSON, 2014). O jejum realizado pelos humanos é alcançado pela ingestão mínima ou nula de alimentos e bebidas calóricas por determinado período (LONGO; MATTSON, 2014). Diferente da restrição calórica onde ocorre redução do consumo calórico alimentar sem alterar a frequência das refeições, o jejum intercala a ingestão calórica diária normal com período de ausência alimentar maior que o habitual (ANTONI et al., 2018). O jejum do Ramadã, por exemplo, é uma prática que envolve a abstinência completa de comida e bebida, até mesmo água, do amanhecer ao pôr do sol durante 30 dias (BAHAMMAM; ALMENEESSIER, 2020). O Ramadã é uma forma de jejum intermitente diurno e é uma prática religiosa realizada por mais de 1,5 bilhão de muçulmanos todos os anos (BAHAMMAM; ALMENEESSIER, 2020).

O jejum intermitente é um termo mais geral para descrever várias formas de jejum (ANTONI et al., 2018). Uma dessas possibilidades é o modelo de jejum em dias alternados, quando a pessoa faz o jejum de um a dois dias por semana (parcial ou total) e os outros dias realiza a alimentação habitual (MORO et al., 2016). Outra forma é o jejum por restrição de tempo, com períodos diários previamente definidos de jejum, sem ingestão de energia, somente ingestão de água, seguido por períodos de alimentação, conhecido como janela de alimentação (ANTON et al., 2018). Neste protocolo podem ocorrer variações no período de jejum de 12 a 21 horas, com a alimentação liberada entre três a 12 horas por dia, sendo o formato mais comum o jejum de 16 horas e a alimentação livre nas 8 horas restantes (protocolo de jejum 16:8) (ANTON et al., 2018). O jejum agudo é o período de tempo que não ocorre ingestão de nenhuma energia, sendo assim, podemos dizer que o jejum intermitente é um termo geral utilizado para inferir a realização de vários tipos de jejuns agudos (STRATTON et al., 2022).

Em muitos estudos, a prática do jejum tem mostrado resultados benéficos no que diz respeito à melhora de parâmetros metabólicos e perda de peso (HODDY et al., 2020; JANE et al., 2015; TANG et al., 2023a). Tais resultados positivos parecem ser decorrentes do efeito do jejum sobre a cetogênese, mudanças significativas nas vias metabólicas e celulares, como resistência ao estresse e aumento da lipólise (HARTMAN; RUBENSTEIN; KOSSOFF, 2013). Adicionalmente, o interesse pela prática do jejum deve-se por ser alternativa viável à restrição energética contínua (GABEL et al., 2018). Apesar de ainda assim ser uma estratégia alimentar restritiva, estudos mostram boa adesão e maior facilidade de seguimento, quando comparado às dietas com restrição calórica diária e contínua (ANTONI et al., 2018; MATTSON; LONGO; HARVIE, 2017). No período do jejum ocorre muitas adaptações endógenas que proporcionam o uso dos estoques energéticos com consequente mudança nos sinais hormonais de fome e saciedade percebidos pelo hipotálamo (ZOUHAL et al., 2020). Os sinais hormonais de fome, saciedade e o comportamento alimentar, são regulados pelos peptídeos gastrointestinais que desempenham papel importante para a perda de peso (TACAD et al., 2022). Estudo observacional prospectivo realizado com indivíduos com sobrepeso e obesidade durante o Ramadã, demonstrou que associado à redução de peso corporal e de medidas antropométricas, o jejum determinou diminuição nas concentrações séricas dos hormônios peptídeos leptina, grelina e melatonina ao final do mês em comparação com o estado pré-jejum (AL-RAWI et al., 2020).

Os efeitos do jejum agudo sobre o gasto energético e peptídeos gastrointestinais são ainda incipientes (BERGMAN et al., 2007; BROWNING et al., 2012; KOUTSARI et al., 2011; SOETERS et al., 2012; TINSLEY et al., 2018). Apesar disso, é muito conhecido que o tempo de duração do jejum agudo determina respostas fisiológicas diferentes (STRATTON et al., 2022). Com o objetivo de entender as adaptações imunometabólicas e comportamentais decorrentes do jejum realizado durante o período ativo do dia, nosso grupo de pesquisa tem realizado estudos clínicos e experimentais. Identificamos que mulheres eutróficas e com obesidade após 10 horas de jejum diurno, realizado em um dia, apresentaram menor saciedade e plenitude, enquanto a fome, o consumo alimentar prospectivo e a vontade de comer alimentos gordurosos aumentaram quando comparado com o jejum noturno. De forma interessante, as mulheres com obesidade apresentaram maior sensação de fome. Este resultado sugere que o jejum durante o período diurno foi melhor tolerado por mulheres sem obesidade. Assim, sugere-se que o horário do jejum (noturno versus diurno) pode influenciar a resposta ao protocolo de

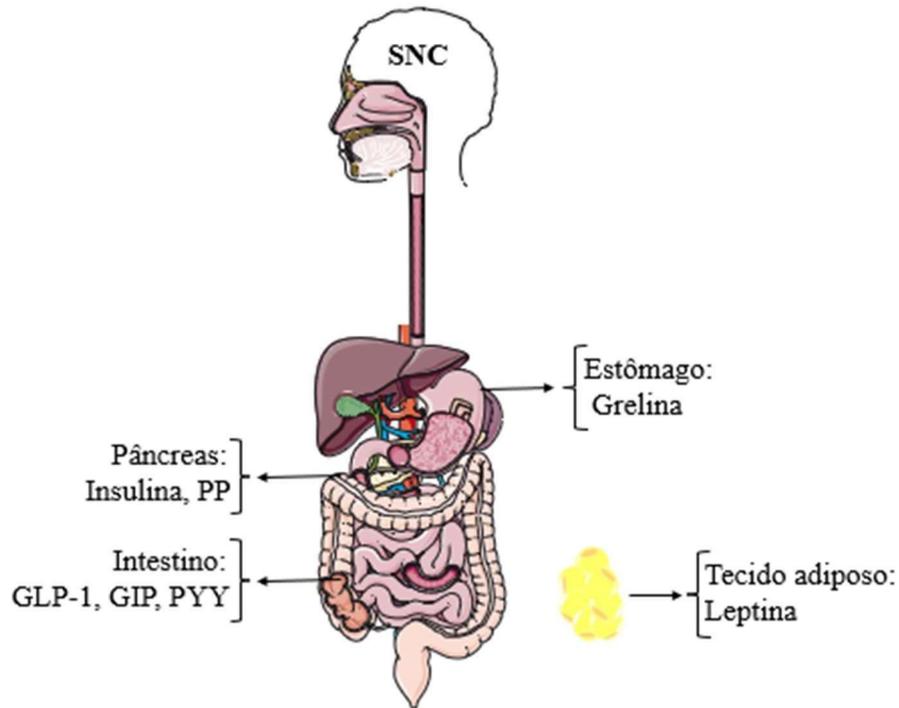
jejum, apesar de seguirem o mesmo período de privação energética (10 horas em ambas situações) e é dependente do estado nutricional inicial (TIBAES, dados não publicados).

As diferenças observadas entre o jejum agudo realizado no período noturno e diurno em relação ao comportamento alimentar poderiam estar relacionadas às diferenças nas secreções de peptídeos hormonais controladores das vias de fome e saciedade. De fato, as concentrações de vários peptídeos, como a grelina e leptina, estão relacionadas com o ritmo circadiano, sendo, portanto, modulados pelo sono, alimentação e comportamentos gerais, e se alteram de acordo com o ciclo claro-escuro (KIM; JEONG; HONG, 2015). As concentrações de leptina matinais, por exemplo, são relativamente altas, no entanto, foi demonstrado redução desse hormônio após o café da manhã que foi mantido até o final da tarde (os valores mais baixos foram entre 08:00 e 17:00) (SAAD et al., 1998). Além disso, foi demonstrado que a mudança no horário das refeições interfere no ritmo diurno da leptina, o que indica que a alimentação pode estar associada ao aumento noturno da leptina (CELLA; VAN CAUTER; SCHOELLER, 1995).

Assim, é consistente que o horário de realização das refeições ou, ainda, do jejum, determina um padrão de secreção hormonal e regulação imunometabólica distinto que pode repercutir em mudanças comportamentais, principalmente no que tange a fome e saciedade, e/ou perfil metabólico.

## **2.2 Vias de regulação da fome e da saciedade**

O eixo cérebro-intestino coordena nosso comportamento alimentar por meio de vias bioquímicas que conectam o sistema endócrino e nervoso, mediante a ação dos peptídeos hormonais secretados pelo trato gastrointestinal (LUTTER; NESTLER, 2009; STEINERT et al., 2017) (**Figura 1**). Os principais peptídeos são a grelina, considerada estimulador do apetite, que no estado de jejum encontra-se aumentada, e os estimuladores da saciedade: GLP-1, GIP, PYY, PP e leptina, que se encontram reduzidos na ausência da ingestão alimentar (STRADER; WOODS, 2005). Além disso, a insulina também tem papel no comportamento alimentar e está reduzida no estado de jejum (FIGLEWICZ, 2003; KLEINRIDDERS et al., 2014).



**FIGURA 1 - Peptídeos e hormônios reguladores do apetite.** Principais locais de síntese dos hormônios e peptídeos gastrointestinais envolvidos no processo da fome e saciedade → Pâncreas: Insulina e polipeptídeo pancreático (PP); Estômago: Grelina; Tecido adiposo: Leptina; Intestino: Peptídeo-1 semelhante ao glucagon (GLP-1), peptídeo tirosina-tirosina (PYY) e peptídeo inibidor gástrico (GIP). SNC: Sistema Nervoso Central.

Durante a ingestão de alimentos ocorre a liberação de hormônios peptídicos por meio das células enteroendócrinas, que estão espalhadas pelo sistema digestivo e que promovem sensação de saciedade e saciação (CUMMINGS; OVERDUIN, 2007; SCHEER et al., 2009). A “saciação” refere-se aos efeitos que promovem o término da refeição, para limitar o tamanho daquela refeição (FLINT et al., 2000). Já a “saciedade” refere-se a eventos pós-prandiais afetando o intervalo até a próxima refeição, regulando assim a frequência das refeições, que também depende dos hábitos comportamentais. A saciedade resulta da combinação de sinais neurais e humorais que emanam do estômago e intestino para o hipotálamo, em resposta às propriedades dos alimentos ingeridos (CUMMINGS; OVERDUIN, 2007). O estômago e o intestino fornecem essas informações, após a ingestão alimentar, por meio dos sinais de distensão, bem como da carga osmótica, fornecendo *feedback* para os centros neurais relacionado à quantidade da refeição ingerida (VAN KLEEF et al., 2012).

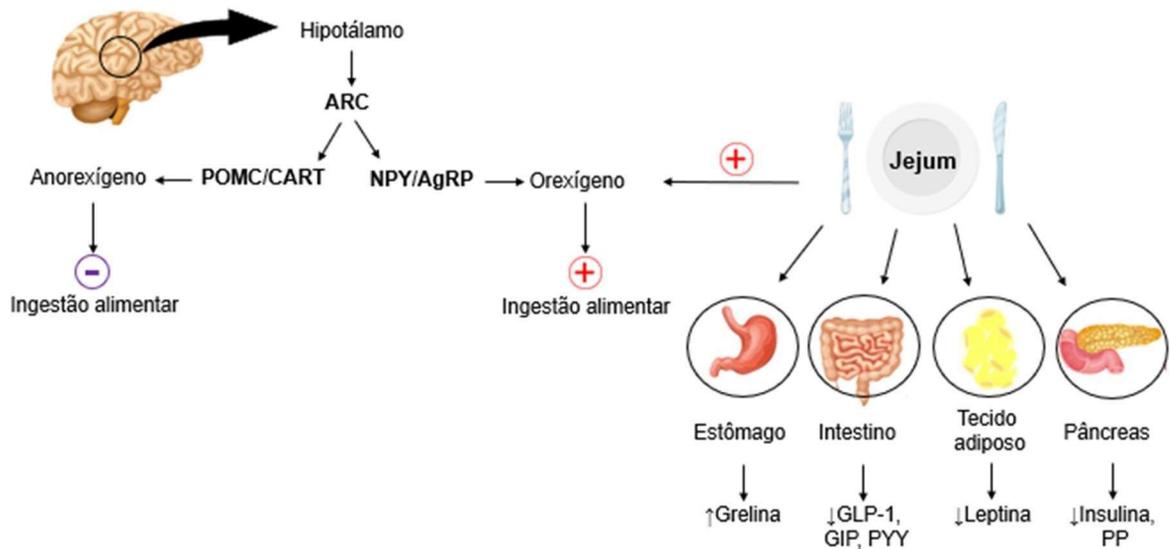
O cérebro integra os sinais de todos os processos envolvidos no controle hedônico e homeostático do apetite, bem como os relativos à saciedade sensorial e metabólica (AMIN; MERCER, 2016). Pesquisas recentes demonstram que os sistemas homeostáticos e hedônicos não agem isoladamente (MORALES; BERRIDGE, 2020; ROSSI; STUBER, 2018). A fome homeostática é caracterizada por mecanismos reguladores para trazer a estabilidade e o equilíbrio (homeostase) para neutralizar os desvios de um parâmetro ideal (a exemplo tem-se a concentração de glicose, o peso corporal ou nutrientes necessários) (MORALES, 2022). Por outro lado, o sistema hedônico está relacionado ao sistema de recompensa cerebral e também tem importante papel na ingestão alimentar (ŞARAHMAN KAHRAMAN; AKÇIL OK, 2022). A fome hedônica está ligada ao estado motivacional, pela exposição e consumo repetido a alimentos de elevada palatabilidade, que também determina a ingestão alimentar em humanos (ZHENG et al., 2009). O sistema hedônico tem a capacidade de sobrepor o sistema homeostático promovendo o aumento de peso em algumas situações (ŞARAHMAN KAHRAMAN; AKÇIL OK, 2022). Os neurônios da fome (AgRP/NPY) traduzem os sinais de fome no comportamento alimentar apetitivo e consumista, por meio de rede neural que aumenta o valor de incentivo ou recompensa para o consumo de alguns alimentos que levam à recompensa (WANG et al., 2016).

Vários estudos clássicos em modelo animal foram realizados usando lesões físicas em locais específicos no hipotálamo para a compreensão das vias que controlam a fome e saciedade (KRASHES et al., 2011). A superexpressão de alguns grupos de neurônios que expressam AgRP/NPY, em modelo animal, podem resultar em forte motivação para a alimentação e um comportamento exagerado por busca de comida, justificando assim, que estes locais no cérebro controlam o comportamento alimentar e podem promover aumento de peso e obesidade (KRASHES et al., 2011). Adicionalmente, pesquisas recentes têm demonstrado uma gama de genes hipotalâmicos que regulam a homeostase energética por meio de rede neural interconectada com neurônios especializados (VOHRA et al., 2022). A desregulação das respostas hormonais por estas vias neurais também podem provocar o ganho de peso, alteração nas secreções dos hormônios e levar ao aumento do risco de várias doenças metabólicas (JAIS; BRÜNING, 2017).

### 2.2.1 Neuropeptídeos e controle da ingestão alimentar

Existem três regiões estruturais no hipotálamo que estão envolvidas no processo homeostático energético, são elas, as áreas: hipotálamo anterior, tuberal e mamilar. Entre elas, a área tuberal do hipotálamo consiste em núcleo arqueado (ARC), núcleo ventromedial (VMN), núcleo paraventricular (PVN), núcleo dorsomedial e o hipotálamo lateral (BROOKS et al., 2012; LUO; WANG; ZHANG, 2018). O ARC tem demonstrado papel importante na ação dos circuitos neuroquímicos hipotalâmicos que regulam a ingestão de alimentos, integrando os sinais neuronais e hormonais de comportamentos alimentares, saciedade e ingestão calórica (COWLEY et al., 1999; SINGRU et al., 2007). O ARC está situado no 3º assoalho ventral do hipotálamo tubário e integra os sinais hormonais periféricos, atuando como ponto central de comando e direcionamento nas ações de alimentação (MULLIER et al., 2010). Entre os neurônios do ARC, a POMC é precursora do pró-hormônio dos peptídeos de melanocortina (SAMOCHA-BONET et al., 2011), e a AgRP é antagonista de melanocortina juntamente com o NPY (sintetizados pelos neurônios Agrp/NPY, esses são considerados dois ramos opostos da via de sinalização da melanocortina (JOLY-AMADO et al., 2014). Em relação ao sistema de melanocortina, o hormônio estimulador de  $\alpha$ -melanócitos ( *$\alpha$ -melanocyte-stimulating hormone -  $\alpha$ -MSH*), inibe a ingestão de alimentos, aumenta o gasto de energia e favorece a perda de peso. O bloqueio da via central de sinalização da melanocortina leva ao aumento do consumo de alimentos e pode levar ao ganho de peso (JOLY-AMADO et al., 2014).

Os neurônios orexígenos AgRP/NPY, que estimulam o apetite, e os anorexígenos POMC/CART, que inibem o apetite, são fundamentais na regulação da homeostase energética do organismo (**Figura 2**). Mudanças no funcionamento destas regiões neuronais podem ser uma das causas do excesso de peso e da obesidade (VOHRA et al., 2022).



**FIGURA 2 - Vias de regulação da fome e saciedade.** Núcleo arqueado (ARC), região do hipotálamo que expressa os neurônios anorexígenos e orexígenos. Neurônios neuropeptídeo Y/proteína relacionada à agouti (NPY/AgRP) - Aumenta ingestão de alimentos; Neurônios pró-opiomelanocortina/transcrição regulada pela cocaína e anfetamina (POMC/CART) - Diminui ingestão de alimentos. Produção e secreção de peptídeos em cada órgão durante o jejum: Tecido adiposo: diminui a produção e secreção de leptina; pâncreas: diminui a insulina e o polipeptídeo pancreático (PP); intestino: diminui o peptídeo-1 semelhante ao glucagon (GLP-1), o peptídeo tirosina-tirosina (PYY) e o peptídeo inibidor gástrico (GIP); estômago: aumenta a grelina.

Os neurônios produtores de AgRP e NPY são as populações neuronais mais essenciais e com a associação mais próxima e forte ligada aos comportamentos alimentares (COWLEY et al., 2001). AgRP e NPY foram os primeiros peptídeos orexígenos reconhecidos da homeostase energética (BAI et al., 1985). O AgRP é um neuropeptídeo de 50 aminoácidos produzido por uma pró-proteína clivada pós-tradução, que libera AgRP maduro e rico em dissulfeto (CREEMERS et al., 2006). Neurônios que expressam AgRP reconhecem os hormônios circulantes leptina, grelina e insulina (KRASHES et al., 2014). Foi observado que a alta expressão de AgRP em animais, pode induzir a obesidade por seu papel orexígeno (BROBERGER; HÖKFELT, 2001). Por outro lado, estudos em animais demonstraram que a ablação de peptídeos AgRP/NPY, ou dos neurônios que expressam esses peptídeos, levou à diminuição da ingestão alimentar (KRASHES et al., 2011; WU; BOYLE; PALMITER, 2009; WU; CLARK; PALMITER, 2012), já a estimulação desses peptídeos provocou aumento da ingestão de alimentos (APONTE; ATASOY; STERNSON, 2011; KRASHES et al., 2011). Os neurônios AgRP/NPY são, portanto, fundamentais para a sobrevivência, pois a sua ablação

pode levar à anorexia, perda significativa de peso e morte por inanição (KRASHES et al., 2011). A resposta neuronal do AgRP é de ação rápida, pois as concentrações basais caem rapidamente com o começo da alimentação (CHEN et al., 2015). No entanto, os neuropeptídeos AgRP também sustentam respostas de alimentação a longo prazo, se comparados com o NPY (KRASHES et al., 2013). Os neurônios AgRP inibem os neurônios POMC por ações antagonistas do ácido gama-aminobutírico (GABA) e NPY (WU; PALMITER, 2011).

O NPY é um peptídeo de 36 aminoácidos que é sintetizado no ARC, PVN e VMN (NGUYEN et al., 2012). O NPY atua, da mesma forma que o AgRP, estimulando o apetite por meio de vários receptores acoplados à proteína G (*NPY receptors* - NPYRs), que incluem NPY<sup>Y1</sup>, NPY<sup>Y2</sup>, NPY<sup>Y4</sup>, NPY<sup>Y5</sup> e NPY<sup>Y6</sup> (NGUYEN et al., 2012). Entre estes, o NPY inibe os sinais anorexígenos via NPY<sup>Y1</sup> e NPY<sup>Y5</sup> (ROSEBERRY et al., 2004). Pesquisa realizada com camundongos deficientes no receptor NPY<sup>Y4</sup> demonstrou diminuição na adiposidade e no peso corporal desses animais (SAINSBURY et al., 2002). Além disso, o antagonista de NPY<sup>Y5</sup> já foi estudado como potencial fármaco no tratamento da obesidade. A administração oral do antagonista do NPY<sup>Y5</sup> suprimiu a ingestão de alimentos em camundongos com obesidade induzida por dieta (TAMURA et al., 2012, 2013). Num contexto fisiológico, a privação de alimentos induz o aumento da expressão de AgRP e NPY no ARC, trazendo sinais anti-termogênicos e provocando ação orexígena (BATTERHAM et al., 2002; TAKAHASHI; CONE, 2005).

Ao contrário dos peptídeos AgRP/NPY, os peptídeos neuronais POMC e CART são anorexígenos. Ambos são ativados durante a alimentação e são expressos na glândula pituitária, tronco cerebral e ARC, regiões localizadas no sistema nervoso central (GROPP et al., 2005). Além disso, são essenciais ao sistema melanocortina envolvido no controle do balanço energético (CARON et al., 2018; MOUNTJOY, 2015). A POMC é considerada o principal ponto de controle da saciedade e juntamente com os peptídeos CART estão associados à supressão da ingestão de alimentos (CANDLER et al., 2019). Sendo assim, os peptídeos neuronais do ARC, AgRP/NPY (inibidos pela insulina) e POMC/CART (estimulados pela insulina), são cruciais na regulação da homeostase energética da insulina (VAN DEN HOEK et al., 2004).

A POMC é precursora de peptídeos e hormônios peptídicos, formados após várias etapas enzimáticas (LINDBERG; FRICKER, 2021), e incluem a adrenocorticotropina (*adrenocorticotropic hormone* - ACTH), beta (β)-endorfina, alfa (α)-, beta (β)- e gama (γ)-

MSH, N- POMC<sub>1-48</sub> e  $\beta$ -lipotropina. Esses peptídeos apresentam funções fisiológicas variadas, como atividade mitogênica (N-POMC<sub>1-48</sub>), atividade esteroidogênica (ACTH), atividade semelhante a opiáceos ( $\beta$ -endorfina) e saciedade ( $\alpha$ -MSH) (CAWLEY; LI; LOH, 2016). As enzimas que convertem POMC em MSH incluem convertases de pró-hormônio, carboxipeptidases e monooxigenase peptidil- $\alpha$ -amidating (LINDBERG; FRICKER, 2021).

Em humanos e alguns animais, os peptídeos  $\alpha$ -MSH e  $\beta$ -MSH são biologicamente ativos (SCHIÖTH et al., 2002). O  $\alpha$ -MSH interage com os receptores de melanocortina-3/4 (*melanocortin 3/4 receptor* - MC3R/MC4R), que é expresso em PVN, e é responsável por ativar os sinais de saciedade (SANTOSO, 2017). O  $\alpha$ -MSH atua diminuindo o consumo alimentar por meio da sua interação com o receptor MC4R em PVN (FRIEDMAN, 2016), modulando a ingestão de alimentos e o metabolismo energético (HARNO et al., 2018).

O AgRP é um potente antagonista de  $\alpha$ -MSH que inerva com POMC e inibe sua ação neuronal pela liberação do neurotransmissor GABA (WAUMAN; ZABEAU; TAVERNIER, 2017). Em condições de jejum, o neuropeptídeo AgRP interage seletivamente ao MC4R para evitar a ação anorexígena de  $\alpha$ -MSH (TIMPER; BRÜNING, 2017). Já a expressão do RNA mensageiro (mRNA) que vai ser traduzido em POMC, a secreção do peptídeo POMC e a ativação neuronal da POMC diminuem no estado de jejum e aumentam no estado alimentado (BRANDT et al., 2018).

O CART também pertence à via anorexígena juntamente com o POMC. Mais de 90% dos neurônios do CART estão localizados no núcleo arqueado do hipotálamo, nas mesmas células que expressam a POMC (CHALLIS et al., 2000). A ação anorexígena do CART é estimulada pela leptina e tem sua ação mediada pela liberação central de GLP-1 (AJA et al., 2001).

Além dos peptídeos produzidos diretamente pelo sistema nervoso central (SNC), os peptídeos liberados, pelo estômago, intestino delgado proximal e distal, pâncreas e cólon, são fundamentais para orquestrar as vias que regulam a fome e saciedade. Eles ativam os nervos aferentes vagais que inervam as regiões do cérebro envolvidas no processo de ingestão alimentar (SCHWARTZ, 2006). Os principais hormônios gastrointestinais que regulam o apetite e a saciedade são a grelina, o GLP-1, GIP e os membros da família de peptídeos biologicamente ativos NPY, PYY e PP (ZANCHI et al., 2017).

### 2.2.2 Peptídeos gastrointestinais e controle da ingestão alimentar

Além dos neurônios e peptídeos/hormônios sintetizados e secretados no SNC, o controle da fome e saciedade é dependente também da secreção de outras moléculas produzidas por outros órgãos. O PYY, por exemplo, é produzido principalmente por células L intestinais distais (UENO et al., 2008). Além disso, as células L positivas para PYY contêm glicentina, um peptídeo derivado de pro-glucagon, GLP-1 e peptídeo-2 semelhante a glucagon (GLP-2) (EKBLAD; SUNDLER, 2002). Também ocorre a expressão da gustaducina, uma proteína G relacionada ao sabor, principalmente como receptores de sabor amargo e doce. Sendo assim, as células L que expressam o PYY são também quimiossensores relevantes do intestino (ROZENGURT et al., 2006). Outras fontes de PYY são os neurônios entéricos do estômago (BÖTTCHER et al., 1993) e células endócrinas pancreáticas (COX, 2007). O PYY é liberado no período pós-prandial pelas células L intestinais, por isso é considerado peptídeo com sinalização de saciedade, colaborando com a redução da ingestão de alimentos (MCGOWAN; BLOOM, 2004).

A liberação de PYY provocada pela refeição ocorre antes dos nutrientes atingirem o intestino, indicando que ocorre via mecanismo neural, incluindo o nervo vago (COX, 2007; FU-CHENG et al., 1997). A secreção de ácido gástrico, colecistocinina, ácidos biliares, ácidos graxos livres e o butirato, produzido pela microbiota colônica por meio da fermentação de carboidratos indigeríveis, também participam da liberação de PYY (MCGOWAN; BLOOM, 2004). O PYY inibe a motilidade gastrointestinal e a secreção de eletrólitos e água por mecanismos neurais e não neurais (COX, 2007). O PYY é secretado no pós-prandial em proporção à carga calórica, sendo a potência dos lipídios, para induzir sua secreção, maior que a dos carboidratos, que é maior que a das proteínas (DEGEN et al., 2005).

Após a liberação do PYY, parte é clivada enzimaticamente em PYY<sub>3-36</sub>, a forma ativa circulante do peptídeo (MENTLEIN et al., 1993). Após esta clivagem ocorre mudança nos subtipos de receptores Y estimulados pelo peptídeo: enquanto o peptídeo de comprimento total ativa os receptores Y1, Y2 e Y5, os efeitos de PYY<sub>3-36</sub> são preferencialmente mediados pelos receptores Y2 e, até certo ponto, Y5 (MCGOWAN; BLOOM, 2004; MENTLEIN et al., 1993). PYY e PYY<sub>3-36</sub> têm ação na motilidade gastrointestinal (WANG et al., 2010). O efeito anorexígeno de PYY<sub>3-36</sub> acontece por receptores Y2 pré-sinápticos em neurônios AgRP/NPY no núcleo arqueado, diminuindo sua ação orexígena e desinibindo neurônios POMC (FIELD;

CHAUDHRI; BLOOM, 2010). Além disso, já foi demonstrado concentrações mais baixas de PYY<sub>3-36</sub> em indivíduos com obesidade em comparação às pessoas magras. Esses achados sugeriram que o PYY<sub>3-36</sub> pode ser um peptídeo com promissora terapêutica antiobesidade (BATTERHAM et al., 2003b). Além disso, acredita-se que o PYY seja importante mediador dos freios ileal que são acionados principalmente quando a gordura atinge o intestino (COX, 2007; VAN CITTERS; LIN, 2006). O freio ileal é um fenômeno de *feedback* que ocorre quando o alimento após ser ingerido ativa sinais intestinais inibindo a motilidade gastrointestinal proximal e o esvaziamento gástrico. É mediada por mecanismos neurais e vários peptídeos que também estão implicados na saciedade (PIRONI et al., 1993).

