

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
INSTITUTO DE NUTRIÇÃO JOSUÉ DE CASTRO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO

**POLIMORFISMOS GENÉTICOS, MICROBIOTA INTESTINAL E
FRACIONAMENTO DA DIETA: UM ESTUDO CLÍNICO
RANDOMIZADO NA OBESIDADE**

Érika Duarte Ostemberg

RIO DE JANEIRO

2024

Érika Duarte Ostemberg

POLIMORFISMOS GENÉTICOS, MICROBIOTA INTESTINAL E
FRACIONAMENTO DA DIETA: UM ESTUDO CLÍNICO RANDOMIZADO
NA OBESIDADE

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em
Nutrição (PPGN) do Instituto de Nutrição Josué de Castro
da Universidade Federal do Rio de Janeiro como parte dos
requisitos necessários à obtenção do título de Doutora em
Ciências Nutricionais.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Eliane Lopes Rosado

Rio de Janeiro

Agosto, 2024

CIP - Catalogação na Publicação

D85p Duarte Ostemberg, Érika
POLIMORFISMOS GENÉTICOS, MICROBIOTA INTESTINAL E
FRACIONAMENTO DA DIETA: UM ESTUDO CLÍNICO
RANDOMIZADO NA OBESIDADE / Érika Duarte Ostemberg.
- Rio de Janeiro, 2024.
231 f.

Orientadora: Eliane Lopes Rosado.
Tese (doutorado) - Universidade Federal do Rio
de Janeiro, Instituto de Nutrição Josué de Castro,
Programa de Pós-Graduação em Nutrição Clínica, 2024.


1. Obesidade. 2. Fracionamento da dieta. 3.
Nutrigenética. 4. Microbiota intestinal. 5. Gasto
energético. I. Lopes Rosado, Eliane, orient. II.
Titulo.

POLIMORFISMOS GENÉTICOS, MICROBIOTA INTESTINAL E
FRACIONAMENTO DA DIETA: UM ESTUDO CLÍNICO RANDOMIZADO NA
OBESIDADE


Érika Duarte Ostemberg

TESE APRESENTADA AO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO (PPGN),
DO INSTITUTO DE NUTRIÇÃO JOSUÉ DE CASTRO DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO
RIO DE JANEIRO, COMO PARTE DOS REQUISITOS NECESSÁRIOS À OBTENÇÃO DO
TÍTULO DE **DOCTORA EM CIÊNCIAS NUTRICIONAIS**.


Examinadora por:

Documento assinado digitalmente
 **ELIANE LOPES ROSADO**
Data: 17/09/2024 19:29:06-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>


Dra. Eliane Lopes Rosado, Doutora em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, UFRJ- Orientadora

Documento assinado digitalmente
 **WILZA ARANTES FERREIRA PERES**
Data: 19/09/2024 20:13:39-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>


Dra. Wilza Arantes Ferreira Peres, Doutora em Ciências, UFRJ

Documento assinado digitalmente
 **ANNA PAOLA TRINDADE ROCHA PIERUCCI**
Data: 19/09/2024 11:51:52-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>


Dra. Anna Paola Pierucci, Doutora em Ciências dos Alimentos, UFRJ

Documento assinado digitalmente
 **ANA CAROLINA PROENÇA DA FONSECA**
Data: 18/09/2024 10:50:45-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dra. Ana Carolina Proença da Fonseca, Doutora em Biologia Celular e Molecular, FIOCRUZ

Documento assinado digitalmente
 **ALESSANDRA DA ROCHA PINHEIRO MULDER**
Data: 19/09/2024 10:37:05-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dra. Alessandra da Rocha Pinheiro Mulder, Doutora em Biologia Humana e Experimental, UERJ

Documento assinado digitalmente
 **MARCIA REGINA SIMAS TORRES KLEIN**
Data: 17/09/2024 23:00:22-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dra. Márcia Regina S. T. Klein, Doutora em Fisiopatologia Clínica e Experimental, UERJ

Rio de Janeiro

Agosto, 2024

AGRADECIMENTOS

A Deus por me fortalecer, levantar e dar forças para enfrentar os momentos mais difíceis desta jornada, enviando pessoas em meu auxílio para desatar os nós encontrados pelo caminho e alcançar meu objetivo.

À professora Dra. Eliane Rosado que me orienta com muita dedicação e carinho há tantos anos. Muito obrigada pelo ensino, apoio e conhecimentos transmitidos, não me esquecerei.

Ao meu esposo, Alisson Ostemberg pela parceria, apoio nos momentos mais difíceis, pelo amor, orações, carinho e paciência dedicados a mim nesta trajetória.

Aos meus pais Silas Grangeiro e Ruth Grangeiro, pelo carinho, incentivo, orações dedicadas e por serem o meu referencial.

À Anna Karolina Ribeiro, Joana Guimarães, Thaís Lima e Lorena Camará, por todo empenho e companheirismo, por serem grandes parceiras nesta jornada e nos momentos difíceis mostravam que nosso esforço seria recompensado.

Aos pesquisadores do Laboratório de Genética Humana da FIOCRUZ, por serem parceiros na realização deste estudo. Gostaria de agradecer em especial à Dra. Gabriella de Medeiros Abreu, que com todo carinho me orientou brilhantemente em todas as etapas da análise genética.

Ao laboratório de análises clínicas da faculdade de farmácia (LACFAR), pelo compromisso e parceria na coleta de dados realizados com excelência.

Ao laboratório de avaliação nutricional (LANUTRI), por contribuir e disponibilizar o espaço para as análises corporais, sendo imprescindível para a condução do estudo.

Ao laboratório de Imunofarmacologia do Instituto Oswaldo Cruz da FIOCRUZ, pela parceria nas análises dos hormônios deste estudo. Agradeço em especial à Lohanna Palhinha que me auxiliou em todas as análises.

Ao Dr. Marcelo Ribeiro-Alves por contribuir no desenvolvimento brilhante das análises estatísticas.

Agradecimento especial às participantes do nosso estudo pelo interesse e comprometimento, sem elas a conclusão deste trabalho não seria possível.

Às minhas colegas e amigas do Grupo de Pesquisa Nupenc, sou grata por cada uma.

“Porque o Senhor dá a sabedoria, e da sua boca vem o conhecimento e o entendimento. Ele reserva a verdadeira sabedoria para os retos; escudo é para os que caminham na sinceridade”

Provérbios 1.6-7

RESUMO

Ostemberg, Érika Duarte. POLIMORFISMOS GENÉTICOS, MICROBIOTA INTESTINAL E FRACIONAMENTO DA DIETA: UM ESTUDO CLÍNICO RANDOMIZADO NA OBESIDADE. Rio de Janeiro, 2024. Tese (Doutorado em Ciências Nutricionais) - Instituto de Nutrição Josué de Castro, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2024.

Introdução: A abordagem dietética é essencial no tratamento da obesidade e é questionada a influência do fracionamento da dieta (FD) como estratégia nutricional. Além disso, são citados polimorfismos genéticos que podem interferir na resposta a determinadas intervenções dietéticas e não há, até o momento, investigação desta interação com dieta hipocalórica com diferentes FD.

Objetivo: Investigar a interação dos polimorfismos nos genes *FTO* (rs9939609), *MC4R* (rs17782313), *CLOCK* (rs1801260), *GHSR* (rs27647), *GHRL* (rs696217), *LEP* (rs7799039), *LEPR* (rs1137101), *RETN* (rs1862513) e *ADIPOQ* (rs182052) com o FD de um plano alimentar hipocalórico em indicadores antropométricos e metabólicos, secreção hormonal e microbiota intestinal (MI) na obesidade. **Métodos:** Ensaio clínico randomizado, paralelo, incluindo 95 mulheres com obesidade, que receberam plano alimentar hipocalórico composto por três (FD3) ou seis (FD6) refeições por dia. A genotipagem foi feita por amostra de sangue (PCR em tempo real), bem como foram avaliados os indicadores dietéticos, laboratoriais, antropométricos e de composição corporal (bioimpedância elétrica), taxa metabólica de repouso (TMR, pela calorimetria indireta) e da MI (sequenciamento do 16S rRNA regiões V3/V4) antes e após 90 dias da intervenção. **Resultados:** Verificou-se redução do índice de massa corporal (IMC) e perímetro da cintura (PC) nos dois grupos, porém o FD6 apresentou o menor PC comparado ao FD3. Não houve diferença significativa entre os grupos nos indicadores laboratoriais antes e após o período de intervenção. No entanto, o FD6 apresentou redução na insulina, sem diferença entre os grupos. As mulheres do grupo FD3 com o polimorfismo no gene *LEP* aumentaram a TMR enquanto a redução foi vista naquelas sem a variante. No grupo FD6, as mulheres com polimorfismo no gene *GHRL*, reduziram a grelina, em comparação com as sem a variante. No mesmo grupo, mulheres com polimorfismo no *GHSR* mostraram redução da grelina, enquanto o aumento na concentração do hormônio foi verificado em mulheres sem o variante. A presença deste polimorfismo no FD6 levou à redução na grelina, comparadas com o FD3. Não houve diferença significativa nos indicadores da MI antes e após a intervenção entre os grupos. **Conclusão:** O plano alimentar moderadamente hipocalórico com diferentes fracionamentos promoveu redução da massa corporal de forma semelhante, porém, ingerir seis refeições por dia proporcionou benefícios na redução do PC e da insulina. No que tange a nutrigenética, de forma inovadora apontamos que as

portadoras do polimorfismo no gene *LEP* consumindo três refeições por dia aumentaram a TMR. Ao consumir seis refeições por dia, as mulheres com polimorfismo no *GHRL* e *GHSR* mostraram redução da grelina ativa. No entanto, a presença dos alelos de risco para os polimorfismos não interferiram nos resultados antropométricos. O FD não alterou a MI.

Palavras-chave: obesidade; fracionamento da dieta; gasto energético; polimorfismos genéticos; microbiota intestinal, nutrigenética.

ABSTRACT

Ostemberg, Érika Duarte. POLIMORFISMOS GENÉTICOS, MICROBIOTA INTESTINAL E FRACIONAMENTO DA DIETA: UM ESTUDO CLÍNICO RANDOMIZADO NA OBESIDADE. Rio de Janeiro, 2024. Tese (Doutorado em Ciências Nutricionais) - Instituto de Nutrição Josué de Castro, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2024.

Introduction: Dietary approach is a fundamental component of obesity treatment. However, the efficacy of meal frequency (MF) as a nutritional strategy has been called into question. Additionally, genetic polymorphisms have been identified that can influence the response to specific dietary interventions. Nevertheless, there has been no investigation into this interaction with hypocaloric diets that employ different MF. **Objective:** To investigate the interaction of polymorphisms in the *FTO* (rs9939609), *MC4R* (rs17782313), *CLOCK* (rs1801260), *GHSR* (rs27647), *GHRL* (rs696217), *LEP* (rs7799039), *LEPR* (rs1137101), *RETN* (rs1862513) and *ADIPOQ* (rs182052) genes and the MF of a hypocaloric diet on anthropometric, metabolic indicators, hormone secretion and gut microbiota (GM) in obesity. **Methods:** This is a randomized, parallel clinical trial design, enrolling 95 women with obesity. The intervention group received a hypocaloric diet consisting of three (MF3) or six (MF6) meals per day. Genetic assessments were conducted using blood samples (real-time PCR). In addition to dietary, laboratory, anthropometric, and body composition indicators (electrical bioimpedance), resting metabolic rate (RMR) by indirect calorimetry and GM (16S rRNA regions V3/V4) were assessed before and after 90 days of dietary intervention. **Results:** There was a reduction in body mass index (BMI) and waist circumference (WC) in MF3 and MF6; MF6 had the lowest WC compared to MF3. There was no significant difference between the groups in laboratory indicators before and after the intervention period. However, MF6 showed a reduction in insulin after the intervention. After the intervention, the women in the MF3 group with the *LEP* gene polymorphism increased their BMR, while those without this variant decreased it. Women with the *GHRL* gene polymorphism, group MF6, had reduced ghrelin compared to those without the variant. Those with the *GHSR* polymorphism in MF6 showed a reduction in ghrelin, while those without increased it. The presence of this polymorphism in MF6 led to a reduction in ghrelin compared to MF3. There was no significant difference in the richness and diversity of the GM before and after the intervention between the groups. **Conclusion:** The moderately hypocaloric diet plan with different fractions resulted in a comparable reduction in body mass and visceral fat. However, eating six meals a day was associated with benefits in reducing WC and insulin. With

regard to nutrigenetics, our pioneering research revealed that individuals carrying the *LEP* gene polymorphism who ate three meals a day exhibited an increase in their BMR. When eating six meals a day, carriers of the *GHRL* and *GHSR* risk alleles demonstrated a reduction in ghrelin. Nevertheless, the presence of the risk alleles for the polymorphisms did not affect the anthropometric results. Furthermore, modifying the MF did not alter GM.

Keywords: obesity; meal frequency; energy expenditure; genetics polymorphisms, gut microbiota, nutrigenetics.

LISTA DE FIGURAS, TABELAS E QUADRO

Figura 1. Regulação do apetite pela leptina no núcleo arqueado do hipotalâmico.....	32
Figura 2. Localização genômica da variante <i>FTO</i>	43
Figura 3. Localização genômica da variante <i>MC4R</i>	45
Figura 4. Localização genômica da variante <i>CLOCK</i>	47
Figura 5. Localização genômica da variante <i>GHRL</i>	48
Figura 6. Localização genômica da variante <i>GHRH</i>	49
Figura 7. Localização genômica da variante <i>LEP</i>	50
Figura 8. Localização genômica da variante <i>LEPR</i>	51
Figura 9. Localização genômica da variante <i>RETN</i>	52
Figura 10. Localização genômica da variante <i>ADIPOQ</i>	54
Figura 11. Esquema geral representativo do estudo.....	58
Quadro 1: Descrição dos polimorfismos genéticos do estudo.....	54
Quadro 2: Distribuição de macronutrientes do plano alimentar prescrito (3 e 6 refeições/dia).....	60
Quadro 3: Métodos utilizados para as análises laboratoriais.....	64

Manuscrito 1: *The interaction between genetic polymorphisms in FTO, MC4R, CLOCK, GHSR, GHRL, LEP, LEPR, RETN and ADIPOQ genes with meal frequency on anthropometric, metabolic and hormonal indicators: a randomized nutrigenetic trial*

Figure 1. Study design.....	88
Figure 2. Flow-diagram of participants of the study.....	89
Figure 3. Distribution of individuals who carry and do not carry the risk alleles in the MF3 and MF6 groups.....	90
Table 1. Baseline characteristics of the study, stratified by the MF6 and MF3 groups (median (interquartile range-IQR)).....	91
Table 2. Genotype and allele frequency in women with obesity among the groups.....	92
Table 3. Comparison of the percentage of self-reported adherence to the diet during the intervention for the two groups (median (CI 95%)).....	93
Table 4. Estimated marginal means of food intake before and after dietary prescription by group (estimated marginal mean (CI 95%)).....	94
Table 5. Estimated marginal means of anthropometric indicators before and after dietary prescription by group (estimated marginal mean (CI 95%)).....	95
Table 6. Estimated marginal means of laboratory indicators before and after dietary prescription by group (estimated marginal mean (CI 95%)).....	96
Supplemental Table 1: The caloric value and macronutrient distribution across each eating occasion of daily menu for each treatment.....	97
Supplemental Table 2: Comparison of the difference of the estimated marginal means (T90-T0) of the dietary, hormones, anthropometric, and energy expenditure indicators between woman carries and no-carries of the rs1862513, rs182052, rs1137101, rs7799039, rs696217, rs572169, rs17782313, rs1801260 and rs9939609 polymorphisms before and after dietary prescription by group and within groups (difference in estimated marginal means (95% CI)).....	99

Manuscrito 2: *Impact of a Moderately hypocaloric diet with different meal frequency on alpha-diversity of gut microbiota in obesity: a brief communication*

Table 1: Comparison of anthropometric, laboratory and dietary indicators before and after dietary prescription by group and within groups (median (interquartile range - IQR))..... 123

Figure 1. *Alpha-diversity of phylum and genus variation by MF3 and MF6 groups (before (T0) and after (T90) intervention)*..... 125

Manuscrito 3: *CLOCK Gene Polymorphism rs1801260 and Obesity: Influence on Breakfast Consumption, Total Energy Intake, Physical Activity Level, and Gut Microbiota*

Table 1. Frequency of *CLOCK* rs1801260 genotypes and alleles in Brazilian women with obesity..... 153

Table 2. Baseline characteristics of our study, stratified by *CLOCK* rs1801260 genotypes (median (interquartile range-IQR))..... 154

Table 3. Comparison of the *alpha*-diversity across genotypes (estimated marginal mean (CI 95%))..... 155

Figure 1. Genotype distribution of *CLOCK* variant between classes of obesity and breakfast eating. Bar graphs depict showing genotype distribution according to the A) class of obesity and B) breakfast and non-breakfast eaters..... 153

Figure 2. Proportion of bacteria according to taxonomic level in individuals carrying and not carrying the *CLOCK* polymorphism..... 157

Supplementary Table 1. Comparison of the bacterial count at different taxonomic levels among the rs1801260 polymorphism genotypes (estimated marginal mean (CI 95%))..... 159

LISTA DE ANEXOS

- ANEXO 1:** Aprovação do comitê de ética em pesquisa.
- ANEXO 2:** Termo de consentimento livre e esclarecido.
- ANEXO 3:** Questionário de elegibilidade.
- ANEXO 4:** Questionário para coleta de dados gerais.
- ANEXO 5:** Avaliação nas reconsultas.
- ANEXO 6:** Lista de substituição de alimentos.
- ANEXO 7:** Orientações nutricionais.
- ANEXO 8:** Registro dietético de três dias.
- ANEXO 9:** Registro dietético periódico.
- ANEXO 10:** *Checklist* do Registro Alimentar de 3 dias e dos periódicos.
- ANEXO 11:** Questionário Internacional de Atividade Física.
- ANEXO 12:** Escala de compulsão alimentar periódica.
- ANEXO 13:** Protocolo para avaliação antropométrica.
- ANEXO 14:** Protocolo para avaliação da composição corporal.
- ANEXO 15:** Protocolo para avaliação do gasto energético.
- ANEXO 16:** Protocolo para o preparo do inibidor de protease, pefabloc.
- ANEXO 17:** Coleta de amostra de fezes.

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

- ABESO - Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica
- ACT - Água corporal total
- ADIPOQ - Gene da adiponectina (*Adiponectin*)
- AGCC - Ácidos graxos de cadeia curta
- AGCR - Ácidos graxos de cadeia ramificada
- AGL - Ácido graxo livre
- AGMI - Ácido graxo monoinsaturado
- AGPI - Ácido graxo poli-insaturado
- AGS - Ácido graxo saturado
- AHA- *American Heart Association*
- ANOVA - Análise de variância
- BE - Balanço energético
- BIA - Bioimpedância elétrica
- CAP - Compulsão alimentar periódica
- CEP - Comitê de Ética em Pesquisa
- CI - Calorimetria indireta
- CONSORT - *Consolidated Standards of Reporting Trials*
- CT - Colesterol total
- DEXA- Absorciometria radiológica de dupla energia (*dual-energy x-ray absorptiometry*)
- DM2 – Diabetes mellitus tipo 2
- DNA - Ácido desoxirribonucleico (*deoxyribonucleic acid*)
- ECAP - Escala de compulsão alimentar periódica
- ELISA - Enzyme-linked Immunosorbent Assay
- ETA - Efeito térmico do alimento
- FD – Fracionamento da dieta
- FTO - Massa de gordura e obesidade associadas (*fat mass and obesity associated*)
- FD6 - Fracionamento da dieta em seis OA por dia
- FD3 - Fracionamento da dieta em três OA por dia
- GE - Gasto energético
- GED - Gasto energético diário

GHRL – Gene da grelina (*ghrelin*)
GHSR - Receptor do hormônio do crescimento-secretagogo (*growth hormone secretagogue receptor*)
GWAS - Estudos de associação ampla do genoma (*Genome Wide Association Studies*)
HAS - Hipertensão arterial sistêmica
HDL-c - Lipoproteína de alta densidade colesterol
HOMA-IR - *Homeostasis Model Assessment - Insulin Resistance*
HUCFF - Hospital Universitário Clementino Fraga Filho
IMC - Índice de massa corporal
INJC - Instituto de Nutrição Josué de Castro
IOM - *Institute of Medicine*
IPAQ - Questionário internacional de atividade física
LACFAR - Laboratório de Análises Clínicas da Faculdade de Farmácia
LANUTRI - Laboratório de Avaliação Nutricional
LEP - Gene da leptina (*Leptin*)
LEPR - Gene do receptor da leptina (*Leptin receptor*)
LDL-c - Lipoproteína de baixa densidade colesterol
MC4R - Receptor da Melanocortina-4 (*Melanocortin-4 receptor*)
MCT - massa corporal total
MGC - Massa gorda corporal
MLG - Massa livre de gordura
MM - massa magra
OA - Ocasão alimentar
PC - Perímetro da cintura
QR - Quociente respiratório
REBEC- Registro brasileiro de ensaio clínico
RETN - Gene da resistina (*Resistin*)
RI - Resistência à insulina
RNA - Ácido ribonucleico (*ribonucleic acid*)
rRNA - Ácido ribonucleico ribossômico (*ribosomal ribonucleic acid*)
SI - Sensibilidade à insulina
SNP - Polimorfismo de um único nucleotídeo (*single nucleotide polymorphisms*)

TACO - Tabela Brasileira de Composição de Alimentos

TAV - Tecido adiposo visceral

TCLE - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TG - Triglicerídeos

TMB - Taxa metabólica basal

TMR - Taxa metabólica de repouso

UFRJ - Universidade federal do Rio de Janeiro

VCO₂ - Volume de gás carbônico

VENTA - Valor energético do tecido adiposo

VET - Valor energético total

VIGITEL - Vigilância de Riscos e Fatores de Proteção para Pesquisa de Doenças Crônicas

VLDL-c - Lipoproteína de muito baixa densidade colesterol

VO₂ - Volume de oxigênio

WHO - World Health Organization

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	16
2. REFERENCIAL TEÓRICO.....	19
2.1 Obesidade: prevalência, definição, diagnóstico e tratamento em adultos.....	19
2.1.1 <i>Prevalência da obesidade</i>	19
2.1.2 <i>Definição de obesidade</i>	20
2.1.3 <i>Diagnóstico da obesidade</i>	20
2.1.4 <i>Tratamento da obesidade</i>	22
2.2 Tratamento dietético e a influência do fracionamento da dieta na obesidade.....	22
2.3 Grelina, leptina e adiponectina na obesidade.....	28
2.3.1 <i>Grelina</i>	28
2.3.2 <i>Leptina</i>	31
2.3.3 <i>Adiponectina</i>	33
2.4 Gasto energético na obesidade.....	34
2.5 Microbiota intestinal, obesidade e ocasiões alimentares.....	37
2.6 Polimorfismo de um único nucleotídeo.....	41
2.6.1 Polimorfismo no gene <i>FTO</i>	43
2.6.2 Polimorfismo no gene <i>MC4R</i>	44
2.6.3 Polimorfismo no gene <i>CLOCK</i>	46
2.6.4 Polimorfismo nos genes <i>GHRL</i> e <i>GHSR</i>	48
2.6.5 Polimorfismos nos genes <i>LEP</i> e <i>LEPR</i>	50
2.6.6 Polimorfismos nos genes <i>RETN</i> e <i>ADIPOQ</i>	52
3. JUSTIFICATIVA.....	55
4. OBJETIVOS.....	56
4.1 Objetivo geral.....	56
4.2 Objetivos específicos.....	56
5 MATERIAL E MÉTODOS.....	57

5.1 Considerações éticas e elegibilidade.....	57
5.2 Desenho do estudo.....	58
5.3 Intervenção dietética.....	59
5.4 Avaliação dietética, atividades físicas habituais e comportamento alimentar.....	60
5.5 Avaliação antropométrica e da composição corporal.....	61
5.6 Avaliação do GE.....	62
5.7 Avaliação laboratorial.....	63
5.8 Análise da MI.....	64
5.9 Genotipagem.....	65
5.10 Análises estatísticas.....	66
6 RESULTADOS.....	67
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	160
REFERÊNCIAS.....	162
ANEXOS.....	193

1 Introdução

A obesidade é uma doença crônica, multifatorial, complexa e de grande preocupação para a saúde pública, dada a sua crescente prevalência e contribuição para o risco de morbimortalidade (WHO, 1998; PI-SUNYER, 2002; WHO, 2016; HALES *et al.*, 2020). O tratamento desta enfermidade deve ser multiprofissional, consistindo em reduzir a gordura corporal excessiva e instituindo outras medidas para controlar os fatores de riscos associados (ABESO, 2016; ELSAYED, *et al.*, 2023). No que tange ao tratamento dietético, o objetivo é alcançar o estado de balanço energético negativo, por meio da diminuição do consumo alimentar, uma vez que a perda de peso de 3% a 5% do peso corporal total, tem a capacidade de produzir alterações clinicamente relevantes (ABESO, 2016; 2022; RAYNOR; CHAMPAGNE, 2016; ELSAYED, *et al.*, 2023).

Além do ambiente poder propiciar o consumo excessivo, o comportamento alimentar e a resposta individual a um determinado tratamento dietético pode ser influenciado por polimorfismos genéticos, afetando o peso corporal e a qualidade de vida (RAMOS-LOPEZ *et al.*, 2020; SALIBA *et al.*, 2014). São descritos e identificados vários genes e variantes específicas que se relacionam com a obesidade, dentre eles o *FTO* - *Fat Mass and Obesity*, rs9939609; *MC4R* - *Melanocortin 4 Receptor*, rs17782313; *CLOCK* - *Circadian Locomotor Output Cycles Kaput*, rs1801260; *GHSR* - *Growth Hormone Secretagogue Receptor*, rs27647; *GHRL* - *Ghrelin*, rs696217; *LEP* - *Leptin*, rs7799039; *LEPR* - *Leptin Receptor*, rs1137101; *RETN* - *Resistin*, rs1862513; e *ADIPOQ* - *Adiponectin*, rs182052. Estes genes codificam proteínas envolvidas no balanço energético por meio da regulação do consumo alimentar, e alterações nas suas funções podem comprometer o processamento da saciedade no sistema nervoso central (SPEAKMAN, 2015; DA FONSECA *et al.*, 2017; JOATAR *et al.*, 2017; ZAYANI *et al.*, 2017; BALDINI; PHELAN, 2019; DUAN *et al.*, 2020; BECER; ERGOREN, 2021; RAHATI, 2022; SUPTI *et al.*, 2024).

A presença dos polimorfismos no *FTO* (rs9939609), *LEP* (rs7799039), *LEPR* (rs1137101), *ADIPOQ* (rs182052), e *MC4R* (rs17782313) podem ocasionar maior ingestão calórica e lipídios totais, comportamentos alimentares inadequados como o consumo elevado de doces e industrializados, a ingestão de grandes porções de alimentos e o aumento no desejo de comer (CROVESY; ROSADO, 2019; CUI *et al.*, 2020; MAGNO *et al.*, 2021; OLMEDO *et al.*, 2024). Da mesma forma, com as variantes do gene *GHSR* (rs27647) e *GHRL* (rs696217), estudos apontam a possível elevação na secreção do hormônio orexígeno grelina, podendo aumentar o consumo alimentar e o peso corporal (GUEORGUIEV *et al.*, 2009; YADEGARI *et al.*, 2022). O mesmo pode acontecer com a variante do gene *CLOCK* (rs1801260) uma vez que tem sido associada ao aumento da ingestão calórica e alteração na duração do sono, levando a maiores

valores de peso corporal (VALLADARES *et al.*, 2015). Neste contexto, é possível compreender que os polimorfismos supracitados possam influenciar a resposta individual na adesão a estratégias nutricionais a fim de reduzir o peso corporal, por exemplo.

Ensaio clínico incluindo mulheres brasileiras com obesidade submetidas à dieta hipocalórica para redução do peso corporal, mostrou que a presença do polimorfismo do gene *GHRL* (rs696217) não alterou a resposta à dieta hipocalórica e o emagrecimento (SALIBA *et al.*, 2014). Já um estudo multicêntrico conduzido na Espanha incluindo adultos com sobrepeso e obesidade, sendo 82% mulheres que pertenciam ao programa de perda de peso baseado nos princípios da dieta mediterrânea, mostrou que a variante no gene *CLOCK* (rs1801260) teve efeito na resistência à perda de peso (GARAULET *et al.*, 2012). Outro estudo com obesidade apontou que a variante do *FTO* (rs9939609) modificou a perda de peso após uma dieta hipocalórica de substituição parcial de refeição, o que corroborou com uma meta-análise, na qual sugere que os indivíduos portadores do alelo homozigoto deste gene podem perder mais peso por meio de intervenções dietéticas comparados aos não portadores (XIANG *et al.*, 2016; DE LUIS *et al.*, 2020). Da mesma forma, existe relato de que os polimorfismos nos genes da *LEP* (rs7799039) e *RETN* (rs1862513), não levaram a modificações na perda de peso após a ingestão de dieta hipocalórica (DE LUIS *et al.*, 2016; PRIMO *et al.*, 2021). Contudo, os estudos de intervenção com obesidade apontando a influência da genética na adesão dietética ainda são poucos e não há um consenso, principalmente ao analisar a população brasileira.

Ao analisarmos o tratamento dietético na obesidade, os dados sugerem que a qualidade, quantidade e o tempo de ingestão de alimentos são estratégias estabelecidas na literatura empregadas no emagrecimento, porém, pesquisas apontam incertezas quanto ao melhor número de ocasiões alimentares (OA) por dia, ou seja, qual o ideal fracionamento da dieta (FD) como tática para perda e manutenção de peso corporal (TIMLIN; PEREIRA, 2007; CHAN; WOO, 2010; USDA, 2010; GARAULET *et al.*, 2013; JENSEN *et al.*, 2014; HUTCHISON; HEILBRONN, 2016; ALKHULAIFI & DARKO, 2022). É comum na cultura ocidental a realização de três grandes refeições por dia, o desjejum, almoço e jantar. Muitas vezes o profissional nutricionista sugere a inclusão de duas pequenas refeições (manhã e tarde) objetivando o melhor controle do apetite, contudo, ainda não há consenso na literatura a respeito do impacto do FD na saúde e no apetite (KULOVITZ *et al.*, 2014; CANUTO *et al.*, 2017; PAOLI *et al.*, 2019). Atualmente, estudo de intervenção sugere que ao contrário dos estudos epidemiológicos, reduzir o FD (total de grandes e pequenas refeições) por dia pode acarretar benefícios para a saúde e controle do peso corporal, entretanto, de forma geral, os estudos são

inconclusivos quanto ao ideal FD por dia a serem prescritos (HUTCHISON; HEILBRONN, 2016b; SCHWINGSHACKL *et al.*, 2020).

A relação entre diferentes FD e indicadores antropométricos é apontada em trabalhos mostrando que o aumento (maior do que três OA/dia) não promove maior perda de peso, em indivíduos com obesidade submetidos a um plano alimentar hipocalórico (CAMERON; CYR; DOUCET, 2010; VARADY, 2016; MEGSON; WING; LEAHEY, 2017). Com relação ao perfil lipídico, resultados indicam incertezas na literatura acerca do FD ideal, uma vez que a redução (menor do que três OA/dia) pode mostrar perfis lipídicos mais favoráveis em indivíduos com obesidade e normolipêmicos. Em contrapartida, é visto em outros estudos que o perfil dos lipídios e fatores glicorregulatórios (glicemia de jejum, insulina e sensibilidade à insulina) não são afetados por alterações no FD, sugerindo que mais investigações sejam necessárias (KULOVITZ *et al.*, 2014; VARADY, 2016). Além disso, pouco se sabe sobre a ação dos hormônios associados à fome e saciedade em relação à FD, contudo, é relatado que menor FD de um plano alimentar hipocalórico pode ter efeito na melhor resposta pós-prandial da grelina ativa (CUMMINGS *et al.*, 2002; BELINOVA *et al.*, 2017).

Sabe-se que o gasto energético (GE) em humanos é determinado pela composição corporal, fatores ambientais e comportamentais (PONTZER, 2015; WESTERTEP, 2017). Questiona-se que o consumo de mais OA por dia (maior do que três), possa resultar em menor peso corporal por aumentar o efeito térmico dos alimentos (ETA) e a oxidação de lipídios (SMEETS; WESTERTEP-PLANTENGA, 2008). Estudo que comparou o FD de três a cinco com duas refeições (café da manhã e jantar), não observou diferença na massa corporal, assim como no GE de vinte e quatro horas, em mulheres com obesidade que receberam um plano alimentar hipocalórico, por quatro semanas. No entanto, são escassos os estudos com FD e GE em indivíduos com obesidade (VERBOEKET-VAN DE VENNE; WESTERTEP, 1993).

É descrita na literatura a possível associação entre a FD e o tempo da refeição na colonização da microbiota intestinal (MI) (HILDEBRANDT *et al.*, 2009). Os microrganismos presentes no trato gastrointestinal são responsáveis por diversas atividades metabólicas importantes para o organismo do hospedeiro e os filos mais citados são os *Firmicutes* (*Bacillota*), *Bacteroidetes* (*Bacteroidota*) e *Actinobacteria* (*Actinomycetota*) (BÄCKHED *et al.*, 2004; ECKBURG *et al.*, 2005; LAY *et al.*, 2005; LAY; DORÉ; RIGOTTIER-GOIS, 2007; HILDEBRANDT *et al.*, 2009). Reduzir a FD (menor número de OA por dia), aumentando o período de jejum entre as OA, poderia afetar a composição da MI de forma benéfica para o hospedeiro, reduzindo a permeabilidade intestinal e modulando a inflamação sistêmica de baixo

grau, porém, são necessários mais estudos para explorar adequadamente a conexão entre a MI em humanos e a FD (PAOLI *et al.*, 2019; VOIGT *et al.*, 2014).

Há escassez de estudos controlados que avaliam os efeitos das dietas hipocalóricas, no peso e nos marcadores metabólicos entre portadores ou não de polimorfismos em indivíduos com obesidade. Além disso, até o momento, não existe estudo avaliando a interação de polimorfismos dos genes *FTO* (rs9939609), *MC4R* (rs17782313), *CLOCK* (rs1801260), *GHSR* (rs27647), *GHRL* (rs696217), *LEP* (rs7799039), *LEPR* (rs1137101), *RETN* (rs1862513), *ADIPOQ* (rs182052) com um plano alimentar hipocalórico com diferentes FD e o impacto no metabolismo humano. Ademais, a quantidade e qualidade dos alimentos são aspectos importantes da nutrição humana, assim como o FD e o horário das refeições. Todavia, ainda nos faltam subsídios para defender tanto o aumento quanto a redução do FD para diminuição do peso corporal em indivíduos com obesidade, sabendo que os dados são controversos na literatura (PALMER; CAPRA; BAINES, 2009; RAYNOR *et al.*, 2015).

2 Referencial teórico

2.1 Obesidade: prevalência, definição, diagnóstico e tratamento em adultos

2.2.1 Prevalência da obesidade

A prevalência da obesidade tem apresentado um contínuo crescimento mundial e a *World Obesity Federation* (2024) traz a estimativa global para adultos no ano de 2020, sendo 0,81 bilhão de casos, com a projeção de aumento para 1,01 bilhão em 2025 e 1,53 bilhão em 2035. No ano de 2022, 890 milhões de indivíduos adultos tinham o diagnóstico de obesidade, correspondendo a 16% da população, trazendo impacto econômico significativo (WHO, 2024; OKUNOGBE *et al.*, 2022). Nos Estados Unidos da América, em 2017-2018, o percentual de adultos com obesidade foi de 42,4%, valor em ascensão comparado com a década de noventa, sem diferença significativa entre homens e mulheres (HALES *et al.*, 2020).

No Brasil, a pesquisa de Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico, demonstrou que ocorreu o aumento nos casos de obesidade nos últimos quinze anos, passando de 11,8% em 2006 para 19,8% em 2018, 20,3% em 2019, 21,5% em 2020, 22,4% em 2021 e 24,3% em 2023, semelhante entre as mulheres (24,8%) e os homens (23,8%), (BRASIL, 2018-2023). Segundo dados do Programa Nacional de Saúde divulgados pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, as mulheres (29,5%) tendem ao maior percentual de obesidade, comparadas com os homens (21,8%) (IBGE, 2019). O Sistema de Vigilância Alimentar e Nutricional do Ministério da Saúde, aponta que 21,91% de indivíduos adultos

brasileiros de ambos os sexos possuem obesidade classe I, 9% classe II e 4,78% classe III, em 2024 (BRASIL, 2024). É importante salientar que o manejo no tratamento desta doença gera gastos consideráveis para o Sistema Único de Saúde no Brasil (OLIVEIRA, 2013; NILSON *et al.*, 2020). Ferrari *et al.* (2022) apontam que anualmente são gastos US\$ 654 milhões em custos diretos de assistência médica relacionadas a doenças crônicas atribuídas ao sobrepeso e obesidade, com maiores valores gastos em mulheres do que em homens.

2.1.2 Definição de obesidade

Pode-se definir a obesidade como o acúmulo demasiado de lipídios no tecido adiposo, frequentemente resultante do balanço energético positivo em função do desequilíbrio entre a ingestão e o dispêndio de energia corporal, decorrente do elevado consumo calórico e/ou da redução do GE. Esta enfermidade é de causa complexa e multifatorial envolvendo alguns fatores como as alterações genéticas, fatores ambientais (podendo incluir a MI do indivíduo), os determinantes sociais de saúde, as modificações hormonais e a desregulação no ritmo circadiano (LINK, 2005; GARAULET; ORDOVÁS; MADRID, 2010; PHELAN; SIMPSON *et al.*, 2012; JOHNSON *et al.*, 2013; SPEAKMAN, 2013; ARROYO-JOHNSON; MINCEY, 2016; ABESO, 2016; 2022). O excesso de adiposidade corporal está associado a uma ampla gama de complicações que afetam aspectos diferentes da fisiologia, comprometendo o sistema nervoso central, cardiovascular, gastrointestinal, endócrino, musculoesquelético, além de alterações na pele, psicológicas e surgimento de cânceres (YOSIPOVITCH; DEVORE; DAWN, 2007; PETRY *et al.*, 2008; PI-SUNYER, 2009; MARTIN-RODRIGUEZ *et al.*, 2015).

2.1.3 Diagnóstico da obesidade

O índice de massa corporal (IMC), é o mais utilizado para a classificação da obesidade (PIQUERAS *et al.*, 2021; ABESO, 2022). Este método, comumente empregado, é obtido pelo cálculo da razão entre o peso em quilogramas (kg) e a estatura em metros (m) ao quadrado (ABESO, 2022; HEBEBRAND *et al.*, 2017). O diagnóstico do indivíduo com obesidade é feito quando o valor do IMC for igual ou maior do que 30 kg/m^2 e a gravidade é categorizada em: grau I (IMC entre 30 e $34,9 \text{ kg/m}^2$), grau II (IMC entre 35 e $39,9 \text{ kg/m}^2$) e grau III (IMC $\geq 40 \text{ kg/m}^2$) (WHO, 2000; HEBEBRAND *et al.*, 2017). Em acréscimo, a obesidade grau III pode ser dividida em três categorias, obesidade grau III (IMC entre 40 e $49,9 \text{ kg/m}^2$), grau IV (IMC $\geq 50 \text{ kg/m}^2$) e grau V (IMC $\geq 60 \text{ kg/m}^2$) (CHOBAN *et al.*, 2002; RUBIO *et al.*, 2004). Apesar do IMC ser uma ferramenta simples e de baixo custo, existe limitação uma vez que não avalia a distribuição de gordura corporal e, portanto, pode considerar o risco semelhante para população com

adiposidades diferentes (GURUNATHAN; MYLES, 2016; HEBEBRAND *et al.*, 2017; ARNETT *et al.*, 2019; ABESO, 2022).

Sabendo que o aumento de tecido adiposo visceral (TAV) está associado a alterações metabólicas, incluindo resistência à insulina (RI) e perfil lipídico modificado, é de grande valia a adoção de outros métodos que permitam a avaliação da composição corporal (TCHERNOF; DESPRÉS, 2013; ABESO, 2022). Também considerando a limitação do uso isolado do IMC e as consequências do excesso de gordura visceral é preconizado o uso da medida do perímetro da cintura (PC) em indivíduos com IMC superior a 25 kg/m² para avaliação mais criteriosa (ACC/AHA, 2014; HEBEBRAND *et al.*, 2017; SEO; CHOE; TORABI, 2017; SEIMON *et al.*, 2018; ARNETT *et al.*, 2019; VISSEREN *et al.*, 2021). Além disso, existem algumas ferramentas capazes de verificar a composição corporal, tais como a absorciometria radiológica de dupla energia (*dual-energy x-ray absorptiometry*, DEXA), método indireto, e a bioimpedância elétrica (*bioelectrical impedance analysis*, BIA), método duplamente indireto (ABESO, 2016; PONTI *et al.*, 2019).

O DEXA é um procedimento de imagem de alta tecnologia, que permite a quantificação da massa magra (MM), massa corporal total (MCT), massa gorda corporal (MGC), massa livre de gordura (MLG), TAV e do conteúdo mineral ósseo (kg) (JOHNSON STOKLOSSA *et al.*, 2016). A radiação é emitida por uma fonte localizada abaixo do indivíduo, o qual permanece em posição supina sobre a mesa, possibilitando as análises corporais transversas, em intervalos de um centímetro da cabeça aos pés, é uma técnica não invasiva e considerada segura (MELLO *et al.*, 2005; MORGAN; PRATER, 2017). Com este método é possível estimar com precisão a quantidade e volume do TAV, além disso, a precisão e confiabilidade levam o DEXA a ser o método de referência para análise da composição corporal em indivíduos com obesidade (MICKLESFIELD *et al.*, 2012; ABESO, 2016; DAY *et al.*, 2018).

Apesar da confiabilidade e exatidão do DEXA, a utilização do mesmo na prática clínica ainda não é uma realidade, fazendo com que profissionais ainda utilizem métodos mais simples, duplamente indiretos, na avaliação da composição corporal. Nesse sentido, a BIA é um método amplamente utilizado para fins epidemiológicos e clínicos, sendo uma alternativa viável ao DEXA, pois é um equipamento pequeno, portátil, acessível e relativamente de fácil manuseio (VERNEY *et al.*, 2016; SERGI *et al.*, 2017; DAY *et al.*, 2018; MARRA *et al.*, 2019).

A composição corporal estimada pela BIA ocorre por meio de corrente elétrica de baixa amplitude e alta frequência, na qual medem diferenças na resistência e reactância entre os tipos de tecidos com base no conteúdo de água e eletrólitos (SERGI *et al.*, 2017; MARRA *et al.*, 2019). A resistência é inversamente proporcional à quantidade de água corporal, já a reactância significa

a oposição do fluxo elétrico causado pela capacitância produzida pelos tecidos e membranas celulares, e reflete a habilidade das membranas de atuarem como capacitores (LUKASKI *et al.*, 1985). A relação entre reactância e resistência reflete diferentes propriedades elétricas dos tecidos cujos resultados são afetados por doenças, estado nutricional e grau de hidratação (ARO; ACF, 2009; SERGI *et al.*, 2017; MARRA *et al.*, 2019). Através dos valores obtidos de resistência e reactância, utilizam-se equações preditivas para obtenção da porcentagem da gordura corporal (KYLE *et al.*, 2004; HORIE *et al.*, 2008). A BIA pode ser uma ferramenta de avaliação em indivíduos com obesidade, porém, ajustando as equações de predição para a aumentar a precisão das medidas absolutas (BECROFT *et al.*, 2019; SULLIVAN *et al.*, 2019).

2.1.4 Tratamento da obesidade

O tratamento da obesidade é complexo, deve ser multidisciplinar e considera três abordagens: dietética, farmacológica e cirúrgica, atuando de forma combinada ou não, conforme a gravidade e a presença ou ausência de complicações relacionadas (ABESO, 2016; HEBEBRAND *et al.*, 2017; VISSEREN *et al.*, 2021). A constatação do IMC acima de 27 kg/m² associado a pelo menos uma comorbidade ou acima de 30kg/m², sem resultado no peso corporal com intervenção abrangendo o estilo de vida, é indicado o uso de medicamentos que atuarão como coadjuvantes no tratamento (JENSEN *et al.*, 2014; KUSHNER, 2014). A cirurgia bariátrica e o tratamento endoscópico (balão intragástrico) são preconizados para indivíduos que possuem IMC superior a 40 kg/m² ou 35 kg/m² com alguma complicação, ou para os que não obtiveram sucesso no tratamento convencional. Já a intervenção dietética é essencial em qualquer grau de excesso de peso corporal, independente da abordagem farmacológica e cirúrgica, tanto para perda de peso quanto para melhora das comorbidades (ABESO, 2016; JENSEN *et al.*, 2014; DURRER SCHUTZ *et al.*, 2019).

2.2 Tratamento dietético e a influência do fracionamento da dieta na obesidade

A intervenção dietética é a primeira opção para a diminuição da gordura corporal, objetivando eliminar de 5% a 10% do peso inicial em seis meses (JENSEN *et al.*, 2014). A redução de 3% a 5% declina significativamente o risco de desenvolvimento de diabetes *mellitus* tipo 2 (DM2) e resulta na menor concentração plasmática de glicose, triglicerídeos (TG), hemoglobina glicada, além de melhorar os quadros de osteoartrite, hipertensão arterial sistêmica e doença do refluxo gastroesofágico (RYAN; HEANER, 2014; CEFALU *et al.*, 2015; FRUH, 2017). Além do impacto nas comorbidades, a diminuição intencional do peso reflete na queda da mortalidade, como visto em uma meta-análise, incluindo estudos randomizados para perda de

peso com duração maior do que 18 meses em adultos com obesidade, que demonstrou o declínio de 15% de mortes por todas as causas (KRITCHEVSKY *et al.*, 2015).

A prescrição nutricional deve ser planejada individualmente objetivando promover o balanço energético negativo, com déficit de 500 a 1.000 calorias diárias, e a distribuição dos macronutrientes estipulada segundo o estado de saúde e as preferências alimentares (JENSEN *et al.*, 2014; ABESO, 2022; YURISTA *et al.*, 2023). As diretrizes dietéticas e sociedades científicas recomendam o plano alimentar hipocalórico como tratamento dietético de primeira linha para redução do peso corporal, porém algumas explicações fisiológicas sobre as diferentes composições dos macronutrientes interferindo na perda de peso ainda são discutidas (PORRINI *et al.*, 1997; WESTERTERP-PLANTENGA; LEMMENS; WESTERTERP, 2012; JENSEN *et al.*, 2014b; YUMUK *et al.*, 2015; DURRER SCHUTZ *et al.*, 2019; HWALLA; JAAFAR, 2020; YURISTA *et al.*, 2023).

Associada a redução do consumo calórico, algumas abordagens dietéticas podem auxiliar no emagrecimento e estado geral de saúde por meio de modificações na composição alimentar, no fracionamento e nos horários das refeições (THOM; LEAN, 2017; ABESO, 2022). As dietas, mediterrânea, *dietary approaches to stop hypertension (Dash)*, reduzida em gorduras totais, paleolítica e cetogênica, podem contribuir para o controle do peso corporal e de outras doenças crônicas não transmissíveis (MORENO *et al.*, 2016; VITALE *et al.*, 2018; ABBASI, 2018; DE MENEZES *et al.*, 2019; STEINBERG *et al.*, 2019). O jejum de dias alternados e a dieta ajustada ao cronotipo do indivíduo são também outros manejos citados para o controle da obesidade (TREPANOWSKI *et al.*, 2017; GALINDO MUÑOZ *et al.*, 2019). Portanto, não há consenso sobre a melhor maneira de reduzir a ingestão calórica em longo prazo, mas, admite-se que é importante a inclusão de mudanças no estilo de vida (SACKNER-BERNSTEIN; KANTER; KAUL, 2015; ABESO, 2022).

Ao propor o tratamento dietético é de grande valia levar em consideração o efeito que a ingestão de alimentos poderá exercer no ritmo circadiano. Trata-se de ritmos diários (24 horas) no metabolismo, fisiologia e comportamento, mantidos sob condições de luz ou escuridão, sendo influenciado pelo ciclo de jejum, alimentação e sono, que por sua vez mediam processos catabólicos e anabólicos (VOLLMERS *et al.*, 2009; LONGO; PANDA, 2016; SATO & SASSONE-CORSI, 2022). O sistema circadiano do corpo humano é composto por um relógio central no núcleo supraquiasmático hipotalâmico, envolvido na ingestão de alimentos, GE e sensibilidade à insulina, e por diferentes relógios de tecido periférico que realizam controle adicional, ambos trabalham juntos permitindo que o organismo se adapte ao meio ambiente e esteja pronto para as demandas do cotidiano (PAOLI *et al.*, 2019; REDDY & SHARMA, 2023).

O horário das refeições é um dos principais influenciadores e os padrões regulares podem sincronizar os relógios periféricos humanos, refletindo na saúde do indivíduo (POGGIOGALLE; JAMSHED; PETERSON, 2018). A ingestão tardia de alimentos pode afetar a eficácia no tratamento para redução de peso corporal, alterar a glicemia, elevar o TG, colesterol total (CT) e do LDL-c (GARAULET *et al.*, 2013; YOSHIZAKI *et al.*, 2013; POGGIOGALLE; JAMSHED; PETERSON, 2018).

O desjejum tem sido postulado como a mais importante refeição em estudos observacionais, uma vez que quando realizado, melhora a seleção diária de alimentos no decorrer do dia, possibilitando a redução do peso corporal, do PC e de riscos cardiovasculares (DESHMUKH-TASKAR *et al.*, 2010; MIN *et al.*, 2011; AZADBAKHT *et al.*, 2013). No entanto, estudos randomizados realizados em indivíduos com obesidade observaram que não houve diferença na massa corporal entre aqueles que realizavam ou não o desjejum, apesar do aumento da sensibilidade à insulina quando consumido o café da manhã, sugerindo a necessidade de novos estudos na área (DHURANDHAR *et al.*, 2014; CHOWDHURY *et al.*, 2016). Outro trabalho randomizado com indivíduos adultos com sobrepeso ou obesidade mostrou que ingerir o café da manhã foi associado a perda de peso durante uma intervenção intensiva no estilo de vida para estes indivíduos (DUAN *et al.*, 2022). Ademais, é apontada ainda a possibilidade de que o consumo do desjejum possa ser protetor contra a recuperação do peso corporal e deve ser levada em consideração a qualidade dos alimentos consumidos para que os efeitos positivos na saúde sejam alcançados (BRIKOU *et al.*, 2016; NAVIA *et al.*, 2017; RUDDICK-COLLINS *et al.*, 2018).

Como parte das estratégias propostas para diminuir a ingestão calórica e aumentar a prática de exercícios físicos, o horário e o FD podem exercer influência significativa no controle e na perda de peso corporal em indivíduos com obesidade (GARAULET; GÓMEZ-ABELLÁN, 2014; KULOVITZ *et al.*, 2014; PAOLI *et al.*, 2019). O FD é um importante aspecto da nutrição, porém, não há consenso sobre qual abordagem é melhor para classificar “refeições” e “lanches” (LEECH *et al.*, 2015a, 2015b). Dessa forma, a *American Heart Association* (2017), propõe que as OA sejam definidas como qualquer episódio alimentar (sólido e/ou líquido) fornecendo pelo menos 50 kcal e o intervalo para ser considerada uma nova OA deve ter no mínimo 15 minutos. A classificação de “refeição” e “lanche” deve ser feita pelo participante do estudo, pois ele fornecerá uma definição que acomodará diferentes normas e comportamentos culturais. Não são todos os trabalhos que obtêm a classificação por parte do voluntário da pesquisa, logo, pode-se considerar uma “refeição” quando fornecer mais do que 15% do total de energia ingerida e o “lanche” descrito por conter menos de 15%. O desjejum, então, pode ser definido como a

primeira refeição do dia que interrompe o jejum do período mais longo de sono, ocorrendo até duas a três horas após o despertar e contendo alimentos e bebidas de pelo menos um grupo de alimentos.

Na cultura ocidental, é comum observar a ingestão diária de alimentos fracionada em três: o desjejum, almoço e jantar. Muitas vezes o profissional nutricionista sugere a adição de dois pequenos “lanches” (manhã e tarde) objetivando o melhor controle do apetite, porém, ainda não há consenso na literatura a respeito do impacto do FD na saúde e no apetite (KULOVITZ *et al.*, 2014; CANUTO *et al.*, 2017; PAOLI *et al.*, 2019). Estudo de revisão traz que a realização de lanches entre as principais refeições ocupa um terço na ingestão diária de energia, e geralmente eles são ricos em energia e pobre em nutrientes. Além disso, ingerir lanche rico em fibras e proteína entre as refeições pode suprimir o consumo excessivo ao longo do dia, todavia são necessárias mais investigações controladas nesta temática (NJIKE *et al.*, 2016). Marangoni *et al.* (2019), apontam que quando planejadas, a inclusão de pequenas refeições pode contribuir para alcançar o objetivo de atender as recomendações de todos os grupos alimentares diários, para melhor digestão e metabolismo dos nutrientes quando comparado com menor FD e com maior volume.

A relação entre o FD e peso corporal foi examinada pela primeira vez em humanos por meio de investigação transversal publicada em 1964, mostrando relação inversa entre o FD referida pelo próprio indivíduo e adiposidade em 369 homens (60-64 anos) (FABRY *et al.*, 1964). Dessa forma, na década de 60-70 os trabalhos relacionavam o aumento do FD com o menor peso corporal (METZNER *et al.*, 1977). Posteriormente, os achados relataram melhor controle do apetite, hormonal e do peso ao manter alimentação frequente ao longo do dia (BELLISLE; MCDEVITT; PRENTICE, 1997; SPEECHLY; BUFFENSTEIN, 1999; LEIDY; CAMPBELL, 2011; BERG; FORSLUND, 2015). Estudo observacional sugeriu que o consumo maior de lanches propiciava menor risco de obesidade, em contrapartida, outros trabalhos prospectivos mostraram o aumento do peso corporal, do risco de DM2 e do apetite associado ao aumento de OA ao longo do dia (HOWARTH *et al.*, 2007; MIN *et al.*, 2011; MEKARY *et al.*, 2012; OHKAWARA *et al.*, 2013).

Uma revisão sistemática de estudos observacionais verificou evidências insatisfatórias para afirmar a relação entre o FD e composição corporal quando o viés de informação correta é levado em consideração. Foram observados a falta de padronização na análise da ingestão, que não há ponto de corte para determinar alto ou baixo número do FD e a presença de alguns potenciais fatores de confusão como sexo, idade, grau de instrução, tabagismo, alcoolismo e prática de atividade física analisados em conjunto (CANUTO *et al.*, 2017). É importante colocar

que a subnotificação da ingestão também é uma limitação que interfere nos resultados dos estudos que avaliam comportamento alimentar, principalmente quando incluem os indivíduos com sobrepeso e obesidade (HALPERN; MANCINI, 2009; MCCRORY *et al.*, 2011; CANUTO *et al.*, 2017). Dessa forma, torna-se relevante a menção de que são necessários ensaios clínicos e estudos observacionais mais criteriosos para serem esclarecedores quanto à avaliação do FD na perda de peso corporal em indivíduos adultos, inclusive na população com obesidade (RAYNOR; CHAMPAGNE, 2016; CANUTO *et al.*, 2017).