PYY e PP são quase exclusivamente expressos pelo sistema digestivo, enquanto o NPY é encontrado em todos os níveis do eixo intestino-cérebro e cérebro-intestino. Além disso, o PP é um membro da família de peptídeos do NPY (ZHU et al., 2023). Sua liberação ocorre no período pós-prandial pelas células endócrinas F das ilhotas pancreáticas (FIELD; CHAUDHRI; BLOOM, 2010; MURPHY; BLOOM, 2006). Por meio da ativação dos receptores (NPY4 ou Y4), o PP induz saciedade (EDELSBRUNNER et al., 2009). A cascata de sinalização celular relacionada a ativação do receptor Y4 é a inibição da atividade da adenil ciclase e a formação de monofosfato cíclico de adenosina (cAMP), diminuindo a atividade de alvos a jusante, como a proteína quinase A (MISRA et al., 2004)

O PP provoca balanço energético negativo, pois diminui a ingestão alimentar e o esvaziamento gástrico e aumenta o gasto energético (ASAKAWA et al., 2003). Em humanos, a administração do PP reduziu a ingestão de alimentos em indivíduos magros e obesos com síndrome de Prader-Willi, doença genética que causa obesidade (BATTERHAM et al., 2003b). Em outro estudo realizado em humanos, a administração do peptídeo reduziu o apetite e a ingestão de alimentos, independentemente do esvaziamento gástrico (BATTERHAM et al., 2003a). Em modelo experimental, camundongos *ob/ob*, que não produzem leptina, e por isso são geneticamente obesos, reduziram a ingestão alimentar e o ganho de peso, após receberem injeções periféricas de PP (ASAKAWA et al., 2003).

O GLP-1 é formado por 30 aminoácidos (CHIA; EGAN, 2020) e é produzido principalmente pelas células L no intestino delgado distal e no cólon, além de ser expresso no pâncreas e cérebro (BRUBAKER; ANINI, 2003). É considerado uma incretina por ser hormônio intestinal que estimula a secreção da insulina após a ingestão de nutrientes (NAUCK; MEIER, 2018). Nutrientes ingeridos, especialmente gorduras e carboidratos, estimulam a

secreção de GLP-1 por mecanismos neuro-humorais indiretos, ativados no duodeno, bem como por contato direto no intestino distal (BRUBAKER; ANINI, 2003).

O GLP-1 é um dos peptídeos que acionam o freio comportamental na alimentação para complementar o freio ileal, diminuindo a entrada de nutrientes na corrente sanguínea (STRADER; WOODS, 2005). Esse peptídeo é clivado a partir do pró-glucagon que, por sua vez, também é o precursor do glucagon (hormônio contrarregulador da insulina), do GLP-2 (fator de crescimento intestinal), da glicentina (inibidor do ácido gástrico) e oxintomodulina. Vários desses peptídeos estão implicados na saciedade, mas a relação mais forte está com o GLP-1 e a oxintomodulina (CUMMINGS; OVERDUIN, 2007). Além de ativar o freio ileal, o GLP-1 aumenta a liberação de insulina dependente de glicose e a proliferação de células  $\beta$  pancreáticas, além de inibir a secreção de glucagon (DRUCKER, 2006).

As duas formas bioativas equipotentes do GLP-1, GLP-1<sub>7-36</sub> amida e GLP-1<sub>7-37</sub>, são rapidamente inativadas na circulação pela enzima dipeptidil peptidase-4 (DPP4) (ORSKOV; WETTERGREN; HOLST, 1993). Portanto, congêneres de GLP-1 resistentes a DPP4 foram estudados no tratamento para tratar a diabetes. Os efeitos significativos do GLP-1 no controle da glicose sanguínea levaram ao desenvolvimento farmacológico de novas classes de medicamentos hipoglicemiantes, para pacientes com diabetes, como os agonistas do receptor do peptídeo-1 semelhante ao glucagon (GLP1-RAs) (ANDERSEN et al., 2018) e inibidores de DPP-4 (NG et al., 2022). O uso de GLP1-RAs demonstrou benefícios no controle da redução da glicemia de jejum e pós-prandial, reduzindo assim a hemoglobina glicada (HbA1c) (DRUCKER, 2006). A recomendação desta classe de medicamentos também tem aumentado porque apresentam efeitos favoráveis sobre doenças cardiovasculares e doença renal, bem como no perfil de risco metabólico (ZELNIKER et al., 2019). No Brasil, a terapia com GLP1-RAs foi aprovada recentemente pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), para o tratamento do controle de peso em indivíduos com obesidade, em associação a dieta hipocalórica e exercícios físicos. A terapia é realizada por meio de uma solução injetável a ser usada pela via subcutânea que contém a substância ativa semaglutida, que possui homologia de 94% com GLP-1 humano (MINISTÉRIO DA SAÚDE, BRASIL, 2023). E mais recente, dados mostram que a terapia usando os dois agonistas dos hormônios GLP-1 e GIP parece ser mais eficaz (TSCHÖP et al., 2016; ZIMMERMANN et al., 2022), porém, esse tratamento ainda não está disponível no Brasil (MINISTÉRIO DA SAÚDE, BRASIL, 2023).

Similar ao GLP-1, o GIP também atua como incretina (TACAD et al., 2022). O GIP é um polipeptídeo de 42 aminoácidos secretado pelas células K do intestino delgado, presente nas porções do duodeno e jejuno, em resposta à chegada de carboidratos e lipídios nessas regiões (CHIA; EGAN, 2020; TACAD et al., 2022). O GIP e o GLP-1 atuam juntos na resposta glicose pós-prandial e no metabolismo lipídico (HOLST, 1994). O GIP aumenta a secreção de insulina pelas células  $\beta$  pancreáticas, quando as concentrações de glicose no sangue estão altas, e aumenta a secreção de glucagon pelas células  $\alpha$  do pâncreas, quando as concentrações de glicose estão normais (CHIA; EGAN, 2020). O GIP e o GLP-1 trabalham de forma orquestrada aumentando a secreção da insulina (ADRIAENSSENS et al., 2019), por outro lado, quando as concentrações de insulina aumentam após a refeição, a secreção de GIP diminui, uma resposta de *feedback* negativo (SIRINEK et al., 1978). O GIP também regula positivamente a lipoproteína lipase e o aumento da lipogênese (CHIA; EGAN, 2020).

A grelina é um hormônio peptídico de 28 aminoácidos produzido e secretado principalmente pelas células X/A no estômago, especificamente na região do fundo gástrico (DATE et al., 2000) e pelo intestino delgado proximal (TSCHÖP; SMILEY; HEIMAN, 2000). A grelina, ao contrário da leptina (discutido no próximo tópico: **“2.2.3 Adipocitocinas e controle da ingestão alimentar”**), age no apetite (desejo por comer algo) e na fome (necessidade fisiológica de ingerir alimentos) por meio de estímulos aos neurônios do AgRP/NPY no núcleo arqueado do hipotálamo e no núcleo paraventricular (BRIGGS; ANDREWS, 2011), por isso é conhecida como o “hormônio da fome”, embora não esteja claro se desencadeia ou apenas reflete a fome (PERELLO; DICKSON, 2015).

As concentrações circulantes de grelina aumentam e atingem o pico imediatamente antes do início da refeição, caindo em 1 hora após o consumo da refeição (CUMMINGS et al., 2001), sendo os carboidratos mais eficazes que as proteínas, que são mais eficazes que os lipídios na redução do hormônio. A redução pós-prandial da grelina não se dá com os nutrientes no estômago ou no duodeno, onde 80% a 90% da grelina é produzida, mas resulta de sinais intestinais transmitidos por via neural (não vagais) e pela ação aumentada da insulina (CUMMINGS; FOSTER-SCHUBERT; OVERDUIN, 2005). A grelina também estimula a motilidade gástrica e a secreção de ácido gástrico em antecipação à ingestão de alimentos (MASUDA et al., 2000).

A regulação da grelina funciona de maneira oposta aos peptídeos de saciedade (CUMMINGS; FOSTER-SCHUBERT; OVERDUIN, 2005; TSCHÖP; SMILEY; HEIMAN,

2000). A grelina aumenta a ingestão dos alimentos e a motilidade gastrointestinal e diminui a secreção de insulina (CUMMINGS et al., 2002). A respeito disso, a grelina parece aumentar o consumo alimentar relacionado ao número de refeições iniciadas, sem alterar o tamanho das mesmas. Além da ação no controle da alimentação a curto prazo, a grelina também demonstrou atuar como hormônio que contribui para a regulação do peso corporal a longo prazo. As concentrações de grelina seguem um padrão diurno em humanos e em roedores e ocorre devido à inibição da grelina pelo sono, fator esse que independe das refeições (SPIEGEL et al., 2011).

Estudos mostraram que as concentrações em jejum da grelina são diferentes entre indivíduos com peso normal e indivíduos com sobrepeso (MYERS et al., 2010). No período de jejum, em indivíduos com peso normal, as concentrações são relativamente altas, subindo mais antes da refeição e com queda pós-prandial (CUMMINGS et al., 2001; MEYER-GERSPACH et al., 2014; YANG et al., 2009). Indivíduos com excesso de peso, apresentam alteração na liberação de grelina, com picos antes da refeição, mas com queda menor pós prandial e por isso, demonstram menos saciedade após a refeição, proporcionando assim o consumo excessivo também entre as refeições (YANG et al., 2009). A respeito disso, indivíduos com excesso de peso consumiram mais quantidade em uma refeição *buffet ad libitum* do que indivíduos com peso normal após receberem dose baixa de grelina, e a ingestão alimentar foi semelhante após dose alta de grelina (DRUCE et al., 2005).

Evidências demonstram que a grelina desempenha papel relevante na alimentação homeostática e na alimentação hedônica (GROSSHANS et al., 2012; PERELLO et al., 2010; SKIBICKA et al., 2012) por meio dos estímulos alimentares. Nesse contexto, é importante mencionar sobre a reatividade aos estímulos alimentares (*Food Cue Reactivity – FCR*), uma resposta antecipatória relacionada aos estímulos alimentares que provoca ativação neural em áreas cerebrais ligadas à recompensa alimentar e consequentes respostas fisiológicas (BOSWELL; KOBER, 2016). A FCR é alterada por muitos fatores, incluindo fome e peso (CHARBONNIER et al., 2018), e pode provocar a alimentação homeostática (sensação fisiológica para repor o gasto calórico) e a alimentação hedônica (fome ligada ao prazer), levando assim ao consumo excessivo que proporciona o ganho de peso e ao estado de obesidade (MARTIN et al., 2010; TETLEY; BRUNSTROM; GRIFFITHS, 2009). Estudos em humanos e animais demonstraram que a maior concentração da grelina em jejum está associada a maior reatividade aos estímulos alimentares, demonstrando que a grelina atua na recompensa e nas vias motivacionais para aumentar a resposta aos diversos estímulos alimentares (visual, sabor

e recompensa) (KROEMER et al., 2013). Pesquisas demonstraram que a possibilidade de redução nas concentrações da grelina após a ingestão alimentar está relacionada com o maior declínio destes estímulos neurais (ROTH et al., 2019; SUN et al., 2015). Sendo assim, indivíduos com índice de massa corporal (IMC = peso/altura<sup>2</sup>) maior podem apresentar menor redução da grelina após a ingestão alimentar (YANG et al., 2009).

Um hormônio importante produzido pela glândula acessória mista, o pâncreas, é a insulina (BANKS; OWEN; ERICKSON, 2012). A insulina, descoberta há um século (BANTING FG, 1922), é considerada um hormônio peptídico e é composta por uma cadeia A de 21 aminoácidos e uma cadeia B de 30 aminoácidos (BANKS; OWEN; ERICKSON, 2012). A célula  $\beta$  do pâncreas, presente nas ilhotas de Langerhans, secreta a insulina empacotada e co-secretada com a amilina (BANKS; OWEN; ERICKSON, 2012). A insulina é conhecida por ser o principal regulador das concentrações de glicose no sangue, e por isso, sua produção e secreção são aumentadas como consequência da elevação da glicemia (TANDON; WAFER; MINCHIN, 2018). A insulina estimula a captação de glicose pelos tecidos que possuem o transportador de glicose sensível a ela (GLUT-4 - *glucose transporter type 4*), como músculo e tecido adiposo (BANKS; OWEN; ERICKSON, 2012).

A perda de células  $\beta$  pancreáticas, que ocorre no diabetes mellitus tipo 1, leva a secreção deficiente ou ausente de insulina e perda do controle da glicose no sangue (TANDON; WAFER; MINCHIN, 2018). Em indivíduos com diabetes mellitus tipo 2 (DM2) ou com obesidade, a insulina pode se tornar ineficiente em interagir com seus receptores para controlar a captação de glicose pelo músculo e outros tecidos sensíveis a esse hormônio (WAKI; TONTONZOZ, 2007). Em consequência, a glicose no sangue aumenta, estimulando as células  $\beta$  pancreáticas a liberar mais insulina até que a glicemia volte ao normal ou a secreção pancreática atinja seu máximo (MORTON et al., 2006). Nesta situação pode ocorrer o estado conhecido como resistência à insulina (RI) (EINHORN et al., 2003) e quando os valores de insulina diminuem observa-se o aumento da sensibilidade a esse hormônio (KOENEN et al., 2009).

A resistência à insulina e a disfunção das células  $\beta$  pancreáticas são fatores importantes na fisiopatologia do diabetes e pré-diabetes, contribuindo com os diversos tipos de subgrupos de pré-diabéticos, pela variação de raças e etnias (ABBASI; OKEKE; REAVEN, 2014). O método mais comum usado em estudos epidemiológicos para a avaliação da RI e da função das células  $\beta$  são as fórmulas de *homeostasis model assessment of insulin resistance* (HOMA-IR), que é o índice considerado padrão ouro para avaliar a sensibilidade à insulina, e *homeostasis*

*model assessment  $\beta$ -cell function* (HOMA-BETA), que avalia a função das células em questão. Como as concentrações de insulina e de glicose são as únicas medidas necessárias para calcular os índices HOMA, esses são os indicadores mais comuns e usados para fornecer informações sobre o desenvolvimento da resistência à insulina, função das células beta e do metabolismo da glicose (ABBASI; OKEKE; REAVEN, 2014; SONG et al., 2007).

Já é bem esclarecido que a percepção de hipoglicemia pelo SNC provoca resposta contrarreguladora, com base no SNC e mediada pelo nervo vago para restabelecer glicemia (MCEWEN; REAGAN, 2004) (CLARK, 1925). Além disso, a insulina tem efeito importante no cérebro, modulando alterações no gasto energético, metabolismo, apetite e resposta neural (KLEINRIDDERS et al., 2014). A insulina no momento pós-prandial, é liberada na circulação sistêmica e consegue atravessar a membrana hematoencefálica, interagindo com seus receptores localizados no cérebro, trazendo desta forma resposta anorexígena e diminuindo os sinais orexígenos (BANKS; OWEN; ERICKSON, 2012). A insulina atua como regulador de longo e curto prazo dos sinais de fome e saciedade, pela sua sensibilidade ao balanço energético de longo prazo e pelas mudanças agudas de energia (TACAD et al., 2022).

### **2.2.3 Adipocitocinas e controle da ingestão alimentar**

O tecido adiposo é um órgão endócrino metabolicamente ativo, que sintetiza outros fatores e hormônios relacionados a diversos processos biológicos, como metabolismo energético, função neuroendócrina, coagulação e função imunológica, colaborando com a homeostase e o metabolismo do peso corporal (COELHO; OLIVEIRA; FERNANDES, 2013). Dentre as moléculas que o tecido adiposo produz, podemos citar as adipocitocinas (ou adipocinas) que são peptídeos bioativos, a exemplo da leptina e adiponectina que são abundantemente secretadas pelos adipócitos, células que armazenam os lipídeos nesse tecido (ACHARI; JAIN, 2017).

Os neuropeptídeos hipotalâmicos, já citados nos tópicos anteriores, foram classificados em duas categorias: peptídeos orexígenos, que são inibidos pela leptina, e peptídeos anorexígenos, que são estimulados pela leptina (AHIMA; OSEI, 2004). A leptina é um hormônio peptídico de 146 aminoácidos, produzido principalmente pelo tecido adiposo branco, células epiteliais mamárias e medula óssea (AHIMA; OSEI, 2004), que consegue atravessar facilmente a membrana hematoencefálica (BANKS, 2001). A secreção e a produção de leptina

dependem das reservas de triglicerídeos (gordura) corporal (FRIEDMAN; HALAAS, 1998), por isso, pode ser um hormônio que influencia a ingestão de alimentos por meio de sinais agudos e de longo prazo (AHIMA et al., 2000). O jejum diminui as concentrações de triglicerídeos armazenados e circulantes, impactando na redução da liberação de leptina (FRIEDMAN; HALAAS, 1998).

A leptina apresenta importante papel na manutenção da homeostase energética. No estado alimentado, a expressão, a secreção e a concentração plasmática de leptina estão relacionadas proporcionalmente ao aumento da adiposidade (AHIMA; OSEI, 2004). Já foi demonstrado que os perfis de leptina plasmática são maiores em indivíduos com obesidade do que em indivíduos magros e maiores em mulheres do que em homens (SAAD et al., 1997). Normalmente, altas concentrações de leptina estão associadas à diminuição do apetite e aumento do gasto energético para manutenção do peso corporal (MYERS et al., 2010; SHAN; YEO, 2011). No entanto, em indivíduos com obesidade, a leptina aumentada não proporciona este balanço energético, ou seja, observa-se o desenvolvimento de resistência aos efeitos clássicos da leptina, como consequência do consumo excessivo e dos altos índices de adiposidade (MYERS et al., 2010; SAHU, 2002). Além disso, parece que as concentrações em jejum da leptina são diferentes entre indivíduos com peso normal e indivíduos com sobrepeso (MYERS et al., 2010).

Evidências demonstram que a leptina também desempenha papel relevante na alimentação homeostática e na alimentação hedônica (GROSSHANS et al., 2012; PERELLO et al., 2010; SKIBICKA et al., 2012) por meio dos estímulos alimentares (GROSSHANS et al., 2012; SIMON et al., 2014). Já foi demonstrado também que o IMC e o HOMA-IR estão relacionados às concentrações de leptina e a reatividade ao estímulo alimentar, porque indivíduos com IMC e HOMA-IR mais altos podem ser menos sensíveis à leptina e apresentar maiores respostas aos estímulos alimentares (GROSSHANS et al., 2012).

A adiponectina é um hormônio proteico de 244 aminoácidos (ACHARI; JAIN, 2017), que atua principalmente por meio de dois receptores, AdipoR1 e AdipoR2 (KADOWAKI; YAMAUCHI, 2005), cujas expressões estão significativamente diminuídas no DM2 e na obesidade (DROLET et al., 2009). A forma monomérica da adiponectina é representada como uma forma completa (*f* adiponectina) ou como uma forma globular (*g* adiponectina) (FRUEBIS et al., 2001; NIGRO et al., 2014). A forma monomérica estimula a ativação da proteína quinase ativada por monofosfato de adenosina (*adenosine monophosphate-activated protein kinase* -

AMPK) no músculo, estimulando a oxidação de ácidos graxos e a captação periférica de glicose (MANGGE et al., 2011). O aumento da g adiponectina tem sido associado a melhora do metabolismo energético (DE ROSA et al., 2013; WEN et al., 2010).

A adiponectina tem como alvo o fígado, coração, células  $\beta$  pancreáticas, rins, músculos e age em vários outros tecidos (DENG; SCHERER, 2010). Essa adipocitocina age na supressão da gliconeogênese hepática; promove a sensibilização à insulina melhorando a homeostase energética de todo o corpo; protege contra uma série de eventos patológicos em várias células, porque inibe a morte celular, a inflamação e favorece a sobrevivência celular (DENG; SCHERER, 2010). No pâncreas, a adiponectina responde na proliferação celular estimulando a secreção de insulina (RAO et al., 2012). Nos tecidos adiposos, a adiponectina aumenta a captação de glicose e melhora a captação de glicose estimulada pela insulina por meio da ativação da AMPK (WU et al., 2003).

Os oligômeros de adiponectina total estão inversamente correlacionados com os valores de IMC, glicose, insulina e triglicerídeos, grau de resistência à insulina e, principalmente, quantidade de gordura visceral (DE ROSA et al., 2013). A forma de expansão do tecido adiposo (hipertrofia: aumento do tamanho e/ou hiperplasia: aumento do número de células) pode regular a síntese e a secreção de adiponectina. Estudos descobriram relação inversa entre o diâmetro médio dos adipócitos e a secreção de adiponectina (DROLET et al., 2009).

A restrição calórica em humanos e animais e a perda de 10-20% de peso em indivíduos com obesidade aumentaram a expressão gênica da adiponectina no tecido adiposo e no soro (SALAS-SALVADÓ et al., 2006). Resultados significativos no aumento de adiponectina também foram demonstrados em dieta com baixo teor de gordura e suplementação diária de peixe ou ômega 3 (HE et al., 2004; KASIM-KARAKAS et al., 2006; MICALLEF; GARG, 2009).

A adiponectina também tem sido alvo de estudos no papel da regulação do comportamento alimentar por meio do envio de sinais ao hipotálamo (COOPE et al., 2008). A presença dos receptores de adiponectina em diferentes regiões do cérebro, incluindo os núcleos hipotalâmicos arqueados e laterais podem justificar esta afirmativa (KOS et al., 2007). Pesquisas feitas em camundongos demonstrou que apesar dos receptores AdipoR1 e AdipoR2 serem altamente expressos no cérebro, apenas o AdipoR1 hipotalâmico parece atuar na regulação da ingestão alimentar e no gasto de energia (KUBOTA et al., 2007)

### 2.3 Obesidade

A incidência e a prevalência da obesidade no mundo não param de crescer (BAGHERI et al., 2020; WANG et al., 2021) e isto torna a obesidade um problema de saúde pública que atinge proporções epidêmicas (AKHONDZADEH BASTI et al., 2007). No último relatório norte-americano (2017-2020), 42,4% dos adultos apresentaram  $IMC \geq 30 \text{ kg/m}^2$  (HALES et al., 2020). No Brasil, de acordo com a Vigilância dos Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico (VIGITEL), mais da metade das pessoas encontravam-se com excesso de peso (60,3%), ou seja, apresentavam IMC maior ou igual a  $25 \text{ kg/m}^2$ , com prevalência maior entre as mulheres (62,6%), do que os homens (57,5%) (VIGITEL, 2021). O aumento do excesso de peso e da obesidade no mundo, provoca enorme fardo para os sistemas de saúde e para os países, que tentam atuar nos tratamentos e nas consequências geradas por esse quadro (WITHROW; ALTER, 2011). Como consequências principais da obesidade estão o aumento da morbidade e da mortalidade provocado pelas doenças crônicas não transmissíveis associadas, principalmente as doenças cardiovasculares e DM2, que poderiam ser evitadas por meio do controle do peso (WANG et al., 2021). Dessa forma, conhecer cada vez mais, as possibilidades de tratamento para o controle de peso são necessárias e essenciais para a saúde pública no mundo (SCARBOROUGH et al., 2011).

A obesidade é decorrente da combinação de vários fatores dentre eles genéticos, fisiológicos, comportamentais, socioculturais e ambientais que levam ao desequilíbrio entre a ingestão e o gasto de energia (ALAMUDDIN; BAKIZADA; WADDEN, 2016). Por sua natureza multifatorial, a obesidade se torna uma doença de difícil tratamento (FRÜHBECK; KIORTSIS; CATALÁN, 2018). Além disso, a obesidade é importante fator de risco para outras doenças, como as cardiovasculares, hipertensão, diabetes, câncer e várias outras patologias (PARTO; LAVIE, 2017; UPADHYAY et al., 2018), pois ela compromete quase todos os sistemas e órgãos (FRÜHBECK et al., 2013; GÓMEZ-AMBROSI et al., 2014; ROBERTO et al., 2015). A complexidade dos processos fisiológicos e metabólicos envolvidos no comportamento alimentar e no consumo excessivo de calorias favorece o aumento da obesidade (VAN KLEEF et al., 2012).

Dentre as estratégias para diminuir o peso corporal, é primordial o balanço energético negativo, com a redução na ingestão calórica e o aumento no gasto energético (JOHNSTON et al., 2014). As melhores intervenções para o tratamento da obesidade, até o momento, incluem

dieta com restrição calórica, modificações comportamentais e aumento do gasto energético por meio da prática de atividade física (JENSEN et al., 2014; SKELTON et al., 2006). No entanto, diversos fatores dificultam a manutenção de dietas com restrição calórica (HAINER; TOPLAK; MITRAKOU, 2008) o que compromete o sucesso efetivo para a perda de peso.

Já é bem esclarecido que a melhor estratégia nutricional para a perda de peso é aquela que o indivíduo consegue ter melhor adesão ao longo do tempo (JOHNSTON et al., 2014). Por isso, novas abordagens dietéticas com evidências científicas, podem trazer mais opções para contribuir com o tratamento para a perda de peso (JOHNSTON et al., 2014). O jejum intermitente é uma dessas estratégias cujo uso vem crescendo atualmente para favorecer a redução da ingestão energética (COLLIER, 2013; MATTSON et al., 2014). Estudos de revisão demonstraram que o jejum favorece a perda de peso sem adventos graves (WELTON et al., 2020). Em estudos de longo prazo (52 semanas), não foi encontrado diferenças significativas na perda de peso, comparando a estratégia de jejum com as dietas de restrição calórica convencionais (CARTER; CLIFTON; KEOGH, 2018; TREPANOWSKI et al., 2017).

Nosso grupo de pesquisa (dados ainda não publicados), demonstrou que o jejum no período ativo interfere no metabolismo da glicose e de lipídeos, tanto nas mulheres eutróficas quanto nas mulheres com obesidade. Mas somente o grupo das mulheres eutróficas apresentou redução no TNF- $\alpha$ . Stanek e colaboradores demonstraram os efeitos benéficos do jejum sobre o tecido adiposo e a melhora na resposta da leptina e da adiponectina principalmente em indivíduos com obesidade (STANEK et al., 2022). O jejum demonstrou resultados mais relevantes em comparação a outras estratégias de dieta, na perda de peso e na redução da glicemia de jejum, apresentando relação inversa entre os resultados e a massa livre de gordura (PELLEGRINI et al., 2020).

Estes resultados sugerem que o jejum também pode apresentar respostas hormonais distintas entre indivíduos magros e com obesidade. Inclusive, nosso grupo de pesquisa ao avaliar as mesmas voluntárias desse estudo clínico, demonstrou o aumento nas sensações subjetivas de apetite após o jejum no período ativo (TIBAES, dados não publicados). Assim, compreender melhor as respostas fisiológicas e metabólicas das moléculas ligadas ao consumo alimentar em humanos se fazem necessário.

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo geral**

Investigar o efeito do jejum agudo realizado durante o período ativo sobre os peptídeos gastrointestinais em mulheres eutróficas e com obesidade.

#### **3.2 Objetivos específicos**

- Verificar se o jejum durante o período ativo modifica o padrão de secreção de alguns dos peptídeos gastrointestinais [Peptídeo inibidor gástrico (GIP), peptídeo-1 semelhante ao glucagon (GLP-1), polipeptídeo pancreático (PP), peptídeo tirosina-tirosina (PYY) e grelina] quando comparado com o jejum noturno;
- Verificar se a resposta na secreção dos peptídeos gastrointestinais após o jejum no período ativo é alterada em mulheres com obesidade quando comparado com mulheres eutróficas;
- Verificar se o jejum durante o período ativo modifica o padrão de secreção das adipocitocinas (leptina e adiponectina) assim como da insulina quando comparado com o jejum noturno;
- Verificar se a resposta na secreção das adipocitocinas avaliadas e da insulina é alterada em mulheres com obesidade quando comparado com mulheres eutróficas.