Ensaio clínicos randomizados em humanos são escassos e algumas limitações foram colocadas como, curto período de intervenção (oito semanas) e muitas variações nos FD (intervalo de um a doze refeições/dia), em acréscimo, dados sugeriram que o menor FD (incluindo o desjejum), pode ser uma ferramenta preventiva e eficaz para o controle da massa corporal em adultos com peso adequado (KAHLEOVA *et al.*, 2017). Uma meta-análise de ensaios clínicos, incluindo adultos saudáveis, mostrou que o FD de duas OA por dia comparada com seis pode levar a redução no PC e a ingestão calórica durante o dia não foi influenciada pelo FD (SCHWINGSHACKL *et al.*, 2020). Ensaio clínico com mulheres com sobrepeso e obesidade traz que o FD (três vs seis OA por dia) não modificou o peso corporal em 90 dias (KÖROĞLU & ÖZTÜRK, 2024). Logo, ainda existem poucas evidências sobre o FD interferindo nos indicadores antropométricos. São poucos relatos que incluem a população com sobrepeso e obesidade ao analisar o FD na regulação do peso, da fome e nos marcadores metabólicos, quando submetidos à dieta hipocalórica controlada, assim sendo, ainda é inconclusiva a melhor indicação do FD para o tratamento da obesidade (KULOVITZ *et al.*, 2014; MUFTUOGLU *et al.*, 2018; GARCIDUEÑAS-FIMBRES *et al.*, 2021).

A literatura científica sugere que há influência do jejum, do FD por dia e do tempo de refeição na saúde, logo, não apenas a qualidade dos alimentos, mas o fracionamento e o momento da ingestão são relevantes para benefícios metabólicos (PAOLI *et al.*, 2019). Embora já tenha sido colocado em uma meta-análise, incluindo indivíduos com diferentes estados nutricionais, que alterações no FD não possam interferir no peso e composição corporal, são necessários mais ensaios clínicos controlados para avaliar os efeitos na população incluindo indivíduos com obesidade (SCHOENFELD; ARAGON; KRIEGER, 2015; MEGSON; WING; LEAHEY, 2017).

Pesquisas experimentais sugerem que reduzir o FD e conseqüentemente o aumento do período de jejum entre as refeições, associada à restrição calórica, pode minimizar o desenvolvimento de obesidade, de outras doenças crônicas não transmissíveis e prolongar a vida de animais (ANSON *et al.*, 2003; MATTSON; WAN, 2005). Dentre os efeitos benéficos, destacam-se o aumento da sensibilidade à insulina, redução do estresse oxidativo e melhora na

resposta imunológica (ANSON *et al.*, 2003; WAN; CAMANDOLA; MATTSON, 2003). Em humanos, o menor FD (dois-três por dia) e períodos regulares de jejum, de seis a oito horas entre as OA, têm a possibilidade de melhorar o ritmo circadiano, a resistência ao estresse, modulação da MI, alguns fatores de risco metabólicos, como a lipemia, glicemia de jejum, insulinemia e a sensibilidade à insulina, no entanto, o efeito no peso corporal permanece (ROTHSCHILD *et al.*, 2014; PAOLI *et al.*, 2019).

A alta concentração de insulina sérica em jejum, intolerância à glicose e DM2 são comumente existentes na população com obesidade, ocasionadas por alguns fatores, dentre eles a lipotoxicidade (KAHN; HULL; UTZSCHNEIDER, 2006; YAZICI; SEZER, 2017). A dieta é um dos pontos modificáveis que pode interferir nas concentrações de insulina e glicose no sangue, em particular no que diz respeito à quantidade e a qualidade da dieta (KALOGIANNIS, 2017). Os efeitos do FD nas concentrações de glicose e insulina plasmáticas não são bem definidos e são necessárias mais investigações associando as particularidades dos diferentes estados nutricionais (LEIDY; CAMPBELL, 2011; KULOVITZ *et al.*, 2014).

A dislipidemia pode ser percebida na obesidade e é caracterizada pelo aumento dos TG e ácidos graxos livres (AGL), diminuição HDL-c e/ou elevação do LDL-c, propiciando o quadro de doença arterial coronariana (ROBINSON *et al.*, 2009; KLOP; ELTE; CASTRO CABEZAS, 2013). Avaliações transversais, com população de todos os estados nutricionais, incluindo homens e mulheres, mostraram que tanto o CT quanto o LDL-c diminuíram com o aumento do FD (mais de seis OA/dia), da mesma forma em homens saudáveis, pois o maior FD pareceu reduzir o risco cardiometabólico (MCGRATH; GIBNEY, 1994; TITAN *et al.*, 2001; SMITH *et al.*, 2012). Revisão sistemática com meta-análise de ensaios controlados mostra que, em indivíduos saudáveis, aumentar o FD por dia pode reduzir concentrações de CT quando associada a restrição calórica total por 12 semanas, porém, mais estudos são necessários para comprovar tal efeito (ABDOLLAHI *et al.*, 2021).

Ao analisar indivíduos com obesidade, não foi percebido diferença significativa na relação do FD com o CT, LDL-c, TG e HDL-c, porém, foi apontado em outro estudo de revisão incluindo ensaios clínicos, que o menor FD por dia poderia mostrar perfil lipídico mais favorável na mesma população (ANTOINE *et al.*, 1984; KULOVITZ *et al.*, 2014). Aumentar o FD pode levar a redução do CT, pois neste caso há baixa e frequente liberação de insulina após as refeições, o que reduz a síntese de CT via diminuição da ação na hidroximetilglutaril-CoA redutase. Além disso, após uma refeição são liberados e reabsorvidos o ácido e o colesterol biliares e estes reduzem a ação desta enzima supracitada, portanto, consumir refeições mais frequentes pode alterar a regulação biliar da síntese de colesterol (SUTHERLAND; DE JONG;

WALKER, 2007; PAOLI *et al.*, 2015, 2019). Porém, a AHA conclui que não há evidências suficientes para comprovar se a alteração no FD tem impacto significativo no peso ou nos fatores de risco para doença cardiovascular, como aumento da pressão arterial sistêmica, TG, CT e glicemia (ST-ONGE *et al.*, 2017).

Ao abordar a ingestão alimentar e as modificações no FD diário como um fator modificável capaz de propiciar redução e manutenção do peso corporal, é importante destacar a relação entre os hormônios e o seu impacto no consumo alimentar (HUDA; WILDING; PINKNEY, 2006). Os hormônios supracitados são produzidos por células dispersas ao longo do epitélio gastrointestinal e geram sinais relacionados à taxa de absorção de nutrientes, à composição do meio luminal e à integridade da barreira epitelial (GRIBBLE; REIMANN, 2019). A atuação no comportamento alimentar pode ocorrer de duas formas, aumentando o apetite, por meio da secreção e ação da grelina ativa, e estimulando a saciedade, através da leptina, dentre outros. Dessa forma, a regulação dos mesmos é essencial para o controle da ingestão, adesão à dieta hipocalórica e manutenção do peso corporal (WOODS *et al.*, 1998; CUMMINGS *et al.*, 2001; FIGLEWICZ, 2003).

2.3 Grelina, leptina e adiponectina na obesidade

2.3.1 Grelina

A grelina é um hormônio peptídeo composto por 28 aminoácidos secretado principalmente pela mucosa do fundo gástrico, descoberta em 1999 como ligante endógeno secretagogo do hormônio de crescimento (KOJIMA *et al.*, 1999). É o único hormônio orexígeno que ativa receptores encontrados principalmente no centro do apetite (hipotálamo e glândula pituitária) (MIHALACHE *et al.*, 2016). A produção da grelina envolve as etapas transcricional, traducional e pós traducional e os produtos finais são: a forma desacilada e acilada, sendo a enzima grelina O-aciltransferase responsável por catalisar a síntese da sua forma ativa. Assim, a via de produção e ativação da grelina compreende uma gama de genes que vêm sendo estudados e visam identificar as bases genéticas da heterogeneidade humana (LIU; GARCIA; KORBONITS, 2011; MANI; ZIGMAN, 2017).

A grelina ativa (acilada) e não ativa encontradas no plasma humano têm diferentes funções (DELHANTY; NEGGERS; VAN DER LELY, 2012). A acilação (ativação) é necessária para a passagem na barreira hematoencefálica e essencial na liberação do hormônio do crescimento, além de mediar a ingestão alimentar, a homeostase energética e atuar na regulação da glicemia. Por isso, tem sido investigada a forma do peptídeo ativo como um alvo na terapia da

obesidade (KHATIB *et al.*, 2015; TAMBOLI *et al.*, 2017; LV *et al.*, 2018). O hormônio ativo atinge o hipotálamo de três maneiras para estimular a fome, (1) atravessando a barreira hematoencefálica, (2) por vias aferentes vagais se ligando ao seu receptor localizado nos terminais do nervo vago no trato gastrointestinal, e (3) pela síntese e secreção hipotalâmica local com ação parácrina (LIM; KOLA; KORBONITS, 2011). A grelina não acilada, circulante em maiores quantidades, é biologicamente ativa, podendo desempenhar ações não endócrinas, cardioprotetoras, antiproliferativas e antagonizar a ação da grelina ativa (WELLMAN; ABIZAID, 2015; TRIVEDI *et al.*, 2017).

A concentração plasmática de grelina total compreende a forma ativa e não ativa. Em eutróficos, a secreção da grelina total varia dependendo do consumo energético e é comumente elevada em jejum e reduzida no período pós-prandial (BLOM *et al.*, 2009). É questionado a respeito da secreção de grelina ativa e não ativa na obesidade (DARDZIŃSKA *et al.*, 2014). Há relatos de que no excesso de peso este hormônio orexígeno total, em jejum, possa estar reduzido, ao mesmo tempo, em que não ocorre a queda plasmática no estado pós-prandial, sugerindo desregulação da sua atividade (SHIYA *et al.*, 2002; SATO *et al.*, 2014). Estudo comparando indivíduos com excesso de peso e eutrofia observou que na obesidade a concentração plasmática de grelina ativa e não ativa, em jejum, foi menor e no período pós-prandial reduziu a forma não ativa e a ativa permaneceu inalterada (DARDZIŃSKA *et al.*, 2014).

Indivíduos com obesidade, comparados com os de peso adequado, podem apresentar menor concentração plasmática de grelina total e não ativa, assim como, semelhança quanto a grelina ativa, indicando que o excesso de peso pode refletir na deficiência reativa de grelina não ativa e que a sua concentração pode ser regulada pelo peso corporal (BARAZZONI *et al.*, 2007). Em contrapartida, Rodriguez *et al.* (2009) apontaram que a concentração de grelina ativa foi maior do que a não ativa na obesidade. Um estudo comparando mulheres e outro com homens com obesidade e eutrofia, verificaram o aumento da grelina ativa em jejum nos indivíduos com excesso de peso (ZWIRSKA-KORCZALA *et al.*, 2007; ANDARINI; KANGSAPUTRA; HANDAYANI, 2017). A possível elevação do hormônio ativo e a redução da grelina total percebida na obesidade pode ser explicada pela constatação de que a concentração de grelina ativa representa dez por cento do seu total, assim, a redução da grelina não ativa, reduz também a grelina total, mesmo que a porção ativa esteja elevada (TSCHÖP *et al.*, 2001; ANDARINI; KANGSAPUTRA; HANDAYANI, 2017).

É discutida a resistência na ação dos hormônios relacionados ao comportamento alimentar, incluindo a grelina total, em indivíduos com excesso de peso, já que podem acarretar

no aumento da adiposidade, no surgimento de doenças associadas e distúrbios metabólicos, uma vez que desempenham ação na homeostase energética (CUI; LÓPEZ; RAHMOUNI, 2017). A resistência na ação da grelina total ainda não é clara e tem sido relatada como um mecanismo de proteção contra o excesso de peso corporal durante os períodos de disponibilidade alimentar (ZIGMAN; BOURET; ANDREWS, 2016).

Os efeitos da grelina ativa no peso corporal provavelmente incluem, dentre algumas ações, a interferência direta na ingestão de alimentos e na redução do GE (LV *et al.*, 2018). É questionado se a composição alimentar pode influenciar na liberação do hormônio, uma vez que após a ingestão de carboidratos e proteínas a secreção é menor quando comparados com os lipídios. No entanto, alguns pesquisadores sugerem que a redução ocorre posteriormente a alimentação independente do macronutriente ingerido (BLOM *et al.*, 2009; JAKUBOWICZ *et al.*, 2017). Em acréscimo, a grelina total pode ter a sua secreção aumentada na restrição calórica e na ingestão de ácidos graxos poli-insaturados (HILL *et al.*, 2013; ISHII; OSAKI; SHIMOTOYODOME, 2016; STEVENSON; PATON; COOPER, 2017). Estudo mostrou que reduzir o consumo de alimentos ricos em lipídios e aumentar a ingestão de frutas e legumes, em mulheres com obesidade, levou a diminuição e manutenção do peso corporal, em doze meses, assim como foi observada a redução na concentração de grelina plasmática total em jejum. Além disso, os resultados indicaram associação com a menor densidade energética da dieta e atenuação no aumento de grelina total em resposta à perda de peso. Os mecanismos subjacentes ao efeito da dieta com baixa densidade energética na menor secreção de grelina total requerem mais investigações (HILL *et al.*, 2013; HERNANDO-REDONDO *et al.*, 2022).

A dieta hipocalórica é postulada por melhorar a sensibilidade à grelina total e da sua resposta pós-prandial, independente da composição da dieta, na população com excesso de peso (CUMMINGS *et al.*, 2002; MORAN *et al.*, 2005). Poucos são os estudos que avaliam o FD com a secreção de grelina ativa. Pesquisa conduzida em ratos Wistar adultos saudáveis, comparou o FD de três refeições por dia com alimentação *ad libitum* na secreção da grelina ativa e observou que ao realizar três refeições por dia elevou a sua concentração plasmática, portanto, pode-se relacionar com a adipogênese (VERBAEYS *et al.*, 2011). Estudo investigou a concentração plasmática de grelina total e do peptídeo YY em indivíduos com obesidade, submetidos a um plano alimentar hipocalórico, por oito semanas, e não houve relatos de diferenças entre os grupos de baixa e alta FD para os índices de adiposidade, indicadores de apetite ou peptídeos intestinais antes e depois da intervenção (CAMERON; CYR; DOUCET, 2010). Foi reportado que a grelina pode reduzir quando há maior FD pela ação supressora do hormônio pela insulina, e na obesidade

a magnitude da supressão da grelina é menor, porém, os efeitos ainda não são conclusivos (SOLOMON *et al.*, 2008).

2.3.2 Leptina

Outro hormônio importante na obesidade, por se associar com o controle da ingestão alimentar, é a leptina, que foi a primeira adipocina a ser identificada. Em 1994, identificaram esta proteína como gene obeso (*ob*), por esse fato, no ano posterior foi denominada leptina, derivando do termo grego “*leptos*”, que significa “magro”(ABATE *et al.*, 1995; GLAUM *et al.*, 1996; ZHANG *et al.*, 1994). Este hormônio é secretado principalmente pelo tecido adiposo branco (maior no tecido subcutâneo do que no visceral) e a variação na sua concentração sanguínea pode ser percebida conforme o percentual de MGC. Além disso, a leptina pode ser regulada secundariamente outros fatores, como se pode observar o seu aumento na ingestão aguda de energia, e redução durante o jejum ou restrição de energia (BODEN *et al.*, 1996; CHAN *et al.*, 2003). Assim como, estudo aponta que a leptina se correlaciona positivamente com a insulina, logo, a hiperinsulinemia prolongada pode elevar a concentração plasmática de leptina (NOGUEIRAS *et al.*, 2008).

Mueller *et al.* (1998), trazem que transporte e o metabolismo da glicose nos adipócitos são pontos importantes na regulação da expressão e secreção da leptina e que o efeito da insulina no aumento da captação da glicose pelos adipócitos provavelmente contribui para a secreção de leptina. Estudo mostra que após três dias de jejum houve a redução de dez a vinte por cento na concentração plasmática circulante tanto em indivíduos eutróficos quanto naqueles com obesidade (BODEN *et al.*, 1996).

Este hormônio supracitado se encontra circulante no sangue na forma livre ou ligada a proteína, sendo a forma livre a biologicamente ativa, logo as suas formas regulam a sua biodisponibilidade (CHAN *et al.*, 2002; LAHLOU *et al.*, 2000). Uma vez na corrente sanguínea, a leptina atravessa a barreira hematoencefálica atingindo as áreas do cérebro envolvidas na regulação do balanço energético do hipotálamo (BURGUERA *et al.*, 2000). Portanto, dentre as funções da leptina, é destacado o papel na saciedade e no aumento do GE, porém a sua ação nos seres humanos continua sendo estudada (OBRADOVIC *et al.*, 2021). A ação na saciedade acontece através da ação da leptina na transcrição de pró-opiomelanocortina (POMC), cujo produto final, o hormônio alfa-melanócitos estimulante (α -MSH), molécula anorexígena, é liberado na sinapse para ativar neurônios pela ligação ao receptor de melanocortina e levar a supressão do apetite (**Figura 1**) (COWLEY *et al.*, 2001; ELIAS *et al.*, 1999). Em acréscimo, a leptina pode inibir a síntese e liberação do neuropeptídeo Y e proteína relacionada com agouti

(AgRP) (estimulantes do apetite) no núcleo arqueado, reduzindo o efeito agonístico do AgRP no receptor de melanocortina (**Figura 1**) (COWLEY *et al.*, 2001; ELIAS *et al.*, 1999).

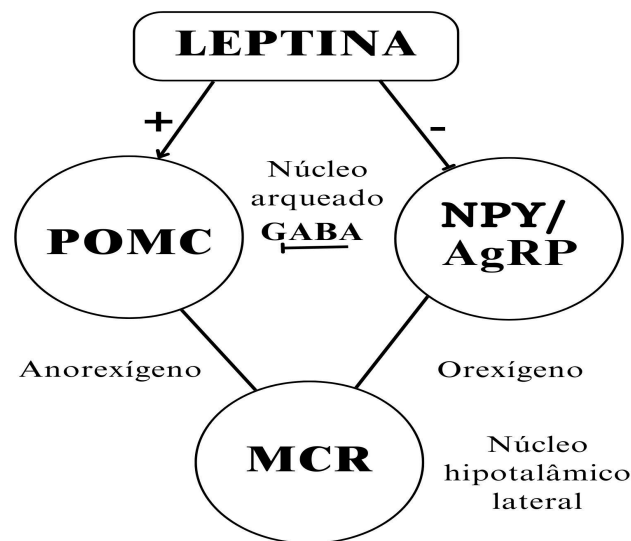


Figura 1. Regulação do apetite pela leptina no núcleo arqueado do hipotálamo.

Fonte: adaptado de OBRADOVIC *et al.* (2021).

Legenda: POMC: proopiomelanocortina; NPY: neuropeptídeo Y; AgRP: proteína relacionada à agouti; MCR: receptores de melanocortina; GABA: ácido γ -aminobutírico.

Apesar de estudos demonstrarem que as concentrações plasmáticas de leptina refletem a MGC, na obesidade, embora aumentada, pode-se observar resistência ou intolerância na ação deste hormônio (PERAKAKIS; FARR; MANTZOROS, 2021). A resistência à leptina acontece devido à incapacidade deste hormônio atingir as células-alvo, pela expressão reduzida ou sinalização deficiente aos seus receptores, ou seja, há uma série de mecanismos moleculares e genéticos que podem levar a esse quadro (IZQUIERDO *et al.*, 2019; MYERS *et al.*, 2012). Dessa forma, a resistência à leptina é definida como a incapacidade da concentração sérica aumentada ser capaz de reduzir a ingestão de alimentos e causar a redução do peso corporal. Zhao *et al.* (2019) mostram que a redução parcial das concentrações plasmáticas de leptina no contexto da obesidade pode restaurar a sensibilidade à leptina hipotalâmica, diminuir o ganho de peso e elevar a sensibilidade à insulina.

Durante a redução do peso corporal induzido por dieta hipocalórica, por exemplo, é observada a diminuição na concentração de leptina, porém ainda existe o questionamento se esta redução é capaz de prevenir ou elevar o ganho de peso. Estudo em camundongos com obesidade

e adultos, mostrou que a redução de leptina em 20% a 80% pode levar a sensibilização deste hormônio e em seres humanos ainda não há resultados diretos, logo são necessários mais estudos (ZHAO *et al.*, 2019). Crujeiras *et al.* (2010), apontam que a redução do peso corporal por meio de dieta hipocalórica, durante oito semanas, reduziu a concentração de leptina plasmática, e após 32 semanas essa redução favoreceu a manutenção do peso perdido em adultos com obesidade. Já outro ensaio clínico incluindo vinte indivíduos com obesidade submetidos a dieta hipocalórica para a redução do peso corporal, por 12 semanas, mostrou que após a redução do peso a concentração plasmática de leptina diminuiu e aumentou a da grelina, porém não houve alteração na sensação subjetiva de apetite (HERNÁNDEZ MORANTE *et al.*, 2020).

Ainda é questionada as alterações entre hormônios gastrointestinais no período de redução do peso induzida por dieta hipocalórica. Estudo de revisão sistemática, incluindo indivíduos de diferentes estados nutricionais, sugeriu que a perda de peso proveniente da restrição energética, pode levar a diminuição dos hormônios anorexígenos e aumento do orexígeno grelina, em jejum. Além disso, após a perda de peso, a diminuição dos hormônios sacietógenos foi persistente, seguida do aumento na secreção de grelina e conseqüentemente no apetite, sugerindo que a interação destes hormônios alterados possam influenciar na recuperação posterior do peso, porém, há grande heterogeneidade em métodos e populações, sendo necessários mais estudos (ZHAO *et al.*, 2017).

Quanto a modificação ao FD por dia e secreção de leptina, estudo randomizado com 15 indivíduos saudáveis submetidos a dieta normocalórica com três vs oito OA por dia, por vinte e um dias, concluiu que não houve alteração da concentração de leptina nos diferentes FD (PERRIGUE *et al.*, 2017). Da mesma forma, estudo de revisão com meta-análise de ensaios clínicos mostrou que não houve modificação na concentração de leptina nos diferentes FD em adultos com diversos estados nutricionais, todavia foram encontrados poucos estudos (sete) (ABDOLLAHI *et al.*, 2021).

2.3.3 Adiponectina

Um terceiro hormônio envolvido na regulação da ingestão alimentar é a adiponectina, uma adipocina. Esta proteína é composta por 244 aminoácidos e sintetizada principalmente pelo tecido adiposo branco, mas pode ser expressa em outros tecidos como osteoblastos, parênquima hepático, miócitos e células epiteliais (BERNER *et al.*, 2004; DELAIGLE *et al.*, 2004; PATEL *et al.*, 2008; SCHERER *et al.*, 1995; YAMAUCHI *et al.*, 2001; YODA-MURAKAMI *et al.*, 2001). Estudos apontam que a adiponectina está envolvida em vários eventos moleculares e celulares atuando na melhora da sensibilidade à insulina, aumento do catabolismo de ácidos graxos,

modulação da resposta inflamatória, redução do acúmulo de TG e redução da aterogênese, e as últimas investigações estão explorando o potencial efeito no diabetes mellitus tipo 2 e na síndrome metabólica (ACHARI; JAIN, 2017; HARA *et al.*, 2006; NAUCK; WEFERS; MEIER, 2021; OKAMOTO *et al.*, 2002). Além disso, esse hormônio desempenha ação central agindo na homeostase energética e no metabolismo lipídico (KHORAMIPOUR *et al.*, 2021).

Nos indivíduos com obesidade a concentração plasmática de adiponectina é reduzida, ao contrário de outras adipocinas (ARITA *et al.*, 2012; KHORAMIPOUR *et al.*, 2021). Estudos trazem que esta condição na população com excesso de adiposidade pode ocorrer provavelmente pelo estilo de vida sedentário, pois a prática de atividade estimula a produção e liberação deste hormônio, elevando a captação de glicose e a oxidação de ácidos graxos através da ativação da 5'-adenosina monofosfato quinase (MARTIN *et al.*, 2005; MONDA *et al.*, 2013).

Pesquisa recente com 66 indivíduos com obesidade submetidos a um programa para redução de peso corporal perceberam que a adiponectina plasmática aumentou e a leptina reduziu após a perda de peso (TAKAO *et al.*, 2021). Estudos mostraram que a redução do peso corporal ou a restrição calórica é capaz de modificar a concentração de adiponectina de forma benéfica trazendo resultados favoráveis para o metabolismo, pois propicia a conservação de energia sistêmica através da melhoria da eficiência energética nos principais tecidos metabólicos (LEE; SHAO, 2014, 2014; VARADY; HELLERSTEIN, 2008).

Alguns estudos relatam que indivíduos com obesidade que reduzem de 10% a 20% do peso corporal podem aumentar significativamente a adiponectina sérica, porém alguns estudos ainda são contraditórios (BRUUN *et al.*, 2003; WEISS *et al.*, 2006; XYDAKIS *et al.*, 2004). Um trabalho, incluindo 90 participantes com excesso de peso, concluiu que após a prescrição de dieta hipocalórica com diferentes FD por dia (seis vs três) por 90 dias, a realização de seis OA por dia elevou a adiponectina plasmática (HATAMI ZARGARAN *et al.*, 2014). Contudo, os estudos são escassos e inconclusivos na obesidade.

2.4 Gasto energético na obesidade

O GE compreende a TMR, ETA e o gasto induzido pela atividade física, com isso, os componentes do balanço energético (BE) incluem o consumo, gasto e armazenamento (DELANY; LOVEJOY, 1996; WESTERTERP, 2017). Uma vez que a ingestão seja igual ao GE, o corpo alcança equilíbrio, contudo, quando há excesso de consumo comparado ao dispêndio é estabelecido estado de BE positivo e a consequência é o aumento da massa corporal, dos quais 60-80% são MGC (HILL; COMMERTFORD, 1996; HILL *et al.*, 2003). O inverso também pode

ocorrer resultando no BE negativo, favorecendo a perda de MGC na mesma proporção (60-80%) (HILL; COMMERFORD, 1996; HILL *et al.*, 2003).

A TMR é definida como o gasto de energia necessário para manter as atividades fisiológicas vitais do ser humano em repouso e corresponde a 80% do GED em sedentários e 60% em ativos (MELBY *et al.*, 1993; PONTZER, 2015; WESTERTERP, 2017). Existem fatores que podem influenciar a TMR, dentre eles, a composição corporal, estado nutricional, idade, sexo, etnia e relações de cunho genético (WEYER *et al.*, 1999; LAM; RAVUSSIN, 2016; PIAGGI *et al.*, 2017). A MM é o principal componente da TMR e é responsável por 60% a 70% das suas oscilações (WEYER *et al.*, 1999).

A taxa metabólica basal (TMB) é a energia necessária para a manutenção das atividades metabólicas celulares, conservação da circulação sanguínea e respiração, e os valores obtidos são de 10% a 20% menores quando comparados com a TMR (DELANY; LOVEJOY, 1996). Para a avaliação da TMB a exigência é mais restritiva do que para a TMR, uma vez que deve ser analisada no estado pós-absortivo, posterior ao jejum de 12 horas, enquanto o avaliado permanece em decúbito dorsal, acordado e imóvel (DELANY; LOVEJOY, 1996; PETTERSEN; MARSHALL; WHITE, 2018).