## 4 MÉTODOS

### 4.1 Caracterização do estudo

As amostras desse estudo foram obtidas a partir de um ensaio clínico não randomizado, estratificado por conforme índice de massa corporal (IMC). Ele foi desenvolvido no Instituto Alfa de Gastroenterologia, pertencente ao Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) (Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil) entre os anos de 2017 e 2019.

### 4.2 População do estudo

A amostra do estudo constituiu-se de mulheres com idade entre 18 a 59 anos, estratificadas em dois grupos conforme pontos de corte do IMC ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ) (WHO, 1995): (1) Grupo eutrófico ( $\text{IMC} = 18,5 - 24,9 \text{ kg}/\text{m}^2$ ) e (2) Grupo com obesidade ( $\text{IMC} \geq 35,0 \text{ kg}/\text{m}^2$ ). Os critérios de exclusão foram: (i) diagnóstico de doenças crônicas como câncer, insuficiência renal crônica, doenças cardíaca, hepática ou autoimune; (ii) alteração tireoidiana e/ou uso de medicamento para esta condição; (iii) uso contínuo de corticóides, imunossuppressores, anti-inflamatórios, medicamentos para perda de peso, hipoglicemiantes orais, insulina e quaisquer medicamentos que influenciam parâmetros metabólicos e/ou inflamatórios; (iv) operação prévia para redução do peso corporal; (v) gravidez ou lactação; (vi) tabagismo e (vii) consumodiário de bebida alcoólica maior do que duas doses.

O recrutamento ocorreu por meio de divulgação em mídias eletrônicas (portal de notícias, rádio e televisão), mídias sociais (Facebook e Instagram) e no site da Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG ([ufmg.br](http://ufmg.br)).

### 4.3 Questões éticas

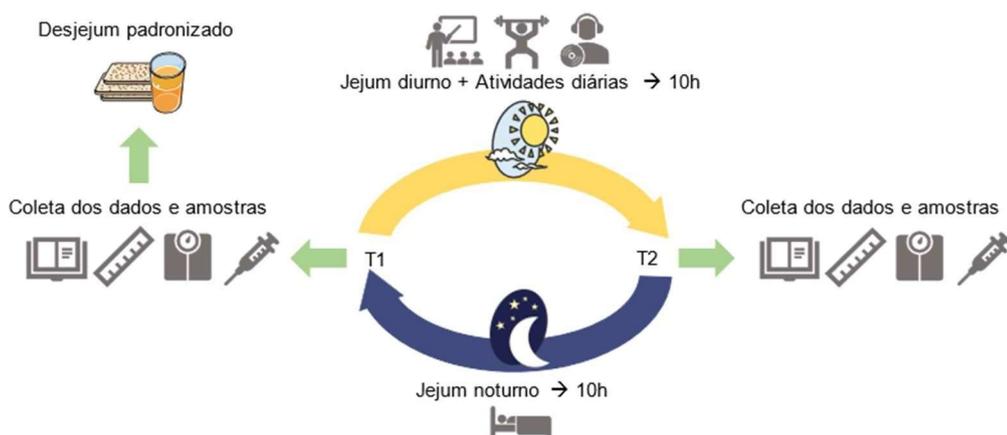
O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da UFMG (CAAE: 72774617.6.0000.5149) e registrado na plataforma ClinicalTrials.gov (NCT03574103). Todas as voluntárias assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (**Apêndice A**).

#### 4.4 Cálculo amostral

A partir do estudo de Zouhal e colaboradores (ZOUHAL et al., 2020), o cálculo do tamanho da amostra foi realizado considerando a diferença nas concentrações séricas do peptídeo gastrointestinal PYY antes e após o jejum de 30 dias, tendo em vista a ausência de estudos prévios que avaliaram o jejum agudo durante o período ativo. O tamanho amostral necessário considerando essa diferença foi calculado para 12 participantes, a partir da diferença média encontrada no estudo citado para o PYY. Foi adicionado 10% para possíveis perdas durante o protocolo experimental, acrescentando então no estudo dois participantes em cada grupo. Sendo assim, a amostra ficou dimensionada em 14 participantes por grupo. As estimativas foram realizadas com auxílio do programa G Power assumindo poder de 80% ao nível de significância de 5%.

#### 4.5 Protocolo do estudo

O estudo foi dividido em dois momentos de avaliação, sendo o primeiro após jejum noturno de 10 horas (Tempo 1 = T1) e o segundo após jejum diurno de 10 horas (Tempo 2 = T2). O delineamento experimental está demonstrado na **Figura 3**.



**FIGURA 3 – Delineamento experimental do estudo.** O estudo foi dividido em 2 coletas de dados e amostras, sendo o Tempo 1, após o jejum noturno de 10h, e o Tempo 2, após o jejum diurno de 10h. Após as coletas dos dados e amostras no T1, as voluntárias receberam um desjejum padronizado e seguiram no jejum diurno com as atividades diárias. Após 10 horas de jejum diurno as voluntárias voltaram para coleta de dados e amostras no T2.

As mulheres que foram elegíveis para o estudo receberam as orientações para o protocolo experimental. Todas foram orientadas a não realizar atividade física extenuante, não ingerir bebidas alcoólicas, não consumir café ou chá após às 18h, manter o consumo alimentar próximo ao habitual no dia anterior à intervenção, especialmente o da última refeição. Além disso, foi solicitado às voluntárias o comparecimento ao ambulatório após 10 horas de jejum noturno no dia pré-definido para o experimento.

Foi solicitado o registro de todos os alimentos e bebidas calóricas consumidos no dia anterior à intervenção, por meio de registro alimentar de 24 horas. No dia da intervenção, foram coletados os dados clínicos por meio de questionário semiestruturado (**Apêndice B**). O questionário solicitava informações referentes à idade, diagnóstico de doenças, uso de medicamentos e prática de atividade física.

Todas as participantes tiveram os dados antropométricos, composição corporal e gasto energético de repouso (GER) aferidos e após a realização dos procedimentos citados, as mulheres receberam um desjejum padronizado (café da manhã). As participantes foram orientadas a não praticar exercícios físicos extenuantes e a não ingerir quaisquer alimentos ou bebidas calóricas até o final do segundo momento, apenas o consumo livre de água foi permitido. Foi solicitado a cada participante, durante o período do jejum diurno, o registro de possíveis sensações/sintomas que fossem diferentes do habitual e/ou que pudessem ser decorrentes do jejum.

#### **4.5.1 Desjejum padronizado**

A refeição do desjejum foi composta por pão de forma tradicional, margarina, presunto cozido e néctar de fruta industrializado. As participantes tiveram 15 minutos para consumir a refeição. A distribuição de macronutrientes foi de 50% de carboidratos, 35% de lipídeos e 15% de proteínas, de acordo com as recomendações do Instituto de Medicina (IOM, 2006). O valor calórico correspondeu a 20% da necessidade energética estimada, calculada a partir do GER obtido por calorimetria indireta multiplicado por fator atividade e somado de 10% referente ao efeito térmico dos alimentos. Foi calculado o fator atividade considerando o autorrelato do tempo gasto em atividades de vida diárias (horas de sono, tempo assistindo televisão sentada, tempo gasto para leitura, tempo gasto no computador, tempo para realizar cada refeição, tempo gasto para tomar banho, tempo realizando atividades domésticas, tempo de deslocamento a pé

e tempo de atividade física). O tempo de atividade foi utilizado para cálculo dos equivalentes metabólicos (AINSWORTH et al., 2011).

#### 4.5.2 Antropometria e composição corporal

Foi realizada a avaliação antropométrica por meio da aferição do peso e altura. Para tais medidas foi utilizado a balança mecânica calibrada, marca Filizola®, com 0,1 kg de precisão e 150 kg de capacidade máxima com estadiômetro acoplado e precisão de 0,1 cm e extensão máxima de 2,20 m, respectivamente. Todas as medidas foram obtidas com as participantes descalças. Para mensurar a altura, a participante ficou em pé e ereta, com o olhar apontado para o horizonte. Ambas as medidas (peso e altura) foram utilizadas para o cálculo do IMC [ $\text{peso}(\text{kg})/\text{altura}^2(\text{m})$ ], classificado segundo os limites sugeridos pela Organização Mundial da Saúde (OMS): eutrofia: 18,5 – 24,9  $\text{kg}/\text{m}^2$  e obesidade:  $\geq 35,0 \text{ kg}/\text{m}^2$  (WHO, 2000).

A avaliação da composição corporal foi realizada por meio do aparelho Quantum II (RJM Systems, Michigan, EUA) de impedância bioelétrica, seguindo as instruções do fabricante. Antes de realizar o exame, as mulheres foram orientadas a urinar e retirar todos os objetos metálicos (ex.: acessórios, moedas) do corpo. A avaliação foi realizada com as voluntárias em decúbito dorsal, com os braços esticados ao lado do tronco e pernas entreabertas, de modo que não encostasse uma na outra. Eletrodos foram posicionados no terceiro dedo da mão direita e abaixo do arco transversal, na porção anterior do pé direito. Os eletrodos de detecção foram colocados na porção posterior do punho direito e na porção ventral da articulação do tornozelo direito, entre os maléolos (KYLE et al., 2004). Na impossibilidade de utilizar os membros do lado direito, o exame foi realizado no lado esquerdo. As participantes receberam corrente entre 500 a 800  $\mu\text{A}$ , com frequência de 50 kHz, durante a realização do exame. Para obtenção da reatância e da resistência, foi utilizado o aparelho Quantum (RJM Systems, Michigan, EUA). Os resultados de reatância e da resistência permitiram a estimativa da gordura corporal e da massa livre de gordura, por meio da equação desenvolvida por Chumlea e colaboradores (CHUMLEA et al., 2002).

### **4.5.3 Calorimetria indireta e gasto energético de repouso (GER)**

Para o cálculo do GER foi utilizado o método de calorimetria indireta, com o equipamento QUARK-RMR (COSMED, Roma, Itália), validado por estudos anteriores (ASHCRAFT; FRANKENFIELD, 2015; BLOND et al., 2011). O volume de oxigênio ( $VO_2$ ) e o volume de dióxido de carbono ( $VCO_2$ ) foram medidos por 15 minutos, com as participantes em decúbito dorsal, acordadas, em ambiente silencioso e temperatura neutra.

### **4.5.4 Análise séricas e plasmáticas**

As participantes foram submetidas à coleta de 5 mL de sangue, nos T1 e T2, para análise dos peptídeos gastrointestinais, adiponectina, insulina e glicose. O sangue coletado passou por centrifugação durante 15 min, a 3500 rpm, para obtenção das alíquotas do soro e plasma com posterior armazenamento em freezer a  $-80^{\circ}C$  até a realização dos ensaios bioquímicos. A coleta foi realizada observando-se os princípios éticos e por profissional devidamente treinado e capacitado para tal atividade.

#### **4.5.4.1 Peptídeos gastrointestinais e adiponectina**

Para as análises dos peptídeos gastrointestinais (GIP, GLP-1, PP, PYY e grelina) no plasma, foi utilizada a técnica de imunoenensaio multiplex Milliplex® pela plataforma Luminex® xMAP® de acordo com as instruções do fabricante (Millipore Corporation, MA, USA). Para tal procedimento foi usado o painel customizado *Human Metabolic Hormone Magnetic Bead Panel – HMHEMAG-34K*.

Já a leptina e a adiponectina foram mensuradas no soro, avaliadas por meio da técnica de ELISA, por kits de ensaio imunoenzimático da R&D Systems. A realização do ensaio seguiu as normas descritas pelo fabricante.

#### **4.5.4.2 Análise da insulina e glicose**

A insulina foi avaliada no soro pelo Instituto Hermes Pardini (Belo Horizonte, MG, Brasil) por meio de ensaios quimioluminescentes e turbidimétricos. Além disso, foi calculado

o índice de resistência à insulina por meio do índice HOMA-IR com uso da fórmula HOMA-IR = (insulina de jejum (mU/L) x glicemia de jejum (mg/dL) x 0,0555) /22,5 (KOENEN et al., 2009). Para o cálculo do HOMA-BETA, que avalia a função da célula  $\beta$  pancreática, foi usada a fórmula, HOMA-BETA (%) = (20 x insulina de jejum/glicose de jejum - 3,5) (MATTHEWS et al., 1985; KODAMA et al., 2013).

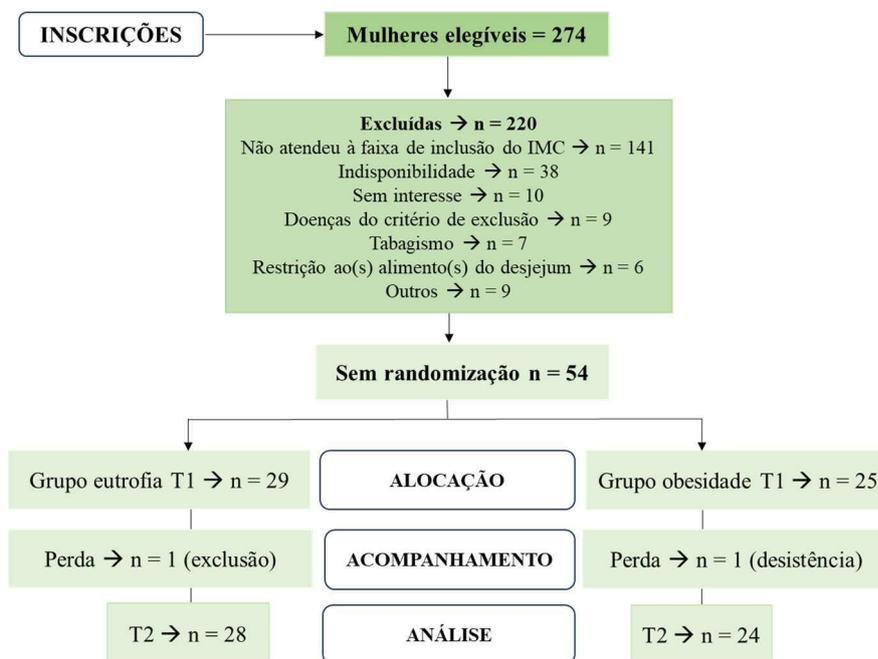
As concentrações de glicose foram quantificadas no soro das voluntárias por meio de kit enzimático (Bioclin®, Belo Horizonte, MG, Brasil) e para a realização do ensaio, foram seguidas as orientações dos fabricantes. Os dados das glicemias foram usados para a obtenção dos resultados dos índices HOMA-IR e HOMA-BETA.

#### 4.6 Análises estatísticas

Os gráficos foram criados por meio do programa GraphPad Prism versão 8.0.1. As análises estatísticas foram realizadas por meio do Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) versão 20.0. Para testar a normalidade das variáveis quantitativas foi utilizado o teste de Shapiro-Wilk. A comparação dos dados, controlados pela idade, foi feita por meio do método de Equações de Estimções Generalizadas (*Generalized Estimating Equations* - GEE), sendo utilizada, como pós-teste, a correção de Bonferroni. Os dados da diferença entre os dois momentos [ $\Delta$ ] = T2-T1] foram comparados pelo teste de Mann-Whitney, para variáveis não paramétricas, e teste T de Student Simples, para variáveis paramétricas. Para todas as análises foi adotado o nível de significância de 5 % ( $p < 0,05$ ) (Mukaka, 2012). Os dados dos gráficos e tabelas foram apresentados como média com intervalo de confiança de 95% (IC 95%). Nos gráficos, as comparações relevantes nas análises entre o tempo 1 e tempo 2 intragrupos (eutrofia versus obesidade) foram apresentados como asterisco (\*) e entre o tempo 1 e tempo 2 intergrupos como cerquilha (#).

## 5 RESULTADOS

Para realização do estudo, 274 mulheres foram entrevistadas. Destas, 54 atenderam aos critérios de inclusão e foram alocadas no grupo eutrofia (n = 29) e no grupo obesidade (n = 25), de acordo com o IMC. Entretanto, uma participante do grupo eutrofia foi excluída devido a alterações glicêmicas e uma do grupo obesidade desistiu de participar do estudo. Dessa forma, o estudo foi concluído com 28 mulheres no grupo eutrofia e 24 no grupo obesidade, conforme demonstrado no fluxograma abaixo (**Figura 4**).



**FIGURA 4 - Fluxograma do estudo.**

**Tabela 1 – Características das participantes do estudo.**

Variáveis	Eutrofia (n=29)	Obesidade (n=25)
Idade (anos)	26,46 (24,22; 28,26)	35,72 (31,30; 40,14)
Peso (Kg)	58,36 (55,80; 60,91)	101,60 (96,97; 106,24)
IMC (Kg/m <sup>2</sup> )	21,66 (20,91; 22,40)	39,53 (38,38; 40,69)
CC (cm)	69,86 (68,10; 71,62)	102,77 (100,46; 105,08)
RCQ	0,71 (0,69; 0,72)	0,80 (0,77; 0,83)
Gordura corporal (%)	31,43 (30,07; 32,79)	47,09 (46,38; 47,79)
MLG (%)	68,57 (67,21; 69,93)	52,91 (52,21; 53,62)

**Legenda:** IMC, índice de massa corporal; CC, circunferência da cintura; RCQ, relação cintura/quadril; MLG, massa livre de gordura.

## 5.1 Efeito do jejum no período ativo sobre peptídeos gastrointestinais e adipocitocinas

Todas as análises estatísticas foram realizadas por meio do método de GEE considerando o controle por idade, visto que as mulheres do grupo obesidade eram mais velhas que as do grupo eutrofia ( $p < 0,05$ ).

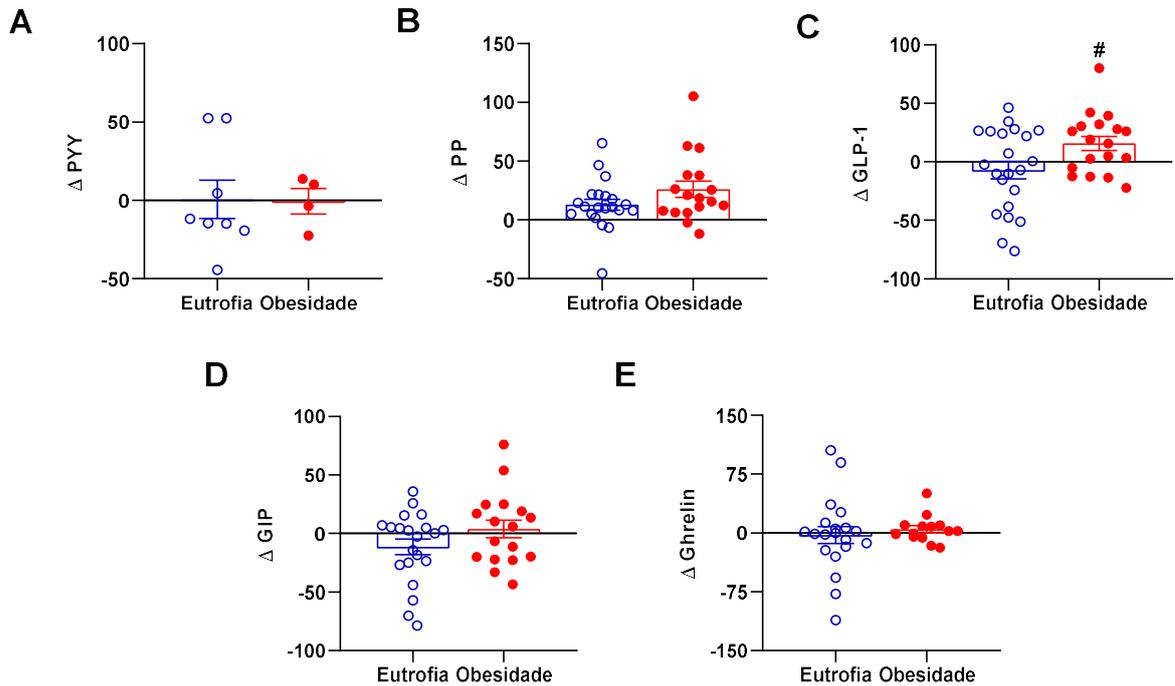
O jejum no período ativo (T2) não alterou a concentração de PYY tanto em mulheres eutróficas como em mulheres com obesidade quando comparado com o jejum noturno (T1). Também não observamos diferença na concentração do PYY entre as mulheres eutróficas e com obesidade em nenhum dos períodos de jejum avaliados (**Tabela 2**). A concentração do PP, tanto nas mulheres com eutrofia como com obesidade, aumentou após o jejum no período ativo (T2) em relação ao jejum noturno (T1) (**Tabela 2**). Já em relação ao GLP-1, as concentrações aumentaram no T2 apenas no grupo obesidade, sem alterações no grupo eutrofia (**Tabela 2**). Quanto ao GIP, foi observada diferença entre os grupos (eutrofia versus obesidade) apenas após o jejum no período ativo (T2) (**Tabela 2**). Não foi observada diferença na concentração de grelina entre ou intragrupos (**Tabela 2**) indicando que o horário do jejum e o estado nutricional não influenciaram na concentração dessa molécula no soro das participantes. Conforme esperado, as concentrações plasmáticas de leptina apresentaram-se maiores no grupo obesidade tanto após o jejum noturno como após o jejum diurno em relação às mulheres eutróficas. As concentrações de leptina não alteraram após o jejum diurno no grupo eutrofia. Entretanto, no grupo com obesidade, as concentrações de leptina diminuíram após o jejum no período ativo (**Tabela 2**). Já em relação a adiponectina, houve diminuição significativa em suas concentrações no grupo eutrofia e no grupo obesidade após o jejum diurno (**Tabela 2**). Como característica da amostra do grupo com obesidade, a insulina e os índices HOMA encontraram-se maiores no T1 e no T2 em relação ao grupo eutrofia. Ao comparar duas situações de jejum com mesma quantidade de horas (10 horas em ambos os protocolos), observamos que o jejum diurno (T2) induziu redução na concentração de insulina, demonstrando diferença significativa entre e intra grupos (**Tabela 2**). Como esperado e em consequência ao resultado da insulina, o HOMA-IR também demonstrou resultados significativos intra e entre os grupos após o jejum diurno (T2) (**Tabela 2**). O mesmo é válido para o resultado do HOMA-BETA, que demonstrou diferença significativa após o jejum agudo diurno em comparação ao jejum noturno (T1) em ambos os grupos, eutrofia e obesidade (**Tabela 2**).

Tabela 2 - Efeito do jejum no período ativo nos peptídeos gastrointestinais e hormônios em mulheres eutróficas e com obesidade

Variável	Eutrofia		Obesidade		Valor p		
	Tempo 1	Tempo 2	Tempo 1	Tempo 2	Grupo	Tempo	Grupo versus tempo
PYY (ng/ml)	156,59 (120,99; 202,68)	170,38 (137,34; 211,36)	198,61 (139,79; 282,18)	155,18 (105,38; 228,51)	0,716	0,436	0,112
PP (ng/ml)	33,17 (23,10; 47,64)	48,57* (38,20; 61,76)	29,16 (18,53; 45,89)	57,81* (43,96; 76,02)	0,917	<0,001	0,198
GLP-1 (ng/ml)	146,92 (126,21; 171,03)	139,87 (122,80; 159,30)	165,69 (133,06; 206,30)	181,42* (145,05; 226,89)	0,146	0,485	0,019
GIP (ng/ml)	56,28 (44,69; 70,88)	45,97 (38,10; 55,44)	58,10 (46,17; 73,11)	62,08# (51,16; 75,34)	0,191	0,420	0,112
Grelina (ng/ml)	40,31 (30,44; 53,38)	43,62 (31,09; 61,25)	31,93 (24,75; 41,17)	37,23 (28,85; 48,05)	0,233	0,346	0,762
Leptina (ng/ml)	6,12 (5,19; 7,22)	5,61 (4,68; 6,72)	20,586# (19,07; 22,20)	18,62*# (17,26; 20,09)	<0,001	0,034	0,896
Adiponectina (ng/ml)	48,70 (45,90; 51,68)	43,90* (42,39; 45,46)	52,72 (48,96; 56,78)	47,76* (44,90; 50,80)	0,027	<0,001	0,910
Insulina (μU/ml)	6,24 (5,45; 7,15)	4,05*# (3,34; 4,91)	14,31 (11,66; 17,56)	10,23*# (8,23; 12,72)	<0,001	<0,001	0,385
HOMA-IR	1,48 (1,27; 1,71)	0,93*# (0,78; 1,10)	3,63 (2,99; 4,41)	2,35*# (1,99; 2,77)	<0,001	<0,001	0,818
HOMA-BETA	74,39 (59,86; 92,44)	52,48*# (39,90; 69,05)	133,18 (101,08; 175,46)	96,87*# (79,81; 117,59)	<0,001	<0,001	0,870

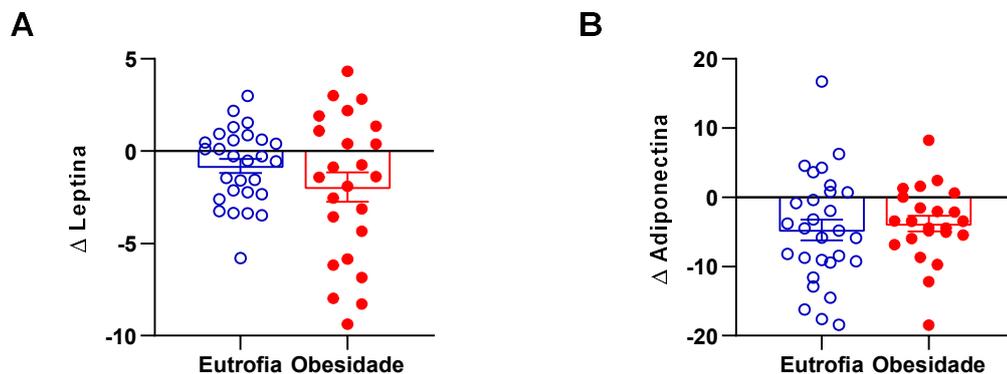
**Legenda:** Peptídeo tirosina-tirosina(PYY); Polipeptídeo pancreático (PP); Peptídeo-1 semelhante ao glucagon (GLP-1); Peptídeo inibidor gástrico (GIP); *Homeostases Model Assessment-Insulin* (HOMA-IR); *Homeostasis Model Assessment b-Cell Function* (HOMA-BETA). **Nota:** Análise dos dados realizada pelo método de Equações de Estimativas Generalizadas(GEE); #p < 0,05, diferença significativa entre T1 e T2 intergrupo; \*p < 0,05, diferença significativa entre T1 ou T2 intragrupo.

Para entender melhor as diferenças das variações dos peptídeos gastrointestinais entre os grupos eutrofia e com obesidade, foi realizado o cálculo do delta ( $\Delta = T2-T1$ ) dos valores obtidos. Entre as mulheres eutróficas e com obesidade, não houve modificações significativas no delta para os peptídeos gastrointestinais PYY (**Figura 5A**), PP (**Figura 5B**), GIP (**Figura 5D**), grelina (**Figura 5E**). Como observado na (**Figura 5C**), o GLP-1 mostrou diferença das variações entre o grupo eutrofia e grupo obesidade.



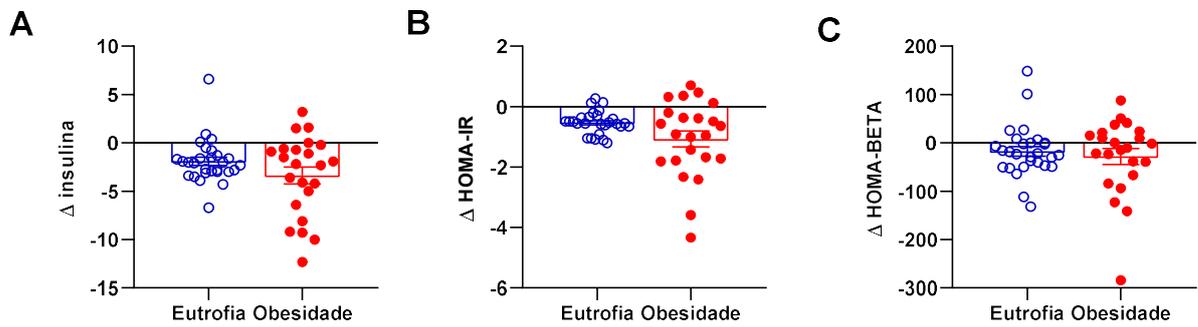
**FIGURA 5 – Variação média ( $\Delta$ ) no jejum no período ativo em mulheres eutróficas e com obesidade.** (A)  $\Delta$  PYY; (B)  $\Delta$  PP; (C)  $\Delta$  GLP-1; (D)  $\Delta$  GIP; (E)  $\Delta$  Ghrelin. T1, tempo 1 – jejum noturno; T2, tempo 2 – jejum diurno. **Nota:** dados expressos em azul e círculo vazado, grupo eutrofia; vermelho e círculo preenchido, grupo obesidade. Dados do  $\Delta$  expressos como média com IC 95 %; \* $p < 0,05$ .

No cálculo do delta, a leptina (**Figura 6A**) e adiponectina (**Figura 6B**) também não tiveram diferença significativa entre os grupos.



**FIGURA 6 – Variação média ( $\Delta$ ) no jejum no período ativo em mulheres eutróficas e com obesidade.** (A)  $\Delta$  Leptina; (B)  $\Delta$  Adiponectina; T1, tempo 1 – jejum noturno; T2, tempo 2 – jejum diurno. **Nota:** dados expressos em azul e círculo vazado, grupo eutrofia; vermelho e círculo preenchido, grupo obesidade. Dados do  $\Delta$  expressos como média com IC 95 %.

Não foi encontrada diferença no cálculo do delta da insulina entre mulheres eutróficas e com obesidade (**Figura 7A**). Em consequência, também sem diferença na variação média calculada pelo delta no HOMA IR (**Figura 7B**) e HOMA BETA (**Figura 7C**).



**FIGURA 7 – Variação média ( $\Delta$ ) no jejum no período ativo em mulheres eutróficas e com obesidade. (A)  $\Delta$  Insulina; (B)  $\Delta$  HOMA-IR; (C)  $\Delta$  HOMA-BETA; T1, tempo 1 – jejum noturno; T2, tempo 2 – jejum diurno. Nota: dados expressos em azul e círculo vazado, grupo eutrofia; vermelho e círculo preenchido, grupo obesidade; Dados do  $\Delta$  expressos como média com IC 95 %.**

## 6 DISCUSSÃO

O jejum no período ativo do dia tem sido amplamente realizado com objetivo de perda de peso e melhora de parâmetros metabólicos (LONGO; MATTSON, 2014; TACAD et al., 2022). Apesar das adaptações metabólicas serem mais bem descritas no contexto do jejum noturno, pouco se sabe quanto aos efeitos do jejum agudo, no período ativo, principalmente em relação a modulação da secreção dos hormônios gastrointestinais e adipocitocinas (HARRIS et al., 2018). Assim, o objetivo do estudo foi investigar o efeito do jejum agudo realizado durante o período ativo sobre os peptídeos gastrointestinais em mulheres eutróficas e com obesidade.

Nossos dados mostram que ambos os grupos, após o jejum no período ativo, não demonstraram alterações (aumento ou diminuição) no hormônio gastrointestinal orexígeno grelina. Este hormônio reflete a sensação de fome (PERELLO; DICKSON, 2015). Já é bem esclarecido que ocorre aumento nas concentrações plasmáticas durante o jejum e durante a alimentação ocorre redução (ARIYASU et al., 2001). Como nos dois momentos o tempo de jejum foi igual (10h), o resultado do estudo sugere que o jejum diurno, realizado durante o período ativo, não altera o principal hormônio gastrointestinal orexígeno. Entretanto, análise realizada com as mesmas voluntárias desse estudo clínico, demonstrou que tanto mulheres eutróficas como as com obesidade relataram alterações nas sensações subjetivas de apetite (aumento), com aumento de fome no grupo eutrofia ( $p = 0,01$ ) e no grupo de mulheres com obesidade ( $p = 0,04$ ) após realizarem o jejum e 10 horas durante o período ativo (TIBAE, dados não publicados). Parr e colaboradores (2020), ao avaliar homens com sobrepeso e obesidade, em um protocolo de jejum, que atrasava o horário habitual do consumo do desjejum, observaram que as classificações subjetivas de apetite e as medições hormonais relacionadas são alteradas pela mudança no horário da alimentação (PARR et al., 2020). Compatível com nosso resultado, outros estudos não encontraram mudanças (aumento ou diminuição) na grelina com o protocolo do jejum, seguido de um período *ad libitum*, no intervalo de quatro a oito semanas (ALZOGHAIBI et al., 2014; CARLSON et al., 2007; SUTTON et al., 2018). Quando o jejum foi avaliado por maior período de tempo, até 30 dias, pesquisadores encontraram redução significativa na concentração basal de grelina (AL-RAWI et al., 2020; RAVUSSIN et al., 2019). No estudo de Hutchison et al (2019), o jejum foi realizado por sete dias e compararam o jejum matinal (janela alimentar entre 08h00 e 17h00) com o jejum vespertino (janela alimentar entre 12h00 e 21h00) em participantes adultos, com sobrepeso ou com obesidade (HUTCHISON et al., 2019). Os autores concluíram que a concentração de grelina em jejum foi significativamente menor no grupo de jejum

matinal, sugerindo que o horário da janela alimentar pode refletir nas concentrações de grelina (HUTCHISON et al., 2019). Tacad e colegas (2022), em revisão sistemática sobre jejum, identificaram que protocolos de restrição alimentar por tempo (jejum) não possuem respostas definidas sobre a concentração ou perfil de secreção da grelina (TACAD et al., 2022). Segundo os autores, a dificuldade de comparar os resultados com jejum é devido à falta de padronização dos protocolos nos estudos, a duração das intervenções e a falta de medidas pós prandiais (TACAD et al., 2022). Assim, no que tange ao delineamento aqui realizado, identificamos que a maior percepção de fome decorrente do jejum realizado durante o período ativo não parece ser decorrente de alterações na concentração da grelina.

Os peptídeos anorexígenos inibem a fome, estimulam a saciedade e participam da homeostase energética corporal (VOHRA et al., 2022). Na ausência de nutrientes, os peptídeos anorexígenos se encontram reduzidos (STRADER; WOODS, 2005). Avaliando o peptídeo anorexígeno PP, nosso estudo demonstrou que mulheres eutróficas ou com obesidade apresentam maiores concentrações deste peptídeo e ainda que, mulheres com obesidade, também apresentam maiores concentrações do peptídeo GLP-1, após o jejum diurno. Mais uma vez, o maior aumento da fome e maior desejo por alimentos identificados previamente, usando esse protocolo experimental (dados não publicados), não pode ser associado a modulação de peptídeos anorexígenos. Desta forma, observa-se que os hormônios peptídeos não parecem responder isoladamente pela sensação de fome encontrada durante a realização do jejum no período ativo nesse delineamento experimental. Os peptídeos respondem pela fome homeostática e pela fome hedônica (AMIN; MERCER, 2016), mas estes sistemas não agem isoladamente (MORALES; BERRIDGE, 2020; ROSSI; STUBER, 2018). O comportamento alimentar também é afetado pelo humor e pelas emoções (PRASAD, 1998; SINGH, 2014). A respeito disso, nosso grupo havia encontrado além da alteração na sensação de fome das participantes, a alteração no estado de humor. Além disso, é válido ressaltar que o comportamento alimentar e a percepção de apetite são diferentes em indivíduos com maior gordura corporal (BOURDIER et al., 2018; VAN DEN AKKER; SCHYNS; JANSEN, 2017). Este contexto pode ter contribuído com o resultado encontrado no estudo, principalmente nas mulheres com obesidade, justificando que a sensação de fome observada não é devida somente aos peptídeos gastrointestinais.

O hormônio anorexígeno PP induz saciedade pela ativação dos receptores hipotalâmicos do neuropeptídeo Y4 (ZHU et al., 2023) sendo sua secreção aumentada após o consumo

alimentar (LØVGREN; POULSEN; SCHWARTZ, 1981) e reduzida após o jejum noturno (ZHU et al., 2023). Curiosamente, houve aumento do PP, nos dois grupos (eutrofia e com obesidade), após o jejum realizado durante o dia. Até o momento, o PP não foi avaliado em estudos de jejum. Devido a esta ausência, foi considerado estudo realizado com 20% de restrição calórica, por 12 semanas, que não encontrou mudanças em PP de jejum e pós-prandial (JENSEN et al., 2015). Uma revisão comparando os peptídeos gastrointestinais em experimentos de restrição calórica e de jejum, descreve que a restrição calórica grave ou a perda de peso podem interferir no resultado pós-prandial mas sem mudança no PP de jejum (TACAD et al., 2022).

Atualmente o PP tem ganhado mais atenção, mas ainda existem muitas lacunas inexploradas sobre sua ação (ZHU et al., 2023). A ativação dos receptores Y4, pelo PP, parece trazer benefícios para a célula beta (KHAN et al., 2017). Além disso, o PP está relacionado ao aumento da disponibilidade dos receptores da insulina, contribuindo com a melhora da sensibilidade à esse hormônio (RABIEE et al., 2011). De maneira também não muito esclarecida, baixas concentrações de glicose também podem estimular a secreção de PP (FLOYD et al., 1977; ZHU et al., 2023). Marco e colegas (1978), avaliaram a secreção do PP com as alterações de glicose (MARCO; HEDO; VILLANUEVA, 1978). Homens jovens e saudáveis, receberam glicose e insulina, por infusão intravenosa (MARCO; HEDO; VILLANUEVA, 1978). Os dados do estudo indicaram que as flutuações experimentais da glicemia, afetaram inversamente a secreção do peptídeo PP (MARCO; HEDO; VILLANUEVA, 1978). Durante o jejum no período diário, as concentrações de glicose encontram-se mais baixas e esta condição pode estar relacionada ao resultado encontrado no nosso experimento sobre o PP. A melhora na sensibilidade à insulina também foi encontrada nos dois grupos no estudo atual e de alguma forma, esta resposta pode estar associada a secreção aumentada do PP após o jejum diurno.

A concentração do peptídeo GIP apresentou-se aumentada nas mulheres com obesidade em comparação ao grupo eutrofia após o jejum no período ativo. A secreção de GIP após o jejum noturno aumenta a secreção de glucagon (MEIER et al., 2003). Isto acontece porque nas células  $\alpha$  pancreáticas, o GIP é mais eficaz na estimulação da secreção de glucagon quando as concentrações de glicose são mais baixas, enquanto nas células  $\beta$  pancreáticas, o GIP é mais eficaz na estimulação da secreção de insulina quando as concentrações de glicose são mais elevadas (EL; CAMPBELL, 2020). Dados anteriores do nosso grupo de pesquisa (dados não

publicados) evidenciou redução na concentração de glucagon em mulheres eutróficas e aumento nas mulheres com obesidade após o jejum agudo durante o período ativo. Porém, ao comparar a média da concentração de glucagon, após a correção pela idade, essas diferenças não se mantiveram (dados não publicados). Como no jejum durante o período ativo, há maior mobilização nas reservas de glicose, principalmente na obesidade, isto pode ter contribuído com os achados mais altos de glucagon e, conseqüentemente, do GIP no grupo das mulheres com obesidade.

Até o momento, não identificamos outros trabalhos que avaliaram a modulação da secreção de GIP no contexto de jejum agudo e durante o período ativo. Observando estudos que avaliaram o GIP em jejum crônico, encontramos resultados controversos. Semelhante ao nosso resultado, alguns trabalhos demonstraram que a restrição calórica não altera as concentrações de GIP, após o jejum noturno (IEPSEN et al., 2016; JENSEN et al., 2015; KRISHNAN et al., 2021; SUMITHRAN et al., 2011). Hutchison et al (2019), aplicaram o protocolo de jejum em diferentes horários de alimentação, onde os indivíduos começavam a se alimentar no início da manhã ou no início da tarde. Também não encontraram diferenças nas concentrações de GIP em indivíduos em jejum ou no estado pós-prandial (HUTCHISON et al., 2019). Ao contrário disto, outros estudos encontraram aumento do GIP pós-prandial, apenas em situação de perda de peso após a utilização do protocolo de jejum (IEPSEN et al., 2016; SUMITHRAN et al., 2011), porém, outros estudos não corroboraram esses resultados (JENSEN et al., 2015; KRISHNAN et al., 2021; TACAD et al., 2022).

O GIP, da mesma forma que o GLP-1, é uma incretina sendo que ambas as moléculas atuam em sintonia (MÜLLER et al., 2019). De fato, no nosso trabalho, o GIP apresentou uma associação com os resultados do GLP-1, uma vez que esse peptídeo apresentou aumento significativo após o jejum diário, somente no grupo com obesidade. Sendo assim, a sintonia entre os dois peptídeos parece justificar o resultado encontrado no grupo de mulheres com obesidade. Atualmente, essas duas incretinas, GIP e GLP-1, estão nos holofotes da ciência para os tratamentos da obesidade e controle do peso. Estudos farmacológicos demonstram que o uso de seus análogos ou incretinas sintéticas determina efeitos positivos no tratamento da obesidade e DM2 (DUTTA et al., 2021; KARAGIANNIS et al., 2022; PELLE et al., 2021).

Como característica básica de uma incretina, a liberação do GLP-1 ocorre após o aumento da glicemia decorrente da ingestão de nutrientes para estimular a secreção de insulina (NAUCK; MEIER, 2018). Por isso, tipicamente, as quantidades plasmáticas de GLP-1

encontram-se reduzidas no jejum e aumentam no período pós-prandial (DANOWITZ; DE LEON, 2022). Todavia, a função das células  $\beta$  na secreção da insulina é um fator chave para a adequada liberação do GLP-1 (NAUCK; MEIER, 2018) e a melhora na resposta da insulina pode melhorar a resposta do GLP-1 (SALEHI et al., 2010). Sendo assim, a associação entre o GLP-1 e a insulina são relevantes. Sobre a insulina, nossos resultados foram semelhantes a vários estudos realizados com diversos protocolos de jejum (TREPANOWSKI et al., 2018; BARNOSKY et al., 2014; SUTTON et al., 2018; SUTTON et al., 2018; CHE et al., 2021; LI et al., 2021; CIENFUEGOS et al., 2020). Demonstramos que após o jejum no período ativo, tanto as mulheres eutróficas quanto as com obesidade apresentaram redução nas concentrações da insulina e nos índices HOMA-IR e HOMA-BETA. A redução da insulina após a intervenção corrobora com o esperado nesse estudo, visto que não houve consumo alimentar e durante o jejum no período ativo, espera-se maior gasto energético e consumo da reserva de glicose com consequente menor secreção de insulina. A insulina atua como regulador de longo e curto prazo dos sinais de fome e saciedade (TACAD et al., 2022). No momento pós-prandial, é liberada na circulação sistêmica e consegue atravessar a membrana hematoencefálica sinalizando a resposta anorexígena e diminuindo os sinais orexígenos (BANKS; OWEN; ERICKSON, 2012). No estudo, o jejum no período ativo promoveu redução nas concentrações de insulina em ambos grupos, aumentando a sinalização orexígena que promoveu a sensação de fome nas mulheres eutróficas e com obesidade.

Estudos que avaliaram o efeito do jejum em longo prazo, como àquele realizado no Ramadã, identificou redução do GLP-1 em indivíduos obesos (ZOUHAL et al., 2020). A redução das concentrações de GLP-1 também foi encontrada, em homens com sobrepeso, fazendo o protocolo de jejum 18:6 (6 horas de janela de alimentação intercalada por 18 horas de jejum por dia), durante quatro dias (RAVUSSIN et al., 2019). Hutchison et al (2019), avaliaram homens com sobrepeso, com o protocolo de jejum 15:9, por sete dias e também observaram redução no GLP-1 de jejum, entretanto, sem diferença no valor de GLP-1 pós-prandial (HUTCHISON et al., 2019).

Nos dois momentos do experimento (jejum noturno ou jejum diário) as concentrações de GLP-1 eram maiores no grupo com obesidade em relação ao grupo eutrófico. Contudo, após o jejum diário, apesar do grupo das mulheres eutróficas apresentarem redução no GLP-1, este resultado não foi significativo e o grupo com obesidade, teve aumento no GLP-1. Estes achados podem estar associados a melhora da resposta à insulina. Apesar dos dois grupos apresentarem

queda nos valores da insulina e dos índices HOMA, a resistência à insulina é mais comum na obesidade e a melhora da insulina pode ter sido relevante no resultado final encontrado no GLP-1, neste grupo, após o jejum diurno.

O PYY, um peptídeo gastrointestinal anorexígeno, também é secretado no período pós-prandial em proporção à carga calórica (DEGEN et al., 2005). De fato, não identificamos alteração em suas concentrações quando da realização do jejum durante as atividades diárias. Porém, dados da literatura identificaram que após um jejum mais prolongado as concentrações de PYY podem estar reduzidas. Chan e colaboradores (2006) analisaram oito homens magros fazendo jejum completo por dois dias e sete mulheres magras, fazendo o mesmo protocolo por três dias. Foi encontrada redução no PYY de 40-60% do valor basal (CHAN et al., 2006). Esses dados corroboram com Zouhal et al. (2020) que também observaram redução no PYY em homens com obesidade após o jejum do Ramadã (ZOUHAL et al., 2020).

Conforme já documentado vastamente na literatura, a concentração de leptina foi maior no grupo com obesidade, independentemente do período de jejum avaliado (T1 e T2), em relação as mulheres eutróficas. De forma curiosa, somente no grupo das mulheres com obesidade houve redução da leptina após o jejum diurno. A leptina participa do controle da ingestão e do metabolismo alimentar e muitas vezes está alterada em indivíduos com obesidade (IZQUIERDO et al., 2019). O aumento da adiposidade induz a produção e secreção da leptina que está proporcionalmente associada ao IMC e ao grau de adiposidade (BANKS; OWEN; ERICKSON, 2012, AL-RAWI et al., 2020b). A insulina tem grande influência na resposta adequada da leptina (BODEN et al., 1996; KOLACZYNSKI et al., 1996b). Na obesidade, a insulina está em concentrações maiores, aumentando as chances de resistência e/ou baixa sensibilidade à insulina que pode modificar o funcionamento adequado da leptina e também levar ao estado de resistência à leptina (IZQUIERDO et al., 2019). No estudo atual, a insulina e os índices HOMA-IR e HOMA-BETA tiveram redução com a intervenção do jejum no período ativo nos dois grupos. Assim como a insulina, a redução da leptina reflete aumento nos sinais orexígenos, o que contribui para o aumento da fome. A redução da leptina foi significativa somente no grupo com obesidade, este resultado justifica o desejo maior por comida em comparação ao grupo sem obesidade, como observado anteriormente em estudo com as mesmas voluntárias.

Compatível ao nosso resultado, os primeiros estudos que avaliaram o efeito do jejum de curto prazo, demonstraram redução de 30 a 66% nas concentrações de leptina (KOLACZYNSKI et al., 1996a). Vários outros estudos,

com indivíduos eutróficos e com obesidade, fazendo o jejum do tipo Ramadã, mostraram redução nas concentrações de leptina. A restrição de tempo varia de seis, oito ou 12 horas, sem restrição calórica ou perda de peso (AL-RAWI et al., 2020; ALZOGHAIBI et al., 2014; RAVUSSIN et al., 2019; ZOUHAL et al., 2020). Revisões sistemáticas e meta-análises relataram diminuição significativa nas concentrações de leptina em diferentes tipos de jejuns (GANESAN; HABBOUSH; SULTAN, 2018; STOCKMAN et al., 2018).

Assim como a leptina, a adiponectina é uma adipocitocina produzida principalmente pelo adipócito, porém, já foi demonstrado que essa molécula se encontra reduzida nos indivíduos com obesidade, devida a disfunção do tecido adiposo (YE; SCHERER, 2013). A adiponectina é um fator chave para regulação da sensibilidade a insulina e faz parte da regulação da homeostase energética (GAEINI; MIRMIRAN; BAHADORAN, 2021). A perda de peso e a melhora da sensibilidade à insulina colaboram para o aumento da concentração de adiponectina (COUGHLIN et al., 2007; KOPP et al., 2005). No nosso estudo, apesar de ter ocorrido melhora da sensibilidade à insulina no jejum diurno, houve redução na adiponectina nos dois grupos (eutrofia e obesidade). Por ser um jejum de curto prazo, parece que o tempo não foi suficiente para promover mudanças nos fatores relevantes que proporcionam aumento da adiponectina, como mudança no estilo de vida e perda de peso (GAEINI; MIRMIRAN; BAHADORAN, 2021). Outra questão relevante sobre a adiponectina está ligada ao ritmo circadiano do cortisol, que controla, além de muitos hormônios, as adipocitocinas (BAHIJRI et al., 2013). A mudança no horário alimentar, altera o ritmo circadiano que altera a expressão diurna dos genes clock, como já visto em estudos com jejum do tipo Ramadã (AJABNOOR et al., 2017). Esta mudança afeta a secreção de cortisol que pode favorecer a queda da adiponectina (AJABNOOR et al., 2017; KINO; CHROUSOS, 2011). Estudos que avaliaram o efeito do jejum durante o Ramadã sobre a adiponectina são controversos. Alguns relataram queda de adiponectina (AJABNOOR et al., 2014; GNANOU et al., 2015) outros sem mudanças (GAEINI; MIRMIRAN; BAHADORAN, 2021) e outros apresentaram aumento em seus valores (FARIS et al., 2019, CHO et al., 2019). Tais resultados discrepantes podem estar relacionados aos diferentes momentos na avaliação da adiponectina sistêmica incluindo estadoalimentado e o jejum realizado por diferentes períodos.

Quanto às limitações do estudo, vale destacar alguns pontos. Primeiramente, o jantar não foi padronizado entre as participantes, o que significa que não temos informações sobre o impacto desse aspecto nos resultados após o jejum noturno para diferenciar do desjejum que foi

padronizado e calculado individualmente para cada participante. Com isso, não houve uma comparação entre o jantar e o desjejum, o que impossibilita a compreensão das diferenças entre essas duas refeições e seus efeitos após cada período de jejum. Além disso, o estudo não realizou medições dos níveis de cada molécula no momento pós-prandial, e vale lembrar que muitas delas apresentam picos mais elevados nesse momento e não sabemos se isto poderia influenciar nos resultados finais de cada período de jejum. Por fim, o estudo não incluiu um grupo de controle que se alimentasse normalmente ao longo do dia, o que teria permitido mais comparações.

## **7 CONCLUSÃO**

O jejum durante as atividades diárias diminui os hormônios anorexígenos insulina e leptina. No entanto, também aumenta o PP e o GLP-1, especialmente em mulheres com obesidade. O jejum durante as atividades diárias pode reorganizar uma intrincada rede de sinais endócrinos que de alguma forma podem modular o comportamento alimentar homeostático e hedônico.

## REFERÊNCIAS

- ABBASI, F.; OKEKE, Q.; REAVEN, G. M. Evaluation of fasting plasma insulin concentration as an estimate of insulin action in nondiabetic individuals: comparison with the homeostasis model assessment of insulin resistance (HOMA-IR). **Acta diabetologica**, v. 51, n. 2, p. 193–7, abr. 2014.
- ACHARI, A. E.; JAIN, S. K. Adiponectin, a Therapeutic Target for Obesity, Diabetes, and Endothelial Dysfunction. **International journal of molecular sciences**, v. 18, n. 6, 21 jun. 2017.
- ADAN, R. A. H. et al. Nutritional psychiatry: Towards improving mental health by what you eat. **European Neuropsychopharmacology**, v. 29, n. 12, p. 1321–1332, dez. 2019.
- ADRIAENSSENS, A. E. et al. Glucose-Dependent Insulinotropic Polypeptide Receptor-Expressing Cells in the Hypothalamus Regulate Food Intake. **Cell metabolism**, v. 30, n. 5, p. 987- 996.e6, 5 nov. 2019.
- AHIMA, R. S. et al. Leptin regulation of neuroendocrine systems. **Frontiers in neuroendocrinology**, v. 21, n. 3, p. 263–307, jul. 2000.
- AHIMA, R. S.; OSEI, S. Y. Leptin signaling. **Physiology & Behavior**, v. 81, n. 2, p. 223–241, abr. 2004.
- AINSWORTH, B. E. et al. 2011 Compendium of Physical Activities: a second update of codes and MET values. **Medicine and science in sports and exercise**, v. 43, n. 8, p. 1575–81, ago. 2011.
- AJA, S. et al. Intracerebroventricular CART peptide reduces food intake and alters motor behavior at a hindbrain site. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 281, n. 6, p. R1862–R1867, 1 dez. 2001.
- AKHONDZADEH BASTI, A. et al. Comparison of petal of *Crocus sativus* L. and fluoxetine in the treatment of depressed outpatients: A pilot double-blind randomized trial. **Progress in**

**Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 31, n. 2, p. 439–442, 2007.

AL-RAWI, N. et al. Effect of diurnal intermittent fasting during Ramadan on ghrelin, leptin, melatonin, and cortisol levels among overweight and obese subjects: A prospective observational study. **PloS one**, v. 15, n. 8, p. e0237922, 2020.

ALAMUDDIN, N.; BAKIZADA, Z.; WADDEN, T. A. Management of obesity. **Journal of Clinical Oncology**, v. 34, n. 35, p. 4295–4305, 2016.

ALMOOSAWI, S. et al. Chronotype: Implications for Epidemiologic Studies on Chrono-Nutrition and Cardiometabolic Health. **Advances in Nutrition**, v. 10, n. 1, p. 30–42, jan. 2019.

ALZOGHAIBI, M. A. et al. Diurnal Intermittent Fasting during Ramadan: The Effects on Leptin and Ghrelin Levels. **PLoS ONE**, v. 9, n. 3, p. e92214, 17 mar. 2014.

AMIN, T.; MERCER, J. G. Hunger and Satiety Mechanisms and Their Potential Exploitation in the Regulation of Food Intake. **Current Obesity Reports**, v. 5, n. 1, p. 106–112, 14 mar. 2016.

ANDERSEN, A. et al. Glucagon-like peptide 1 in health and disease. **Nature reviews. Endocrinology**, v. 14, n. 7, p. 390–403, jul. 2018.

ANTON, S. D. et al. Flipping the Metabolic Switch: Understanding and Applying the Health Benefits of Fasting. **Obesity**, v. 26, n. 2, p. 254–268, fev. 2018.

ANTONI, R. et al. Intermittent v. continuous energy restriction: differential effects on postprandial glucose and lipid metabolism following matched weight loss in overweight/obese participants. **The British journal of nutrition**, v. 119, n. 5, p. 507–516, 2018.

APONTE, Y.; ATASOY, D.; STERNSON, S. M. AGRP neurons are sufficient to orchestrate feeding behavior rapidly and without training. **Nature Neuroscience**, v. 14, n. 3, p. 351–355, 5 mar. 2011.

ARIYASU, H. et al. Stomach Is a Major Source of Circulating Ghrelin, and Feeding State

Determines Plasma Ghrelin-Like Immunoreactivity Levels in Humans. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 86, n. 10, p. 4753–4758, 1 out. 2001.

ASAKAWA, A. et al. Characterization of the effects of pancreatic polypeptide in the regulation of energy balance. **Gastroenterology**, v. 124, n. 5, p. 1325–36, maio 2003.

ASHCRAFT, C. M.; FRANKENFIELD, D. C. Validity Test of a New Open-Circuit Indirect Calorimeter. **Journal of Parenteral and Enteral Nutrition**, v. 39, n. 6, p. 738–742, 2015.

AUGUSTINE, V.; GOKCE, S. K.; OKA, Y. Peripheral and Central Nutrient Sensing Underlying Appetite Regulation. **Trends in Neurosciences**, v. 41, n. 8, p. 526–539, ago. 2018.

AUKAN, M. I. et al. Differences in gastrointestinal hormones and appetite ratings among obesity classes. **Appetite**, v. 171, p. 105940, abr. 2022.