A atividade física compõe de 10% a 30% do GED e engloba não somente os exercícios, mas as atividades diárias, podendo ser influenciado pela genética, idade, sexo e fatores ambientais (WESTERTERP, 2008; KRASCHNEWSKI *et al.*, 2010). O ETA se refere a energia necessária para digerir, absorver, assimilar e armazenar nutrientes, dependendo assim da quantidade e qualidade dos alimentos ingeridos. Em acréscimo, a idade, atividade física, obesidade e resistência à insulina (RI) têm sido descritos como possíveis fatores que podem impactar o ETA independente do consumo (LAM; RAVUSSIN, 2016). O ETA corresponde entre 5% a 15% do GED e pode acarretar no dispêndio de 10% a 15% das calorias de uma dieta mista (DE JONGE; BRAY, 1997). Além disso, é considerado um fator modificável do GE e estudos sugerem que há a possibilidade de aumentá-lo por meio de refeições menos frequentes e de maior volume (em oposição às menores refeições com maior frequência), ingestão de carboidratos e proteínas (comparados aos lipídios) e dieta a base de plantas e reduzida em lipídios (CALCAGNO *et al.*, 2019).

É questionada a relevância fisiológica do ETA no BE positivo como parte da etiologia da obesidade. Evidências fornecem apoio a existência de fenótipos nos seres humanos, eutróficos ou com obesidade, relacionados com a manutenção do peso corporal, sendo eles, o fenótipo de eficiência energética (“econômico”), denotado por GE de 24 horas mais baixo, favorecendo o ganho de peso e/ou menor perda de peso durante a restrição calórica, em comparação com o outro

fenótipo que mesmo em estado de superalimentação ou em jejum, o GE é maior (“gastador”) (WEYER *et al.*, 2001; PIAGGI *et al.*, 2018; PIAGGI, 2019).

Já foi descrito que indivíduos com obesidade teoricamente apresentavam TMR e GE maiores pelo fato da maior MCT, porém, foram caracterizados como “econômicos” metabolicamente (PRENTICE *et al.*, 1986; ASTRUP *et al.*, 1996). Pesquisa apontou que quando a composição corporal (MLG) é levada em consideração, as diversidades entre indivíduos de diferentes estados nutricionais (eutróficos e com obesidade) desaparecem, sugerindo que não existe alteração no GE na obesidade. No entanto, pode ocorrer alteração na prática de atividade física e no ETA dessa população, mas os estudos ainda não são conclusivos (CARNEIRO *et al.*, 2016). Dessa forma, há a hipótese de não haver associação entre obesidade e GE alterado, questionando assim, que o excesso de peso adquirido não se relaciona com GE reduzido. Novas pesquisas na área são necessárias para elucidar o papel do GE na etiologia e manutenção da obesidade (EYSTER, 2011; CARNEIRO *et al.*, 2016).

Estudos têm apontado que o GED e a TMR diminuem de forma proporcional à perda de peso corporal em indivíduos com obesidade, sendo esta redução provavelmente acometida por alterações na composição corporal (BRAY *et al.*, 2012; DE JONGE *et al.*, 2012). É relatado que a redução da TMR ocorre pela diminuição da MM no processo de emagrecimento, enquanto outros estudos indicam diferentes fatores como alterações genéticas, endócrinas e psicossociais (WEINSIER *et al.*, 2000; VAN AGGEL-LEIJSEN *et al.*, 2002; STIEGLER; CUNLIFFE, 2006; BOSY-WESTPHAL *et al.*, 2009; POURHASSAN *et al.*, 2014). Ademais, no que tange a alteração no FD e repercussão no GE, estudos epidemiológicos apontam o aumento do FD por dia como uma possível estratégia para promover a elevação do GE. Por outro lado, evidências sugerem que o consumo alimentar mais frequente não confere este efeito em eutróficos (LEBLANC; MERCIER; NADEAU, 1993; SMEETS; WESTERTERP-PLANTENGA, 2008; HUTCHISON; HEILBRONN, 2016). Pesquisa avaliou a influência do FD no BE, por meio da calorimetria indireta (CI), e verificou que o FD crescente (três a seis vezes por dia) não teve efeito significativo na oxidação de gordura em 24 horas (OHKAWARA *et al.*, 2013). Contudo, mais estudos são necessários.

O dispêndio energético pode ser estimado por equações preditivas, pelo método da água duplamente marcada e também por meio da CI ou indireta (PINHEIRO VOLP *et al.*, 2011; FRANKENFIELD, 2013). Existem algumas controvérsias ao analisar a obesidade e a sua relação com a TMR, porém uma maneira de avaliar se dá pela CI (LAM; RAVUSSIN, 2016). Dados mostram que o uso da CI para a prescrição dietética, objetivando redução de peso, parece ser

mais eficaz quando comparada com a estimada por equações preditivas na população com obesidade (ASTRUP *et al.*, 1999; LAM; RAVUSSIN, 2017; MASSARINI *et al.*, 2018).

A CI estima o GE com base na análise do oxigênio consumido (VO_2), gás carbônico produzido (VCO_2) e do quociente respiratório ($QR = VO_2/VCO_2$), indicando a quantidade de energia necessária para a realização dos processos metabólicos (FERRANNINI, 1988). Logo após a determinação das concentrações de O_2 inspirado e CO_2 expirado, a TMR pode ser estimada por meio de equações como a de Weir (WEIR, 1949). O oxigênio consumido reflete a oxidação de carboidratos, lipídios, proteínas e o QR possibilita a identificação do macronutriente que está sendo utilizado (WESTERTERP, 1993; DELSOGLIO *et al.*, 2019). A oxidação completa de carboidratos gera um valor de QR de 1,0, enquanto o QR 0,80 é indicativo da utilização de proteínas e QR 0,72 de lipídios (WEIR, 1949; GUPTA *et al.*, 2017).

Para a obtenção precisa da TMR pela CI, o indivíduo é instruído a não praticar atividade física nas últimas 24 horas, estar em jejum, realizar a avaliação pela manhã, permanecer entre 15-30 minutos de repouso previamente ao início do exame, assim como, o exame deve ser realizado no ambiente com temperatura confortável de 22-24 graus Celsius (ADRIAENS; SCHOFFELEN; WESTERTERP, 2003; WESTERTERP, 2017). Considera-se um procedimento de custo razoável, não invasivo e com grande reprodutibilidade capaz de identificar indivíduos com TMR baixa e alta (hipermetabólicos) (ASTRUP *et al.*, 1999; DELSOGLIO *et al.*, 2019).

2.5 Microbiota intestinal, obesidade e ocasiões alimentares

A MI humana é composta por aproximadamente 100 trilhões de microrganismos que atuam em simbiose com o hospedeiro e apresenta 150 vezes mais genes microbianos do que o genoma humano (GOMES; HOFFMANN; MOTA, 2018; URSELL *et al.*, 2014). É importante salientar que a MI é reconhecida como um importante fator envolvido na gênese de doenças metabólicas, assim como é considerada um órgão endócrino relacionado com a manutenção da homeostase energética e imunidade do hospedeiro (CLARKE *et al.*, 2014; MARCHESI *et al.*, 2016). A alteração na composição da MI por fatores ambientais resultam em modificação na relação entre bactérias e hospedeiros, que quando em desequilíbrio, pode propiciar o processo inflamatório de baixo grau e distúrbios metabólicos (MARCHESI *et al.*, 2016).

Devido a grandes avanços na pesquisa para a determinação da composição da MI, a tecnologia molecular baseada no sequenciamento de ácido ribonucleico ribossômico (rRNA)16S tem sido cada vez mais empregada (SWANSON *et al.*, 2020). A vantagem do sequenciamento é a capacidade de analisar composições microbianas complexas com alto rendimento e baixo custo.

Esta técnica pode ser aplicada em estudos clínicos em humanos avaliando amostras de fezes, o que não se torna invasivo (SHAHI *et al.*, 2019).

A biodiversidade da MI desempenha um papel importante no equilíbrio deste ecossistema, e estudo aponta que a diversidade pode estar relacionada ao estado de saúde do indivíduo e indicadores de *alfa* diversidade têm sido empregados para esse fim (GONG *et al.*, 2016; MANOR *et al.*, 2020; MAYER, NANCE & CHEN, 2022). Um trabalho aponta que valores reduzidos na *alfa* diversidade têm se associado a várias doenças agudas e crônicas (PICKARD *et al.*, 2017). Pinart *et al.* (2022), em uma meta-análise, avaliaram a diversidade e riqueza da MI, diferenças na abundância relativa de filo e gênero entre indivíduos com e sem obesidade. Este estudo mostrou que houve menor valor de *alfa* diversidade (índice de Shannon) em adultos com obesidade. Assim como, em relação à abundância relativa de filo, foi encontrada mais *Firmicutes* (*Bacillota*) e menos *Bacteroidetes* (*Bacteroidota*) em adultos com obesidade e quanto a proporção relativa de gênero, esta foi menor de *Bifidobacterium* e *Eggerthella* e maior de *Acidaminococcus*, *Anaerococcus*, *Catenibacterium*, *Dialister*, *Dorea*, *Escherichia-Shigella*, *Eubacterium*, *Fusobacterium*, *Megasphaera*, *Prevotella*, *Roseburia*, *Streptococcus* e *Sutterella* em indivíduos com obesidade *vs* eutróficos. Entretanto, os estudos ainda são inconclusivos.

Nos indivíduos saudáveis, a partir das análises de amostras fecais, pôde-se observar a presença de dois grandes filos, *Firmicutes* (*Bacillota*) e *Bacteroidetes* (*Bacteroidota*) (LOUIS *et al.*, 2010). O filo *Bacteroidetes*, considerado o mais predominante, principalmente com bactérias do tipo gram-negativo, com características fermentativas e capazes de modular o sistema imunológico de forma benéfica, e engloba os gêneros *Bacteroides*, *Prevotella*, *Parabacteroides* e *Alistipes*. Já o filo *Firmicutes* é gram-positivo, com algumas bactérias apresentando atividade imunomoduladora benéfica, enquanto outras relacionadas à inflamação. Este filo inclui espécies como *Faecalibacterium prausnitzii*, *Eubacterium rectale* e *Eubacterium hallii*, por exemplo (GOMES; HOFFMANN; MOTA, 2018; LOUIS *et al.*, 2010). Embora ainda controversa, a razão *Firmicutes/ Bacteroidetes*, vem sendo investigada e associada no desenvolvimento de doenças (MAGNE *et al.*, 2020). Além dos filos supracitados, outras bactérias são amplamente disseminadas no trato gastrointestinal dos seres humanos, porém com menor abundância, como as pertencentes aos filos *Proteobacteria*, *Verrucomicrobia*, *Actinobacteria*, *Fusobacteria* e *Cyanobacteria* (QIN *et al.*, 2010). Existe o relato de que a baixa abundância do filo *Proteobacteria* juntamente a abundância dos gêneros *Bacteroides*, *Prevotella* e *Ruminococcus* são encontrados na MI de indivíduos saudáveis (GOMES; HOFFMANN; MOTA, 2018; HOLLISTER; GAO; VERSALOVIC, 2014).

As bactérias que colonizam o intestino atuam na maturação do tecido linfóide associado a mucosa, previnem a colonização de patógenos, fazem fermentação de carboidratos de forma que sintetizam ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), assim como, a vitamina K e ácido linoleico conjugado produzido pelas várias espécies pertencentes aos filos *Firmicutes* e *Actinobacteria* (AL-LAHHAM *et al.*, 2010; KENNEDY *et al.*, 2010; QUEIPO-ORTUÑO *et al.*, 2013). Em acréscimo, estudos mostram que a MI pode se relacionar com fome e saciedade por meio da sinalização peptídica intestinal, pois os produtos bacterianos (AGCC, ácidos biliares secundários e lipopolissacarídeos) podem ativar as células enteroendócrinas modulando moléculas de sinalização parácrinas produzidas por enterócitos (COX *et al.*, 2010; GRIBBLE; REIMANN, 2019).

A ingestão de fibras dietéticas pode ser fermentada pelas bactérias intestinais colônicas formando AGCC, alguns dos quais são absorvidos na corrente sanguínea, outros usados como fonte de energia pelos colonócitos, assim como, podem fornecer substrato para a proliferação microbiana (HEALEY *et al.*, 2018; MAKKI *et al.*, 2018). Estudo conduzido em humanos, apontou que o AGCC, butirato, modificou a produção do peptídeo-YY, sugerindo que dietas ricas em fibras podem elevar a concentração plasmática deste hormônio, aumentando a saciedade (LARRAUFIE *et al.*, 2018). Outro estudo recente, mostrou que a MI pode influenciar a secreção do hormônio grelina, pois foi relatado que o acetato, propionato e butirato podem levar a diminuição na secreção deste hormônio. Da mesma forma, *Clostridium*, *Ruminococcus* podem se relacionar positivamente com a grelina e o aumento de *Bacteroidetes/Firmicutes*, *Faecalibacterium*, *Prevotellaceae* se relacionam negativamente, já os *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* podem se associar tanto positivamente quanto negativamente (LEEUEWENDAAL; CRYAN; SCHELLEKENS, 2021). Na última década, resultados mostram que determinada colonização bacteriana intestinal pode se associar com a obesidade (TSENG; WU, 2019; ZHAO, 2013).

Estudo em camundongos apontou que a composição da MI foi diferente entre os animais com obesidade e os eutróficos, submetidos a mesma alimentação, sendo na obesidade observada a redução de 50% na abundância de *Bacteroidetes* e aumento proporcional de *Firmicutes* (LEY *et al.*, 2005). Em humanos, a MI de indivíduos com obesidade apresenta desequilíbrio na proporção de *Firmicutes/Bacteroidetes*, por isso esta razão aparenta ser um biomarcador indicativo de suscetibilidade à obesidade (JOHN; MULLIN, 2016). Todavia, esta relação ainda é questionável, uma vez que, a influência da MI na adiposidade parece ser mais complexa do que um desequilíbrio na proporção destes filos de bactérias (JOHN; MULLIN, 2016; TURNBAUGH *et al.*, 2009). Em acréscimo, o filo *Firmicutes* pode se correlacionar de forma negativa com o GE,

positiva com a MGC, assim como, pode elevar a captação de energia frente ao consumo alimentar (JUMPERTZ *et al.*, 2011; KOCEŁAK *et al.*, 2013). Já o gênero *Bacteroides*, que pertence ao filo *Bacteroidetes* e o *Bifidobacterium*, pertencente ao filo *Actinobacteria* mostram relação inversa com a obesidade (COLLADO *et al.*, 2008; KASAI *et al.*, 2015).

De forma geral, os estudos variam sobre quais bactérias são mais afetadas pela obesidade (KIM *et al.*, 2021). Há relatos de que existe baixa diversidade e composição de bactérias nos indivíduos com obesidade, caracterizando o quadro de disbiose intestinal (KIM *et al.*, 2021). A disbiose intestinal pode ser descrita como a alteração na composição e função na MI em indivíduos com enfermidade quando comparado com os sem enfermidade (LEVY *et al.*, 2017). Porém, ainda não existe concordância sobre o que constitui a MI adequada e a deficiente. Estudo de revisão traz que na disbiose intestinal em indivíduos com obesidade são observadas maior presença de *Prevotellaceae*, *Veillonellaceae*, *Lachnospiraceae*, *Lactobacillus* spp., *Bacteroides fragilis*, *Roseburia* sp., *Faecalibacterium* sp., *Megamonas* spp., e *Prevotella* spp. (KIM *et al.*, 2021).

Apesar dos relatos de que a disbiose intestinal possa levar a distúrbios na saúde humana, incluindo o excesso de peso corporal, estudos atuais vêm explorando a influência de intervenções dietéticas como possíveis moduladores da MI (ANGOORANI *et al.*, 2021). Estudo recente aponta que alterar o tempo das refeições no dia, ou seja, consumir alimentos fora da fase normal de alimentação (período noturno), pode dessincronizar o ritmo circadiano e levar a modificação desfavorável na composição da MI, porém os mecanismos ainda não são claros (ASHER; SASSONE-CORSI, 2015; BISHEHSARI; VOIGT; KESHAVARZIAN, 2020; VOIGT *et al.*, 2014). No que tange ao FD, não há estudos disponíveis em humanos que retratam a sua influência na MI (PAOLI *et al.*, 2019).

Trabalho conduzido em suínos, apontou que diferentes FD, uma, três ou cinco vezes, não tiveram efeito significativo sobre a composição da MI (ZHANG *et al.*, 2021). Já outro estudo também em suínos, observou que os animais que realizaram duas OA por dia, comparados com os que tiveram alimentação livre, tiveram maior diversidade bacteriana, com maior proporção de *Subdoligranulum*, *Roseburia*, *Mitsuokella*, e *Terrisporobacter*, assim como menor de *unidentified Spirochaetaceae*, *Methanobrevibacter*, *unidentified Bacteroidales*, *Alloprevotella*, *Parabacteroides* e *Bacteroides* (YAN *et al.*, 2021). Sabendo dos relatos de que o FD possa modificar os períodos regulares de jejum entre as refeições com consequente possibilidade de melhorar o ritmo circadiano e a composição da MI em animais, é de importância considerável a proposta do atual projeto, pois irá analisar o perfil da MI entre diferentes FD em indivíduos com obesidade, tornando-o inédito.

2.6 Polimorfismo de um único nucleotídeo

O genoma humano apresenta cerca de trinta mil genes e a sequência genética no mesmo cromossomo é de aproximadamente 99,5% de semelhança entre todos os indivíduos, sendo somente uma pequena diferença nesta sequência capaz de proporcionar a variação genética entre os seres humanos (BRZEZINSKI; MICHELOTTI; SCHWINN, 2006). O genoma de cada indivíduo é único e composto por milhões de variações genéticas quando comparado com a sequência de referência ou entre os de outros indivíduos (CATERINA; MARTINEZ; KOHLMEIER, 2019). Estas variações interindividuais podem ser funcionalmente neutras, mas uma parte substancial pode se envolver, não só em características fenotípicas, como também na suscetibilidade ao desenvolvimento de doenças, respostas às intervenções terapêuticas ou comportamentais (CATERINA; MARTINEZ; KOHLMEIER, 2019). É citado que, quando a frequência populacional de uma variante exceder a 1% em uma determinada população, esta pode ser nomeada de polimorfismo (CATERINA; MARTINEZ; KOHLMEIER, 2019).

Os polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) são alterações em bases únicas do nucleotídeo (Adenina, Guanina, Citosina ou Timina), que é uma unidade de construção do ácido desoxirribonucleico (*deoxyribonucleic acid*, DNA), e ocorrem em um determinado local no cromossomo fornecendo marcadores genéticos úteis para fenótipos clínicos (BRZEZINSKI; MICHELOTTI; SCHWINN, 2006). Os SNPs acontecem naturalmente no DNA dos indivíduos, sendo observados a cada 300-2000 pares de bases em todo o genoma e existem, em média, 84,7 milhões destes polimorfismos, incluindo regiões codificantes (éxons) e não codificantes (íntrons) dos genes (ALWI, 2005; THE 1000 GENOMES PROJECT CONSORTIUM, 2015). Quando o SNP ocorre em regiões codificadoras, este pode ser sub-classificado em sinônimo (silencioso), quando não há modificação na sequência do aminoácido codificado, ou em não-sinônimo, quando altera a sequência de aminoácido com conseqüente comprometimento da proteína codificada (*missense*) ou produzir um códon de parada (*nonsense*) (PASTERNAK, 2005). Contudo, os SNPs não sinônimos nas regiões codificantes podem afetar a função e/ou estrutura de proteínas, atuando como marcadores para suscetibilidade molecular ao desenvolvimento de doenças (STALIN *et al.*, 2022).

O Projeto Genoma Humano, combinado com o Projeto HapMap, contém um banco de dados validados de SNPs (dbSNP – incorporado ao *National Center for Biotechnology* - NCBI) com aproximadamente dez milhões de variantes comuns bem caracterizadas em diferentes populações mundiais. Estima-se que o HapMap possua 80% de todos os SNPs com frequência maior do que 10%. Cada SNP possui um registro particular indicado como “#rs” seguido do

número definido pela ordem de cadastro no banco (GONZAGA-JAUREGUI; LUPSKI; GIBBS, 2012; INTERNATIONAL HAPMAP CONSORTIUM, 2003). Na última década, os avanços tecnológicos em biologia molecular permitiram o estudo de modificações genéticas e de tecnologia de sequenciamento do DNA, e vem possibilitando a análise de todo espectro da variação genética humana, auxiliando na descoberta de novos mecanismos de doenças (LOGSDON; VOLLGER; EICHLER, 2020).

A partir do Projeto Genoma Humano, iniciado na década de 1990, pôde-se permitir entendimentos sobre genômica nutricional, que consiste na verificação da interação entre nutrientes, dieta e a expressão genética, área que vem sendo cada vez mais explorada (CHADWICK, 2004; MATHERS, 2017). Ordovas e Corella (2004) trazem a definição de dois termos nesta temática: a nutrigenética, que engloba o efeito da variação genética na relação entre dieta e doença, com implicações potenciais para a “personalização” das recomendações dietéticas; e a nutrigenômica, na qual permite entender o efeito de nutrientes no genoma, proteoma e metaboloma. Dhanapal *et al.* (2022) apontam que a nutrigenômica, nutrigenética e epigenômica nutricional são subáreas da genômica nutricional e cada uma aborda aspectos diferentes entre si. Como foi citado anteriormente, a nutrigenética compreende o efeito das variações genéticas nas respostas individuais aos nutrientes e à dieta, e é nesta temática que o presente estudo foi elaborado. Estudos apontam que são necessárias mais investigações sobre a interação genótipo-dieta no que tange às intervenções dietéticas aplicadas no tratamento da obesidade (GONI *et al.*, 2016; BAYER *et al.*, 2020).

Há a estimativa de que 40 a 70% da variação na propensão à obesidade acontece pelas diferenças genéticas interindividuais (MAES; NEALE; EAVES, 1997; ELKS *et al.*, 2012). Os estudos de associação ampla do genoma (*Genome Wide Association Studies* - GWAS) para os indicadores de adiposidade corporal identificaram mais de 300 de SNPs (THORLEIFSSON *et al.*, 2009; GOODARZI, 2018; LOOS & YEO, 2022). A obesidade poligênica ocorre por modificações de múltiplos genes influenciados por fatores ambientais, conferindo a suscetibilidade ao excesso de adiposidade (ALBUQUERQUE *et al.*, 2015). São descritos alguns SNPs que podem afetar a ingestão alimentar e regulação no balanço energético e se relacionar com obesidade, como nos genes *FTO*, *MC4R*, *CLOCK*, *GHSR*, *GHRL*, *LEP*, *LEPR*, *RETN* e *ADIPOQ* (SPEAKMAN, 2015; PEAKMAN, 2015; DA FONSECA *et al.*, 2017; JOATAR *et al.*, 2017; ZAYANI *et al.*, 2017; BALDINI; PHELAN, 2019; BECER; ERGOREN, 2021; RAHATI, 2022; SUPTI *et al.*, 2024). No entanto, não é descrito até o momento estudos que avaliem a influência destes SNPs supracitados na adesão a tratamento dietético com diferentes FD em mulheres brasileiras com obesidade, sendo um importante alvo de estudo.

2.6.1. Polimorfismo no gene *FTO*

Em 2007, a variação no gene associado com obesidade e massa gorda, conhecido como *FTO* (*fat mass and obesity associated – FTO*), foi a primeira relacionada com a susceptibilidade à obesidade pelo GWAS por se associar com a MGC e o IMC (FRAYLING *et al.*, 2007; SCUTERI *et al.*, 2007). Posteriormente, vários estudos incluindo diferentes populações de ascendência europeia, asiática, africana e brasileira, por exemplo, mostraram associação deste polimorfismo com peso e adiposidade corporal na população adulta (CHO *et al.*, 2009; SPELIOTES *et al.*, 2010; RAMOS *et al.*, 2011; MONDA *et al.*, 2013; DA FONSECA *et al.*, 2019).

O *FTO* é composto por nove éxons e oito íntrons localizado no cromossomo 16q12.2 (Figura 2). O gene é expresso principalmente no hipotálamo e codifica uma desmetilase de ácido nucleico (N6-metiladenosina (m6A)) dependente de 2-oxiglutarato (intermediário do ciclo do ácido cítrico), que se relaciona com o BE (GERKEN *et al.*, 2007; DENG *et al.*, 2018). A enzima m6A age como catalisadora na desmetilação de DNA e do RNA, por isso sugere-se que o *FTO* possa regular a expressão de outros genes através da modificação de seus estados de metilação-desmetilação (GERKEN *et al.*, 2007; MIZUNO, 2018). Esta reação pode acontecer em alguns tecidos, principalmente no núcleo arqueado do hipotálamo, local no qual se regula a homeostasia energética. Portanto, alterações pontuais neste gene podem se relacionar com modificação no BE e na composição corporal (GERKEN *et al.*, 2007; CHEN; DU, 2019). Contudo, a função do *FTO* não é completamente compreendida, apesar de haver relatos da sua influência na saciedade, consumo alimentar e GE (QI *et al.*, 2014; DA FONSECA *et al.*, 2019).

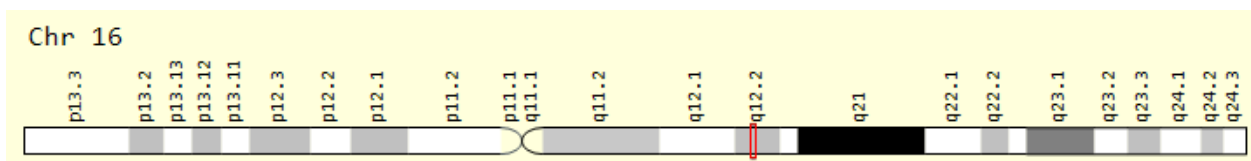


Figura 2. Localização genômica da variante *FTO*

Fonte: <https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=FTO>

Dentre os SNPs do *FTO* relacionados com a adiposidade, o rs9939609 tem sido o mais investigado com a obesidade desde a descoberta por Frayling *et al.* (2007) e corresponde a substituição da base Timina por Adenina (T>A). Indivíduos com alelos variantes rs9939609 (homozigoto=AA e heterozigoto =AT) são predispostos a maior adiposidade do que aqueles com

alelo do tipo selvagem (TT) (INTERNATIONAL HAPMAP CONSORTIUM, 2003; MEHRDAD *et al.*, 2020).

É importante salientar que o gene *FTO* está relacionado com o hormônio intestinal orexígeno grelina na sua forma ativa, a qual regula a ingestão alimentar. O genótipo AA é capaz de influenciar a concentração plasmática de grelina ativa, pois em modelos celulares, a elevação na expressão de *FTO* reduziu a metilação do mRNA da grelina m6A, elevando as concentrações de mRNA e peptídeo da grelina, predispondo a desajuste no consumo calórico (KARRA *et al.*, 2013). Estudo avaliando 199 indivíduos adultos com sobrepeso residentes no Irã, concluiu que a variante do *FTO* se associou com a maior ingestão alimentar e preferencialmente por alimentos ricos em carboidratos e lipídios (MEHRDAD *et al.*, 2020).

Estudo multicêntrico na população brasileira (4084 adultos), traz que dentre os indivíduos com obesidade (528 adultos - IMC maior do que 30kg/m²) a frequência genotípica de AA foi de 16,7% e AT 50,6%. Ao avaliar segundo os sexos, as mulheres tenderam ao maior percentual de ocorrência do alelo de risco, comparadas com os homens, porém sem diferença estatística entre eles (CASTRO *et al.*, 2021). No que tange a presença do polimorfismo *FTO* se relacionar com a adesão a tratamento dietético, um único estudo com 126 mulheres brasileiras com obesidade, mostrou que a presença do alelo de risco (A) levou ao menor benefício da intervenção dietética hipocalórica, uma vez que as portadoras deste alelo alcançaram menor redução no PC (DO NASCIMENTO *et al.*, 2019). Neste estudo, a frequência de ocorrência AA foi de 28,57% (36 mulheres) e de AT de 43,65% (55 mulheres). Estudo de meta-análise sugere que os portadores homozigotos AA predisponentes à obesidade, podem perder mais peso por meio de intervenção dietética hipocalórica, mesmo assim, mais investigações são necessárias (XIANG *et al.*, 2016). Uma possível explicação para esse efeito é que o alelo de risco A foi associado a uma redução no apetite durante a intervenção com dieta hipocalórica (HUANG *et al.*, 2014; XIANG *et al.*, 2016). Contudo, até o momento não há trabalhos que avaliem a influência da variante do *FTO* na adesão a intervenção dietética hipocalórica com diferentes FD em mulheres brasileiras com obesidade.