AUSTIN, J.; MARKS, D. Hormonal regulators of appetite. **International journal of pediatric endocrinology**, v. 2009, p. 141753, 2009.

BAGHERI, R. et al. Does green tea extract enhance the anti-inflammatory effects of exercise on fat loss? **Br J Clin Pharmacol**, v. 86, 2020.

BAHAMMAM, A. S.; ALMENEESSIER, A. S. Recent Evidence on the Impact of Ramadan Diurnal Intermittent Fasting, Mealtime, and Circadian Rhythm on Cardiometabolic Risk: A Review. **Frontiers in nutrition**, v. 7, p. 28, 2020.

BAI, F. L. et al. An arcuato-paraventricular and -dorsomedial hypothalamic neuropeptide Y-containing system which lacks noradrenaline in the rat. **Brain research**, v. 331, n. 1, p. 172–5, 1 abr. 1985.

BANKS, W. A. Leptin transport across the blood-brain barrier: implications for the cause and treatment of obesity. **Current pharmaceutical design**, v. 7, n. 2, p. 125–33, jan. 2001.

BANKS, W. A.; OWEN, J. B.; ERICKSON, M. A. Insulin in the brain: there and back again. **Pharmacology & therapeutics**, v. 136, n. 1, p. 82–93, out. 2012.

BANTING FG, M. C. THE INTERNAL SECRETION OF THE PANCREAS. **The Journal of Laboratory and Clinical Medicine**, v. VII, n. 5, p. 251–266, 1922.

BARNOSKY, A. R. et al. Intermittent fasting vs daily calorie restriction for type 2 diabetes prevention: a review of human findings. **Translational research: the journal of laboratory and clinical medicine**, v. 164, n. 4, p. 302–11, out. 2014.

BATTERHAM, R. L. et al. Gut hormone PYY (3-36) physiologically inhibits food intake. **Nature**, v. 418, n. 6898, p. 650–4, 8 ago. 2002.

BATTERHAM, R. L. et al. **Inhibition of Food Intake in Obese Subjects by Peptide YY 3-36N Engl J Med**. V.4; p. 349-941, set. 2003

BATTERHAM, R. L. et al. Pancreatic polypeptide reduces appetite and food intake in humans. **The Journal of clinical endocrinology and metabolism**, v. 88, n. 8, p. 3989–92, ago. 2003b.

BERGMAN, B. C. et al. Effects of fasting on insulin action and glucose kinetics in lean and obese men and women. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, v. 293, n. 4, p. E1103–E1111, out. 2007.

BLOND, E. et al. A new indirect calorimeter is accurate and reliable for measuring basal energy expenditure, thermic effect of food and substrate oxidation in obese and healthy subjects. **e-SPEN**, v. 6, n. 1, p. e7–e15, 2011.

BODEN, G. et al. Effect of fasting on serum leptin in normal human subjects. **The Journal of clinical endocrinology and metabolism**, v. 81, n. 9, p. 3419–23, set. 1996.

BOSWELL, R. G.; KOBER, H. Food cue reactivity and craving predict eating and weight gain: a meta-analytic review. **Obesity reviews: an official journal of the International**

**Association for the Study of Obesity**, v. 17, n. 2, p. 159–77, fev. 2016.

BÖTTCHER, G. et al. Peptide YY: a neuropeptide in the gut. Immunocytochemical and immunochemical evidence. **Neuroscience**, v. 55, n. 1, p. 281–90, jul. 1993.

BRANDT, C. et al. Food Perception Primes Hepatic ER Homeostasis via Melanocortin-Dependent Control of mTOR Activation. **Cell**, v. 175, n. 5, p. 1321- 1335.e20, 15 nov. 2018.

BRIGGS, D. I.; ANDREWS, Z. B. Metabolic status regulates ghrelin function on energy homeostasis. **Neuroendocrinology**, v. 93, n. 1, p. 48–57, 2011.

BROBERGER, C.; HÖKFELT, T. Hypothalamic and vagal neuropeptide circuitries regulating food intake. **Physiology & behavior**, v. 74, n. 4–5, p. 669–82, 2001.

BROOKS, S. J. et al. Thinking about Eating Food Activates Visual Cortex with Reduced Bilateral Cerebellar Activation in Females with Anorexia Nervosa: An fMRI Study. **PLoS ONE**, v. 7, n. 3, p. e34000, 27 mar. 2012.

BROWNING, J. D. et al. The effect of short-term fasting on liver and skeletal muscle lipid, glucose, and energy metabolism in healthy women and men. **Journal of Lipid Research**, v. 53, n. 3, p. 577–586, mar. 2012.

BRUBAKER, P. L.; ANINI, Y. Direct and indirect mechanisms regulating secretion of glucagon-like peptide-1 and glucagon-like peptide-2. **Canadian journal of physiology and pharmacology**, v. 81, n. 11, p. 1005–12, nov. 2003.

CANDLER, T. et al. Epigenetic regulation of POMC; implications for nutritional programming, obesity and metabolic disease. **Frontiers in neuroendocrinology**, v. 54, p. 100773, 2019.

CARLSON, O. et al. Impact of reduced meal frequency without caloric restriction on glucose regulation in healthy, normal-weight middle-aged men and women. **Metabolism: clinical and experimental**, v. 56, n. 12, p. 1729–34, dez. 2007.

CARON, A. et al. POMC neurons expressing leptin receptors coordinate metabolic responses to fasting via suppression of leptin levels. **eLife**, v. 7, 2018.

CARTER, S.; CLIFTON, P. M.; KEOGH, J. B. Effect of Intermittent Compared With Continuous Energy Restricted Diet on Glycemic Control in Patients With Type 2 Diabetes. **JAMA Network Open**, v. 1, n. 3, p. e180756, 20 jul. 2018.

CAWLEY, N. X.; LI, Z.; LOH, Y. P. 60 YEARS OF POMC: Biosynthesis, trafficking, and secretion of pro-opiomelanocortin-derived peptides. **Journal of molecular endocrinology**, v. 56, n. 4, p. T77-97, maio 2016.

CELLA, L. K.; VAN CAUTER, E.; SCHOELLER, D. A. Diurnal rhythmicity of human cholesterol synthesis: normal pattern and adaptation to simulated “jet lag”. **The American journal of physiology**, v. 269, n. 3 Pt 1, p. E489-98, set. 1995.

CHALLIS, B. G. et al. The CART gene and human obesity: mutational analysis and population genetics. **Diabetes**, v. 49, n. 5, p. 872–5, maio 2000.

CHAN, J. L. et al. Peptide YY levels are decreased by fasting and elevated following caloric intake but are not regulated by leptin. **Diabetologia**, v. 49, n. 1, p. 169–73, jan. 2006.

CHARBONNIER, L. et al. Effects of hunger state on the brain responses to food cues across the life span. **NeuroImage**, v. 171, p. 246–255, 2018.

CHAVDA, V. P. et al. Tirzepatide, a New Era of Dual-Targeted Treatment for Diabetes and Obesity: A Mini-Review. **Molecules**, v. 27, n. 13, p. 4315, 5 jul. 2022.

CHE, T. et al. Time-restricted feeding improves blood glucose and insulin sensitivity in overweight patients with type 2 diabetes: a randomised controlled trial. **Nutrition & Metabolism**, v. 18, n. 1, p. 88, 7 out. 2021.

CHEN, Y. et al. Sensory Detection of Food Rapidly Modulates Arcuate Feeding Circuits. **Cell**,

v. 160, n. 5, p. 829–841, fev. 2015.

CHESTER, B. et al. The effects of popular diets on type 2 diabetes management. **Diabetes/Metabolism Research and Reviews**, v. 35, n. 8, 13 nov. 2019.

CHIA, C. W.; EGAN, J. M. Incretins in obesity and diabetes. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1461, n. 1, p. 104–126, fev. 2020.

CHO, Y. et al. The Effectiveness of Intermittent Fasting to Reduce Body Mass Index and Glucose Metabolism: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Journal of Clinical Medicine**, v. 8, n. 10, p. 1645, 9 out. 2019.

CHUMLEA, W. et al. Body composition estimates from NHANES III bioelectrical impedance data. **International Journal of Obesity**, v. 26, n. 12, p. 1596–1609, 3 dez. 2002.

CIENFUEGOS, S. et al. Effects of 4- and 6-h Time-Restricted Feeding on Weight and Cardiometabolic Health: A Randomized Controlled Trial in Adults with Obesity. **Cell metabolism**, v. 32, n. 3, p. 366- 378.e3, 1 set. 2020.

CLARK, G. A. The influence of the vagus on the islets of Langerhans: Part I. Vagus hypoglycaemia. **The Journal of physiology**, v. 59, n. 6, p. 466–71, 31 mar. 1925.

COELHO, M.; OLIVEIRA, T.; FERNANDES, R. Biochemistry of adipose tissue: an endocrine organ. **Archives of medical science : AMS**, v. 9, n. 2, p. 191–200, 20 abr. 2013.

COLLIER, R. Intermittent fasting: the science of going without. **Canadian Medical Association Journal**, v. 185, n. 9, p. E363–E364, 11 jun. 2013.

COOPE, A. et al. AdipoR1 mediates the anorexigenic and insulin/leptin-like actions of adiponectin in the hypothalamus. **FEBS Letters**, v. 582, n. 10, p. 1471–1476, 30 abr. 2008.

COUGHLIN, C. C. et al. Effect of Marked Weight Loss on Adiponectin Gene Expression and

Plasma Concentrations\*. **Obesity**, v. 15, n. 3, p. 640–645, mar. 2007.

COWLEY, M. A. et al. **Integration of NPY, AGRP, and Melanocortin Signals in the Hypothalamic Paraventricular Nucleus: Evidence of a Cellular Basis for the Adipostat Neuron**. V.24, p. 155-63, set. 1999.

COWLEY, M. A. et al. Leptin activates anorexigenic POMC neurons through a neural network in the arcuate nucleus. **Nature**, v. 411, n. 6836, p. 480–4, 24 maio 2001.

COX, H. M. Peptide YY: a neuroendocrine neighbor of note. **Peptides**, v. 28, n. 2, p. 345–51, fev. 2007.

CREEMERS, J. W. M. et al. Agouti-Related Protein Is Posttranslationally Cleaved by Proprotein Convertase 1 to Generate Agouti-Related Protein (AGRP)83–132: Interaction between AGRP83–132 and Melanocortin Receptors Cannot Be Influenced by Syndecan-3. **Endocrinology**, v. 147, n. 4, p. 1621–1631, 1 abr. 2006.

CUMMINGS, D. E. et al. A preprandial rise in plasma ghrelin levels suggests a role in meal initiation in humans. **Diabetes**, v. 50, n. 8, p. 1714–9, ago. 2001.

CUMMINGS, D. E. et al. Plasma ghrelin levels after diet-induced weight loss or gastric bypass surgery. **The New England journal of medicine**, v. 346, n. 21, p. 1623–30, 23 maio 2002.

CUMMINGS, D. E.; FOSTER-SCHUBERT, K. E.; OVERDUIN, J. Ghrelin and energy balance: focus on current controversies. **Current drug targets**, v. 6, n. 2, p. 153–69, mar. 2005.

CUMMINGS, D. E.; OVERDUIN, J. Gastrointestinal regulation of food intake. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 117, 2007.

DANOWITZ, M.; DE LEON, D. D. The Role of GLP-1 Signaling in Hypoglycemia due to Hyperinsulinism. **Frontiers in Endocrinology**, v. 13, 24 mar. 2022.

DATE, Y. et al. Ghrelin, a novel growth hormone-releasing acylated peptide, is synthesized in

a distinct endocrine cell type in the gastrointestinal tracts of rats and humans. **Endocrinology**, v. 141, n. 11, p. 4255–61, nov. 2000.

DE ROSA, A. et al. Adiponectin oligomers as potential indicators of adipose tissue improvement in obese subjects. **European journal of endocrinology**, v. 169, n. 1, p. 37–43, jul. 2013.

DEBENEDICTIS, J. N. et al. Changes in the Homeostatic Appetite System After Weight Loss Reflect a Normalization Toward a Lower Body Weight. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 105, n. 7, p. e2538–e2546, 1 jul. 2020.

DEGEN, L. et al. Effect of peptide YY3-36 on food intake in humans. **Gastroenterology**, v. 129, n. 5, p. 1430–6, nov. 2005.

DENG, Y.; SCHERER, P. E. Adipokines as novel biomarkers and regulators of the metabolic syndrome. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1212, p. E1–E19, nov. 2010.

DI FRANCESCO, A. et al. A time to fast. **Science (New York, N.Y.)**, v. 362, n. 6416, p. 770–775, 16 nov. 2018.

DROLET, R. et al. Fat Depot-specific Impact of Visceral Obesity on Adipocyte Adiponectin Release in Women. **Obesity**, v. 17, n. 3, p. 424–430, mar. 2009.

DRUCE, M. R. et al. Ghrelin increases food intake in obese as well as lean subjects. **International journal of obesity (2005)**, v. 29, n. 9, p. 1130–6, set. 2005.

DRUCKER, D. J. The biology of incretin hormones. **Cell Metabolism**, v. 3, n. 3, p. 153–165, mar. 2006.

DUTTA, D. et al. Efficacy and safety of novel twincretin tirzepatide a dual GIP and GLP-1 receptor agonist in the management of type-2 diabetes: A Cochrane meta-analysis. **Indian journal of endocrinology and metabolism**, v. 25, n. 6, p. 475–489, 2021.

EDELSBRUNNER, M. E. et al. Evidence from knockout mice for distinct implications of neuropeptide-Y Y2 and Y4 receptors in the circadian control of locomotion, exploration, water and food intake. **Neuropeptides**, v. 43, n. 6, p. 491–497, dez. 2009.

EINHORN, D. et al. American College of Endocrinology position statement on the insulin resistance syndrome. **Endocrine practice: official journal of the American College of Endocrinology and the American Association of Clinical Endocrinologists**, v. 9, n. 3, p. 237–52, 2003.

EKBLAD, E.; SUNDLER, F. Distribution of pancreatic polypeptide and peptide YY. **Peptides**, v. 23, n. 2, p. 251–61, fev. 2002.

FARIS, “MO’EZ AL-ISLAM” E. et al. Effect of Ramadan diurnal fasting on visceral adiposity and serum adipokines in overweight and obese individuals. **Diabetes Research and Clinical Practice**, v. 153, p. 166–175, jul. 2019.

FIELD, B. C. T.; CHAUDHRI, O. B.; BLOOM, S. R. Bowels control brain: gut hormones and obesity. **Nature reviews. Endocrinology**, v. 6, n. 8, p. 444–53, ago. 2010.

FIGLEWICZ, D. P. Adiposity signals and food reward: expanding the CNS roles of insulin and leptin. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 284, n. 4, p. R882–R892, 1 abr. 2003.

FLINT, A. et al. Reproducibility, power and validity of visual analogue scales in assessment of appetite sensations in single test meal studies. **International Journal of Obesity**, v. 24, n. 1, p. 38–48, 2000.

FRIEDMAN, J. The long road to leptin. **Journal of Clinical Investigation**, v. 126, n. 12, p. 4727–4734, 1 dez. 2016.

FRIEDMAN, J. M.; HALAAS, J. L. Leptin and the regulation of body weight in mammals.

**Nature**, v. 395, n. 6704, p. 763–70, 22 out. 1998.

FRUEBIS, J. et al. Proteolytic cleavage product of 30-kDa adipocyte complement-related protein increases fatty acid oxidation in muscle and causes weight loss in mice. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 98, n. 4, p. 2005–2010, 13 fev. 2001.

FRÜHBECK, G. et al. Obesity: The gateway to ill health - An EASO position statement on a rising public health, clinical and scientific challenge in Europe. **Obesity Facts**, v. 6, n. 2, p. 117–120, 2013.

FRÜHBECK, G.; KIORTSIS, D. N.; CATALÁN, V. Precision medicine: diagnosis and management of obesity. **The Lancet Diabetes and Endocrinology**, v. 6, n. 3, p. 164–166, 2018.

FU-CHENG, X. et al. Mechanisms of peptide YY release induced by an intraduodenal meal in rats: neural regulation by proximal gut. **Pflugers Archiv : European journal of physiology**, v. 433, n. 5, p. 571–9, mar. 1997.

GABEL, K. et al. Effects of 8-hour time restricted feeding on body weight and metabolic disease risk factors in obese adults: A pilot study. **Nutrition and healthy aging**, v. 4, n. 4, p. 345–353, 15 jun. 2018.

GAEINI, Z.; MIRMIRAN, P.; BAHADORAN, Z. Effects of Ramadan intermittent fasting on leptin and adiponectin: a systematic review and meta-analysis. **Hormones**, v. 20, n. 2, p. 237–246, jun. 2021.

GÓMEZ-AMBROSI, J. et al. Increased cardiometabolic risk factors and inflammation in adipose tissue in obese subjects classified as metabolically healthy. **Diabetes Care**, v. 37, n. 10, p. 2813–2821, 2014.

GROPP, E. et al. Agouti-related peptide-expressing neurons are mandatory for feeding. 2005.

GROSSHANS, M. et al. Association of leptin with food cue-induced activation in human reward pathways. **Archives of general psychiatry**, v. 69, n. 5, p. 529–37, maio 2012.

HAINER, E.; TOPLAK, H.; MITRAKOU, A. Treatment Modalities of Obesity What fits whom? **DIABETES CARE**, v. 31, n. 2, 2008.

HALES, C. M. et al. Prevalence of Obesity and Severe Obesity Among Adults: United States, 2017-2018. **NCHS data brief**, n. 360, p. 1–8, fev. 2020.

HARNO, E. et al. POMC: The Physiological Power of Hormone Processing. **Physiological Reviews**, v. 98, n. 4, p. 2381–2430, 1 out. 2018.

HARTMAN, A. L.; RUBENSTEIN, J. E.; KOSSOFF, E. H. Intermittent fasting: a “new” historical strategy for controlling seizures? **Epilepsy research**, v. 104, n. 3, p. 275–9, maio 2013.

HAUGEN, H. A.; CHAN, L.-N.; LI, F. Indirect Calorimetry: A Practical Guide for Clinicians. **Nutrition in Clinical Practice**, v. 22, n. 4, p. 377–388, 6 ago. 2007.

HE, K. et al. Changes in intake of fruits and vegetables in relation to risk of obesity and weight gain among middle-aged women. **International journal of obesity and related metabolic disorders : journal of the International Association for the Study of Obesity**, v. 28, n. 12, p. 1569–74, dez. 2004.

HODDY, K. K. et al. Intermittent Fasting and Metabolic Health: From Religious Fast to Time-Restricted Feeding. **Obesity (Silver Spring, Md.)**, v. 28 Suppl 1, n. Suppl 1, p. S29–S37, jul. 2020.

HOFER, S. J. et al. The ups and downs of caloric restriction and fasting: from molecular effects to clinical application. **EMBO Molecular Medicine**, v. 14, n. 1, 11 jan. 2022.

- HOLST, J. J. Glucagonlike peptide 1: a newly discovered gastrointestinal hormone. **Gastroenterology**, v. 107, n. 6, p. 1848–55, dez. 1994.
- HUTCHISON, A. T. et al. Time-Restricted Feeding Improves Glucose Tolerance in Men at Risk for Type 2 Diabetes: A Randomized Crossover Trial. **Obesity (Silver Spring, Md.)**, v. 27, n. 5, p. 724–732, maio 2019.
- IEPSEN, E. W. et al. Successful weight loss maintenance includes long-term increased meal responses of GLP-1 and PYY3-36. **European journal of endocrinology**, v. 174, n. 6, p. 775–84, jun. 2016.
- IZQUIERDO, A. G. et al. Leptin, Obesity, and Leptin Resistance: Where Are We 25 Years Later? **Nutrients**, v. 11, n. 11, 8 nov. 2019.
- JAIS, A.; BRÜNING, J. C. Hypothalamic inflammation in obesity and metabolic disease. **Journal of Clinical Investigation**, v. 127, n. 1, p. 24–32, 3 jan. 2017.
- JANE, L. et al. Intermittent fasting interventions for the treatment of overweight and obesity in adults aged 18 years and over: a systematic review protocol. **JBIC Database of Systematic Reviews and Implementation Reports**, v. 13, n. 10, p. 60–68, out. 2015.
- JENSEN, D. E. et al. Fasting gut hormone levels change with modest weight loss in obese adolescents. **Pediatric obesity**, v. 10, n. 5, p. 380–7, out. 2015.
- JENSEN, M. D. et al. 2013 AHA/ACC/TOS guideline for the management of overweight and obesity in adults: A report of the American College of cardiology/American Heart Association task force on practice guidelines and the obesity society. **Circulation**, v. 129, n. 25 SUPPL. 1, p. 102–141, 2014.
- JOHNSTON, B. C. et al. Comparison of weight loss among named diet programs in overweight and obese adults: a meta-analysis. **JAMA**, v. 312, n. 9, p. 923–33, 3 set. 2014.

JOLY-AMADO, A. et al. The hypothalamic arcuate nucleus and the control of peripheral substrates. **Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 28, n. 5, p. 725–737, out. 2014.

KADOWAKI, T.; YAMAUCHI, T. Adiponectin and Adiponectin Receptors. **Endocrine Reviews**, v. 26, n. 3, p. 439–451, 1 maio 2005.

KAHLEOVA, H. et al. Meal Frequency and Timing Are Associated with Changes in Body Mass Index in Adventist Health Study 2. **The Journal of Nutrition**, v. 147, n. 9, p. 1722–1728, set. 2017.

KANALEY, J. A. et al. Alteration of postprandial glucose and insulin concentrations with meal frequency and composition. **British Journal of Nutrition**, v. 112, n. 9, p. 1484–1493, 14 nov. 2014.

KARAGIANNIS, T. et al. Management of type 2 diabetes with the dual GIP/GLP-1 receptor agonist tirzepatide: a systematic review and meta-analysis. **Diabetologia**, v. 65, n. 8, p. 1251–1261, 17 ago. 2022.

KASIM-KARAKAS, S. E. et al. Responses of inflammatory markers to a low-fat, high-carbohydrate diet: effects of energy intake<sup>1–3</sup>. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 83, n. 4, p. 774–779, abr. 2006.

KIM, T. W.; JEONG, J.-H.; HONG, S.-C. The Impact of Sleep and Circadian Disturbance on Hormones and Metabolism. 2015.

KLEINRIDDERS, A. et al. Insulin action in brain regulates systemic metabolism and brain function. **Diabetes**, v. 63, n. 7, p. 2232–43, jul. 2014.

KODAMA, K. et al. Ethnic differences in the relationship between insulin sensitivity and insulin response: a systematic review and meta-analysis. **Diabetes care**, v. 36, n. 6, p. 1789–96, jun. 2013.

KOENEN, T. B. et al. Pioglitazone treatment enlarges subcutaneous adipocytes in insulin-resistant patients. **The Journal of clinical endocrinology and metabolism**, v. 94, n. 11, p. 4453–7, nov. 2009.

KOLACZYNSKI, J. W. et al. Response of leptin to short-term and prolonged overfeeding in humans. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 81, n. 11, p. 4162–4165, nov. 1996a.

KOLACZYNSKI, J. W. et al. Responses of leptin to short-term fasting and refeeding in humans: a link with ketogenesis but not ketones themselves. **Diabetes**, v. 45, n. 11, p. 1511–5, nov. 1996b.

KOLB, H.; MARTIN, S. Environmental/lifestyle factors in the pathogenesis and prevention of type 2 diabetes. **BMC Medicine**, v. 15, n. 1, p. 131, 19 dez. 2017.

KOPP, H.-P. et al. Effects of marked weight loss on plasma levels of adiponectin, markers of chronic subclinical inflammation and insulin resistance in morbidly obese women. **International Journal of Obesity**, v. 29, n. 7, p. 766–771, 3 jul. 2005.

KOS, K. et al. Adiponectin and Resistin in Human Cerebrospinal Fluid and Expression of Adiponectin Receptors in the Human Hypothalamus. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 92, n. 3, p. 1129–1136, 1 mar. 2007.

KOUTSARI, C. et al. Nonoxidative Free Fatty Acid Disposal Is Greater in Young Women than Men. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 96, n. 2, p. 541–547, 1 fev. 2011.

KRASHES, M. J. et al. Rapid, reversible activation of AgRP neurons drives feeding behavior in mice. **Journal of Clinical Investigation**, v. 121, n. 4, p. 1424–1428, 1 abr. 2011.

KRASHES, M. J. et al. Rapid versus Delayed Stimulation of Feeding by the Endogenously Released AgRP Neuron Mediators GABA, NPY, and AgRP. **Cell Metabolism**, v. 18, n. 4, p.

588–595, out. 2013.

KRASHES, M. J. et al. An excitatory paraventricular nucleus to AgRP neuron circuit that drives hunger. **Nature**, v. 507, n. 7491, p. 238–42, 13 mar. 2014.

KRISHNAN, S. et al. Weight Loss, but Not Dairy Composition of Diet, Moderately Affects Satiety and Postprandial Gut Hormone Patterns in Adults. **The Journal of nutrition**, v. 151, n. 1, p. 245–254, 4 jan. 2021.

KROEMER, N. B. et al. Fasting levels of ghrelin covary with the brain response to food pictures. **Addiction biology**, v. 18, n. 5, p. 855–62, set. 2013.

KUBOTA, N. et al. Adiponectin Stimulates AMP-Activated Protein Kinase in the Hypothalamus and Increases Food Intake. **Cell Metabolism**, v. 6, n. 1, p. 55–68, jul. 2007.

KYLE, U. G. et al. Bioelectrical impedance analysis - Part I: Review of principles and methods. **Clinical Nutrition**, v. 23, n. 5, p. 1226–1243, 2004.

LI, C. et al. Eight-hour time-restricted feeding improves endocrine and metabolic profiles in women with anovulatory polycystic ovary syndrome. **Journal of translational medicine**, v. 19, n. 1, p. 148, 13 abr. 2021.

LINDBERG, I.; FRICKER, L. D. Obesity, POMC, and POMC-processing Enzymes: Surprising Results From Animal Models. **Endocrinology**, v. 162, n. 12, 1 dez. 2021.

LONGO, V. D.; MATTSON, M. P. Fasting: Molecular Mechanisms and Clinical Applications. **Cell Metabolism**, v. 19, n. 2, p. 181–192, fev. 2014.

LUO, K.; WANG, X.; ZHANG, G. The anti-obesity effect of starch in a whole grain-like structural form. v. 9, p. 3755, 2018.

LUTTER, M.; NESTLER, E. J. Homeostatic and Hedonic Signals Interact in the Regulation of

Food Intake. **The Journal of Nutrition**, v. 139, n. 3, p. 629–632, mar. 2009.

MANGGE, H. et al. Globular domain of adiponectin: promising target molecule for detection of atherosclerotic lesions. **Biologics: Targets and Therapy**, p. 95, set. 2011.

MARTIN, L. E. et al. Neural mechanisms associated with food motivation in obese and healthy weight adults. **Obesity (Silver Spring, Md.)**, v. 18, n. 2, p. 254–60, fev. 2010.

MASUDA, Y. et al. Ghrelin stimulates gastric acid secretion and motility in rats. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 276, n. 3, p. 905–8, 5 out. 2000.

MATTHEWS, D. R. et al. Homeostasis model assessment: insulin resistance and  $\beta$ -cellfunction from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. **Diabetologia**, v. 28, n. 7, p. 412–419, 1985.

MATTSON, M. P. et al. Meal frequency and timing in health and disease. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 111, n. 47, p. 16647–16653, 25 nov. 2014.

MCEWEN, B. S.; REAGAN, L. P. Glucose transporter expression in the central nervous system: relationship to synaptic function. **European journal of pharmacology**, v. 490, n. 1–3, p. 13–24, 19 abr. 2004.

MCGOWAN, B. M. C.; BLOOM, S. R. Peptide YY and appetite control. **Current opinion in pharmacology**, v. 4, n. 6, p. 583–8, dez. 2004.

MENTLEIN, R. et al. Proteolytic processing of neuropeptide Y and peptide YY by dipeptidyl peptidase IV. **Regulatory peptides**, v. 49, n. 2, p. 133–44, 10 dez. 1993.