2.6.2 Polimorfismo no gene *MC4R*

O Receptor de melanocortina-4 (*MC4R*, do inglês *melanocortina-4 receptor*) pertence à classe dos receptores associados à proteína G distribuído principalmente no hipotálamo, região envolvida no controle do apetite, regulação da saciedade e GE (YAZDI *et al.*, 2015; RAJAGOPAL; SHENOY, 2018). O *MC4R* expresso no sistema nervoso central está envolvido na regulação da homeostase energética (FAN *et al.*, 1997). Após a ingestão alimentar, há a liberação de melanocortina, hormônio estimulador de melanócitos α e β que ocasionam a ativação de

neurônios que expressam *MC4R*, levando a redução na ingestão alimentar (FAN *et al.*, 1997; COWLEY *et al.*, 2001).

Está bem estabelecido que a ligação de peptídeos derivados da POMC (α - β -MSH [hormônio estimulador de melanócitos]) ao MC4R ligado à membrana ativa proteínas G e estimula a produção de AMP cíclico (cAMP) para reduzir a ingestão de alimentos no estado alimentado. É importante salientar que o hormônio leptina afeta a transcrição da POMC, que dentre os produtos finais tem o melanócito α liberado na sinapse e ativando neurônios via ligação ao receptor de melanocortina para suprimir o apetite (SCHWARTZ *et al.*, 2000; BROUWERS *et al.*, 2021).

Na obesidade, comumente a via leptina-melanocortina mencionada anteriormente está desregulada (COWLEY *et al.*, 2001). O estudo do GWAS, aponta que a variação no gene *MC4R* predispõe a obesidade poligênica (LOOS *et al.*, 2008). São citadas várias variantes do *MC4R* associados à adiposidade, dentre estas o rs17782313 é o que vem sendo continuamente explorado no que tange ao aumento no IMC e do consumo alimentar (YU *et al.*, 2020). O polimorfismo no gene *MC4R* parece alterar a capacidade de ligação do ligante entre *MC4R* e o hormônio estimulador de α -MSH ou/e peptídeo relacionado a Agouti, influenciando ainda mais toda a ingestão de energia (RANADIVE & VAISSE, 2008; YU *et al.*, 2020). A localização deste gene é no cromossomo 18q21.32 e a variação no *MC4R* corresponde a substituição da Timina por Citosina (T>C) (**Figura 3**).

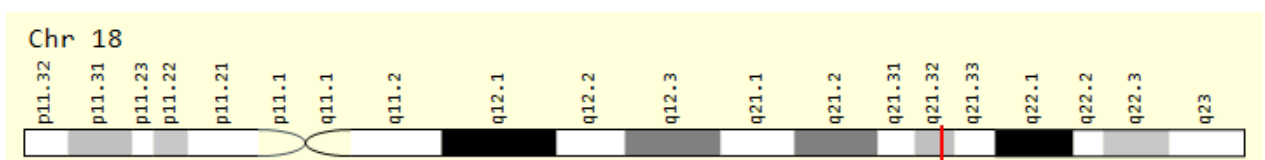


Figura 3. Localização genômica da variante *MC4R*

Fonte: <https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=MC4r>

Há relato de que o SNP *MC4R* rs17782313 se correlaciona com maiores valores de leptina circulante (ARRIZABALAGA *et al.* 2014). Como mencionado anteriormente, a sinalização da leptina modula o equilíbrio energético mediante uma combinação de vias dependentes e independentes da melanocortina (LOID *et al.*, 2020). No entanto, apesar de elevadas concentrações de leptina, na obesidade há diminuição da sensação de saciedade. Magno *et al.* (2021) mostraram que indivíduos com obesidade e polimorfismo *MC4R* apresentavam maior

prevalência de compulsão alimentar grave com pelo menos um alelo de risco. Foi proposto que quando o *MC4R* não é sintetizado ou sua funcionalidade é deficiente, não gera inibição do apetite e a associação do rs17782313 com leptina apoia esta hipótese (CARRASCO-LUNA *et al.*, 2023).

Alguns estudos de associação trazem que indivíduos com obesidade e portadores do alelo de risco “C” apresentam maiores concentrações do hormônio grelina, apesar de não haver um consenso entre eles. A grelina ativa atua no hipotálamo aumentando a fome, pois diminui a atividade dos neurônios da POMC e eleva a ação dos peptídeos relacionado a Agouti (DIETRICH; HORVATH, 2013; GIRARDET; BUTLER, 2014). Estudo de coorte conduzido com 282 adultos árabes mostrou associação entre portadores da variante TC e CC com aumento de grelina ativa, estando correlacionado com a obesidade quando (HAMMAD *et al.*, 2020). Outro estudo conduzido com 77 mulheres com obesidade não encontrou diferença nas concentrações plasmáticas de grelina entre as portadoras do polimorfismo (TC+CC), comparadas com as portadoras do genótipo TT (ARRIZABALAGA *et al.*, 2014). Magno *et al.* (2021) mostraram que indivíduos com obesidade e portadores do alelo “C” apresentavam altas concentrações plasmáticas de grelina, mas não encontraram diferença no apetite entre os seus grupos de estudo. Contudo, mais estudos são necessários para avaliar a variação *MC4R* na secreção de grelina ativa.

Na população brasileira, estudo com 4084 adultos apontou que a frequência de ocorrência dos genótipos do *MC4R* na obesidade (528 indivíduos) corresponderam a 3,2% e 38,7% de CC e CT, respectivamente, com diferença significativa entre os sexos, sendo as mulheres com maior frequência genotípica (CC 5,1%, CT 40,2%), comparada com os homens (CC 3,7%, CT 36,9%) (CASTRO *et al.*, 2021). Ao analisar a presença de *MC4R* influenciando a adesão a intervenção dietética, estudo incluindo 77 mulheres com obesidade apontou que a presença do alelo de risco “A” do *FTO* rs9939609 e/ou o alelo de risco “C” do *MC4R* rs17782313 não modificou a perda de massa corporal, a MGC e a TMR após dieta hipocalórica por de 12 semanas (LABAYEN *et al.*, 2015). Assim como observado no gene *FTO*, até o momento não há trabalhos que avaliem a presença da variante do *MC4R* na adesão a intervenção dietética hipocalórica com diferentes FD em mulheres brasileiras com obesidade.

2.6.3 Polimorfismo no gene *CLOCK*

Todos os seres humanos são compostos por relógios circadianos internos (central e periféricos) que organizam temporalmente as funções biológicas em relação ao meio ambiente, por exemplo (GARAULET *et al.*, 2012; GARAULET & MADIRD, 2010). Tais relógios, são capazes de gerar ritmos fisiológicos e comportamentais por meio de circuitos de expressão genética dispostos em ciclos de *feedback* negativo (GARAULET & MADIRD, 2010). Os ciclos

circadianos de saída locomotora *kaput* (*CLOCK*, do inglês *circadian locomotor output cycles kaput*), compõem essencialmente a via regulatória positiva no relógio biológico humano (GARAULET *et al.*, 2012; DOI *et al.*, 2006).

O gene *CLOCK* está localizado no cromossomo 4q12, possui 25 éxons abrangendo 115,138 kb (**Figura 4**). Este codifica a proteína *CLOCK*, envolvida na regulação transcricional de muitos genes circadianos de saída e no relógio circadiano central, e a interrupção no *locus CLOCK* pode afetar a regulação da transcrição (PANDA *et al.*, 2002; OISHI *et al.*, 2003; XU *et al.*, 2010). Este fator de transcrição é capaz de afetar várias vias metabólicas, como o metabolismo energético, de glicose e lipídios, em órgãos-alvo, incluindo músculo, fígado e tecido adiposo (YANG *et al.*, 2006).

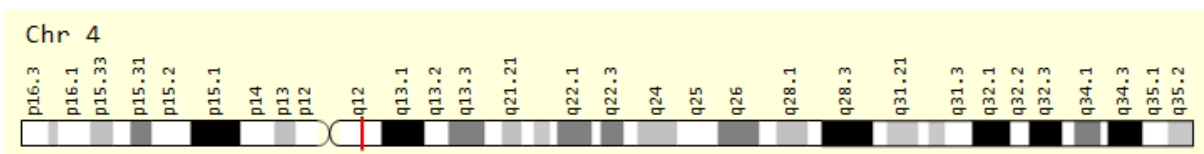


Figura 4. Localização genômica da variante *CLOCK*

Fonte: <https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=CLOCK&keywords=rs1801260>

Estudos mostram que polimorfismos no gene supracitado pode estar relacionado com a obesidade, como no rs1801260 que consiste na substituição de nucleotídeo Timina para Citosina (T>C) na posição 3111 da sequência de DNA (TUREK *et al.*, 2005; LOPEZ-MINGUEZ *et al.*, 2016). Estudo conduzido com 403 indivíduos iranianos com sobrepeso e obesidade, apontou que a frequência do alelo menor (C) do polimorfismo rs1801260 foi de 37% e estes apresentaram alterações na concentração de grelina plasmática, tendência ao aumento na ingestão calórica, de carboidratos e gordura, bem como atraso na ingestão de refeições, afetando a obesidade (RAHATI *et al.*, 2022). Galbete *et al.* (2012), em um estudo com 903 europeus, mostraram que a frequência genotípica do alelo de risco (TC+CC) foi de 58,9%. Até o momento não há relato da frequência de ocorrência em indivíduos brasileiros adultos com obesidade, tornando o nosso estudo pioneiro.

Ao avaliar o efeito da variante no gene *CLOCK* na adesão à dieta hipocalórica no padrão mediterrâneo, Garaulet *et al.* (2010) mostraram que europeus com sobrepeso e obesidade portadores do polimorfismo rs1801260 (TC+CC) perderam menos peso comparados com os não portadores. Portanto, portadores do alelo de risco (C) podem apresentar maior grau de obesidade e dificuldade em perder peso em resposta a uma dieta hipocalórica. Não encontramos até o

momento estudos que avaliem o efeito desta variante na adesão à dieta hipocalórica com diferentes FD na obesidade.

2.6.4 Polimorfismos nos genes *GHRL* e *GHSR*

O gene da grelina (*GHRL*, do inglês ghrelin) foi descrito pela primeira vez em 1999, sendo responsável por codificar o peptídeo cérebro-intestinal grelina (KOJIMA *et al.*, 1999). A grelina é um hormônio que desempenha ação importante no controle do apetite e no peso corporal, por exemplo; e as variações no *GHRL* podem levar a alterações na proteína (hormônio grelina) e afetar a sua função (BECER; ERGOREN, 2021). A localização deste gene é no cromossomo 3p25.3 e a variação no *GHRL* corresponde a substituição da Guanina por Timina (G>T), resultando na troca do aminoácido leucina por uma metionina na posição 72 no éxon 2 da região codificadora do gene da pré-progrelina (peptídeo precursor da grelina) (**Figura 5**). Posteriormente, a pré-grelina sofre clivagem e forma a pró-grelina e, no processo pós-traducional, são formados dois peptídeos: a grelina e a obestatina (ZHANG *et al.*, 2005).

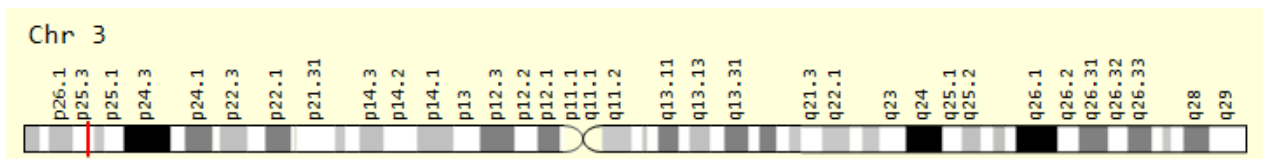


Figura 5. Localização genômica da variante *GHRL*

Fonte: <https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=GHRL&keywords=GHRL>

O SNP rs696217 é o que vem sendo investigado na obesidade e estudos mostraram associação significativa com o excesso de peso corporal em algumas populações, mas não em outras (GHALANDARI; HOSSEINI-ESFAHANI; MIRMIRAN, 2015; KUZUYA *et al.*, 2006; UKKOLA *et al.*, 2001; BECER; ERGOREN, 2021). Mesmo que este polimorfismo não pareça induzir alteração na sequência da grelina madura, as modificações resultantes na estabilidade do mRNA ou no processamento da proteína podem causar secreção, ou atividade modificada da grelina, todavia os mecanismos ainda não são bem elucidados (LEE *et al.*, 2006; PÖYKKÖ *et al.*, 2003; TANAKA *et al.*, 2001; UKKOLA *et al.*, 2001).

Zarella *et al.* (2008) observaram que dentre os 1420 indivíduos caucasianos, os portadores do polimorfismo homozigotos mostraram o aumento na grelina total em jejum, em concordância com os achados de Ukkola *et al.* (2001), que observaram em 3004 indivíduos que os portadores do polimorfismo rs696217 mostraram elevação na concentração deste hormônio. Já estudo

conduzido por Vivenza et al. (2004) relatou que o polimorfismo rs696217 não teve impacto na grelina total e na acilada. Trabalho com mulheres japonesas com baixo peso apontou que os genótipos TG e TT apresentaram maiores valores de grelina ativa comparados com o GG e não houve diferença na concentração de grelina inativa. Em contrapartida, nas mulheres com peso adequado e obesidade não houve diferença na grelina entre os genótipos (TAKEZAWA *et al.*, 2013). Estudo transversal realizado com 264 mulheres japonesas de diferentes estados nutricionais, observou associação do SNP da pré-grelina com aumento da grelina ativa em jejum e maiores valores de IMC, porém, mais estudos são necessários (ANDO *et al.*, 2007).

Um ensaio clínico incluindo 109 mulheres com obesidade, não encontrou efeito do polimorfismo *GHRL* rs696217 (frequência alélica de 27,9%) na perda de peso induzida por dieta hipocalórica, por sete semanas, e incentivam que novos estudos avaliem a resposta de um plano alimentar hipocalórico na massa corporal em indivíduos com ou sem os polimorfismos (SALIBA *et al.*, 2014).

Além do polimorfismo do gene da *GHRL*, é citada a variante no receptor do hormônio do crescimento-secretagogo (*GHSR*) ou receptor da grelina que pode se relacionar com a obesidade poligênica (GUEORGUIEV *et al.*, 2009; MAGER *et al.*, 2008). O gene *GHSR*, localizado no cromossomo 3q26.31 (**Figura 6**), codifica uma proteína da família dos receptores acoplados à proteína G e é expresso principalmente no hipotálamo e hipófise (HOWARD *et al.*, 1996). Quando ocorre a adição de um grupo octanoil ao resíduo de serina na posição três da grelina, esta proteína se torna ativa, favorecendo a passagem pela barreira hematoencefálica e permitindo a sua ligação no seu receptor *GHSR* para desempenhar a sua função (KOJIMA; KANGAWA, 2005). Existe o relato de que em jejum prolongado, ocorre o aumento na expressão do *GHSR* no hipotálamo, o que poderia favorecer a amplificação da ação da grelina e também, independente da ação da ligação da grelina, pode haver uma sinalização do receptor para o aumento da fome (HOLST; SCHWARTZ, 2004). Este fato se explica, pois foi demonstrado que o *GHSR* sinaliza com atividade de aproximadamente 50% mesmo na ausência de um agonista (HOLST *et al.*, 2003).

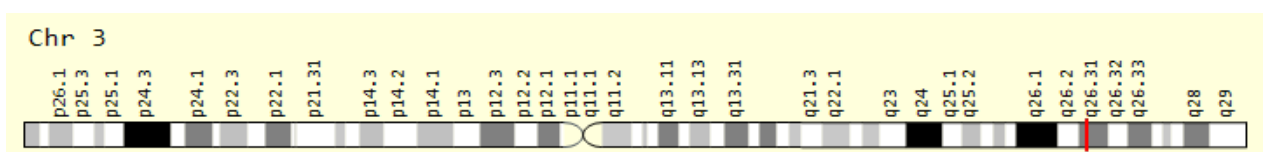


Figura 6. Localização genômica da variante *GHRS*

Fonte: <https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=GHSR&keywords=GHSR>

A variação no gene *GHSR* traz consequências funcionais na expressão deste receptor, o SNP rs572169, caracterizado pela substituição de uma Guanina por Adenina (G>A) na posição 477, vem sendo investigado na obesidade, mas os estudos ainda são inconclusivos ao analisar diferentes populações (GUEORGUIEV *et al.*, 2009; MARTIN; LOREDO; SUN, 2008). Estudo com 351 mulheres brasileiras com obesidade grave, diabetes mellitus tipo 2 e hipertensão arterial sistêmica, encontrou frequência genotípica GG de 60% (211) e de GA + AA (140) de 40% (SCHNOR *et al.*, 2017). Assim como para a variação no gene *GHRL*, não há estudos que analisem a influência do polimorfismo do *GHSR* na adesão dietética hipocalórica com diferentes FD por dia e no peso corporal de mulheres com obesidade.

2.6.5 Polimorfismos nos genes *LEP* e *LEPR*

Polimorfismos nos genes que codificam a proteína leptina (*LEP*) e o seu receptor (*LEPR*), vêm sendo cada vez mais investigados, pois há relatos de que podem se associar à obesidade e suas complicações. Entretanto, os estudos até o momento são inconclusivos (RANKINEN *et al.*, 2006; BOUAFI *et al.*, 2023; PRODAN *et al.*, 2023). Supti *et al.* (2024) trazem, em uma meta-análise, que houve associação entre polimorfismo no gene *LEPR* e a obesidade ao avaliar indivíduos de diferentes origens étnicas.

Dentre os SNPs mais estudados do gene *LEP*, pode-se encontrar o rs7799039, que está localizado no cromossomo 7, caracterizado pela substituição de uma Guanina por uma Adenina (G>A) (BOUMAIZA *et al.*, 2012) (**Figura 7**). Embora ainda não haja consenso entre os estudos, com diferentes etnias sobre a associação deste polimorfismo com a obesidade, esta associação pode ser explicada pelo fato deste polimorfismo estar localizado na região promotora do gene *LEP*, e por isso, sugere-se que esta região possa conter elementos inibitórios da transcrição em adipócitos (GONG *et al.*, 1996; SHRAMKO *et al.*, 2022).

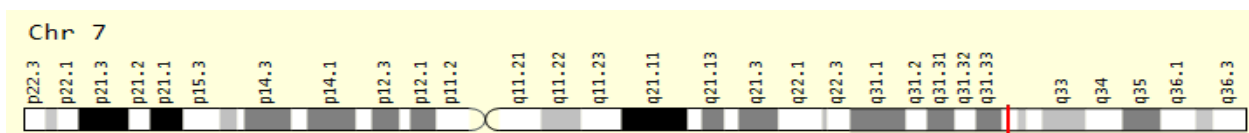


Figura 7. Localização genômica da variante *LEP*

Fonte: <https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=LEP&keywords=rs7799039>

Estudos de associação apontam que o polimorfismo neste gene na obesidade se relaciona a alterações nas concentrações plasmáticas deste hormônio, são observadas tanto a

hiperleptinemia quanto a hipoleptinemia, assim como, outro não encontra diferença na concentração de leptina (BEN ALI *et al.*, 2009; OKPECHI *et al.*, 2010; MANJU *et al.*, 2022; SABI *et al.*, 2022). Manju *et al.* (2022) traz que as maiores concentrações de leptina encontradas nos indivíduos com obesidade e o alelo de risco “A” pode influenciar na taxa de transcrição do gene da leptina, resultando em maiores concentrações de leptina plasmática. Estudo conduzido por Hoffstedt *et al.* (2002) relata um aumento na afinidade de ligação ao DNA com a presença do alelo “A”, o que pode influenciar a expressão da leptina no nível transcricional, portanto, a concentração plasmática pode ser aumentada.

No que tange ao polimorfismo no *LEPR*, o SNP rs1137101 é um dos mais estudados (SUPTI *et al.*, 2024). Este polimorfismo consiste na substituição de uma Arginina por uma Guanina (A>G), podendo interromper a via de sinalização da leptina com consequente impacto no peso corporal (**Figura 8**) (YIANNAKOURIS *et al.*, 2001; LIU *et al.*, 2015). Estudos apontam que ele pode estar associado ao aumento do peso corporal e concentração plasmática de leptina devido à sua capacidade danificada de sinalização. No entanto, apenas alguns trabalhos comprovaram as associações do SNP *LEPR* com excesso de peso e leptina (BEN ALI *et al.*, 2009). Em mexicanos com eutrofia, foi observado que os indivíduos com o polimorfismo no *LEPR* tiveram maior concentração de leptina plasmática comparados com os sem o alelo de risco (ANGEL-CHÁVEZ *et al.*, 2018).

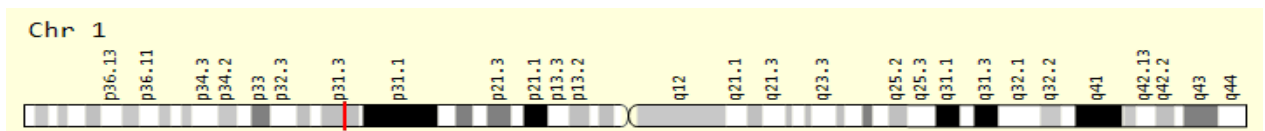


Figura 8. Localização genômica da variante *LEPR*

Fonte: <https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=LEPR&keywords=rs1137101>

Estudo com mulheres gestantes brasileiras mostrou que as frequências de alelos de risco para *LEP* rs7799039 e *LEPR* rs1137101 foram 31,4% e 50,3%, respectivamente (MARTINS, M. C. *et al.*, 2017). Ao analisar mulheres brasileiras com obesidade, Schanor *et al.* (2017) mostraram que a frequência genotípica para o *LEP* foi de 15% para AA e 85% para AG + GG. Já para o *LEPR*, observaram 21% para GG e 79% para AG + AA. Em adultos com obesidade de origem saudita, a frequência de ocorrência dos genótipos GA, GG e AA para o polimorfismo *LEP* foi de 38,8%, 40,0% e 21,2%, respectivamente (SAUDI *et al.*, 2022).

Ao avaliarmos a presença dos polimorfismos nos genes *LEP* e *LEPR* nas respostas à perda de peso após dieta hipocalórica, os estudos ainda são escassos. Primo *et al.* (2021), mostraram

que indivíduos com um alelo “A” da variante *LEP* rs7799039 apresentaram uma melhora significativa no CT e TG plasmáticos após perda de peso secundária a uma dieta hipocalórica com duas ingestões diárias de uma fórmula hiperproteica e normocalórica, durante 12 semanas. Até o momento, não foi encontrado estudo que avaliasse a influência dos polimorfismos do gene *LEP* e *LEPR* na resposta à ingestão de dietética hipocalórica com diferentes FD por dia e no peso corporal de mulheres com obesidade.

2.6.6 Polimorfismos nos genes *RETN* e *ADIPOQ*

A resistina é um hormônio (adipocitocina) sinalizador, encontrada em camundongos na maioria nos adipócitos, mas em humanos é expressa principalmente por monócitos e macrófagos (PATEL *et al.*, 2003; MCTERNAN *et al.*, 2006; NOGUEIRAS *et al.*, 2010). A resistina é capaz de estimular a expressão de citocinas pró-inflamatórias (IL-6, IL-8 e TNF- α), assim como, a sua própria expressão também está sob regulação de fatores inflamatórios (SILSWAL *et al.*, 2005; ZHANG *et al.*, 2010). Um estudo mostrou que o gene que codifica a proteína resistina (*RETN*) pode ser quatro vezes mais expresso em adipócitos brancos subcutâneos e abdominais humanos do que em adipócitos da coxa, indicando que poderia desempenhar um papel importante na resistência à insulina relacionada à obesidade (MCTERNAN *et al.*, 2006).

Apesar de não haver consenso, o polimorfismo que codifica esta proteína pode estar associado à obesidade (ENGERT *et al.*, 2002; MATTEVI *et al.*, 2004). O *RETN* está localizado no cromossomo 19p13.3, onde alguns SNPs foram identificados, incluindo rs1862513 que consiste na substituição de uma Citosina por uma Guanina (C>G) (**Figura 9**). Este SNP é um dos mais frequentemente estudados e parece aumentar a expressão de resistina no sangue e nos tecidos, contribuindo para o desenvolvimento de resistência à insulina e obesidade, por exemplo, apesar de também não haver consenso na literatura (EL-SHAL *et al.*, 2013; LUO *et al.*, 2022).

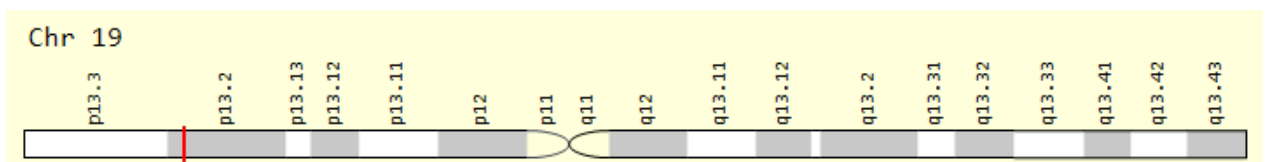


Figura 9. Localização genômica da variante *RETN*

Fonte: <https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=RETN&keywords=rs1862513>

O SNP da resistina, citado neste estudo, vem sendo estudado em relação ao risco de obesidade, no qual o genótipo GG parece ser mais encontrado na obesidade, e o alelo de risco G foi associado com aumento do IMC, peso, massa gorda corporal e PC (CHEN *et al.*, 2005;

ZAYANI et al., 2017; ZAYANI et al., 2018). Além disso, Cho *et al.* (2004) apontam que a presença do alelo de risco G resulta em aumento da resistina plasmática. Na população adulta brasileira foi observado que genótipo mais frequente foi o heterozigoto CG (51,4%), seguido pelo homozigoto GG (29,2%) e o homozigoto do tipo selvagem CC (19,4%) (RODRIGUES *et al.*, 2021). Em indivíduos adultos poloneses com sobrepeso e obesidade, a frequência genotípica foi 41,44% para CC, 46,37% para CG e de 12,29% para GG (MILLER-KASPRZA *et al.*, 2022).

De Luis *et al.* (2016), sugeriram que o genótipo GG pode ser um preditor da redução de HOMA-IR, insulina, glicemia de jejum e LDLc secundária a uma dieta hipocalórica seguida por três meses por indivíduos caucasianos com obesidade. Outro estudo mostrou que o genótipo GG poderia ser um preditor da redução de HOMA-IR, insulina e LDLc secundário a duas dietas hipocalóricas (rica em polinsaturada (22,7%) vs. monoinsaturada (67,5%)) em indivíduos com obesidade sem diagnóstico de diabetes *mellitus* do tipo 2 - duração de três meses (DE LUIS *et al.*, 2018). Apesar destes estudos, não encontramos até o momento trabalhos que avaliassem a influência dos polimorfismos do gene *RETN* na resposta a ingestão de dietética hipocalórica com diferentes FD por dia e no peso corporal de mulheres com obesidade.