MEYER-GERSPACH, A. C. et al. Gastric and intestinal satiation in obese and normal weight healthy people. **Physiology & behavior**, v. 129, p. 265–71, 22 abr. 2014.

MICALLEF, M. A.; GARG, M. L. Anti-inflammatory and cardioprotective effects of n-3

polyunsaturated fatty acids and plant sterols in hyperlipidemic individuals. **Atherosclerosis**, v. 204, n. 2, p. 476–482, jun. 2009.

MILES-CHAN, J. L.; DULLOO, A. G.; SCHUTZ, Y. Fasting substrate oxidation at rest assessed by indirect calorimetry: is prior dietary macronutrient level and composition a confounder? **International Journal of Obesity**, v. 39, n. 7, p. 1114–1117, 16 jul. 2015.

MISRA, S. et al. Coexpression of Y 1 , Y 2 , and Y 4 Receptors in Smooth Muscle Coupled to Distinct Signaling Pathways. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 311, n. 3, p. 1154–1162, dez. 2004.

MORALES, I. Brain regulation of hunger and motivation: The case for integrating homeostatic and hedonic concepts and its implications for obesity and addiction. **Appetite**, v. 177, p. 106146, out. 2022.

MORALES, I.; BERRIDGE, K. C. ‘Liking’ and ‘wanting’ in eating and food reward: Brain mechanisms and clinical implications. **Physiology & Behavior**, v. 227, p. 113152, dez. 2020.

MORO, T. et al. Effects of eight weeks of time-restricted feeding (16/8) on basal metabolism, maximal strength, body composition, inflammation, and cardiovascular risk factors in resistance-trained males. **Journal of translational medicine**, v. 14, n. 1, p. 290, 13 out. 2016.

MORTON, G. J. et al. Central nervous system control of food intake and body weight. **Nature**, v.21, p. 289-95, sep. 2006.

MOUNTJOY, K. G. Pro-Opiomelanocortin (POMC) Neurones, POMC-Derived Peptides, Melanocortin Receptors and Obesity: How Understanding of this System has Changed Over the Last Decade. **Journal of Neuroendocrinology**, v. 27, n. 6, p. 406–418, jun. 2015.

MÜLLER, T. D. et al. Glucagon-like peptide 1 (GLP-1). **Molecular metabolism**, v. 30, p. 72–130, dez. 2019.

MULLIER, A. et al. Differential distribution of tight junction proteins suggests a role for tanycytes in blood-hypothalamus barrier regulation in the adult mouse brain. **The Journal of Comparative Neurology**, v. 518, n. 7, p. 943–962, 1 abr. 2010.

MURPHY, K. G.; BLOOM, S. R. Gut hormones and the regulation of energy homeostasis. **Nature**, v. 444, n. 7121, p. 854–9, 14 dez. 2006.

MYERS, M. G. et al. Obesity and leptin resistance: distinguishing cause from effect. **Trends in Endocrinology & Metabolism**, v. 21, n. 11, p. 643–651, 1 nov. 2010.

NAUCK, M. A.; MEIER, J. J. Incretin hormones: Their role in health and disease. **Diabetes, Obesity and Metabolism**, v. 20, p. 5–21, fev. 2018.

NG, E. et al. Glucagon-like peptide-1 receptor agonist (GLP1-RA) therapy in type 2 diabetes. **Australian Journal of General Practice**, v. 51, n. 7, p. 513–518, 1 jul. 2022.

NGUYEN, A. D. et al. Y1 and Y5 Receptors Are Both Required for the Regulation of Food Intake and Energy Homeostasis in Mice. **PLoS ONE**, v. 7, n. 6, p. e40191, 29 jun. 2012.

NIGRO, E. et al. New insight into adiponectin role in obesity and obesity-related diseases. **BioMed research international**, v. 2014, p. 658913, 2014.

NOWAK, M.; NOWAK, W.; GRZESZCZAK, W. Tirzepatide - a dual GIP/GLP-1 receptor agonist - a new antidiabetic drug with potential metabolic activity in the treatment of type 2 diabetes. **Endokrynologia Polska**, v. 73, n. 4, p. 745–755, 2022.

OHKAWARA, K. et al. Effects of increased meal frequency on fat oxidation and perceived hunger. **Obesity**, v. 21, n. 2, p. 336–343, fev. 2013.

ORSKOV, C.; WETTERGREN, A.; HOLST, J. J. Biological effects and metabolic rates of glucagonlike peptide-1 7-36 amide and glucagonlike peptide-1 7-37 in healthy subjects are indistinguishable. **Diabetes**, v. 42, n. 5, p. 658–61, maio 1993.

OTTEN, J. J.; HELLWIG, J. P.; LINDA, D. **Dietary DRI Reference Intakes**. [s.l.: s.n.].

PANDA, S. Circadian physiology of metabolism. **Science**, v. 354, n. 6315, p. 1008–1015, 25 nov. 2016.

PAOLI, A. et al. The Influence of Meal Frequency and Timing on Health in Humans: The Role of Fasting. **Nutrients**, v. 11, n. 4, p. 719, 28 mar. 2019.

PARR, E. B. et al. A Delayed Morning and Earlier Evening Time-Restricted Feeding Protocol for Improving Glycemic Control and Dietary Adherence in Men with Overweight/Obesity: A Randomized Controlled Trial. **Nutrients**, v. 12, n. 2, 17 fev. 2020.

PARTO, P.; LAVIE, C. J. Obesity and Cardiovascular Diseases. **Current Problems in Cardiology**, v. 42, n. 11, p. 376–394, 2017.

PELLE, M. C. et al. Role of a Dual Glucose-Dependent Insulinotropic Peptide (GIP)/Glucagon-like Peptide-1 Receptor Agonist (Twincretin) in Glycemic Control: From Pathophysiology to Treatment. **Life (Basel, Switzerland)**, v. 12, n. 1, 25 dez. 2021.

PERELLO, M. et al. Ghrelin increases the rewarding value of high-fat diet in an orexin-dependent manner. **Biological psychiatry**, v. 67, n. 9, p. 880–6, 1 maio 2010.

PERELLO, M.; DICKSON, S. L. Ghrelin signalling on food reward: a salient link between the gut and the mesolimbic system. **Journal of neuroendocrinology**, v. 27, n. 6, p. 424–34, jun. 2015.

PIRONI, L. et al. Fat-induced heal brake in humans: A dose-dependent phenomenon correlated to the plasma levels of peptide YY. **Gastroenterology**, v. 105, n. 3, p. 733–739, set. 1993.

RAO, J. R. et al. Adiponectin increases insulin content and cell proliferation in MIN6 cells via PPAR $\gamma$ -dependent and PPAR $\gamma$ -independent mechanisms. **Diabetes, Obesity and Metabolism**, v. 14, n. 11, p. 983–989, nov. 2012.

RAVUSSIN, E. et al. Silver Spring). **Obesity**, v. 27, n. 8, p. 1244–1254, 2019.

RIOBO, P. PAUTAS DIETÉTICAS EN LA DIABETES Y EN LA OBESIDAD. **Nutrición Hospitalaria**, v. 35, n. 4, 12 jun. 2018.

ROBERTO, C. A. et al. Patchy progress on obesity prevention: Emerging examples, entrenched barriers, and new thinking. **The Lancet**, v. 385, n. 9985, p. 2400–2409, 2015.

ROSEBERRY, A. G. et al. Neuropeptide Y-Mediated Inhibition of Proopiomelanocortin Neurons in the Arcuate Nucleus Shows Enhanced Desensitization in ob/ob Mice. **Neuron**, v. 41, n. 5, p. 711–722, mar. 2004.

ROSSI, M. A.; STUBER, G. D. Overlapping Brain Circuits for Homeostatic and Hedonic Feeding. **Cell Metabolism**, v. 27, n. 1, p. 42–56, jan. 2018.

ROTH, C. L. et al. Central Nervous System and Peripheral Hormone Responses to a Meal in Children. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 104, n. 5, p. 1471–1483, 1 maio 2019.

ROZENGURT, N. et al. Colocalization of the alpha-subunit of gustducin with PYY and GLP-1 in L cells of human colon. **American journal of physiology. Gastrointestinal and liver physiology**, v. 291, n. 5, p. G792-802, nov. 2006.

SAAD, M. F. et al. Sexual Dimorphism in Plasma Leptin Concentration 1. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 82, n. 2, p. 579–584, fev. 1997.

SAAD, M. F. et al. Diurnal and Ultradian Rhythmicity of Plasma Leptin: Effects of Gender and Adiposity 1. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 83, n. 2, p. 453–459, fev. 1998.

SAHU, A. Resistance to the satiety action of leptin following chronic central leptin infusion is associated with the development of leptin resistance in neuropeptide Y neurones. **Journal of neuroendocrinology**, v. 14, n. 10, p. 796–804, out. 2002.

SAINSBURY, A. et al. Y4 receptor knockout rescues fertility in ob/ob mice. **Genes & Development**, v. 16, n. 9, p. 1077–1088, 1 maio 2002.

SALAS-SALVADÓ, J. et al. Subcutaneous adipose tissue cytokine production is not responsible for the restoration of systemic inflammation markers during weight loss. **International journal of obesity (2005)**, v. 30, n. 12, p. 1714–20, dez. 2006.

SALEHI, M. et al. Effect of Endogenous GLP-1 on Insulin Secretion in Type 2 Diabetes. **Diabetes**, v. 59, n. 6, p. 1330–1337, 1 jun. 2010.

SAMOCHA-BONET, D. et al. Glutamine reduces postprandial glycemia and augments the glucagon-like peptide-1 response in type 2 diabetes patients. **The Journal of nutrition**, v. 141, n. 7, p. 1233–8, jul. 2011.

SANTOSO, P. Proliferation of Local Governments in Indonesia: Identity Politics within a Troubled Nation State. **PCD Journal**, v. 3, n. 1–2, p. 1, 7 jun. 2017.

ŞARAHMAN KAHRAMAN, C.; AKÇIL OK, M. Hedonic hunger status and related factors in adults. **Perspectives in psychiatric care**, v. 58, n. 4, p. 2099–2106, out. 2022.

SCARBOROUGH, P. et al. The economic burden of ill health due to diet, physical inactivity, smoking, alcohol and obesity in the UK: an update to 2006-07 NHS costs. **Journal of public health (Oxford, England)**, v. 33, n. 4, p. 527–35, dez. 2011.

SCHEER, F. A. J. L. et al. **Adverse metabolic and cardiovascular consequences of circadian misalignment. PNAS March**. V.17, n.106, p.4453-8, mar. 2009.

SCHIÖTH, H. B. et al. Pharmacological comparison of rat and human melanocortin 3 and 4 receptors in vitro. **Regulatory peptides**, v. 106, n. 1–3, p. 7–12, 15 jun. 2002.

SCHOELLER, D. A. et al. Entrainment of the diurnal rhythm of plasma leptin to meal timing. **The Journal of clinical investigation**, v. 100, n. 7, p. 1882–7, 1 out. 1997.

SCHWARTZ, G. J. Integrative capacity of the caudal brainstem in the control of food intake. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 361, n. 1471, p. 1275–1280, 29 jul. 2006.

SHAN, X.; YEO, G. S. H. Central leptin and ghrelin signalling: comparing and contrasting their mechanisms of action in the brain. **Reviews in endocrine & metabolic disorders**, v. 12, n. 3, p. 197–209, set. 2011.

SIMON, J. J. et al. BEHAVIORAL NEUROSCIENCE Impaired cross-talk between mesolimbic food reward processing and metabolic signaling predicts body mass index. 2014.

SINGRU, P. S. et al. Importance of Melanocortin Signaling in Refeeding-Induced Neuronal Activation and Satiety. **Endocrinology**, v. 148, n. 2, p. 638–646, 1 fev. 2007.

SIRINEK, K. R. et al. Insulin-induced attenuation of glucose-stimulated gastric inhibitory polypeptide secretion. **American journal of surgery**, v. 135, n. 2, p. 151–5, fev. 1978.

SKELTON, J. A. et al. Obesity and Its Therapy: From Genes to Community Action. **Pediatric Clinics of North America**, v. 53, n. 4, p. 777–794, 2006.

SKIBICKA, K. P. et al. Role of ghrelin in food reward: impact of ghrelin on sucrose self-administration and mesolimbic dopamine and acetylcholine receptor gene expression. **Addiction biology**, v. 17, n. 1, p. 95–107, jan. 2012.

SOETERS, M. R. et al. Adaptive reciprocity of lipid and glucose metabolism in human short-term starvation. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, v. 303, n. 12, p. E1397–E1407, 15 dez. 2012.

SONG, Y. et al. Insulin sensitivity and insulin secretion determined by homeostasis model assessment and risk of diabetes in a multiethnic cohort of women: the Women's Health Initiative Observational Study. **Diabetes care**, v. 30, n. 7, p. 1747–52, jul. 2007.

SPIEGEL, K. et al. Twenty-four-hour profiles of acylated and total ghrelin: relationship with glucose levels and impact of time of day and sleep. **The Journal of clinical endocrinology and metabolism**, v. 96, n. 2, p. 486–93, fev. 2011.

STEINERT, R. E. et al. Ghrelin, CCK, GLP-1, and PYY (3–36): Secretory Controls and Physiological Roles in Eating and Glycemia in Health, Obesity, and After RYGB. **Physiological Reviews**, v. 97, n. 1, p. 411–463, jan. 2017.

STRADER, A. D.; WOODS, S. C. Gastrointestinal hormones and food intake. **Gastroenterology**, v. 128, n. 1, p. 175–91, jan. 2005.

STRATTON, M. T. et al. Physiological responses to acute fasting: implications for intermittent fasting programs. **Nutrition Reviews**, v. 80, n. 3, p. 439–452, 10 fev. 2022.

SUMITHRAN, P. et al. Long-term persistence of hormonal adaptations to weight loss. **The New England journal of medicine**, v. 365, n. 17, p. 1597–604, 27 out. 2011.

SUN, X. et al. Basolateral amygdala response to food cues in the absence of hunger is associated with weight gain susceptibility. **The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience**, v. 35, n. 20, p. 7964–76, 20 maio 2015.

SUTTON, E. F. et al. Early Time-Restricted Feeding Improves Insulin Sensitivity, Blood Pressure, and Oxidative Stress Even without Weight Loss in Men with Prediabetes. **Cell metabolism**, v. 27, n. 6, p. 1212- 1221.e3, 5 jun. 2018.

TACAD, D. K. M. et al. Satiety Associated with Calorie Restriction and Time-Restricted Feeding: Peripheral Hormones. **Advances in Nutrition**, v. 13, n. 3, p. 792–820, maio 2022.

TAKAHASHI, K. A.; CONE, R. D. Fasting Induces a Large, Leptin-Dependent Increase in the Intrinsic Action Potential Frequency of Orexigenic Arcuate Nucleus Neuropeptide Y/Agouti-Related Protein Neurons. **Endocrinology**, v. 146, n. 3, p. 1043–1047, mar. 2005.

TAMURA, Y. et al. Identification of a novel and orally available benzimidazole derivative as an NPY Y5 receptor antagonist with in vivo efficacy. **Bioorganic & medicinal chemistry letters**, v. 22, n. 21, p. 6554–8, 1 nov. 2012.

TAMURA, Y. et al. Identification of a novel benzimidazole derivative as a highly potent NPY Y5 receptor antagonist with an anti-obesity profile. **Bioorganic & medicinal chemistry letters**, v. 23, n. 1, p. 90–5, 1 jan. 2013.

TANDON, P.; WAFER, R.; MINCHIN, J. E. N. Adipose morphology and metabolic disease. **Journal of Experimental Biology**, v. 121, 2018.

TANG, D. et al. Fasting: From Physiology to Pathology. **Advanced Science**, v. 10, n. 9, p. 2204487, 3 mar. 2023a.

TANG, R. et al. Eating window and eating habits of adults in China: A cross-sectional study. **Heliyon**, v. 9, n. 6, p. e17233, jun. 2023b.

TAYLOR, M.; GARROW, J. Compared with nibbling, neither gorging nor a morning fast affect short-term energy balance in obese patients in a chamber calorimeter. **International Journal of Obesity**, v. 25, n. 4, p. 519–528, 20 abr. 2001.

TAYLOR, S. R. et al. Developing dietary interventions as therapy for cancer. **Nature Reviews Cancer**, v. 22, n. 8, p. 452–466, 25 ago. 2022.

TETLEY, A.; BRUNSTROM, J.; GRIFFITHS, P. Individual differences in food-cue reactivity. The role of BMI and everyday portion-size selections. **Appetite**, v. 52, n. 3, p. 614–620, jun. 2009.

TIMPER, K.; BRÜNING, J. C. Hypothalamic circuits regulating appetite and energy homeostasis: pathways to obesity. 2017.

TINSLEY, G. M. et al.  $\beta$ -Hydroxy  $\beta$ -methylbutyrate free acid alters cortisol responses, but

not myofibrillar proteolysis, during a 24-h fast. **British Journal of Nutrition**, v. 119, n. 5, p. 517–526, 14 mar. 2018.

TREPANOWSKI, J. F. et al. Effect of Alternate-Day Fasting on Weight Loss, Weight Maintenance, and Cardioprotection Among Metabolically Healthy Obese Adults. **JAMA Internal Medicine**, v. 177, n. 7, p. 930, 1 jul. 2017.

TREPANOWSKI, J. F. et al. Effects of alternate-day fasting or daily calorie restriction on body composition, fat distribution, and circulating adipokines: Secondary analysis of a randomized controlled trial. **Clinical nutrition (Edinburgh, Scotland)**, v. 37, n. 6 Pt A, p. 1871–1878, dez. 2018.

TSCHÖP, M. H. et al. Unimolecular Polypharmacy for Treatment of Diabetes and Obesity. **Cell Metabolism**, v. 24, n. 1, p. 51–62, jul. 2016.

TSCHÖP, M.; SMILEY, D. L.; HEIMAN, M. L. Ghrelin induces adiposity in rodents. **Nature**, v. 407, n. 6806, p. 908–13, 19 out. 2000.

UENO, H. et al. The role of PYY in feeding regulation. **Regulatory peptides**, v. 145, n. 1–3, p. 12–6, 10 jan. 2008.

UPADHYAY, J. et al. Obesity as a Disease. **Medical Clinics of North America**, v. 102, n. 1, p. 13–33, 2018.

VAN CITTERS, G. W.; LIN, H. C. Ileal brake: neuropeptidergic control of intestinal transit. **Current gastroenterology reports**, v. 8, n. 5, p. 367–73, out. 2006.

VAN DEN HOEK, A. M. et al. Intracerebroventricular Neuropeptide Y Infusion Precludes Inhibition of Glucose and VLDL Production by Insulin. **Diabetes**, v. 53, n. 10, p. 2529–2534, 1 out. 2004.

VAN KLEEF, E. et al. Critical Reviews in Food Science and Nutrition Successful Development

of Satiety Enhancing Food Products: Towards a Multidisciplinary Agenda of Research Challenges Successful Development of Satiety Enhancing Food Products: Towards a Multidisciplinary Agen. **Taylor e Francis**, v. 52:7, p. 611–628, 2021.

VEEDFALD, S. et al. Glucose-Dependent Insulinotropic Polypeptide Is a Pancreatic Polypeptide Secretagogue in Humans. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 105, n. 3, p. e502–e510, 1 mar. 2020.

VOHRA, M. S. et al. AgRP/NPY and POMC neurons in the arcuate nucleus and their potential role in treatment of obesity. **European Journal of Pharmacology**, v. 915, p. 174611, jan. 2022.

WAKI, H.; TONTONOZ, P. Endocrine functions of adipose tissue. **Annual Review of Pathology**, v. 2, p. 31–56, 2007.

WANG, H. et al. Global, regional, and national life expectancy, all-cause mortality, and cause-specific mortality for 249 causes of death, 1980–2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. **The Lancet**, v. 388, n. 10053, p. 1459–1544, out. 2016.

WANG, L. et al. Peripheral peptide YY inhibits propulsive colonic motor function through Y2 receptor in conscious mice. **American journal of physiology. Gastrointestinal and liver physiology**, v. 298, n. 1, p. G45-56, jan. 2010.

WANG, Y. et al. Health policy and public health implications of obesity in China. **The Lancet Diabetes & Endocrinology**, v. 9, n. 7, p. 446–461, jul. 2021.

WAUMAN, J.; ZABEAU, L.; TAVERNIER, J. The Leptin Receptor Complex: Heavier Than Expected? **Frontiers in Endocrinology**, v. 8, 21 fev. 2017.

WEINDRUCH, R. The Retardation of Aging by Caloric Restriction: Studies in Rodents and Primates. **Toxicologic Pathology**, v. 24, n. 6, p. 742–745, 2 nov. 1996.

WELTON, S. et al. Intermittent fasting and weight loss: Systematic review. **Canadian family physician Medecin de famille canadien**, v. 66, n. 2, p. 117–125, fev. 2020.

WEN, J.-P. et al. Globular adiponectin regulates energy homeostasis through AMP-activated protein kinase-acetyl-CoA carboxylase (AMPK/ACC) pathway in the hypothalamus. **Molecular and cellular biochemistry**, v. 344, n. 1–2, p. 109–15, nov. 2010.

WHO. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a World Health Organization Consultation. p. 256p, 2000.

WITHROW, D.; ALTER, D. A. The economic burden of obesity worldwide: a systematic review of the direct costs of obesity. **Obesity Reviews**, v. 12, n. 2, p. 131–141, fev. 2011.

WU, Q.; BOYLE, M. P.; PALMITER, R. D. Loss of GABAergic Signaling by AgRP Neurons to the Parabrachial Nucleus Leads to Starvation. **Cell**, v. 137, n. 7, p. 1225–1234, jun. 2009.

WU, Q.; CLARK, M. S.; PALMITER, R. D. Deciphering a neuronal circuit that mediates appetite. **Nature**, v. 483, n. 7391, p. 594–597, 14 mar. 2012b.

WU, Q.; PALMITER, R. D. GABAergic signaling by AgRP neurons prevents anorexia via a melanocortin-independent mechanism. **European Journal of Pharmacology**, v. 660, n. 1, p. 21–27, jun. 2011.

WU, X. et al. Involvement of AMP-Activated Protein Kinase in Glucose Uptake Stimulated by the Globular Domain of Adiponectin in Primary Rat Adipocytes. **Diabetes**, v. 52, n. 6, p. 1355–1363, 1 jun. 2003.

YANG, N. et al. Impaired ghrelin response after high-fat meals is associated with decreased satiety obese and lean Chinese young adults. **TJ Nutrition**, v. 139, n. 7, p. 1286–91, jul. 2009.

YE, R.; SCHERER, P. E. Adiponectin, driver or passenger on the road to insulin sensitivity? **Molecular Metabolism**, v. 2, n. 3, p. 133–141, ago. 2013.

YEUNG, A. Y.; TADI, P. Physiology, Obesity Neurohormonal Appetite And Satiety Control. **Statpearls**. 3 jan. 2023.

ZANCHI, D. et al. The impact of gut hormones on the neural circuit of appetite and satiety: A systematic review. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 80, p. 457–475, set. 2017.

ZEB, F. et al. Time-restricted feeding regulates molecular mechanisms with involvement of circadian rhythm to prevent metabolic diseases. **Nutrition**, v. 89, p. 111244, set. 2021.

ZELNIKER, T. A. et al. Comparison of the Effects of Glucagon-Like Peptide Receptor Agonists and Sodium-Glucose Cotransporter 2 Inhibitors for Prevention of Major Adverse Cardiovascular and Renal Outcomes in Type 2 Diabetes Mellitus. **Circulation**, v. 139, n. 17, p. 2022–2031, 23 abr. 2019.

ZHENG, H. et al. Appetite control and energy balance regulation in the modern world: Reward-driven brain overrides repletion signals. **International Journal of Obesity**, v. 33, n. S2, p. S8–S13, 2009.

ZHU, W. et al. Pancreatic polypeptide revisited: Potential therapeutic effects in obesity-diabetes. **Peptides**, v. 160, p. 170923, fev. 2023.

ZIMMERMANN, T. et al. BI 456906: Discovery and preclinical pharmacology of a novel GCGR/GLP-1R dual agonist with robust anti-obesity efficacy. **Molecular Metabolism**, v. 66, p. 101633, dez. 2022.

ZOUHAL, H. et al. Effects of Ramadan Intermittent Fasting on Gut Hormones and Body Composition in Males with Obesity. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 17, n. 15, p. 5600, 3 ago. 2020.

**APÊNDICE A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

Você está sendo convidado(a) a participar do projeto de pesquisa “EFEITO DO JEJUM NO PERÍODO ATIVO SOBRE OS PEPTÍDEOS GASTROINTESTINAIS EM MULHERES

EUTRÓFICAS E COM OBESIDADE”. O estudo tem como objetivo investigar o efeito do jejum realizado durante o período ativo sobre os peptídeos gastrointestinais em mulheres eutróficas e com obesidade.

Durante a pesquisa, será proposta uma intervenção aguda:

**Protocolo:** Ocorrerá em um único dia e será feita a avaliação antropométrica (peso, altura, circunferência da cintura e do quadril), composição corporal, gasto energético de repouso e coleta de sangue. Você será orientado a ingerir uma refeição específica para interromper o jejum noturno de 10h e retornar para suas atividades de vida diárias logo em seguida. Você deverá voltar ao ambulatório 10 horas depois para repetição dos mesmos procedimentos realizados no primeiro momento no intuito de avaliar o efeito do jejum realizado. Será disponibilizada uma refeição ao final do protocolo.

Existem alguns inconvenientes em relação à pesquisa, como a necessidade de deslocamento até o local do atendimento, possíveis desconfortos relacionados a manutenção do jejum, defeitos ou falhas nos equipamentos poderão ocorrer, no entanto, todos os recursos necessários para a minimização desses impactos serão utilizados. Você poderá sentir um formigamento passageiro na pele durante o uso do aparelho bioimpedância que passa uma corrente elétrica de baixa intensidade para avaliar a quantidade de gordura e de músculo do corpo, porém não sentirá dor. Existe também a possibilidade de você sentir desconforto durante a coleta de sangue, porém esse procedimento será realizado por profissional treinado, respeitando as regras de higiene e cuidados com você.

Sua participação ajudará os profissionais a entenderem melhor o metabolismo e as alterações que acontecem no corpo após a realização do jejum ao longo do dia, podendo assim colaborar no desenvolvimento de estratégias efetivas no manejo do excesso de peso.

A participação no estudo é voluntária, não revertendo em benefícios pessoais aos colaboradores. Além disso, frisamos que a qualquer momento você poderá se retirar do estudo sem que isso lhe cause qualquer tipo de prejuízo. Aos participantes fica assegurado o direito de interromper a sua participação a qualquer momento, sem nenhum ônus (custo) e é garantido o anonimato, ou seja, dados que possam identificar o participante não serão divulgados. Os pesquisadores estarão a sua disposição para qualquer esclarecimento que considere necessário em qualquer etapa da pesquisa.

### **Consentimento:**

Eu, \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_ declaro que tive a oportunidade de esclarecer todas as dúvidas em relação à pesquisa, bem como aos objetivos nela propostos. Portanto, concordo em participar do estudo na qualidade de voluntário(a) e autorizo a divulgação dos dados por mim fornecidos desde que assegurado o meu direito à preservação de identidade. Este documento foi elaborado em duas vias que serão assinadas por mim e pelo pesquisador, ficando uma via com cada um de nós.

---

Assinatura do(a) participante \_\_\_\_\_

---

Assinatura do aluno de pós-graduação \_\_\_\_\_

---

Assinatura do pesquisador responsável \_\_\_\_\_

O projeto acima referido foi discutido e explicado ao participante, com linguagem clara, acessível e apropriada. Asseguro todos os direitos a ele reservado segundo os princípios éticos de pesquisa e deixo à disposição do participante meu endereço eletrônico e telefone, bem como o do Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais a fim de facilitar o contato para esclarecimento de questões éticas e, quando necessário, a suspensão de sua participação no estudo.

Karin Alessandra Honorato (mestranda)/ Profa. Dra. Adaliene Versiani Matos Ferreira/  
[adaliene@gmail.com](mailto:adaliene@gmail.com) (pesquisadora responsável).

Comitê de Ética em Pesquisa (31) 3409-4592 - Av. Antônio Carlos, 6627 – Unidade Administrativa II- 2º andar – Sala 2005.Campus Pampulha. Belo Horizonte – MG – Brasil CEP: 31270-901

Belo Horizonte, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_

## APÊNDICE B – PRONTUÁRIO



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**

**ESCOLA DE ENFERMAGEM - DEPARTAMENTO DE NUTRIÇÃO**

Av. Alfredo Balena, 190 - Sala 120 - Telefax: (031) 3409.9836

Caixa Postal: 1556 - CEP.: 30.130-100 Belo Horizonte - Minas Gerais - Brasil

### Ficha de Consulta: Ambulatório de Nutrição – Obesidade

1ª consulta: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

#### 1) IDENTIFICAÇÃO

Nome: \_\_\_\_\_ Número: \_\_\_\_\_

Data de nascimento: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_ Idade: \_\_\_\_\_ Profissão: \_\_\_\_\_

Estado Civil: ( ) Solteira ( ) Casada/União estável ( ) Divorciada ( ) Viúva

Trabalho: ( ) Sim ( ) Não Renda familiar (SM): \_\_\_\_\_ Nº de dependentes: \_\_\_\_\_

Filhos: ( ) Não ( ) Sim: \_\_\_\_\_

Escolaridade: ( ) Analfabeta ( ) Fund. Incompleto ( ) Fund. Completo ( ) Médio

Incompleto ( ) Médio Completo ( ) Superior Completo ( ) Superior

Incompleto ( ) Pós-graduação \_\_\_\_\_

Anos completos de estudo: \_\_\_\_\_

Telefone de contato: \_\_\_\_\_ E-

mail: \_\_\_\_\_

#### 2) DADOS DE SAÚDE

2.1. COMORBIDADE: Consulte o manual do CIRS-G. Escreva uma breve descrição do problema (s) de saúde que justificou a escolha da pontuação na linha após cada item (Score: 0 – 4).

Categoria	Descrição do problema	Score
Coração		
Vascular		
Hematopoiético		
Respiratório		
Olhos, ouvido, nariz, garganta e laringe		
Parte superior do TGI		
Parte inferior do TGI		
Fígado		
Rim		
Genito-urinário		
Musculoesquelético / Tegumento		
Neurológico		
Endócrino / Metabólico / Mama		

Doenças psiquiátricas		
Número total de categorias		
Número total de score		
Score total / número total de categorias		
Número de categorias de nível 3 de gravidade		
Número de categorias de nível 4 de gravidade		

intestinal:

	Normal	Obstipação	Diarreia	Frequência
1ª C				
1º R				
2º R				
3º R				
4º R				
5º R				
6º R				

2.3. Medicação atual:

	Sim				Não
	Medicamento	Dose	Frequência	Motivo	
1ª C					

2.4. Você consome bebida alcoólica? ( ) Não ( ) Sim

	S	N
Alguma vez o (a) senhor (a) sentiu que deveria diminuir a quantidade de bebida alcoólica ou parar de beber?		
As pessoas o (a) aborrecem porque criticam o seu modo de tomar bebida alcoólica?		
O (a) senhor(a) se sente chateado(a) consigo mesmo(a) pela maneira como costuma tomar bebidas alcoólicas?		
Costuma tomar bebidas alcoólicas pela manhã para diminuir o nervosismo ou ressaca?		
Total		

2.5. Você fuma: ( ) Não ( ) Sim

1. Quanto tempo após acordar você fuma seu primeiro cigarro?		4. Quantos cigarros você fuma por dia?	
(1) Dentro de 5 minutos	3	(1) Menos de 10	0
(2) Entre 6-30 minutos	2	(2) De 11 a 20	1
(3) Entre 31-60 minutos	1	(3) De 21 a 30	2
(4) Após 60 minutos	0	(4) Mais de 31	3
(5) Não fuma		(5) Não fuma	
2. Você acha difícil não fumar em lugares proibidos, como igrejas, ônibus, etc.?		5. Você fuma mais frequentemente pela manhã?	
(1) Sim	1	(1) Sim	1
(2) Não	0	(2) Não	0
3. Qual cigarro do dia traz mais satisfação?		6. Você fuma mesmo doente?	
(1) O primeiro da manhã	1	(1) Sim	1
(2) Outros	0	(2) Não	0
(3) Nenhum		<b>Total</b>	

2.6. Atividade física

Descrição das atividades	1ª C	1º R	2º R	3º R	4º R	5º R	6º R
Hora de dormir							
Hora levantar							
Atividades assentadas TV							
Leitura							
Computador							
Deslocamento a pé							
Alimentação, banho							
Ativ doméstica							
Exercícios físicos							
Outros:							

### 3) DADOS NUTRICIONAIS

3.1 Quantas refeições você faz por dia? ( ) : Café da manhã ( ) : Lanche da manhã

( ) : Almoço ( ) : Lanche da tarde ( ) : Jantar ( ) : Ceia  
 Outra (s): ( ) : ( ) : ( ) :

3.2 Local onde realiza as grandes refeições:

Local onde realiza as pequenas refeições:

Se em casa, quem realiza o preparo das refeições:

3.3 Aversões

alimentares: \_\_\_\_\_

3.4. RECORDATÓRIO DE 24 HORAS

Refere-se a qual dia da semana? ( ) Domingo ( ) 2<sup>a</sup> ( ) 3<sup>a</sup> ( ) 4<sup>a</sup> ( ) 5<sup>a</sup> ( ) 6<sup>a</sup> ( )

Sábado

Refeição	Alimento/ Preparação	Quantidade	OBS:
Desjejum ____:____			
Colação ____:____			
Almoço ____:____			
Lanche da Tarde ____:____			
Jantar ____:____			
Ceia ____:____			

Houve “beliscos” durante o dia? ( ) Não ( ) Sim, qual alimento?

### 3.6. AVALIAÇÃO NUTRICIONAL

DADOS	1ªC	1ºR	2ºR	3ºR	4ºR	5ºR	6ºR
Peso atual (kg)							
Altura (m)							
IMC (kg/m <sup>2</sup> )							
CC (cm)							
CA (cm)							
CQ (cm)							
RCQ							
RCE							
Resistência							
Reactância							
Gordura corporal (kg)							
Gordura corporal (%)							
M. magra (kg)							
M. magra (%)							
Água corporal (L)							
Água corporal (%)							
PA sistólica							
PA diastólica							
Frequência cardíaca							
TMR (calorimetria)							
VO <sub>2</sub>							
VCO <sub>2</sub>							
R							
Coleta de sangue							
Registro alimentar							
Termo adesão							

## ANEXO

### **Effect of fasting during daily activities on gastrointestinal peptides in women with and without obesity**

Karin Alessandra Honorato<sup>1</sup>, Jenneffer Rayane Braga Tibães<sup>1</sup>, Gabriela Barbosa Pires Fagundes<sup>2</sup>, Ana Maria Rodrigues<sup>1</sup>, Ana Letícia Malheiros Silveira<sup>2</sup>, Adaliene Versiani Matos Ferreira<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Department of Nutrition, Nursing School, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brazil;

<sup>2</sup>Department of Physiology and Pharmacology, Biological Sciences Institute, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brazil.

Corresponding author: Adaliene Versiani Matos Ferreira. Universidade Federal de Minas Gerais - Campus Saúde Escola de Enfermagem – Departamento de Nutrição, Avenida Professor Alfredo Balena, 190, Bairro Santa Efigênia, Belo Horizonte, MG, CEP 30130-100 Brasil.

Phone number: +55313409-8036. E-mail: adaliene@gmail.com

**Running title:** Effect of acute fasting during the active period on gastrointestinal peptides

**Keywords:** Fasting. Obesity. Gastrointestinal peptides.

**Clinical trial registration:** NCT03532672

**Funding:** This study was financially funded by Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais - FAPEMIG (Project APQ-02473-18), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq (Project 310375/2019-3) and Pró-Reitoria de Pesquisa (PRPq) – UFMG.

**Disclosure:** The authors declare no conflict of interest.

#### **Bullet-point**

- So far, we do not have studies evaluating the metabolic and physiological adaptations that occur in gastrointestinal peptides and adipokines in humans after acute diurnal fasting;
- Gastrointestinal peptides and adipokines play a role in various endogenous adaptations and bring about changes in hunger and satiety hormonal signals.

## ABSTRACT

**Introduction:** The practice of fasting has become increasingly common and is associated with beneficial metabolic responses and weight loss. Prolonged fasting often extends beyond the overnight fasting period into the daily activity period. While the physiology of overnight fasting is well understood, the effects of fasting on daily activities are partially unknown, especially concerning gastrointestinal peptides and metabolites related to eating behavior. **Objective:** The aim of this study was to investigate the effect of acute daytime fasting on gastrointestinal peptides in women with and without obesity. **Methods:** This was a non-randomized trial that stratified fifty-four women (aged 18 to 60 years) into two groups: (i) without obesity (n = 29; BMI = 18.5-24.9 kg/m<sup>2</sup>) and (ii) with obesity (n = 25; BMI > 35 kg/m<sup>2</sup>). Body assessment and data collection were conducted in the morning after a 10-hour overnight fast and after a 10-hour daytime fast. **Results:** After daytime fasting, PYY showed no differences, and PP increased in both groups. Women with obesity exhibited an increase in GLP-1, but no changes in GIP and ghrelin in both groups. Leptin decreased only in women with obesity. Both groups showed reductions in adiponectin, insulin levels, HOMA-IR, and HOMA-BETA. **Conclusion:** Fasting during daily activities reduces anorexigenic hormones (insulin and leptin), promoting increased feeling of hunger, and increases PP and GLP-1, especially in women with obesity. Fasting during daily activities may reorganize a complex network of endocrine signals that, in some way, can modulate homeostatic and hedonic eating behavior.

## INTRODUCTION

Food quantity and quality are the widest themes debated in the nutrition field especially when considering weight management<sup>1,2,3,4</sup>. However, temporal duration of food consumption and meal timing also seem to be important for health and have recently gained attention<sup>5,6</sup>. In this sense, fasting has emerged over the last 10 years as a powerful tool to ameliorate and postpone the onset of diseases<sup>1,2</sup> and, mainly, to promote beneficial metabolic control and greater weight loss<sup>2,7</sup>. However, the effect of intermittent fasting on appetite is not clear<sup>8</sup>.

Studies showed that intermittent fasting may lead to an individual perception of more hunger than usual<sup>9,10</sup>, while others suggest that appetite may be reduced<sup>11,12</sup>. Liu et al. (2020) pointed out a lower hunger and higher satiety after intermittent fasting<sup>12</sup>. On the other hand, a recent meta-analyze did not provide clear evidence that intermittent fasting affects hunger, satiety, or the desire to eat differently from calorie-restriction diets<sup>8</sup>. Thus, some concern still stands whether fasting may negatively influence appetite<sup>13,14</sup>. Moreover, the effect of fasting over eating behavior may adapt over the course of fasting-long-term dieting<sup>15</sup>.

Prolonged fasting often goes beyond the period of overnight fasting, and thus occurs during daily life activities. Recently, our research group showed that women with or without obesity have an increase in subjective feelings of appetite after acute fasting during the 10h-daily activities (unpublished data) indicating that some satiating-regulatory signals may change after diurnal fasting.

The center for hunger and satiety control is managed by anorexigenic neurons including pro-opiomelanocortin (POMC) and cocaine- and amphetamine-regulated transcript (CART), as well as orexigenic neurons, such as neuropeptide Y (NPY) and agouti-related protein (AgRP)<sup>16</sup>. Besides the neurons, hunger and satiety depend on various hormones from the digestive system, including ghrelin, glucagon-like peptide-1 (GLP-1), peptide YY (PYY), glucose-dependent insulinotropic polypeptide (GIP), pancreatic polypeptide (PP), and insulin. Adipokines leptin<sup>17</sup> and adiponectin<sup>18</sup> also interfere on appetite regulation.

Among the anorexigenic peptides, PYY is secreted after food intake primarily in response to fats<sup>19</sup>. PP reduces food intake and gastric emptying while increasing energy expenditure<sup>20</sup>. GIP and GLP-1 are considered incretins and as such are intestinal hormones that work in harmony, stimulating insulin secretion after nutrient intake<sup>21,22,23</sup>. Upon secretion, insulin induces anorexigenic responses and reduces orexigenic signals<sup>24,21</sup>. Leptin is one of the adipokines produced by adipose tissue that inhibits orexigenic peptides while stimulating the anorexigenic<sup>25</sup>. Leptin also influences homeostatic and hedonic hunger<sup>26,27,28</sup>. It has been demonstrated that plasma leptin levels are higher in individuals with obesity than in lean

individuals<sup>29</sup>. Normally, high concentrations of leptin are associated with decreased appetite<sup>30,31</sup>. However, in individuals with obesity, elevated leptin leads to resistance to the classic effects of this hormone and subsequent excessive food consumption<sup>31,32</sup>. Adiponectin has also been a focus in the study of feeding behavior regulation<sup>33</sup>. Its action in this regard is through the transmission of signals to the hypothalamus via its respective receptors, primarily AdipoR1, which appears to be involved in the regulation of food intake and energy expenditure<sup>18,34</sup>. However, these receptors are decreased in obesity<sup>35</sup>. On the other hand, ghrelin promotes appetite and hunger<sup>36</sup>. The regulation of ghrelin operates oppositely to satiety peptides<sup>37,38</sup>, increasing food intake and gastrointestinal motility while decreasing insulin secretion<sup>39</sup>. Ghrelin concentrations peak immediately before the onset of a meal, declining within 1 hour after meal consumption<sup>40</sup>.

During obesity development, a dysregulation of central and peripheral pathways that control appetite may be linked to a feedforward loop that maintains the overeating and weight gain<sup>41,42</sup>. In this sense, when individuals with obesity are subjected to a fasting protocol, an increase in subjective hunger may occur due to changes in meal timing<sup>10</sup>. Based on previously gathered data from our research group, which indicates a significant increase in hunger and food cravings, particularly in women with obesity, during the active fasting period, we suspect that concentrations of gastrointestinal peptides play a crucial role in this phenomenon. In this context, we have formulated the hypothesis that fasting during the active period leads to alterations in the concentrations of these gastrointestinal peptides, triggering metabolic repercussions that contribute to the heightened feelings of hunger and food cravings.

The choice of a 10-hour fasting period during the active phase was intentional, aligning with common routines that often involve a nighttime fasting interval. This strategy aims to enhance the comparability of our results with clinical studies, thereby facilitating the analysis and interpretation of the collected data. This meticulous approach strengthens the relevance of our findings, enabling a deeper understanding of the underlying mechanisms of the impact of fasting during the active period on gastrointestinal peptide concentrations, with potential

implications for understanding and managing eating behaviors associated with obesity.

Thus, our objective was twofold: (i) to analyze whether an acute 10-h fasting during daily activities changes endocrine signals related to eating behavior and (ii) to check whether obesity may influence such changes.

## **METHODS**

### **Study population**

The participants of the study were recruited via electronic advertising and word-of-mouth between September 2017 and March 2019. Before the study, all participants were informed of the details and provided written consent.

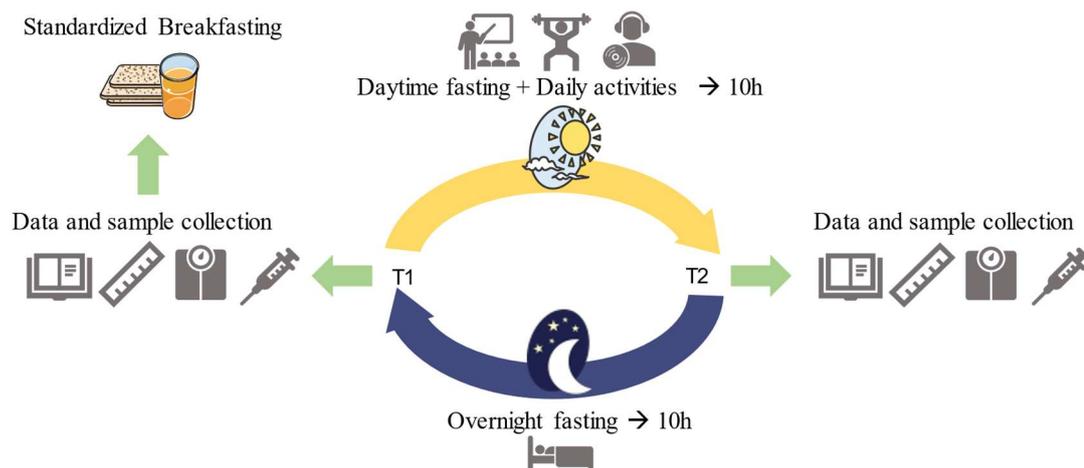
The study sample consisted of women (18 to 59 years) stratified into two groups according to body mass index (BMI) cutoffs ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ): (1) group without obesity ( $\text{BMI} = 18.5\text{--}24.9 \text{ kg}/\text{m}^2$ ) and (2) with obesity ( $\text{BMI} \geq 35.0 \text{ kg}/\text{m}^2$ ) (WHO, 1995). Exclusion criteria were: (i) diagnosis of chronic diseases such as cancer, chronic kidney disease, heart, liver, or autoimmune diseases; (ii) thyroid disorders and/or medication use for this condition; (iii) continuous use of corticosteroids, immunosuppressants, anti-inflammatory drugs, weight loss medications, oral hypoglycemic agents, insulin and any medications influencing metabolic and/or inflammatory parameters; (iv) prior weight reduction surgery; (v) pregnancy or lactation; (vi) smoking and (vii) daily alcohol consumption exceeding two servings. Women eligible for the study were instructed not to perform physical activity (any sports or gym workouts) nor to consume alcoholic beverages, coffee, or tea after 6 PM before the experimental day. Furthermore, it was recommended for the volunteers that they should maintain their usual dietary habits, especially for the last meal, and present themselves after a 10-hour overnight fasting at the laboratory for the beginning of the data collection.

The study was approved by the Committee of Ethics and Research of the Federal University of Minas Gerais (CAAE: 72774617.6.0000.5149). The trial is registered on

clinicaltrials.gov (NCT03532672).

## Experimental design

The study was divided into two time points: T1, after the overnight fasting of 10 hours and, T2 after a diurnal fasting of 10 hours. The experimental design is shown in **Figure 1**. Participants attended two study visits on the same day (T1 and T2) that included the assessment of anthropometric data, body composition, resting energy expenditure (REE) measurement, and fasting blood draw.



**Figure 1 – Experimental design of the study.** The intervention was divided into two-time points: after an overnight fasting of approximately 10 hours [Time 1 (T1)] and after fasting during a diurnal active period of approximately 10 hours [Time 2 (T2)]. Participants attended two study visits on the same day (T1 and T2) that included the assessment of anthropometric measures, body composition, and fasting blood draw. Following the first blood draw (T1), participant consumed a standardized breakfast and were free to do their usual daily life activities (10 hours), until the next assessment (T2).

Following the first blood draw (T1), participants consumed a standardized breakfast (toasted bread, butter, ham, and nectar juice). The meal was composed of 50% carbohydrates, 35% lipids, and 15% proteins<sup>34</sup>. This meal corresponded to 20% of the estimated energy requirement, calculated based on the REE obtained through indirect calorimetry (QUARK-RMR equipment - COSMED, Rome, Italy, multiplied by the physical activity factor, and increased by 10% to account for the thermic effect of food. The activity factor was calculated

based on self-reported time spent in daily life activities. The average activity time was used to calculate metabolic equivalents<sup>35</sup>.

### **Anthropometry and body composition assessment**

The anthropometric assessment was conducted by measuring weight and height. For these measurements, a calibrated mechanical scale, Filizola® brand, with a precision of 0.1 kg and a maximum capacity of 150 kg, was used along with a stadiometer attached to the scale with a precision of 0.1 cm and a maximum extension of 2.20 m.

The body composition was carried out using the Quantum II device (RJM Systems, Michigan, USA) based on bioelectrical impedance following the manufacturer's instructions. To obtain reactance and resistance the Quantum device (RJM Systems, Michigan, USA) was used. The results of reactance and resistance allowed the estimation of body fat (BF) and fat-free mass (FFM) using the equation developed by Chumlea and colleagues<sup>43</sup>.

### **Serum and plasma analysis**

The participants underwent a blood collection of 5 mL at T1 and T2 for the analysis of gastrointestinal peptides, insulin, adiponectin, leptin, and glucose. The collected blood was centrifuged for 15 minutes at 3500 rpm to serum and plasma aliquot, which were then stored in a freezer at -80°C until the biochemical assays were performed. The collection was conducted following ethical principles by a properly trained and qualified professional.

For the analysis of gastrointestinal peptides (GIP, GLP-1, PP, PYY, and ghrelin) in plasma we have used a Milliplex® multiplex immunoassay technique and a Luminex® xMAP® platform (Millipore Corporation, MA, USA). We used a custom Human Metabolic Hormone Magnetic Bead Panel – HMHEMAG-34K and performed the measurements according to the manufacturer's instructions.

Leptin and adiponectin were measured in serum using the enzyme-linked

immunosorbent assay (ELISA) technique with assay kits from R&D Systems following the manufacturer's guidelines.

Insulin was assessed in serum by a specialized laboratory (Instituto Hermes Pardini, Belo Horizonte, MG, Brazil) through chemiluminescent and turbidimetric assays. Additionally, the Homeostatic Model Assessment of Insulin Resistance (HOMA-IR) was calculated using the formula  $\text{HOMA-IR} = \text{fasting insulin (mU/L)} \times (\text{fasting glucose (mg/dL)} \times 0.0555) / 22.5$ . For the calculation of the HOMA-BETA index, which assesses pancreatic  $\beta$ -cell function, the formula  $\text{HOMA-BETA (\%)} = (20 \times \text{Fasting Insulin} / \text{Fasting Glucose} - 3.5)$  was used<sup>44</sup>.

Glucose concentrations were quantified in the serum using an enzymatic kit (Bioclin®, Belo Horizonte, MG, Brazil), and the assay was performed following the manufacturer's instructions. The glucose data were used to calculate the HOMA-IR and HOMA-BETA indexes.

### **Statistical analyses**

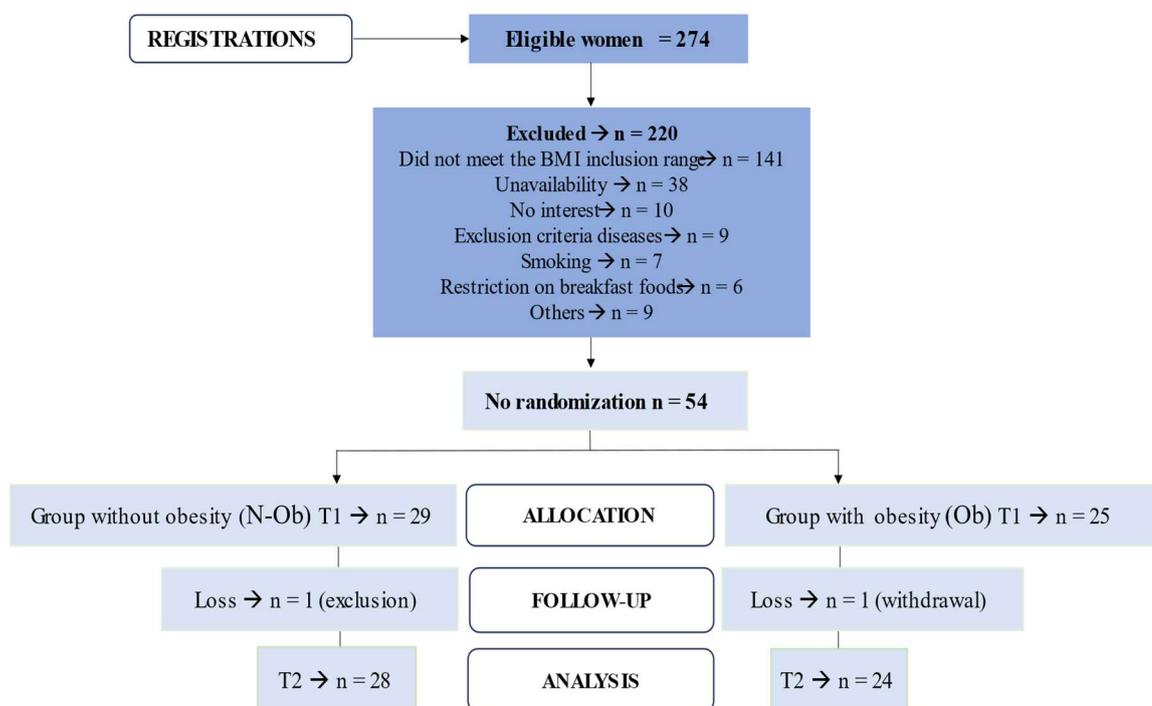
All statistical analyses were performed using the generalized Estimating Equations (GEE) method with age control, as women in the group with obesity were older than those in the group without obesity ( $p < 0.005$ ). The graphs were created using GraphPad Prism version 8.0.1. and the statistical analyses were performed using the Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) version 20.0. To assess the normality of quantitative variables, the Shapiro-Wilk test was used. The comparison of data was conducted using the Generalized Estimating Equations (GEE) method with Bonferroni correction applied as a post-test. The differences between the two-time points [ $\Delta = T2 - T1$ ] were compared using the Mann-Whitney test for non-parametric variables and the student's t-test for paired parametric variables.

The correlation between two parametric variables was evaluated using the Pearson test while the correlation between two non-parametric variables was analyzed using the Spearman test. A significance level of 5% ( $p < 0.05$ ) was adopted for all analyses. Graph and table data

were presented as mean with a 95% confidence interval (CI 95%). In the graphs, relevant comparisons between T1 and T2 intergroups (normal weight versus obesity) were indicated with an asterisk (\*), and comparisons between T1 and T2 intragroups were indicated with a hashtag (#).

## RESULTS

In this study, 274 women were first interviewed. Among them, 54 met the inclusion criteria and were assigned to the group without obesity (n = 29) or the group with obesity (n = 25), based on their BMI. One participant from the group without obesity was excluded due to glycemic alterations, and one from the group with obesity withdrew from the study. Therefore, the study was concluded with 28 women in the group without obesity (no obesity = N-Ob) and 24 in the group with obesity (Ob). The illustrative flowchart can be observed below (**Figure 2**).



**Figure 2 – Study flowchart.**

**Table 1 - Characteristics of the study participants.**

Variables	Normal weight (n=29)	Obesity (n=25)
Age (years)	26,46 (24,22; 28,26)	35,72 (31,30; 40,14)
Weight (kg)	58,36 (55,80; 60,91)	101,60 (96,97; 106,24)
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	21,66 (20,91; 22,40)	39,53 (38,38; 40,69)
Waist Circumference (cm)	69,86 (68,10; 71,62)	102,77 (100,46; 105,08)
Waist-Hip Ratio (WHR)	0,71 (0,69; 0,72)	0,80 (0,77; 0,83)
Body Fat (%)	31,43 (30,07; 32,79)	47,09 (46,38; 47,79)
Lean Body Mass (%)	68,57 (67,21; 69,93)	52,91 (52,21; 53,62)

**Legend:** BMI, body mass index; WC, waist circumference; WHR, waist-hip ratio; LBM, lean body mass.

### **Effect of diurnal fasting on gastrointestinal peptides and adipokines**

All statistical analyses were conducted using the GEE method, considering age as a covariate, given that women in the obesity group were older than those in the non-obesity group ( $p < 0.05$ ).

Fasting during the active period (T2) did not alter the concentration of PYY in women with and without obesity when compared to overnight fasting (T1) (Table 2). The concentration of PP increased in both groups after fasting during the active period (T2) compared to overnight fasting (T1) (Table 2). Regarding GLP-1, concentrations increased at T2 only in the obesity group, with no changes in the non-obesity group (Table 2). As for GIP, a difference between the two groups was observed only after fasting during the active period (T2) (Table 2). No difference in ghrelin concentration was observed between or within groups (Table 2). Plasma leptin concentrations were higher in the obesity group at both time points, and leptin concentrations decreased after fasting during the active period only in women with obesity (Table 2). Regarding adiponectin, there was a decrease in both groups after daytime fasting (Table 2). As a characteristic of the obesity group sample, insulin and HOMA indices were higher at T1 and T2 compared to the non-obesity group. However, daytime fasting (T2) induced a reduction in insulin concentration, showing a significant difference between and within groups (Table 2). As a consequence of insulin, both HOMA-IR and HOMA-BETA also showed a reduction after daytime fasting compared to overnight fasting (T1) in both groups, with and without obesity (Table 2).