Dentre as variantes genéticas relacionadas às adipocinas com efeitos hormonais associados a homeostase energética e à regulação do apetite, é mencionada também variantes do gene que codifica a adiponectina (*ADIPOQ*) (DA FONSECA *et al.*, 2017; MUÑOZ-YÁÑEZ *et al.*, 2017). É citado em alguns estudos que o polimorfismo no *ADIPOQ* pode se associar com elevados valores de IMC e adiposidade abdominal (LU *et al.*, 2014; MUÑOZ-YÁÑEZ *et al.*, 2017). O *SNP* rs182052 do gene *ADIPOQ* está localizado no primeiro íntron que contém um elemento intensificador da expressão gênica, podendo aumentar a atividade de seu promotor (QIAO *et al.*, 2005; DA FONSECA *et al.*, 2017). Esta variante consiste na substituição de uma Guanina por uma Adenina (G>A) (**Figura 10**). A frequência genotípica deste polimorfismo na população brasileira foi de 36,5% (n = 61) (GG), 49,1% (n = 82) (GA) e 14,4% (n = 24) (AA) (DA FONSECA *et al.*, 2017).

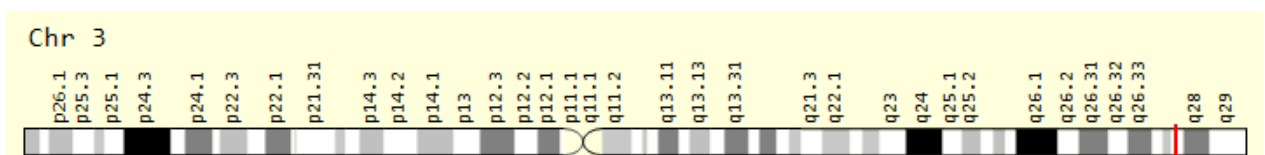


Figura 10. Localização genômica da variante *ADIPOQ*

Fonte: <https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=ADIPOQ&keywords=rs182052>

A adiponectina pode prevenir a obesidade ao mediar o GE, a ingestão alimentar, o processo inflamatório, a homeostase da glicose e o catabolismo de ácidos graxos (TASNIM, N. et al., 2023). Portanto, na redução de adiponectina plasmática, toda essa regulação supracitada fica prejudicada. As concentrações plasmáticas de adiponectina são em parte determinadas por influências genéticas (HENNEMAN *et al.*, 2010). Estudo avaliando americanos caucasianos, mostrou interação entre rs182052 com o PC e concentração plasmática de adiponectina, sendo os portadores do genótipo AA com uma redução de 15,6% da adiponectina e aumento do PC comparados com os genótipo GG (WASSEL *et al.*, 2010). Doo & Kim (2010), descobriram que o alelo A rs182052 em mulheres coreanas estava relacionado ao aumento do peso corporal e do IMC. Não encontramos até o momento estudos que avaliassem a influência dos polimorfismos do gene *ADIPOQ* na resposta à ingestão de dietética hipocalórica com diferentes FD por dia e no peso corporal de mulheres com obesidade.

O **quadro 1** traz um resumo de todos os polimorfismos citados para este estudo.

Quadro 1 - Descrição dos polimorfismos genéticos do estudo.

Referências	Polimorfismos	Possíveis efeitos	Localização
DO NASCIMENTO <i>et al.</i> , 2019; GERKEN <i>et al.</i> , 2007; FRAYLING <i>et al.</i> , 2007; DE LUIS <i>et al.</i> , 2020	<i>FTO</i> Timina->Adenina rs9939609 *Testado funcionalmente	-Associação com a adiposidade; mudança na percepção de saciedade e BE; -Elevação de grelina e do consumo alimentar;	Cromossomo 16q12.2 Chr.16: 53786615 - 53786615 na compilação GRCh38
ANDO <i>et al.</i> , 2007; GHALANDARI; HOSSEINI-ESFAHANI; MIRMIRAN, 2015; KUZUYA <i>et al.</i> , 2006	<i>GHRL</i> Guanina->Timina rs696217 *Testado funcionalmente	-Relação com o excesso de peso e elevação de grelina plasmática; -Aumento do consumo alimentar;	Cromossomo 3p25.3 Chr.3:10289773 na compilação GRCh38
GUEORGUIEV <i>et al.</i> , 2009; MARTIN; LOREDO; SUN, 2008	<i>GHSR</i> Guanina->Adenina rs572169 *Testado funcionalmente	-Relação com a adiposidade e atividade da grelina; -Aumento do consumo alimentar;	Cromossomo 3p26.31 Chr.3:172447937 na compilação GRCh38
LOOS <i>et al.</i> , 2008; YU <i>et al.</i> , 2020; LABAYEN <i>et al.</i> , 2015; CARRASCO-LUNA <i>et al.</i> , 2023	<i>MC4R</i> Timina->Citosina rs17782313 *Testado funcionalmente	-Aumento do IMC e consumo alimentar; -Elevação de grelina plasmática;	Cromossomo 18q21.32 Chr.18: 60183864 - 60183864 na compilação GRCh38
PRIMO <i>et al.</i> , 2021; ENGERT <i>et al.</i> , 2006; MATTEVI <i>et al.</i> , 2008; RODRIGUES <i>et al.</i> , 2021	<i>RETN</i> Citosina->Guanina rs1862513 *HapMap > Validado	-Associado com a obesidade, RI e inflamação; -Elevação da resistina plasmática;	Cromossomo 19p13.3 Chr.19: 7668907 - 7668907 na compilação GRCh38

BOUAFI <i>et al.</i> , 2023; SUPTI <i>et al.</i> , 2024; BOUMAIZA <i>et al.</i> , 2012; SAUDI <i>et al.</i> , 2023	<i>LEP</i> Guanina->Adenina rs7799039 *Testado funcionalmente	-Associado com a obesidade; -Alterar a leptina plasmática; - Aumento do consumo alimentar;	Cromossomo 7q31.3 Chr.7: 128238730 - 128238730 na compilação GRCh38
LIU <i>et al.</i> , 2015; PRIMO <i>et al.</i> , 2021; SUPTI <i>et al.</i> , 2024	<i>LEPR</i> Arginina->Guanina rs1137101 *HapMap > Validado	-Relação com aumento do peso ; -↑ leptina , baixa sinalização; -Aumento do consumo alimentar;	Cromossomo 1p31.3 Chr.1: 65592830 - 65592830 na compilação GRCh38
RAHATI <i>et al.</i> , 2022; LOPEZ-MINGUEZ <i>et al.</i> , 2016; GARAULET <i>et al.</i> , 2012; DOI <i>et al.</i> , 2006	<i>CLOCK</i> Timina->Citosina rs1801260 *Testado funcionalmente	-Associado com a obesidade; -Elevação de grelina plasmática e consumo alimentar;	Cromossomo 4q12 Chr.4: 55435202 - 55435202 na compilação GRCh38
SMETNEV <i>et al.</i> , 2019; HOWLADER <i>et al.</i> , 2021; DA FONSECA <i>et al.</i> , 2017;	<i>ADIPOQ</i> Guanina->Adenina rs182052 *Testado funcionalmente	-Associar ao aumento do IMC e adiposidade; - Reduzir a adiponectina.	Cromossomo 3q27.3 Chr.3: 186842993 - 186842993 na compilação GRCh38

3 Justificativa

O presente estudo denota relevância clínica, uma vez que a obesidade é um importante problema de saúde pública e se associa a inúmeras complicações crônicas. Somente considerando este fato, torna-se válido questionar e investigar estratégias que visem auxiliar na perda e na manutenção do peso corporal. Ademais, a intervenção dietética é imprescindível em qualquer terapia para perda de peso, tanto como medida principal, quanto complementar. Porém, a adesão a um plano alimentar disciplinado não é simples e são necessários estudos mais aprofundados para melhor entendimento dos mecanismos envolvidos nesta adesão. Portanto, a avaliação de polimorfismos relacionados ao metabolismo energético e consumo alimentar poderá ajudar a elucidar estas questões.

Os polimorfismos selecionados para este estudo vêm sendo estudados como possíveis influenciadores nos hormônios de fome e saciedade e no GE, o que pode repercutir no aumento do peso corporal. Dessa forma, investigá-los possibilitaria novas perspectivas de estudos de interação gene-ambiente nos indivíduos com obesidade. Além disso, são poucos os estudos controlados que avaliam estas variantes e sua relação com o consumo alimentar de mulheres com obesidade, e não há relatos da avaliação destes polimorfismos influenciando a adesão dietética hipocalórica com diferentes FD no dia.

Considerando os planejamentos alimentares para controle da obesidade, no que se referem ao FD, as evidências atuais são inconclusivas. Partindo da premissa de que a obesidade está sendo amplamente discutida no Brasil e no mundo, e que terapias com fundamentação científica têm apontado para alterações na frequência das refeições como possível estratégia coadjuvante para promoção da perda e manutenção do peso corporal, é de grande valia intensificar pesquisas clínicas para este fim, buscando contribuir para a prescrição dietética aplicada no controle da obesidade, tanto no âmbito clínico quanto coletivo.

Salienta-se que são poucos os estudos atualmente encontrados na literatura que avaliam o FD por dia e incluem na sua população indivíduos com obesidade, o que representa um viés importante ao considerarmos as particularidades metabólicas da doença. Assim como, não há estudos em humanos, até o atual momento, que avaliaram o FD influenciando a composição da MI, tornando o atual projeto inédito. Adicionalmente, a análise das possíveis interações envolvidas com os polimorfismos dos genes *FTO*, *LEP*, *LEPR*, *ADIPOQ*, *MC4R*, *GHSR*, *GHRL* e *CLOCK* e do FD com a perda de peso corporal se torna importante e, no estudo em questão, está incluída a investigação do comportamento alimentar, hormônio grelina ativa, leptina e adiponectina, da MI, do GE avaliado por CI, assim como, da composição corporal, o que torna a pesquisa inédita e atual.

4 Objetivos

4.1 Objetivo geral

Investigar a interação dos polimorfismos dos genes *FTO*, *LEP*, *LEPR*, *ADIPOQ*, *MC4R*, *GHSR*, *GHRL* e *CLOCK* com o FD de um plano alimentar hipocalórico na perda de peso, grelina, leptina, adiponectina, MI, indicadores metabólicos em mulheres com obesidade.

4.2 Objetivos específicos

a) Manuscrito 1: investigar a interação dos polimorfismos nos genes *FTO* (rs9939609), *MC4R* (rs17782313), *CLOCK* (rs1801260), *GHSR* (rs27647), *GHRL* (rs696217), *LEP* (rs7799039), *LEPR* (rs1137101), *RETN* (rs1862513), e *ADIPOQ* (rs182052) com o FD no peso e composição corporal, metabolismo energético, grelina ativa, leptina e adiponectina em mulheres brasileiras com obesidade;

b) Manuscrito 2 (Brief Communication): avaliar a relação do FD moderadamente hipocalórica na alfa diversidade da microbiota intestinal na obesidade;

c) Manuscrito 3: investigar o efeito do polimorfismo no gene *CLOCK* rs1801260 no consumo calórico e do jejum, no nível de atividade física, na composição e alfa-diversidade da microbiota intestinal, na obesidade.

5 Material e Métodos

5.1 Considerações éticas e elegibilidade

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa do Hospital Clementino Fraga Filho (CEP/HUCFF) no dia 04 de janeiro de 2021 sob o protocolo CAAE 37984720.2.0000.5257, número do parecer 4.488.216 e publicado no Registro Brasileiro de Ensaio Clínicos (ReBEC) com o número RBR-3p8346g (U1111-1264-7413, UTN-WHO) (**Anexo 1**). Todas as participantes assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE), conforme estabelecido pela Resolução 466/12, do Conselho Nacional de Saúde (**Anexo 2**).

Neste estudo, foram incluídas mulheres que já participaram da pesquisa previamente aprovada pelo CEP (sob o protocolo CAAE 97290918.2.0000.5257, número do parecer 3.015.648) e as que se interessaram após um novo recrutamento realizado no início do ano de 2023. O recrutamento aconteceu por meio da divulgação da pesquisa na página no Instituto de Nutrição Josué de Castro (INJC), de forma que as mulheres preencheram o formulário *online* com o nome, contatos e dados para a avaliação de alguns critérios de elegibilidade, assim como, por meio de cartazes afixados no campus da UFRJ, Ilha do Governador.

As elegíveis foram mulheres adultas de 20 a 45 anos, com obesidade classes I e II (IMC entre 30 e 39,9 kg/m²) (WHO, 1995, 2000), de qualquer raça ou cor, não menopausadas, sem alteração do peso corporal recentemente (\pm três quilos nos últimos três meses), que não tenham feito dietas para perder peso nos últimos três meses, assim como aquelas que não realizaram cirurgia bariátrica. Inelegíveis foram as atletas, usuárias de medicação ou suplementos para o controle de peso, uso crônico de antibióticos, probióticos, tabagistas, etilistas, com complicações cardíacas e respiratórias, diagnóstico clínico de diabetes *mellitus* tipos 1 e 2, hipotireoidismo descompensado, gestantes, lactantes, analfabetas e aquelas com câncer, hepatopatias, doença inflamatória intestinal e nefropatias graves. Além disso, não foram selecionadas as participantes que sugeriram quadro de compulsão alimentar grave, avaliado pela Escala de Comportamento Alimentar Periódica (ECAP).

Foram consideradas perda de seguimento as participantes que não cumpriram todo o protocolo proposto durante a intervenção ou que apresentaram intercorrências que interferiram na sua participação durante o estudo.

5.2 Desenho do estudo

Trata-se de um ensaio clínico randomizado e paralelo com duração de 90 dias (12 semanas) (**Figura 11**). Estudos apontam que a adesão dietética em indivíduos com obesidade reduz ao longo do tempo e o período de intervenção de 12 semanas pode trazer um menor percentual de desistência (PONZO *et al.*, 2021; MARTIN *et al.*, 2022). Além disso, estudos trazem que a resposta inicial à perda de peso pode se associar com resultados em longo prazo (UNICK *et al.*, 2015; UNICK *et al.*, 2017).

Todos os atendimentos aconteceram no Laboratório de Avaliação Nutricional (LANUTRI) do INJC. A primeira reunião objetivou checar os critérios de elegibilidade (**Anexo 3**), aplicar a ECAP, verificar o peso corporal e calcular o IMC. Na ocasião, foram oferecidas orientações gerais sobre a pesquisa, quanto ao preenchimento de registros dietéticos de três dias (dois dias típicos e um atípico) e os periódicos (após o início da dieta, um em cada reconsulta), preparo para coleta de fezes e sangue, para a avaliação do GE e da composição corporal. Além disso, os pesquisadores coletam outras informações por meio da aplicação dos questionários de dados gerais, nutricionais e clínicos (**Anexo 4**). As atividades físicas deveriam ser mantidas conforme o habitual e, em acréscimo, as participantes receberam esclarecimentos sobre o estudo e assinaram o TCLE. Os formulários para registros dietéticos de três dias foram entregues às participantes para serem devolvidos preenchidos no primeiro dia da intervenção.

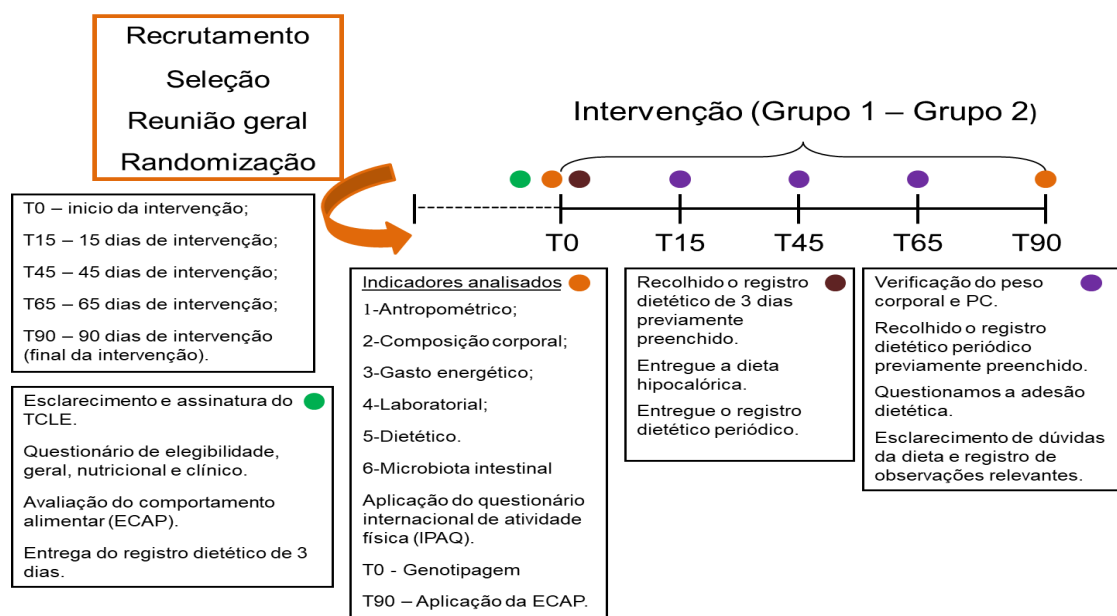


Figura 11. Esquema geral representativo do estudo.

As participantes selecionadas foram randomizadas em dois grupos: FD6 (dieta hipocalórica + fracionamento padrão - seis OA/dia) e grupo FD3 (dieta hipocalórica +

fracionamento reduzido - três OA/dia), por meio do *site*: <<https://www.random.org/>> (*Random Sequence Generator*), a fim de assegurar às participantes a mesma probabilidade de alocação ao acaso. No segundo encontro, as mulheres compareceram ao Laboratório de Análises Clínicas da Faculdade de Farmácia (LACFAR) para coleta de sangue, estando em jejum de 12 horas e entregaram o *kit* contendo amostras de fezes. Para a realização da análise do polimorfismo foi coletada amostra de sangue integral (alíquotas de 1,5 mL) no LACFAR. Em seguida, foi realizada a avaliação antropométrica, da composição corporal e do GE no LANUTRI. Ao final das avaliações, as participantes receberam um lanche padrão por estarem em jejum, o registro alimentar periódico para preencherem e entregarem na consulta periódica, os planos alimentares a serem seguidos por 90 dias, assim como, responderam ao questionário para avaliar a prática de atividade física.

Entre o primeiro e o último dia da intervenção, foram realizadas três consultas individuais presenciais, sendo verificado o peso corporal, PC, registro alimentar periódico, a adesão à dieta e para o esclarecimento de dúvidas (**Anexo 5**). Durante a pesquisa foram efetuados contatos semanais por meio de mensagens ou ligações telefônicas para checar o cumprimento do plano alimentar e esclarecer possíveis dúvidas. Ao final deste período avaliamos novamente os indicadores antropométricos, laboratoriais, dietéticos, do GE e da MI, foi aplicado o questionário para avaliar a prática de atividade física, o ECAP, entregues as orientações gerais e os resultados dos exames.

5.3 Intervenção dietética

A prescrição dietética foi feita por nutricionistas treinados e as dietas foram previamente calculadas variando a cada 100 kcal (1400 a 2600 kcal), por meio do *software DietProClínico*[®] 6.1 (Universidade Federal de Viçosa). O cálculo da dieta hipocalórica, equilibrada e individualizada, foi conduzido conforme a TMR obtida pela CI, multiplicando-se pelo fator atividade correspondente para obter o valor energético total (VET) (FAO/WHO/UNU, 2001). Posteriormente, foi subtraído do VET 700 kcal/dia (500 a 1000 kcal/dia) (JENSEN *et al.*, 2013), para obter a redução de peso corporal de aproximadamente dois a quatro kg/mês, utilizando o cálculo do valor energético do tecido adiposo (VENTA) (WISHNOFSKY, 1958).

O plano alimentar hipocalórico foi preconizado segundo a ingestão dietética de referência (IDR) para carboidratos (45 a 65% do VET), lipídios (20 a 35% do VET) e proteínas (15 a 35% do VET) e foi prescrito fibra alimentar (25 gramas/dia) recomendada pelo *Institute of Medicine* (IOM) para mulheres adultas (IOM, 2005). A distribuição das frações de lipídios foram < 10% do VET para ácidos graxos saturados (AGS), de 6 a 11% do VET de ácidos graxos poli-insaturados

(AGPI), de 15 a 20% do VET de ácidos graxos monoinsaturados (AGMI) e CT < 300 mg/dia (WHO, 2003; FAO, 2010) (**Quadro 2**).

Quadro 2. Distribuição de macronutrientes do plano alimentar prescrito (3 e 6 refeições/dia).

Energia (kcal)	Proteína (%)	Carboidrato (%)	Lipídio (%)	Colesterol (mg)	Fibras (g)
1400	20,76	59,54	19,7	225,33	28,24
1500	20,08	57,31	22,61	169,32	25
1600	21,3	57,25	21,48	179,32	33,2
1700	19,51	55,38	25,10	142,8	27,7
1800	18,33	56,36	25,31	147,8	29,53
1900	18,12	57,14	24,73	142,8	36,4

A elaboração do plano alimentar hipocalórico considerou os hábitos individuais, alergias e aversões alimentares. Foi fracionado em seis OA diárias (desjejum, colação, almoço, lanche, jantar e ceia) para o FD6 e em três OA diárias (desjejum, almoço e jantar) para o FD3. Considera-se grande refeição quando a OA fornece mais de 15% do VET e pequenas refeições ou lanche quando menos de 15% (ST-ONGE *et al.*, 2017). Juntamente com a prescrição foi entregue a lista de substituição de alimentos contendo todos os grupos alimentares, visando variar o consumo alimentar habitual dentro do planejamento e evitar a monotonia, assim como, foram entregues orientações nutricionais gerais (**Anexos 6 e 7**). Além disso, foi utilizado o guia fotográfico dos alimentos em medidas caseiras para auxiliar no consumo das porções prescritas (ZABOTTO,1996).

5.4 Avaliação dietética, atividades físicas habituais e comportamento alimentar

Foram preenchidos os formulários de registros dietéticos de três dias não consecutivos, sendo dois dias típicos e um dia atípico, para análise do hábito alimentar das participantes antes da intervenção dietética (**Anexo 8**). Os registros periódicos foram preenchidos pelas participantes após o início da dieta hipocalórica e entregues um em cada reconsulta, totalizando em três até o final do estudo (**Anexo 9**). Todos eles foram revisados pelas nutricionistas para averiguar se houve omissão de informação (número de refeições, açúcar de adição, tamanho dos talheres, quantidade consumida e tipo de preparo) e anotações que pudessem gerar dúvidas posteriores (**Anexo 10**) (YOKOO *et al.*, 2008).

Os registros periódicos foram aplicados para avaliar a adesão à prescrição dietética, assim como, foi questionada nas reconsultas a adesão ao plano dietético proposto, de forma que as participantes autorreferiam, em uma escala de 0 a 100% o quanto estavam conseguindo cumprir

as refeições estipuladas e quais os obstáculos enfrentados. Em acréscimo, utilizamos a verificação do peso corporal, antes, durante e após a intervenção a fim de acompanhar a adesão (PIEPER *et al.*, 2011; RACETTE *et al.*, 2012).

As análises de energia, proteína, carboidrato, lipídio, AGMI, AGPI, AGS, CT e fibras, foram realizadas no programa de análises de dietas *DietProClínico*[®]6.1, utilizando a tabela brasileira de composição de alimentos (TACO) como referência (NEPA/UNICAMP, 2011). As tabelas de composição de alimentos da Universidade de São Paulo e da Sônia Tucunduca, nessa ordem de prioridade, foram utilizadas quando o alimento analisado não foi encontrado na TACO.

A composição química dos alimentos, supracitada, obtidos dos registros dietéticos foram comparados com a IDR, o consumo de fibras e ácidos graxos totais foram confrontados com as recomendações do IOM e FAO, respectivamente, sendo considerados adequadas a quantidade total de fibra dietética superior a 25g/dia, AGS inferior a 10% do VET, AGMI entre 15 a 20% do VET e AGPI entre 6 e 11% do VET (IOM, 2005; FAO, 2010). Foi utilizado o manual de receitas e medidas caseiras para auxiliar nos cálculos dos registros alimentares (FISBERG; SLATER VILLAR, 2002).

A atividade física das participantes antes e ao final do estudo foi avaliada a fim de caracterizar a população e verificar se mantiveram o mesmo padrão ao longo da pesquisa. Para tal análise, foi aplicado o questionário internacional de atividades físicas (*International Physical Activity Questionnaire*, IPAQ) na forma curta (**Anexo 11**) e mulheres foram classificadas como (1) sedentárias, (2) insuficientemente ativas, (3) ativas e (4) muito ativas (MATSUDO *et al.*, 2001). A ECAP utilizada é a forma traduzida, adaptada e validada a fim de observar a magnitude do comportamento alimentar em cada indivíduo no período inicial da pesquisa, visto que 47% da população com obesidade pode apresentar padrão de compulsão alimentar comprometendo a adesão dietética, assim como, ao final do estudo para avaliar se houve alteração no decorrer da intervenção (**Anexo 12**) (BLUNDELL; GILLET, 2001; FREITAS *et al.*, 2001). A classificação foi realizada da seguinte forma: pontuação menor ou igual a 17 foram consideradas sem compulsão alimentar periódica (CAP); entre 18 e 26 foram considerados com CAP moderada; maior ou igual a 27, com CAP grave (LATNER & CLYNE, 2008).

5.5 Avaliação antropométrica e da composição corporal

O peso corporal, estatura, PC e composição corporal foram verificados pela manhã, após jejum de 12 horas, no LANUTRI por profissionais nutricionistas treinados. O peso corporal foi medido pela balança plataforma eletrônica Filizola[®] modelo *Personal Line 200*, com capacidade de 200 quilogramas e precisão de 50 gramas, com roupas de tecidos leves e sem calçados. A

estatura foi determinada pelo antropômetro vertical portátil marca Altorexata[®], com precisão de um milímetro. Para a verificação da estatura, a participante estava descalça, com pés unidos, braços relaxados e cabeça no plano de Frankfurt (LOHMAN; ROCHE; MARTORELL, 1988; BRASIL, 2011) (**Anexo 13**).

O PC foi analisado utilizando fita antropométrica em aço plano, com extensão total de dois metros e precisão de um milímetro, marca Sanny[®], modelo TR4011, e verificado no ponto médio entre a última costela e a crista ilíaca (WHO, 2000). As medidas de estatura e PC foram realizadas em duplicata e de forma não consecutiva. O IMC foi calculado pela equação massa corporal (kg) / estatura (m)² e classificado conforme os pontos de corte propostos pela Organização Mundial de Saúde (WHO, 1995, 2004) (**Anexo 13**).

A avaliação da composição corporal foi feita por meio do aparelho de BIA multifrequência (*Biodynamics*[®] modelo 450), cujo método se baseia no princípio da condutividade elétrica da MLG (LUKASKI *et al.*, 1985). Para a estimativa da MLG, foi empregada a equação preditiva validada para mulheres com obesidade: $MLG (kg) = 0,0015 (estatura [cm]^2) - 0,0344 (resistência) + 0,140 (peso) - 0,158 (idade) + 20,387$ (SEGAL *et al.*, 1988; GRAY *et al.*, 1989). Após o cálculo, foi determinada a MGC por diferença sobre a massa corporal total, considerando o modelo de dois compartimentos corporais (gorduroso e livre de gordura).

Para a utilização da BIA, as mulheres ficaram deitadas em decúbito dorsal, com membros estendidos, sem sapatos, meias, luvas ou objetos de metal. As mulheres deveriam estar normohidratadas, em jejum, assim como, não ingerirem líquidos uma hora antes da avaliação, não realizarem exercícios físicos nas últimas 24 horas e urinarem antes da avaliação (LUKASKI *et al.*, 1985; KYLE *et al.*, 2004) (**Anexo 14**). O exame foi preferencialmente agendado no período da fase folicular do ciclo menstrual, ou seja, entre 10 a 12 dias após o primeiro dia da última menstruação (SAMPAIO, 2002).

5.6 Avaliação do GE

O GE foi avaliado no LANUTRI por meio do calorímetro com campânula respiratória (*Vmax 29*[®], *ViasysHealthcare*, EUA), de acordo com protocolo específico (FERRANNINI, 1988). Orientou-se para que o preparo fosse iniciado três dias antes da avaliação, sendo então, não ingerir bebidas alcoólicas, manter apenas as atividades cotidianas, evitando atividades físicas intensas e exercícios físicos em geral, seguir orientações nutricionais específicas, com ênfase na abstenção do consumo de alimentos com quantidade excessiva de gorduras, proteínas e as

principais fontes alimentares de cafeína, além de terem realizado jejum noturno de 12 horas (CASAS-AGUSTENCH *et al.*, 2009).

As medidas foram realizadas pela manhã, em sala com temperatura ambiente mantida na zona térmica de neutralidade, umidade controlada, luminosidade suave e sem ruídos, com a participante em decúbito dorsal ou com a postura ligeiramente elevada, conforme a necessidade (WAHRLICH; ANJOS, 2001; FRANKENFIELD; ROTH-YOUSEY; COMPHER, 2005). Antes de iniciarem as análises, a participante permanecia 20 minutos em repouso, logo após, foi posicionada a máscara (*canopy*) que estava conectada ao calorímetro. O VCO₂ e o VO₂ foram medidos durante 30 minutos com a participante deitada sem se movimentar, desconsiderando os cinco minutos iniciais (**Anexo 15**).

A relação entre o VCO₂ e o VO₂ foi utilizada para avaliação do QR cujo cálculo considerou a razão entre o VCO₂ e o VO₂ (L/minuto) (FERRANNINI, 1988; MATARESE, 1997). Os valores utilizados para interpretação do QR foram: 0,72 para lipídios, 0,80 para proteínas e 1,0 para carboidratos (WEIR, 1949). Além disso, foi utilizada a equação descrita por Weir (1949) para determinar a TMR: $((3,9 \times \text{VO}_2 \text{ L/minuto}) + (1,1 \times \text{VCO}_2 \text{ L/minuto})) \times 1440$.

5.7 Avaliação laboratorial

As amostras de sangue foram coletadas no LACFAR por profissional habilitado no período da manhã, após jejum mínimo de 12 horas com o máximo de 14 horas e realizadas por punções venosas periféricas utilizando cateter, usando materiais descartáveis. Foram avaliados pelo LACFAR: glicose, insulina, CT, TG e HDL-c, como descrito no **quadro 3**. Analisam-se a glicemia e a lipemia (TG, CT e HDL-c) pelo método enzimático-colorimétrico e a insulina por Quimioluminescência (RICHMOND, 1973; LOTT; TURNER, 1975; KOSTNER *et al.*, 1979; MCGOWAN *et al.*, 1983). As concentrações de LDL-c foram calculadas pelo LACFAR, por meio da equação proposta por Friedwald, Levy e Fredrickson (1972). A RI foi estimada utilizando-se o método HOMA-IR = concentração sérica de insulina em jejum (μU/mL) x glicemia em jejum (mmol/L) /22,5 e analisada segundo Stern *et al.*(2005) (MATTHEWS *et al.*, 1985).

Os resultados da glicemia foram analisados conforme proposto na Sociedade Brasileira de Diabetes (2023), assim como, a lipemia avaliada segundo a Atualização da Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção de Aterosclerose (FALUDI *et al.*, 2017). A sensibilidade à insulina (SI) foi estimada utilizando o método *Quantative Insulin Sensitivity Check Index* (QUICKI), QUICKI = 1/(LOG (insulina sérica de jejum) + LOG (glicemia de jejum) (KATZ *et al.*, 2000).

Para a análise da grelina ativa, após a coleta de sangue em tubo contendo EDTA, foi imediatamente adicionado o *Pefabloc*[®] (inibidor proteico específico), a fim de evitar a desnaturação da molécula de grelina ativa (**Anexo 16**). Logo após as amostras foram centrifugadas no LACFAR e o plasma foi adicionado em *ependorf*[®] de 1,5 mL e posteriormente congelado a menos 80° Celsius. A análise da grelina ativa ocorreu pelo método Elisa utilizando o *kit* comercial Human active ghrelin (DY8149-05) DuoSet Elisa[®], segundo a recomendação do fabricante.

Leptina e adiponectina foram analisadas no Laboratório de Imunofarmacologia do Instituto Oswaldo Cruz (IOC/Fiocruz). Para a análise de adiponectina e leptina foram usados *kits* comerciais de ELISA (DY1065-05) e (DY398-05), respectivamente (*DuoSet*, R&D systems[®], EUA) segundo as instruções do fabricante.

Quadro 3 - Métodos utilizados para as análises laboratoriais

Análise	Kit comercial	Método utilizado
Glicose	Glicose PAP Liquiform, Labtest Diagnóstica [®]	Enzimático-colorimétrico
Insulina	Beckham [®]	Quimioluminescência
Colesterol total	Colesterol Liquiform, Labtest Diagnóstica [®]	Enzimático-colorimétrico
Triglicérides	Triglicérides Liquiform, Labtest Diagnóstica [®]	Enzimático-colorimétrico
HDL-c	HDL LE, Labtest Diagnóstica [®]	Enzimático-colorimétrico com precipitação seletiva
Adiponectina	Human Adiponectin/Acrp30 DuoSet Elisa [®]	Elisa
Leptina	Human Leptin DuoSet Elisa [®]	Elisa
Grelina ativa	Human active ghrelin DuoSet Elisa [®]	Elisa

5.8 Análise da MI

A coleta de amostras de fezes ocorreu em dois momentos, antes e após 90 dias da intervenção, e todas as participantes receberam orientações para este procedimento. Para a coleta, as participantes receberam um *kit* PROBIOME devidamente identificado contendo o tubo coletor com solução estabilizante (ZSample-BiomeHub, Brasil), *swab* e dispositivo para a coleta (*ColOff*). As amostras foram coletadas por meio do *swab* que foi inserido em tubo próprio com a adequada quantidade de fezes, atentando para a solução estabilizante do tubo não refluir, a haste do *swab* coletor foi quebrada e, após fechar o tubo foram feitos movimentos de inversão por um minuto. Posteriormente, o tubo com a amostra foi identificado, colocado em embalagem plástica e lacrado. Foi orientado para que a coleta fosse efetuada preferencialmente na data da consulta, pela manhã ou na noite anterior (**Anexo 17**).

O armazenamento e transporte ocorreram em temperatura ambiente, evitando a exposição solar. As amostras foram recebidas pelo pesquisador e os mesmos anotaram nas embalagens e no banco de dados quaisquer intercorrências e a data e horário da coleta das amostras de fezes. Em seguida, a amostra foi entregue ao Bronstein Medicina Diagnóstica, e encaminhada para a BiomeHub, onde os ensaios de biologia molecular e análises de bioinformática foram realizados.

O DNA foi extraído por meio do *kit* ZymoBIOMICS DNA Miniprep conforme a recomendação do fabricante. Após a extração, para a identificação de bactérias, as amostras foram submetidas ao preparo de bibliotecas, através da amplificação da região específica V3/V4 do gene 16S rRNA (341FCCTACGGGRSGCAGCAG e 806R GGACTACHVGGGTWTCTAAT) (CRUZ *et al.*, 2021; BIOMEHUB, 2022). O preparo de bibliotecas aconteceu por PCR em duas etapas, primeiro o PCR com os oligonucleotídeos universais da região V3/V4 e a segunda contendo os índices de sequenciamento. As amostras individuais foram unidas no mesmo volume no *pool* final para o sequenciamento. A concentração deste *pool* foi estimada utilizando o Quant-iT Picogreen dsDNA assays (Invitrogen, United States) e baseado nesta concentração, o *pool* de biblioteca foi quantificado com acurácia utilizando o Collibri Library Quantification Kit (Invitrogen, United States) (CRUZ *et al.*, 2021; BIOMEHUB, 2022). O *pool* final de sequenciamento teve a sua concentração ajustada entre 600-700 pM para o sequenciamento no kit P1 do equipamento NextSeq (Illumina, United States). Corridas *single-end* de 300 pb foram realizadas com cobertura média de 100 mil sequências por amostra. Após o sequenciamento, os dados brutos foram enviados para a plataforma *Google Cloud* para análise de dados.

Foram realizadas análises de bioinformática e atribuições taxonômicas. Para a classificação taxonômica, foi aplicada a ferramenta BLAST, contra um banco de dados de referência (encoderef16s_rev8_210105, BiomeHub, SC, Brasil). Foram atribuídas as taxonomias para cada *Amplicon Sequence Variants*, utilizando um algoritmo de *Lowest Common Ancestor*; no qual, se mais de uma referência taxonômica diferente puder ser atribuída para uma *Amplicon Sequence Variants*, com a mesma cobertura e identidade, o algoritmo atribui para a taxonomia de menor nível em comum entre as referências (ex. gênero, família, ordem). Dessa forma, foram avaliados os níveis taxonômicos, assim como, a diversidade microbiana presente na amostra (CRUZ *et al.*, 2021; BIOMEHUB, 2022).

5.9 Genotipagem

Foi realizada coleta de sangue de aproximadamente 5 mL, para determinação dos polimorfismos genéticos. O sangue foi coletado em tubos estéreis e armazenado em *ependorf* de 1,5 mL no ultra freezer (-80 °C) para posterior análise. A extração do DNA foi feita por meio da

amostra de sangue integral, utilizando o *kit* comercial QIAamp DNA Blood Mini (QIAGEN, Germany), segundo o protocolo do fabricante. Após a extração, as amostras contendo DNA foram congeladas para posterior quantificação e genotipagem. Foi considerada viável para a genotipagem a amostra que continha pelo menos 15 ng de DNA.

Para a realização da genotipagem, foram preparados ensaios em placas de 96 poços com reações contendo: 15 ng de DNA, 2,5µl de Master Mix 2x, 0,125µl de sonda TaqMan® 20x e água ultrapura para volume final de 5 µl; e foi incluído controle negativo (todos os componentes excluindo o DNA). As sondas *TaqMan*® utilizadas foram específicas para determinação alélica dos polimorfismos selecionados para este estudo, rs9939609 (T>A), rs17782413 (T>C), rs1801260 (T>C), rs1862513 (C>G), rs182052 (G>A), rs1137101 (A>G), rs7799039 (G>A), rs696217 (G>T) E rs572169 (G>A), por meio do sistema de PCR em tempo real através do equipamento *Step One Plus*™®, segundo as recomendações do fabricante. O relato das sondas validadas ou testadas de forma funcional estão descritas no **quadro 1**. Foi utilizado o *software* automatizado (AppliedBiosystems, Foster City, CA) para a discriminação alélica e identificação dos genótipos. As análises aconteceram no Laboratório de Genética Humana da Fiocruz e no Laboratório de Bioquímica Nutricional do INJC/UFRJ.

5.10 Análises estatísticas

As variáveis contínuas do período basal foram expressas em medianas e intervalo interquartil (IIQ). A adesão autorrelatada nas reconsultas foi descrita em percentual e intervalos de confiança de 95%. Para a descrição genotípica, os resultados foram expressos em números absolutos e em percentual. Para avaliar as interações entre tempo e intervenção, foram aplicados os modelos lineares múltiplos de efeitos mistos. O componente sistemático fixo dos modelos foi o tempo (pré e pós-intervenção dietética) e a intervenção (FD6 ou FD3), e sua interação de primeira ordem e variáveis de confusão: idade, IPAQ e o IMC. As participantes foram incluídas como um efeito aleatório (interceptos/coeficientes angulares múltiplos). Da mesma forma, os modelos de efeitos fixos lineares múltiplos foram ajustados para as diferenças entre a intervenção pós-dietética e a linha de base, em que o efeito principal foi a diferença entre as intervenções dietéticas (diferença entre FD6 e FD3). Ainda, foram ajustados modelos múltiplos para as diferenças entre a intervenção pós-dietética e a linha de base, incluindo-se no componente sistemático fixo além da frequência alimentar (FD6 ou FD3), os genótipos (ou os perfis de carregamento do alelo de menor frequência), e sua interação de primeira ordem. Assim como, nos modelos de efeitos aleatórios lineares múltiplos, o componente sistemático fixo dos modelos foi ajustado pelas variáveis de confusão mencionadas anteriormente.

Para inferências de riqueza e diversidade microbiana e da razão entre os filos *Firmicutes* e *Bacteroidetes*, modelos lineares múltiplos de efeitos fixos foram ajustados, incluindo em seu componente sistemático variáveis de confusão (e.g., idade, IMC e IPAQ). De forma semelhante, para inferências de contagens/proporções de filos e gêneros da MI, foram empregados, ou modelos binomiais negativos múltiplos inflacionados por zeros (log-link) de efeitos fixos (contagens), ponderados (i.e., pesos individuais inversamente proporcionais à profundidade de sequenciamento ou o número de leituras sequenciadas), ou modelos beta múltiplos inflacionados por zeros (proporções) de efeitos fixos. Novamente, foram incluídas nos componentes sistemáticos desses modelos variáveis de confusão (e.g., idade, IMC e IPAQ).

Os resultados, independentemente do modelo usado na inferência, foram apresentados graficamente para os efeitos marginais médios estimados e seus intervalos de confiança de 95%, onde os efeitos para as variáveis de interesse foram estimados assumindo valores médios (numéricas contínuas) ou iguais proporções (variáveis nominais) para as variáveis de confusão. Contrastes foram construídos a partir desses efeitos marginais médios. O método Tukey Honest Significant Difference (HSD) foi utilizado para corrigir p-valores sempre que necessário (i.e., quando o número de comparações foi ≥ 3).

Foi utilizado o *software* R versão 4.2.1. em todas as análises, considerando o valor de $p < 0,05$ estatisticamente significativo. Os pacotes 'lme4', 'emmeans' e suas dependências foram utilizados para realizar as inferências estatísticas. As medidas de riqueza e diversidade da MI (ou seja, R, PE, H, S, InvS e UnbS) foram calculadas usando as funções `specnumber()` e `diversidade()` do pacote 'vegan' e suas dependências.

6 Resultados

Os resultados da presente tese serão apresentados a seguir no formato de três manuscritos:

- a) Manuscrito 1: Interação dos polimorfismos nos genes *FTO*, *MC4R*, *CLOCK*, *GHSR*, *GHRL*, *LEP*, *LEPR*, *RETN* e *ADIPOQ* com o fracionamento da dieta em indicadores antropométricos, metabólicos e hormonais.

(The interaction between genetic polymorphisms in FTO, MC4R, CLOCK, GHSR, GHRL, LEP, LEPR, RETN, and ADIPOQ genes with meal frequency on anthropometric, metabolic and hormonal indicators: a randomized nutrigenetic trial)

- b) Manuscrito 2 (brief communication): Impacto do fracionamento de dieta moderadamente hipocalórica na alfa diversidade da microbiota intestinal na obesidade. *(Impact of a*

Moderately hypocaloric diet with different meal frequency on alpha-diversity of gut microbiota in obesity: a brief communication)

- c) Manuscrito 3: Polimorfismo no gene *CLOCK* rs1801260 e obesidade: influência do consumo do desjejum e de energia, nível de atividade física e na microbiota intestinal.
(*CLOCK Gene Polymorphism rs1801260 and Obesity: Influence on Breakfast Consumption, Total Energy Intake, Physical Activity Level, and Gut Microbiota*)

Manuscrito 1

The interaction between genetic polymorphisms in FTO, MC4R, CLOCK, GHSR, GHRL, LEP, LEPR, RETN and ADIPOQ genes with meal frequency on anthropometric, metabolic and hormonal indicators: a randomized nutrigenetic trial

Será submetido na revista *Nutrients*

Com o caráter inovador, a nutrigenética vem sendo explorada com um dos aspectos a fim de possibilitar intervenções dietéticas personalizadas para indivíduos, ou grupos suscetíveis de indivíduos. Porém, muitas lacunas ainda existem no que tange ao seu direcionamento no tratamento da obesidade. Dessa forma, o presente estudo traz resultados inéditos sobre a interação de nove polimorfismos genéticos com dieta moderadamente hipocalórica e diferentes fracionamentos na obesidade. Neste contexto, consumir seis vs três refeições por dia parece trazer mais benefícios na redução do perímetro de cintura e insulinemia. Quanto a presença de polimorfismos, as carreadoras do *LEP* rs7799039 que consumiram três refeições por dia apresentaram aumento da TMR. Além disso, ao consumir seis refeições por dia, as portadoras do polimorfismo no *GHSR* rs27647 e *GHRL* rs696217 mostraram redução da grelina ativa. No entanto, a presença dos alelos de risco para esses polimorfismos não interferiram nos resultados antropométricos.

The interaction between genetic polymorphisms in *FTO*, *MC4R*, *CLOCK*, *GHSR*, *GHRL*, *LEP*, *LEPR*, *RETN* and *ADIPOQ* genes with meal frequency on anthropometric, metabolic and hormonal indicators: a randomized nutrigenetic trial

ABSTRACT: Interactions between genetic polymorphisms with dietary intake may influence indicators associated with obesity. The present study aimed to investigate the interactions to polymorphisms in nine genes (*FTO* rs9939609, *MC4R* rs17782313, *CLOCK* rs1801260, *GHSR* rs27647, *GHRL* rs696217, *LEPR* rs1137101, *LEP* rs7799039, *RETN* rs1862513, and *ADIPOQ* rs182052) with meal frequency (MF) on anthropometric, metabolic, and hormonal indicators. A randomized clinical trial was conducted involving 95 women with class 1 and 2 obesity. The women were divided into two groups that received a hypocaloric diet with different MF: MF6 (six meals/day) and MF3 (three meals/day). Genetic, dietary, laboratory, and anthropometric indicators were assessed, as well as resting metabolic rate (RMR), before and after 90 days of intervention. After intervention, both the MF3 and MF6 groups reduced their caloric intake and increased their protein intake, with no significant difference between the two groups. Both groups demonstrated a reduction in body mass index (BMI) and waist circumference (WC), with the MF6 group exhibiting the lowest WC compared to the MF3 group. The MF6 reduced insulin levels after intervention, with no significant difference between groups. After intervention, women in the MF3 group who carried the *LEP* rs7799039 risk alleles demonstrated an increase in RMR, while those who did not carry the risk allele demonstrated a decrease in RMR. Women with the *GHRL* rs696217 polymorphism in the MF6 group exhibited reduced ghrelin concentrations compared to those without this variant. Women with the *GHSR* rs27647 polymorphism in the MF6 group demonstrated a reduction in ghrelin concentrations, while those without the polymorphism exhibited increased ghrelin concentrations. The presence of this polymorphism in the MF6 group led to a reduction in ghrelin concentrations compared to the MF3 group. The present study found that a moderately hypocaloric diet with different MF promoted a similar reduction in BMI and WC. However, eating six meals a day provided advantages in reducing WC and insulin levels. Carriers of the *LEP* rs7799039 polymorphism who ate three meals a day increased their RMR. When eating six meals a day, carriers of the *GHRL* rs696217 and *GHSR* rs27647 risk alleles showed a reduction in ghrelin. Nevertheless, the presence of the risk alleles for these polymorphisms did not affect the anthropometric results.

Keywords: obesity; meal frequency; nutrigenetics; hypocaloric diet

1. Introduction

Obesity is a complex chronic disease that affects more than 24.3% of the adult population in Brazil [1]. It is estimated that the number of cases worldwide will increase to 1.53 billion by 2035 [2]. A variety of factors, such as obesogenic environmental, psychosocial, and genetic factors, contribute to obesity and may affect the well-being and quality of life of these people [2-3]. In 2019, this disease was reported to have caused nearly 5.0 million deaths from a variety of conditions, including cardiovascular disease, diabetes, cancer, neurological disorders, among others [4]. In view of this scenario, research into diets aimed at reducing the adiposity of the body has become important.

The management of obesity should involve a team of professionals and include measures to reduce excess body fat and control associated risk factors [5]. A weight loss of 3% to 5% can result in clinically significant improvements [5-6]. In the analysis of dietary treatment of obesity, the literature suggests that reducing caloric intake is a well-established strategy for weight loss, but there is uncertainty about the ideal meal frequency (MF) for losing and maintaining body weight [7-9]. Western cultures typically eat three meals daily: breakfast, lunch and dinner. Nutritionists often suggest the addition of two snacks for better appetite control, but there is still no consensus in the literature on the effect of MF on health and appetite [10-12].

A meta-analysis of clinical trials in healthy adults showed that eating two meals a day compared to six meals a day can lead to a reduction in waist circumference (WC), and that there is little evidence describing the effect of MF on anthropometric indicators [13]. Clinical study in overweight and women with obesity shows that different MF (three vs. six meals per day) had no effect on body weight over 90 days [14]. There are few studies that include the population with obesity when analyzing the MF in the regulation of weight, hunger and metabolic markers when subjected to a controlled hypocaloric diet. Therefore, the best indication of MF for the treatment of obesity is still inconclusive [10,15].

Several single nucleotide polymorphisms (SNPs) have been described that affect food intake and energy balance and can be associated with obesity, such as the fat mass and obesity-associated (*FTO*) (rs9939609), melanocortin 4 receptor (*MC4R*) (rs17782313), circadian locomotor output cycles kaput (*CLOCK*) (rs1801260), growth hormone secretagogue receptor (*GHSR*) rs27647, ghrelin gene (*GHRL*) rs696217, leptin receptor gene (*LEPR*) rs 1137101, leptin gene (*LEP*) rs 7799039, resistin gene (*RETN*) rs1862513, and adiponectin gene rs182052 [16-21].

The presence of polymorphisms in the *FTO*, *LEP*, *LEPR*, *ADIPOQ*, and *MC4R* genes can lead to increased energy and total lipid intake, inappropriate eating behaviors such as high consumption of sweets and processed foods, large portion sizes, and increased food cravings [22-24]. Similarly, studies have indicated that variants of the ghrelin gene and its receptor (*GHRL* and *GHSR*) may increase the secretion of the orexigenic hormone ghrelin, which can subsequently lead to an increase in food consumption and body weight [25,26]. The *CLOCK* gene variant may also contribute to increased energy intake and altered sleep duration, which can lead to higher body weight [27]. In this context, it is possible to understand that these polymorphisms may influence an individual's response to dietary strategies aimed at reducing body weight.

At present, no studies have been conducted to evaluate the interactions of the previously mentioned SNPs with the dietary treatment using different MFs on obesity. Thus, this study aimed to investigate the interaction between polymorphisms in the *FTO*, *MC4R*, *CLOCK*, *GHSR*, *GHRL*, *LEPR*, *LEP*, *ADIPOQ* and *RETN* genes and hypocaloric diet with different MFs on body weight and composition, energy metabolism, acyl-ghrelin, leptin, and adiponectin in Brazilian women with obesity.

2. Materials and Methods

2.1. Ethical considerations

This study received approval from the Research Ethics Committee of the Clementino Fraga Filho Hospital in Rio de Janeiro, Brazil, under protocol CAAE 37984720.2.0000.5257, opinion number 4.488.216. It was published in the Brazilian Registry of Clinical Trials under number RBR-3p8346g (U1111-1264-7413, UTN-WHO). All the participants signed an informed consent form as established by Resolution 466/12 of the National Health Council.

2.2. Recruitment

The recruitment process occurred between 2019 and 2023 in Rio de Janeiro, Brazil. It occurs through the public dissemination of the research on the website of the Instituto Josué de Castro (INJC). This was accompanied by an online form which women were invited to complete with their name, contact details, and data for the evaluation of eligibility criteria. Additionally, posters were posted on the Universidade Federal do Rio de Janeiro campus, which further disseminated the recruitment information.

2.3. Participants

Women were included in the study if they were between 20 and 45 years old and were diagnosed with class I or II obesity. This was defined as having a body mass index (BMI) between 30 and 39.9 kg/m². They did not have to be of a specific race or color and were not menopausal. They also had to be within three kilograms of their current body weight over a period of three months, with no significant changes in body weight over the last three months. Furthermore, they had to have not undergone bariatric surgery.

Individuals who were ineligible for participation included athletes, those who were taking medication or supplements for weight control, smokers, alcoholics, those with cardiac or respiratory complications, those with a clinical diagnosis of diabetes *mellitus* types 1 and 2, decompensated hypothyroidism, pregnant women, breastfeeding women, illiterate women, and

those with cancer, liver disease, inflammatory bowel disease, or severe nephropathy. Furthermore, the study did not include individuals who exhibited severe binge-eating as determined by the Binge Eating Scale (BES). Participants who did not adhere to the entirety of the proposed protocol or who experienced complications that impeded their participation during the study were excluded.

2.4. Design

This is a randomized, parallel clinical trial lasting 90 days (**Figure 1**). Studies have indicated a reduction in dietary adherence among individuals diagnosed with obesity over time [28-29]. Furthermore, it has been shown that a 12-week intervention period can result in a lower percentage of dropouts, and that such results can be indicative of long-term outcomes [30]. Once participants were recruited, the initial appointment was scheduled to verify eligibility criteria, administer the BES, monitor body weight, and compute BMI. During this time, participants were given general guidance about the research, instructions on how to fill out the dietary records and for blood samples, energy expenditure (EE), and body composition assessment. Additionally, researchers collected other information through the administration of general, nutritional, and clinical data questionnaires. Three-day dietary records were provided to the participants, who were asked to return the completed forms on the first day of the intervention. All participants were informed that they should refrain from engaging in any physical activity throughout the duration of the study, and that they should maintain their usual physical activity during the same period.

A randomization procedure was employed to assign participants to one of two groups: the Meal Frequency 6 (MF6) group, which followed a hypocaloric diet with six eating occasions per day, and the Meal Frequency 3 (MF3) group, which followed a hypocaloric diet with three eating occasions per day. Randomization was conducted via the random.org website.

Subsequently, the intervention commenced, during which the tests were conducted, and the diet plan was prescribed to be followed for 90 days. In order to evaluate the efficacy of the intervention, three individual appointments were conducted on days 15, 45, and 65 of the study period. The purpose of these appointments was to assess body weight, WC, periodic food records, and adherence to the diet. In addition, to address any questions or concerns, participants were provided the opportunity to contact the researchers via messages or telephone calls at weekly intervals. At the final of the intervention period, anthropometric, laboratory, dietary, and EE indicators were reassessed. In addition, the questionnaire to assess physical activity, the BES, general guidance, and test results were provided.

2.5. Dietary Prescription

The nutritional prescriptions were developed by nutritionists with expertise in the field, while the diets were previously calculated through the use of the DietProClínico®6.1 software. The hypocaloric, balanced, and individualized diet was calculated according to the resting metabolic rate (RMR) obtained by indirect calorimetry (IC) which was subsequently multiplied by the corresponding activity factor to obtain the total energy expenditure (TEE) [31]. Subsequently, 700 kcal per day was subtracted from the TEE to achieve a reduction in body weight of approximately two to four kg per month [32].

The macronutrient distribution in the hypocaloric diet was based on the reference dietary intake for carbohydrates (57.3% (± 1.4) of the TEE), lipids (23.5% (± 1.8) of the TEE) and proteins (19.1% (± 1.1) of the TEE) as well as dietary fiber (38.5 (± 10.1) g/day) [33]. Individual dietary preferences, allergies, and food aversions were considered in the dietary plan, which was structured into six daily meals (breakfast (15% TEE), snack (5-10% TEE), lunch (25% TEE), snack (5-10% TEE), dinner (25% TEE) and evening snack (5-10% TEE)) for the MF6 group and into three daily meals (breakfast (20-25% TEE), lunch (35-40% TEE), and dinner (35-40% TEE))

for MF3 (**Supplemental Table 1**). A large meal was considered when the eating occasion provided more than 15% of the TEE, and small meals or snacks when less than 15% [34]. Along with the prescription, a food substitution list containing all the food groups was delivered, to vary the usual food intake within the plan and avoid monotony, as well as general nutritional guidelines.