Table 2 - Effect of fasting during the active period on gastrointestinal peptides and hormones in women without and with obesity.

Variable	Without obesity		With obesity		Value p		
	Time 1	Time 2	Time 1	Time 2	Group	Time	Group Versus time
PYY (ng/ml)	156,59 (120,99; 202,68)	170,38 (137,34; 211,36)	198,61 (139,79; 282,18)	155,18 (105,38; 228,51)	0,716	0,436	0,112
PP (ng/ml)	33,17 (23,10; 47,64)	48,57* (38,20; 61,76)	29,16 (18,53; 45,89)	57,81* (43,96; 76,02)	0,917	<0,001	0,198
GLP-1 (ng/ml)	146,92 (126,21; 171,03)	139,87 (122,80; 159,30)	165,69 (133,06; 206,30)	181,42* (145,05; 226,89)	0,146	0,485	0,019
GIP (ng/ml)	56,28 (44,69; 70,88)	45,97 (38,10; 55,44)	58,10 (46,17; 73,11)	62,08# (51,16; 75,34)	0,191	0,420	0,112
Ghrelin (ng/ml)	40,31 (30,44; 53,38)	43,62 (31,09; 61,25)	31,93 (24,75; 41,17)	37,23 (28,85; 48,05)	0,233	0,346	0,762
Leptin (ng/ml)	6,12 (5,19; 7,22)	5,61 (4,68; 6,72)	20,586# (19,07; 22,20)	18,62*# (17,26; 20,09)	<0,001	0,034	0,896
Adiponectin (ng/ml)	48,70 (45,90; 51,68)	43,90* (42,39; 45,46)	52,72 (48,96; 56,78)	47,76* (44,90; 50,80)	0,027	<0,001	0,910
Insulin ( $\mu$ U/ml)	6,24 (5,45; 7,15)	4,05*# (3,34; 4,91)	14,31 (11,66; 17,56)	10,23*# (8,23; 12,72)	<0,001	<0,001	0,385
HOMA-IR	1,48 (1,27; 1,71)	0,93*# (0,78; 1,10)	3,63 (2,99; 4,41)	2,35*# (1,99; 2,77)	<0,001	<0,001	0,818
HOMA-BETA	74,39 (59,86; 92,44)	52,48*# (39,90; 69,05)	133,18 (101,08; 175,46)	96,87*# (79,81; 117,59)	<0,001	<0,001	0,870

Legend: Peptide tyrosine-tyrosine (PYY); Pancreatic polypeptide (PP); Glucagon-like peptide-1 (GLP-1); Gastric inhibitory polypeptide (GIP); Homeostasis Model Assessment-Insulin (HOMA-IR); Homeostasis Model Assessment b-Cell Function (HOMA-BETA). Note: Data analysis performed by the Generalized Estimating Equations (GEE) method; #p < 0.05, significant difference between T1 and T2 intergroup; \*p < 0.05, significant difference between T1 or T2 intragroup.

To better understand the differences in gastrointestinal peptide variations between the groups with and without obesity, the delta ( $\Delta = T2-T1$ ) was calculated for the obtained values. Among normal-weight and obese women, there were no significant changes in the delta for gastrointestinal peptides PYY (Figure 1A), PP (Figure 1B), GIP (Figure 1D), ghrelin (Figure 1E). As observed in Figure 1C, GLP-1 showed a difference in variations between the group with and without obesity

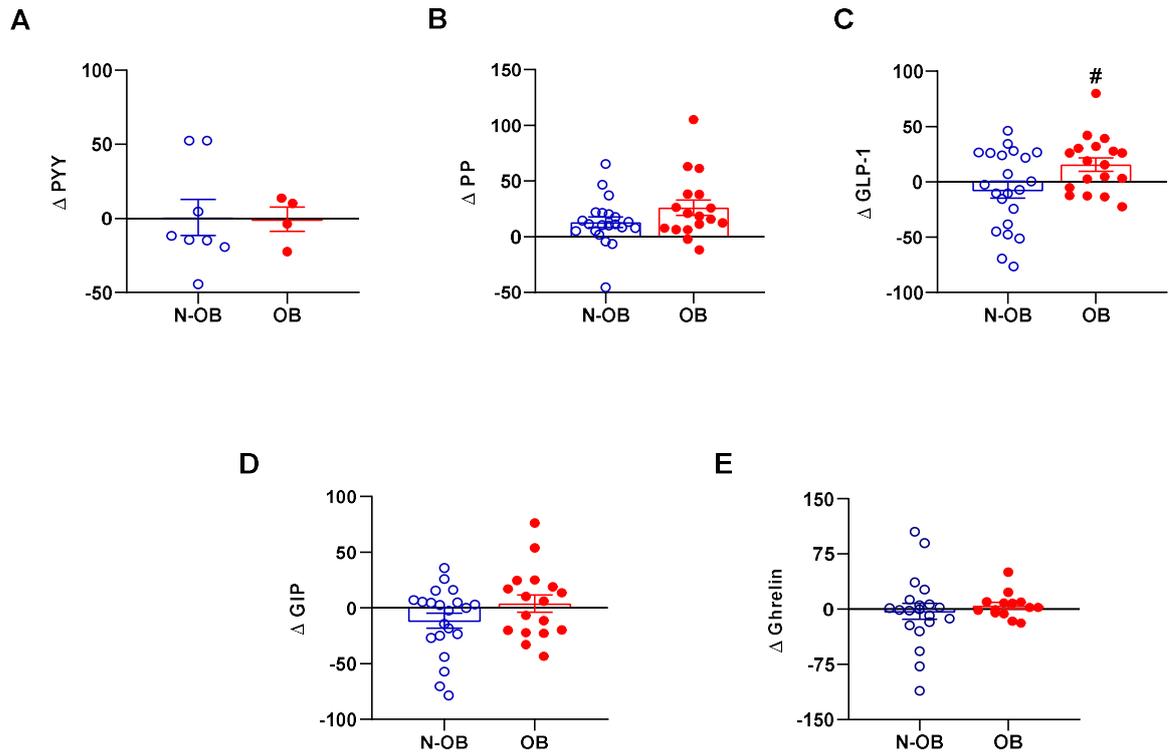


FIGURE 1 - Average variation ( $\Delta$ ) during fasting in the active period in women with and without obesity. (A)  $\Delta$  PYY; (B)  $\Delta$  PP; (C)  $\Delta$  GLP-1; (D)  $\Delta$  GIP; (E)  $\Delta$  Ghrelin. T1, time 1 - overnight fasting; T2, time 2 - daytime fasting. Note: Data expressed in blue and open circle, group without obesity (N-OB); red and filled circle, group with obesity (OB).  $\Delta$  data expressed as mean with 95% CI; \* $p < 0.05$ .

In the delta calculation, leptin (Figure 2A) and adiponectin (Figure 2B) also showed no significant difference between the groups.

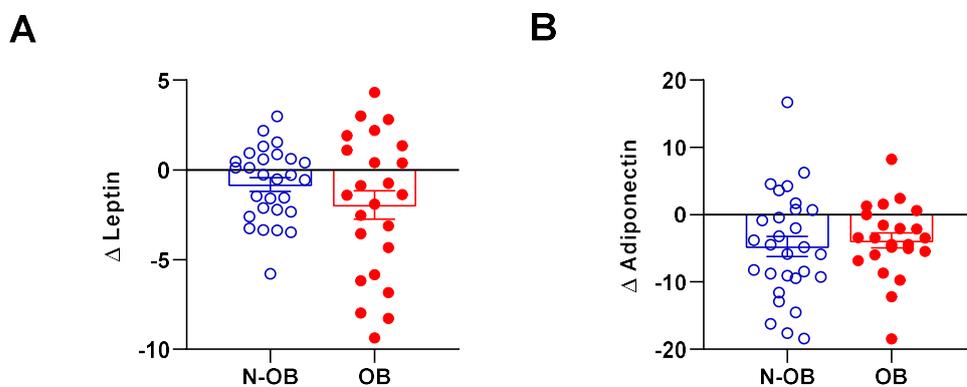


FIGURE 2 - Average variation ( $\Delta$ ) during fasting in the active period in women with and without obesity. (A)  $\Delta$  Leptin; (B)  $\Delta$  Adiponectin; T1, time 1 - overnight fasting; T2, time 2 - daytime fasting. Note: Data expressed in blue and open circle, group without obesity (N-OB); red and filled circle, group with obesity (OB).  $\Delta$  data expressed as mean with 95% CI.

No significant difference was found in the delta calculation of insulin between women with and without obesity (Figure 3A). Consequently, there was also no difference in the mean variation calculated by the delta in HOMA-IR (Figure 3B) and HOMA-BETA (Figure 3C).

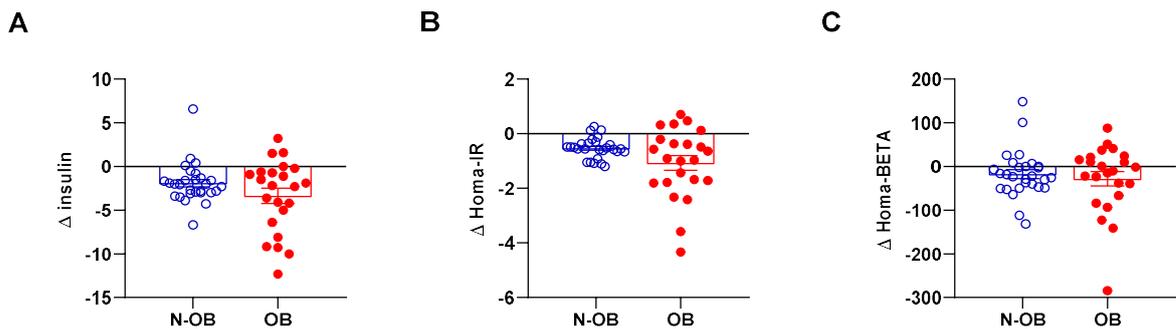


FIGURE 3 - Average variation ( $\Delta$ ) during fasting in the active period in women with and without obesity. (A)  $\Delta$  Insulin; (B)  $\Delta$  HOMA-IR; (C)  $\Delta$  HOMA-BETA; T1, time 1 - overnight fasting; T2, time 2 - daytime fasting. Note: Data expressed in blue and open circle, group without obesity (N-OB); red and filled circle, group with obesity (OB);  $\Delta$  data expressed as mean with 95% CI.

## DISCUSSION

Metabolic and physiological adaptations that occur during overnight fasting are already well-established<sup>45</sup>. However, dietary fasting routines are typically carried out in longer fasting windows compared to overnight fasting<sup>46,47</sup>. In this context, fasting coincides with daily activities<sup>45</sup>. Therefore, this study aimed to investigate the early effect of fasting during the active period on endocrine signals related to eating behavior in women with and without obesity. Our results show that 10-hour fasting during the active period improves insulin response, leading to a reduction in leptin and an increase in GLP-1 in women with obesity. It also promotes an increase in PP in both groups (with and without obesity) and does not alter ghrelin, PYY, and GIP.

With anorexigenic function, insulin, adipokines (leptin and adiponectin), and gastrointestinal peptides (PYY, PP, GIP, GLP-1) play a role in hunger and satiety control, along with the orexigenic peptide (ghrelin). Commonly, after overnight fasting, there is a decrease in

anorexigenic molecules and an increase in ghrelin secretion <sup>41,42,51, 54,73</sup>.

Following fasting during the period, no changes were found in ghrelin and PYY levels compared to overnight fasting. Ghrelin promotes hunger sensation <sup>41</sup>, while PYY has an anorexigenic function <sup>73</sup>. When assessing the same volunteers, our research group has previously observed changes in subjective appetite sensations and food consumption in both groups of women (with and without obesity) after diurnal fasting (TIBAES J. Unpublished data). Regarding the results found, it appears that the gastrointestinal peptides alone do not promote the sensation of hunger observed in these women. According to Parr and colleagues (2020), who evaluated overweight and obese men, they noticed that subjective appetite ratings were altered by changing meal timing <sup>47</sup>. Other studies also did not find changes in ghrelin with fasting protocols <sup>48,49,50</sup>. Hutchison et al. (2019) compared morning fasting (eating window between 08:00 and 17:00) with afternoon fasting (eating window between 12:00 and 21:00) in overweight or obese adults <sup>51</sup>. They found a reduction in ghrelin in the morning fasting group, reinforcing that the eating window can influence ghrelin concentrations with fasting protocols <sup>51</sup>. Contrary to our findings, other studies have reported a reduction in PYY after chronic fasting, suggesting that not consuming food during the day influences changes in PYY <sup>45,74</sup>.

In both groups (with and without obesity), after fasting during the active period, differences were found in the values of anorexigenic hormones PP and insulin. There was an increase in PP and a reduction in insulin and HOMA indexes (HOMA-IR and HOMA-BETA). We know that there is greater mobilization of glucose reserves during the active period, which justifies these results. To date, we have not found studies on PP with fasting, but Marco and colleagues (1978) evaluated PP secretion in response to changes in glucose and insulin <sup>52</sup>. Young and healthy men received oral glucose and insulin by intravenous infusion <sup>52</sup>. They concluded that experimental fluctuations in blood glucose inversely affected PP peptide secretion<sup>52</sup>. Similar to our results, several studies have demonstrated the beneficial effect of fasting in reducing insulin levels <sup>65,66,50,67,68,69</sup>. Insulin acts as a regulator of short- and long-term hunger and satiety signals <sup>71</sup>. During the postprandial period, it signals an orexigenic response,

increasing orexigenic signals<sup>72</sup>. The hunger sensation observed in our previous study with the same volunteers may be attributed to low glucose and insulin concentrations, which increase orexigenic signals.

When evaluating incretins, GLP-1 increased only in women with obesity, and there was no difference in GIP. However, GIP concentrations were higher in women with obesity after daytime fasting. The proper functioning of insulin favors the action of GLP-1<sup>70</sup>. Besides the reduction in insulin found in this study, we need to consider the interplay between the two incretins (GIP and GLP-1), as they work in harmony<sup>59</sup>. In pancreatic alpha cells, GIP is more effective in stimulating glucagon secretion when glucose concentrations are lower, while in pancreatic beta cells, GIP is more effective in stimulating insulin secretion when glucose concentrations are higher<sup>58</sup>. With daytime fasting, lower glucose levels are expected, favoring an increase in glucagon, especially in the state of obesity, which seems to justify the higher GIP concentrations in this group after the intervention. As GIP was higher, and insulin also decreased in women with obesity, this association may have contributed to the increase in GLP-1 in this population. Similar to our result, research with chronic fasting did not find changes in fasting GIP<sup>54,55,56,57</sup>.

Studies on fasting are controversial regarding GIP, with some finding an increase<sup>54,57</sup> and others showing no differences<sup>51</sup>. As for GLP-1, in addition to the study by Zouhal and colleagues (2020), which identified a reduction in GLP-1 in obese individuals during chronic fasting<sup>45</sup>, others have also found a reduction in GLP-1<sup>46,47</sup>.

When analyzing adipokines, only the group of women with obesity experienced a reduction in leptin levels after daytime fasting and had the highest leptin levels at both evaluated time points (T1 and T2) compared to women without obesity. Insulin is associated with the response of leptin, and the proper functioning of both molecules can be altered in obesity, leading to insulin and leptin resistance<sup>75,24,52</sup>. Similar to insulin, the reduction in leptin reflects an increase in orexigenic signals, contributing to increased hunger. The study's results appear to explain what our group had previously observed, noting a greater desire for food in the group

with obesity. Several fasting studies have also reported reductions in leptin concentrations<sup>48,52,53,74,76,77</sup>, while others did not find differences<sup>47,50</sup>.

The alteration in meal timing may have contributed to the reduced adiponectin levels in both groups because these changes disrupt the circadian rhythm and interfere with cortisol secretion, which can lead to a decrease in adiponectin<sup>82,83</sup>. Studies on Ramadan fasting and adiponectin have yielded conflicting results. Some have reported a decrease in adiponectin<sup>84,85</sup> or no significant changes<sup>79</sup>, while others have found increased values<sup>86,87</sup>.

## CONCLUSION

10-hour fasting during the active period decreases the anorectic hormones insulin and leptin, despite no changes in ghrelin and other gut-derived peptides. However, it increases PP and GLP-1; especially in women with obesity. Thus, diurnal fasting may rearrange an intricate network of endocrine signals that somehow may modulate homeostatic and hedonic eating behavior. Further studies are needed in order to analyze the long-lasting effect of longer fasting windows on gastrointestinal peptides, especially in the context of obesity.

## REFERENCES

1. Almoosawi S, Vingeliene S, Gachon F, et al. Chronotype: Implications for Epidemiologic Studies on Chrono-Nutrition and Cardiometabolic Health. *Advances in Nutrition*. 2019;10(1):30-42. doi:10.1093/advances/nmy070
2. Manoogian ENC, Chaix A, Panda S. When to Eat: The Importance of Eating Patterns in Health and Disease. *J Biol Rhythms*. 2019;34(6):579-581. doi:10.1177/0748730419892105
3. Kahleova H, Lloren JI, Mashchak A, Hill M, Fraser GE. Meal Frequency and Timing Are Associated with Changes in Body Mass Index in Adventist Health Study 2. *J Nutr*. 2017;147(9):1722-1728. doi:10.3945/jn.116.244749
4. Kanaley JA, Heden TD, Liu Y, Fairchild TJ. Alteration of postprandial glucose and insulin concentrations with meal frequency and composition. *British Journal of Nutrition*. 2014;112(9):1484-1493. doi:10.1017/S0007114514002128
5. Almoosawi S, Vingeliene S, Gachon F, et al. Chronotype: Implications for Epidemiologic Studies on Chrono-Nutrition and Cardiometabolic Health. *Advances in Nutrition*. 2019;10(1):30-42. doi:10.1093/advances/nmy070
6. Manoogian ENC, Chaix A, Panda S. When to Eat: The Importance of Eating Patterns in Health and Disease. *J Biol Rhythms*. 2019;34(6):579-581. doi:10.1177/0748730419892105
7. Stratton MT, Albracht-Schulte K, Harty PS, Siedler MR, Rodriguez C, Tinsley GM. Physiological responses to acute fasting: implications for intermittent fasting programs. *Nutr Rev*. 2022;80(3):439-452. doi:10.1093/nutrit/nuab094

8. Elsworth RL, Monge A, Perry R, et al. The Effect of Intermittent Fasting on Appetite: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Nutrients*. 2023;15(11). doi:10.3390/nu15112604
9. Potter C, Griggs RL, Brunstrom JM, Rogers PJ. Breaking the fast: Meal patterns and beliefs about healthy eating style are associated with adherence to intermittent fasting diets. *Appetite*. 2019;133:32-39. doi:10.1016/j.appet.2018.10.020
10. Parr EB, Devlin BL, Radford BE, Hawley JA. A Delayed Morning and Earlier Evening Time-Restricted Feeding Protocol for Improving Glycemic Control and Dietary Adherence in Men with Overweight/Obesity: A Randomized Controlled Trial. *Nutrients*. 2020;12(2). doi:10.3390/nu12020505
11. Seimon R V., Roekenes JA, Zibellini J, et al. Do intermittent diets provide physiological benefits over continuous diets for weight loss? A systematic review of clinical trials. *Mol Cell Endocrinol*. 2015;418:153-172. doi:10.1016/j.mce.2015.09.014
12. Hoddy KK, Marlatt KL, Çetinkaya H, Ravussin E. Intermittent Fasting and Metabolic Health: From Religious Fast to Time-Restricted Feeding. *Obesity*. 2020;28(S1). doi:10.1002/oby.22829
13. Browning JD, Baxter J, Satapati S, Burgess SC. The effect of short-term fasting on liver and skeletal muscle lipid, glucose, and energy metabolism in healthy women and men. *J Lipid Res*. 2012;53(3):577-586. doi:10.1194/jlr.P020867
14. Tinsley GM, Givan AH, Graybeal AJ, Villarreal MI, Cross AG.  $\beta$ -Hydroxy  $\beta$ -methylbutyrate free acid alters cortisol responses, but not myofibrillar proteolysis, during a 24-h fast. *British Journal of Nutrition*. 2018;119(5):517-526. doi:10.1017/S0007114517003907
15. Stratton MT, Albracht-Schulte K, Harty PS, Siedler MR, Rodriguez C, Tinsley GM. Physiological responses to acute fasting: implications for intermittent fasting programs. *Nutr Rev*. 2022;80(3):439-452. doi:10.1093/nutrit/nuab094
16. Vohra MS, Benchoula K, Serpell CJ, Hwa WE. AgRP/NPY and POMC neurons in the arcuate nucleus and their potential role in treatment of obesity. *Eur J Pharmacol*. 2022;915:174611. doi:10.1016/j.ejphar.2021.174611
17. Panda S. Circadian physiology of metabolism. *Science (1979)*. 2016;354(6315):1008-1015. doi:10.1126/science.aah4967
18. Kubota N, Yano W, Kubota T, et al. Adiponectin Stimulates AMP-Activated Protein Kinase in the Hypothalamus and Increases Food Intake. *Cell Metab*. 2007;6(1):55-68. doi:10.1016/j.cmet.2007.06.003
19. Degen L, Oesch S, Casanova M, et al. Effect of Peptide YY3–36 on Food Intake in Humans. *Gastroenterology*. 2005;129(5):1430-1436. doi:10.1053/j.gastro.2005.09.001
20. Asakawa A, Inui A, Yuzuriha H, et al. Characterization of the effects of pancreatic polypeptide in the regulation of energy balance. *Gastroenterology*. 2003;124(5):1325-1336. doi:10.1016/s0016-5085(03)00216-6
21. Nauck MA, Meier JJ. Incretin hormones: Their role in health and disease. *Diabetes Obes Metab*. 2018;20:5-21. doi:10.1111/dom.13129
22. Adriaenssens AE, Biggs EK, Darwish T, et al. Glucose-Dependent Insulinotropic Polypeptide Receptor-Expressing Cells in the Hypothalamus Regulate Food Intake. *Cell Metab*. 2019;30(5):987-996.e6. doi:10.1016/j.cmet.2019.07.013
23. Chia CW, Egan JM. Incretins in obesity and diabetes. *Ann N Y Acad Sci*. 2020;1461(1):104-126. doi:10.1111/nyas.14211
24. Banks WA, Owen JB, Erickson MA. Insulin in the brain: there and back again. *Pharmacol Ther*. 2012;136(1):82-93. doi:10.1016/j.pharmthera.2012.07.006
25. Ahima RS, Osei SY. Leptin signaling. *Physiol Behav*. 2004;81(2):223-241. doi:10.1016/j.physbeh.2004.02.014
26. Grosshans M, Vollmert C, Vollstädt-Klein S, et al. Association of leptin with food cue-induced activation in human reward pathways. *Arch Gen Psychiatry*. 2012;69(5):529-537. doi:10.1001/archgenpsychiatry.2011.1586
27. Perello M, Sakata I, Birnbaum S, et al. Ghrelin increases the rewarding value of high-fat diet in an orexin-dependent manner. *Biol Psychiatry*. 2010;67(9):880-886.

- doi:10.1016/j.biopsycho.2009.10.030
28. Skibicka KP, Hansson C, Egecioglu E, Dickson SL. Role of ghrelin in food reward: impact of ghrelin on sucrose self-administration and mesolimbic dopamine and acetylcholine receptor gene expression. *Addiction biology*. 2012;17(1):95-107. doi:10.1111/j.1369-1600.2010.00294.x
  29. Saad MF, Damani S, Gingerich RL, et al. Sexual Dimorphism in Plasma Leptin Concentration 1. *J Clin Endocrinol Metab*. 1997;82(2):579-584. doi:10.1210/jcem.82.2.3739
  30. Shan X, Yeo GSH. Central leptin and ghrelin signalling: comparing and contrasting their mechanisms of action in the brain. *Rev Endocr Metab Disord*. 2011;12(3):197-209. doi:10.1007/s11154-011-9171-7
  31. Myers MG, Leibel RL, Seeley RJ, Schwartz MW. Obesity and leptin resistance: distinguishing cause from effect. *Trends Endocrinol Metab*. 2010;21(11):643-651. doi:10.1016/j.tem.2010.08.002
  32. Sahu A. Resistance to the satiety action of leptin following chronic central leptin infusion is associated with the development of leptin resistance in neuropeptide Y neurones. *J Neuroendocrinol*. 2002;14(10):796-804. doi:10.1046/j.1365-2826.2002.00840.x
  33. Coope A, Milanski M, Araújo EP, et al. AdipoR1 mediates the anorexigenic and insulin/leptin-like actions of adiponectin in the hypothalamus. *FEBS Lett*. 2008;582(10):1471-1476. doi:10.1016/j.febslet.2008.03.037
  34. Kadowaki T, Yamauchi T. Adiponectin and Adiponectin Receptors. *Endocr Rev*. 2005;26(3):439-451. doi:10.1210/er.2005-0005
  35. Drolet R, Bélanger C, Fortier M, et al. Fat Depot-specific Impact of Visceral Obesity on Adipocyte Adiponectin Release in Women. *Obesity*. 2009;17(3):424-430. doi:10.1038/oby.2008.555
  36. Briggs DI, Andrews ZB. Metabolic status regulates ghrelin function on energy homeostasis. *Neuroendocrinology*. 2011;93(1):48-57. doi:10.1159/000322589
  37. Cummings DE, Foster-Schubert KE, Overduin J. Ghrelin and energy balance: focus on current controversies. *Curr Drug Targets*. 2005;6(2):153-169. doi:10.2174/1389450053174569
  38. Tschöp M, Smiley DL, Heiman ML. Ghrelin induces adiposity in rodents. *Nature*. 2000;407(6806):908-913. doi:10.1038/35038090
  39. Cummings DE, Weigle DS, Frayo RS, et al. Plasma ghrelin levels after diet-induced weight loss or gastric bypass surgery. *N Engl J Med*. 2002;346(21):1623-1630. doi:10.1056/NEJMoa012908
  40. Cummings DE, Purnell JQ, Frayo RS, Schmidova K, Wisse BE, Weigle DS. A preprandial rise in plasma ghrelin levels suggests a role in meal initiation in humans. *Diabetes*. 2001;50(8):1714-1719. doi:10.2337/diabetes.50.8.1714
  41. Aukan MI, Nymo S, Haagensli Ollestad K, et al. Differences in gastrointestinal hormones and appetite ratings among obesity classes. *Appetite*. 2022;171:105940. doi:10.1016/j.appet.2022.105940
  42. DeBenedictis JN, Nymo S, Ollestad KH, et al. Changes in the Homeostatic Appetite System After Weight Loss Reflect a Normalization Toward a Lower Body Weight. *J Clin Endocrinol Metab*. 2020;105(7):e2538-e2546. doi:10.1210/clinem/dgaa202
  43. Chumlea W, Guo S, Kuczmarski R, et al. Body composition estimates from NHANES III bioelectrical impedance data. *Int J Obes*. 2002;26(12):1596-1609. doi:10.1038/sj.ijo.0802167
  44. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and  $\beta$ -cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia*. 1985;28(7):412-419. doi:10.1007/BF00280883
  45. Zouhal H, Bagheri R, Triki R, et al. Effects of Ramadan Intermittent Fasting on Gut Hormones and Body Composition in Males with Obesity. *Int J Environ Res Public Health*. 2020;17(15):5600. doi:10.3390/ijerph17155600
  46. Ravussin E, Beyl RA, Poggiogalle E, Hsia DS, Peterson CM. Early Time-Restricted Feeding Reduces Appetite and Increases Fat Oxidation But Does Not Affect Energy Expenditure in Humans. *Obesity*. 2019;27(8):1244-1254. doi:10.1002/oby.22518

47. Hutchison AT, Regmi P, Manoogian ENC, et al. Time-Restricted Feeding Improves Glucose Tolerance in Men at Risk for Type 2 Diabetes: A Randomized Crossover Trial. *Obesity (Silver Spring)*. 2019;27(5):724-732. doi:10.1002/oby.22449