2.5.1. Dietary intake assessment and adherence

Dietary records were completed by the participants over three non-consecutive days, with two typical days and one atypical day. This was done to analyze the participants' eating habits before the dietary intervention.

Following the commencement of the short intervention, the participants were required to complete periodic dietary records throughout the duration of the study. This served to ascertain their adherence to the dietary in question [35]. During the study, the periodic records were delivered at each appointment, with a total of three records delivered by the end of the study. Furthermore, to analyze dietary adherence, participants were asked to self-report their adherence to the proposed diet plan on a scale of 0 to 100%. This was done to ascertain how well they were managing to comply with the stipulated meals and to identify any obstacles they faced. In addition, body weight was monitored before, during, and after the dietary intervention to assess compliance with the prescribed hypocaloric diet [35].

The nutritionists conducted a comprehensive review of all dietary records to identify any potential omissions or inconsistencies in the data. This included an examination of the number of meals reported, the consumption of added sugars, the size of utensils used, the quantity of food consumed, and the methods of preparation. Any notes that might raise questions later were also noted. Nutrient analyses were carried out using the DietProClínico®6.1 diet analysis program.

2.6. DNA extraction and genotyping

Nine single-nucleotide polymorphisms (SNPs) on the *FTO* rs9939609, *MC4R* rs17782313, *CLOCK* rs1801260, *GHSR* rs27647, *GHRL* rs696217, *LEPR* rs1137101, *LEP* rs7799039, *RETN* rs1862513, and *ADIPOQ* rs182052 genes were selected based on published literature and which were found to be associated with obesity phenotypes and dietary intake [16-27].

Approximately 5 mL of blood was obtained to determine genetic polymorphisms. The blood sample was collected in sterile tubes containing ethylenediamine tetra-acetic acid (EDTA) and stored in an ultra-freezer at a temperature of -80°C for future analysis. DNA extraction was conducted on the whole blood samples using a commercially available kit QIAamp DNA Blood Mini in accordance with the manufacturer's protocol (QIAGEN, Germany), which is currently being utilized for genotyping purposes.

The polymorphisms *FTO* rs9939609, *MC4R* rs17782313, *CLOCK* rs1801260, *GHSR* rs27647, *GHRL* rs696217, *LEPR* rs1137101, *LEP* rs7799039, *RETN* rs1862513, and *ADIPOQ* rs182052 were assessed using real-time polymerase chain reaction (PCR) and detected via the TaqMan® genotyping assay (Thermo Fisher Scientific®, Carlsbad, CA, USA). Amplification was performed on the Step One Plus™ system, and genotypes were identified using SDS 2.3 software.

2.7. Outcome Measurements

Anthropometric, EE, blood biomarkers and eating behavior indicators were evaluated before and ninety days after the hypocaloric dietary intervention with different MF.

2.7.1. Anthropometric assessments

In the morning, after 12 hours of fasting, anthropometric measurements were taken, including body weight, height, and WC. Body weight was assessed on an electronic scale (Filizola®

Personal Line 200), with a capacity of 200kg and an accuracy of 50g, while subjects were wearing light clothing and no shoes. Height was determined with an Altuxata® portable vertical anthropometer, accurate to one millimeter. To ascertain the height of the subjects, they were required to stand barefoot, with their feet together, with their arms relaxed, and their heads aligned in the Frankfurt plane [36]. After that, the BMI was calculated using the following formula: body mass (kg)/height (m)² and subsequently categorized according to the cut-off points [37]. The WC was analyzed using a flat steel anthropometric tape, with a total length of two meters and an accuracy of one millimeter (Sanny®, model TR4011). This procedure was conducted at the midpoint between the last rib and the iliac crest.

A multi-frequency bioimpedance device (Biodynamics® model 450) was employed for the assessment of body composition. For this analysis, participants were instructed to assume a supine position with no footwear or metal objects. In addition, participants were requested to fast for 12 hours and refrain from drinking any fluids for a period of one hour prior to the assessment [38]. Furthermore, they were required to abstain from exercise for the previous 24 hours and to urinate before the assessment. The test should preferably be scheduled during the luteal phase of the menstrual cycle (i.e. between 10 and 12 days following the onset of the previous menstrual period) [39].

2.7.2. Energy expenditure assessment

EE was quantified through the use of an indirect calorimetry (Vmax 29®, ViasysHealthcare, USA). The subjects were instructed to abstain from the consumption of alcohol for a period of three days leading up to the assessment. Additionally, they were asked to refrain from engaging in any intense physical activity. Furthermore, the subjects were instructed to restrict their intake of foods with high levels of fats, proteins, and caffeine. The fasting period was to last for a period of 12 hours [40]. The measurements were taken in a controlled environment with a temperature and

humidity maintained in a zone of thermal neutrality and soft lighting with minimal noise. The participant was positioned supine or slightly elevated, according to the examiner's discretion, with the participant resting for a period of twenty minutes before analysis commenced [41]. The concentration of carbon dioxide in the exhaled breath and the concentration of oxygen in the inspired air were measured for thirty minutes while the subject was lying in a supine position, with no motion other than the respiration that occurs naturally. The initial five minutes were excluded from the analysis. The RMR was estimated using the equation described by Weir (1949), which is expressed as follows: $RMR = (3.9 \times VO_2 \text{ L/minute}) + (1.1 \times VCO_2 \text{ L/minute}) \times 1440$ [42].

2.7.3. Blood biomarkers

Blood samples were obtained following a 12-hour overnight fast before and after the intervention for biochemical analyses. These included measurements of total cholesterol (TC) (Labtest Diagnóstica SA, Brazil, Cat 76), high-density lipoprotein cholesterol (HDL-c) (Labtest Diagnóstica SA, Brazil, Cat 13), triglycerides (TG) (Labtest Diagnóstica SA, Brazil, Cat 59), glucose (Labtest Diagnóstica Brasil, Cat 84), insulin (Immulite TM 2000), and low-density lipoprotein cholesterol (LDL-c) was estimated [43]. The active ghrelin (Human active ghrelin DuoSet Elisa®(DY8149-05)), leptin (Human Leptin DuoSet Elisa®(DY398-05)) and adiponectin (Human Adiponectin/Acrp30 DuoSet Elisa® (DY1065-05)), were analyzed following the instructions provided by the manufacturer.

The Homeostatic Model Assessment for Insulin Resistance (HOMA-IR) can be calculated as follows: $\text{fasting serum insulin concentration } (\mu\text{U/mL}) \times \text{fasting blood glucose (mmol/L)}/22.5$ [44]. Insulin sensitivity was estimated using the Quantitative Insulin Sensitivity Check Index (QUICKI) method, which is defined as $QUICKI = 1/(\text{LOG (fasting serum insulin)} + \text{LOG (fasting blood glucose)})$ [45].

2.7.4. Eating behavior

In order to observe the magnitude of eating behavior in each individual at the beginning of the study and to assess whether there were any changes during the intervention, the BES used was the translated, adapted, and validated form. The classification was conducted as follows: scores of less than or equal to 17 were considered to indicate the non-binge eaters; scores between 18 and 26 were considered moderate binge eaters; and scores of greater than or equal to 27 were considered as severe binge eaters [46].

2.7. Statistical Analyses

Continuous variables from the baseline period were expressed as medians and interquartile ranges (IQR). The self-reported adherence at re-consultations was described in percentages and 95% confidence intervals. For the genotypic description, the results were expressed as absolute numbers and percentages. To evaluate Time-Intervention interactions, we used multiple linear mixed-effects models. The fixed systematic component of models was time (either pre- and post-dietary intervention) and intervention (either MF6 or MF3), and its first-order interaction and confounding variables: age, WC, BMI, and IPAQ. Individuals were included as a random effect (multiple intercepts). Similarly, we fitted multiple linear fixed effects models for the differences between the post-dietary intervention and baseline, for which the main effect was the difference between dietary interventions (difference between MF6 and MF3). Multiple models were also adjusted for the differences between the post-dietary intervention and baseline, including in the fixed systematic component, in addition to MF (MF6 or MF3), genotypes (or carrier profiles of the lowest frequency allele) and their first-order interaction. As with the multiple linear random effects models, the fixed systematic component of the models was adjusted for the confounding variables mentioned above.

Results are presented graphically and in tables for the estimated mean marginal effects and its 95% confidence intervals, where all other variables in the multiple linear models were kept in their mean values or equal proportions, and by contrasts constructed from these estimated mean marginal effects. For the former, p-values were corrected by the number of comparisons with the reference level (type I comparison-wise error) by the Holm-Sidak post-hoc method. Inferential analyses were performed using statistical software R version 4.1.1, packages ‘lme4’, ‘emmeans’, and its dependencies. Statistical significance was accepted as $p < 0.05$ for all analyses.

3. Results

This study followed the Consolidated Standards of Reporting Trials reporting guideline for randomized clinical trials (**Figure 2**). Of the 112 women with obesity who were randomized to the study, 58 were included in the MF6 and 57 were included in the MF3 group. During the clinical trial, 11 women in MF6 and 6 women in MF3 dropped out of the study. The study thus concluded with 47 women in the MF6 group and 48 women in the MF3 group. **Table 1** presents the baseline characteristics of the participants in the two groups. The women were classified as having class 1 or 2 obesity, along with high cardiovascular risk due to their WC (>88 cm). The MF3 group exhibited the highest WC compared to the MF6 group. In addition, the MF3 group exhibited elevated TG levels, yet both groups demonstrated levels within the normal range [47].

Table 2 shows the genotype and allele frequencies of all polymorphisms studied in the participants between groups. The distribution of the individuals who carried or did not carry the risk alleles for all polymorphisms analysed in this study in the two groups (MF3 and MF6) is presented in **Figure 3**. **Table 3** indicates that there was no statistically significant difference in self-reported adherence to the prescribed diet plan between the two groups during the intervention period. There was no statistically significant difference in eating behavior between the groups before ($p = 0.99$) and after the intervention ($p = 0.94$). However, the post-intervention score was

found to be lower than the baseline score in both groups, indicating a reduction in binge-eating episodes (MF3 $p=0.001$; MF6 $p=0.001$).

Tables 4, 5, and 6 illustrate the adjusted predicted marginal means before and after the intervention for food consumption, anthropometric, and laboratory analysis, respectively.

Table 4 shows the marginal means for baseline and post-intervention food consumption. After the intervention, the groups reduced their calorie intake, yet no significant differences were observed between groups. Furthermore, the groups demonstrated an increase in their protein intake (%), although no significant differences were observed between groups. Moreover, only the MF6 group exhibited a decrease in their lipid intake (%). Concerning the MF consumed per day, the MF3 group exhibited a reduction in the number of meals, while the MF6 group exhibited an increase, in accordance with the prescribed dietary.

After the intervention, there was a reduction in both BMI and WC values for both MF3 and MF6 groups. However, no significant differences were observed between the two groups in terms of BMI. In addition, MF6 demonstrated the smallest WC, compared to MF3 post-intervention. No significant differences were observed in the remaining anthropometric indicators between the groups (**Table 5**). There was no statistically significant difference between the groups in laboratory indicators before and after the intervention period. Nevertheless, the MF6 group exhibited a reduction in insulin levels following the intervention period, with no statistically significant differences observed between the groups (**Table 6**).

The results of the **supplementary table 2** demonstrate that, for all polymorphisms analyzed, there was a difference in the number of meals per day between the MF3 and MF6 groups. After the intervention, there was a reduction in the number of meals per day in the MF3 and an increase in the MF6 group. There was no difference between polymorphism carriers and non-carriers. This finding aligns with the prescribed diet plan. The results of the supplementary table demonstrate that, for all polymorphisms analyzed, there was a difference in the number of meals per day

between the MF3 and MF6 groups. Following the intervention, there was a reduction in the number of meals per day in the MF3 group and an increase in the number of meals per day in the MF6 group. There was no difference between polymorphism carriers and non-carriers. This finding aligns with the prescribed diet plan.

Participants in the MF6 group who did not carry the *LEPR* gene polymorphism exhibited the highest protein intake post-intervention, when compared to MF3, who also lacked this polymorphism ($p=0.02$) (**Supplementary table 2**). A comparison between women carriers and no-carriers of the *LEP* gene polymorphism in the MF3 group demonstrated a reduction in RMR for those no-carriers the polymorphism, while a RMR increase was observed in those who carried it ($p=0.01$). Furthermore, women with the *GHRL* polymorphism exhibited a reduction in the plasma concentration of active ghrelin when compared to those without the polymorphism in the MF6 ($p=0.02$). In contrast, women in the MF6 group with the *GHSR* gene polymorphism demonstrated a reduction in active ghrelin, while those without the polymorphism exhibited an increase ($p=0.01$). Additionally, carriers of the *GHSR* polymorphism in the MF6 group exhibited a reduction in active ghrelin when compared to carriers of this polymorphism in the MF3 group ($p=0.03$) (**Supplementary Table 2**).

4. Discussion

In recent years, the MF has been the subject of study, as there is a possibility for an association between the MF and chronic diseases [48]. An observational study indicated that consuming six meals per day compared to three meals per day was associated with a lower prevalence of obesity [49]. However, randomized clinical trials in humans are scarce, and some limitations have been identified, including a short intervention period and significant variations in the MF [50]. Furthermore, a study has indicated that consuming less MF (including breakfast) may be a preventive and effective tool for controlling body mass in adults with an adequate weight [51].

Nevertheless, there are still few studies that include the population with obesity when analyzing MF in weight regulation and metabolic markers, when subjected to a controlled hypocaloric diet. Consequently, the most effective MF for the treatment of obesity remains inconclusive.

The present study included women with obesity who underwent a moderately hypocaloric diet with different MF for 90 days. The results demonstrated that there was no significant difference in self-reported adherence between the two groups during the dietary intervention period. The findings of the study were supported by the observation that both groups demonstrated a reduction in their calorie consumption following the intervention period, with no statistically significant differences between them. This indicated that, regardless of the MF, women with obesity demonstrated an acceptable level of adherence to the prescribed diet plan. Upon analysis of the effect of the moderately hypocaloric diet with six and three meals a day on anthropometric indicators, it was observed that, regardless of MF, both groups exhibited a reduction in BMI and WC. Nevertheless, our study demonstrated that consuming more meals per day was more effective in reducing WC, which may reduce the risk of metabolic diseases. A recent clinical trial involving 40 women with obesity who were subjected to a hypocaloric diet consisting of six and three meals per day for a period of three months demonstrated that both groups exhibited comparable reductions in weight, BMI, and WC. However, the group that consumed six meals per day demonstrated a greater reduction in FM percentage and an increase in FFM [14]. We did not observe any difference in the body composition after the intervention.

The present study observed that after intervention, the group that consumed six meals per day exhibited lower fasting insulin levels. A clinical study of overweight and women with obesity reported that eating six meals a day could result in a greater reduction in fasting insulin levels than eating three meals a day [52]. High fasting insulin levels and glucose intolerance are prevalent in individuals with obesity, particularly those with excess central adiposity. These conditions are the result of a complex interplay of factors, including lipotoxicity [52]. WC is a

marker associated with visceral abdominal fat, which is the factor most closely linked to insulin resistance [53]. It is therefore important to mention that in our study, both groups exhibited a reduction in WC. However, the MF6 group exhibited a more pronounced reduction, which may be indicative of a reduction in insulin levels.

In their study, Kahleova et al. appointed the potential mechanisms that may be involved in modifying the MF by altering the fasting period between meals and, consequently, the nocturnal fasting period. These mechanisms are related to satiety hormones such as leptin and ghrelin, the peripheral circadian clock, and oxidative damage [54]. The orexigenic hormone ghrelin is commonly elevated in the preprandial period and at night [51]. Studies demonstrate that consumption of a larger breakfast can reduce feelings of hunger (especially in relation to sweets and fats) and postprandial ghrelin concentrations, which in turn can help to prevent weight gain [55]. Furthermore, the postprandial reduction in ghrelin appears to increase on insulin secretion, suggesting that frequent eating might disrupt this relationship, similar to other conditions of insulin resistance [56]. Additionally, reducing MF appears to enhance the peripheral circadian clock and reduce oxidative damage [12]. In our study, we observed no significant difference between the plasma concentrations of leptin, active ghrelin, adiponectin, and resistin between the groups after the intervention.

A number of SNPs related to the hypothalamic hormones of satiety and EE in obesity have been identified that can influence food consumption and body composition [16-23]. To date, no studies have been conducted to evaluate the interaction of genetic polymorphism and a hypocaloric diet with different MF on anthropometric, metabolic, and hormonal indicators. In the present study, carriers and non-carriers of the *FTO* rs9939609, *MC4R* rs17782313, *CLOCK* rs1801260, *GHSR* rs27647, *GHRL* rs696217, *LEPR* rs1137101, *LEP* rs7799039, *RETN* rs1862513, and *ADIPOQ* rs182052 polymorphisms did not demonstrate differential responses to dietary intervention for weight loss, BMI, and WC. The differences in genotypes and the

consumption of three or six meals a day did not result in greater or lesser weight loss. It was observed that women with and without the polymorphisms had a different number of meals consumed between the MF3 and MF6 groups after the intervention. A reduction in the MF was observed in the MF3 group, while the MF6 group exhibited an increase in the number of meals as prescribed, and there was no difference between carriers and non-carriers of all the polymorphisms analyzed.

The results of our study are consistent with those of a clinical trial involving 109 Brazilian women with obesity. In that study, no interaction was observed between the *GHRL* rs696217 polymorphism and weight loss induced by a seven-week hypocaloric diet [57]. In contrast to our findings, a study that evaluated the *CLOCK* gene polymorphism in adherence to a hypocaloric Mediterranean diet, Garaulet et al., demonstrated that overweight and individuals with obesity and the rs1801260 (TC+CC) polymorphism lost less weight compared to non-carriers [58]. Consequently, individuals who possess the risk allele (C) may exhibit a greater degree of obesity and resistance to losing weight in response to a hypocaloric diet. A study including 77 women with obesity found that the presence of the *FTO* rs9939609 risk allele A and/or the *MC4R* rs17782313 risk allele C did not modify weight loss, FM, and RMR after a 12-week hypocaloric diet [59]. With regard to the association between the *FTO* polymorphism and adherence to dietary treatment, a single study of 126 Brazilian women with obesity demonstrated that the presence of the risk allele (A) was associated with a lower benefit from the hypocaloric dietary intervention, as carriers of this allele achieved a lower reduction in WC [60].

Despite the absence of an interaction between polymorphisms and anthropometric results, our study demonstrated that carriers of the *LEP* gene polymorphism in the MF3 group exhibited elevated RMR values in comparison to those without the polymorphism, the latter of whom exhibited reduced RMR. To date, there have been no reports of the *LEP* gene polymorphism modifying RMR after a hypocaloric diet. The *LEP* rs7799039 gene polymorphism is one of the

most extensively studied in the human leptin gene in different populations[61,62]. Although there is no consensus, it has been reported that individuals with the risk allele (A) exhibited increased production and secretion of leptin by adipocytes in comparison to the wild allele (G) [62,63]. In addition, the results of our study indicated that women with the *GHRL* and *GHSR* gene polymorphisms in the MF6 group exhibited lower concentrations of active ghrelin compared to those with the polymorphism in the MF3 group following the intervention. The absence of intervention studies investigating the impact of a hypocaloric diet on weight loss, as well as the influence of different MF and polymorphisms of the *GHRL* and *GHSR* genes, limits the ability to make comparisons with the findings of our study. There is no consensus in the literature regarding the effect of polymorphisms in the *GHSR* and *GHRL* genes on plasma ghrelin concentration. However, there are reports indicating that such polymorphisms may influence this parameter [64,65].

The limitations of this study include the small sample size. The intervention period was 12 weeks, and it is therefore not possible to state the possible long-term effects of the MF. Another limitation was the variability between individuals in self-reported nutrient intake. To minimize metabolic differences, the sample was homogeneous, including participants of childbearing age, of the same sex, with similar BMI classification and without comorbidities.

5. Conclusion

To date, our study is the first to analyze the interaction of nine genetic polymorphisms and a hypocaloric diet with different MF in Brazilian women on anthropometric, metabolic, and hormonal outcomes. The present study concludes that a moderately hypocaloric diet with different MF resulted in a comparable reduction in BMI and WC. Nevertheless, the consumption of six meals per day was found to confer advantages in reducing WC and insulin levels. Individuals who carried the *LEP* rs7799039 polymorphism and ate three meals a day exhibited an

increase in their RMR. In the context of eating six meals a day, carriers of the *GHRL* rs696217 and *GHSR* rs27647 risk alleles demonstrated a reduction in ghrelin. Nevertheless, the presence of risk alleles for these polymorphisms did not affect anthropometric outcomes.

Apoio: FAPERJ - Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro, Processo SEI 202.359/2022.

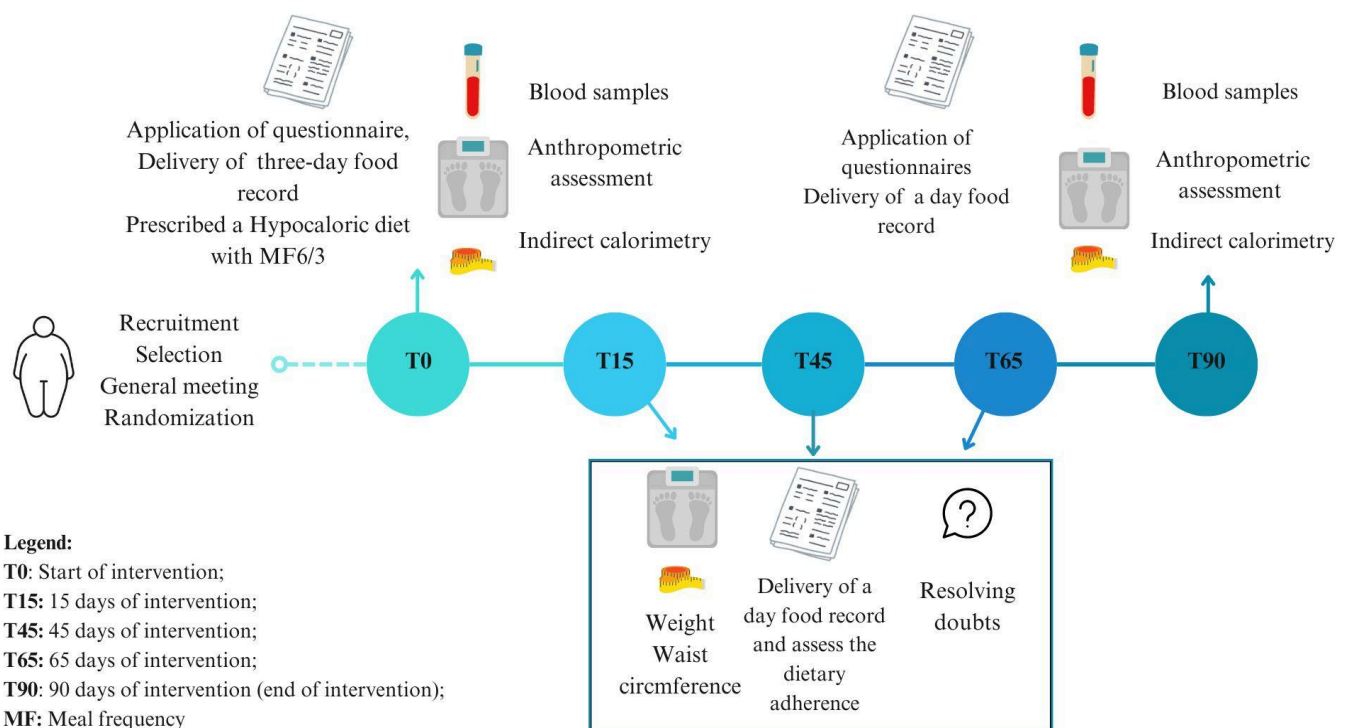


Figure 1. Study design.

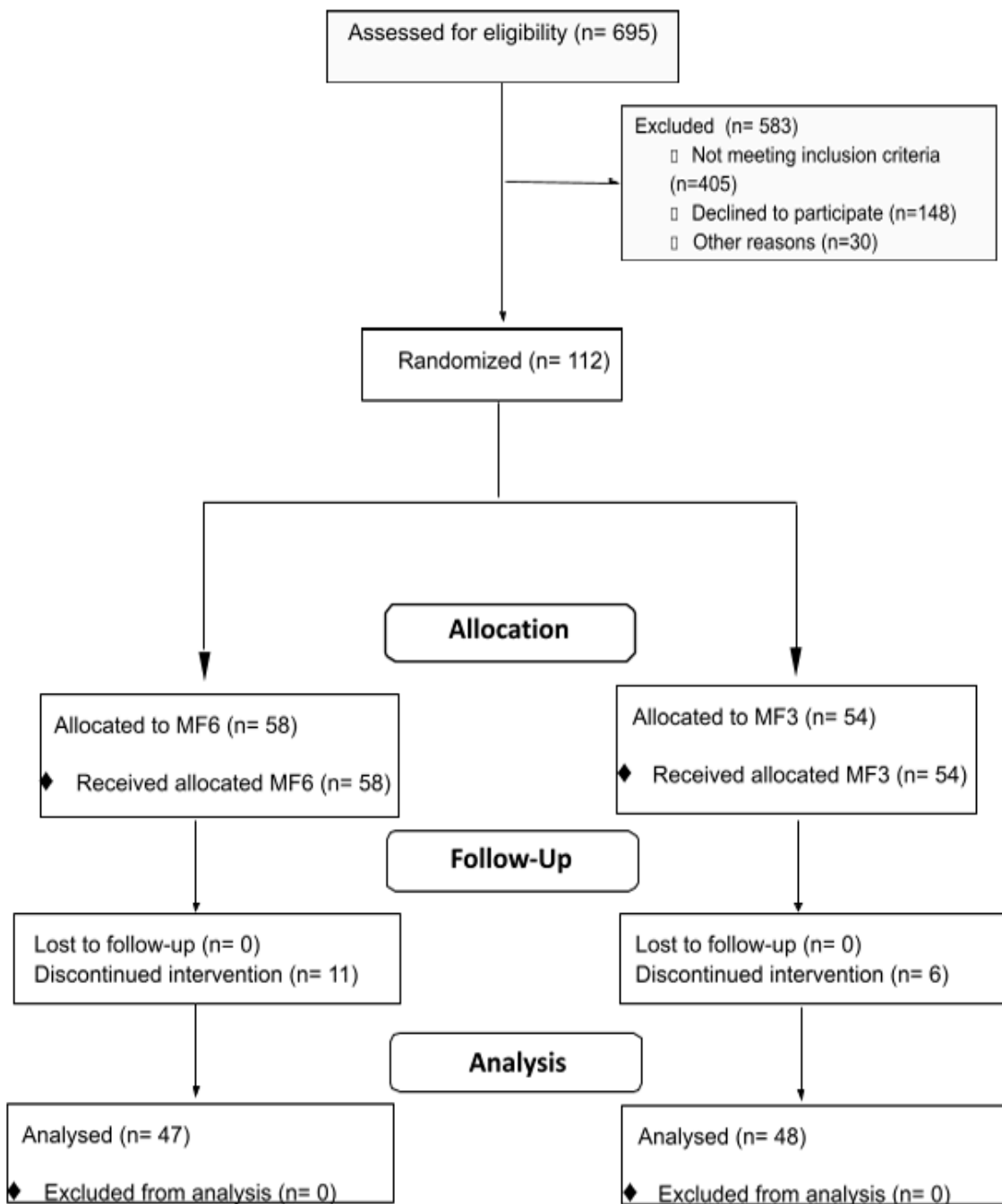


Figure 2. Flow-diagram of participants of the study.

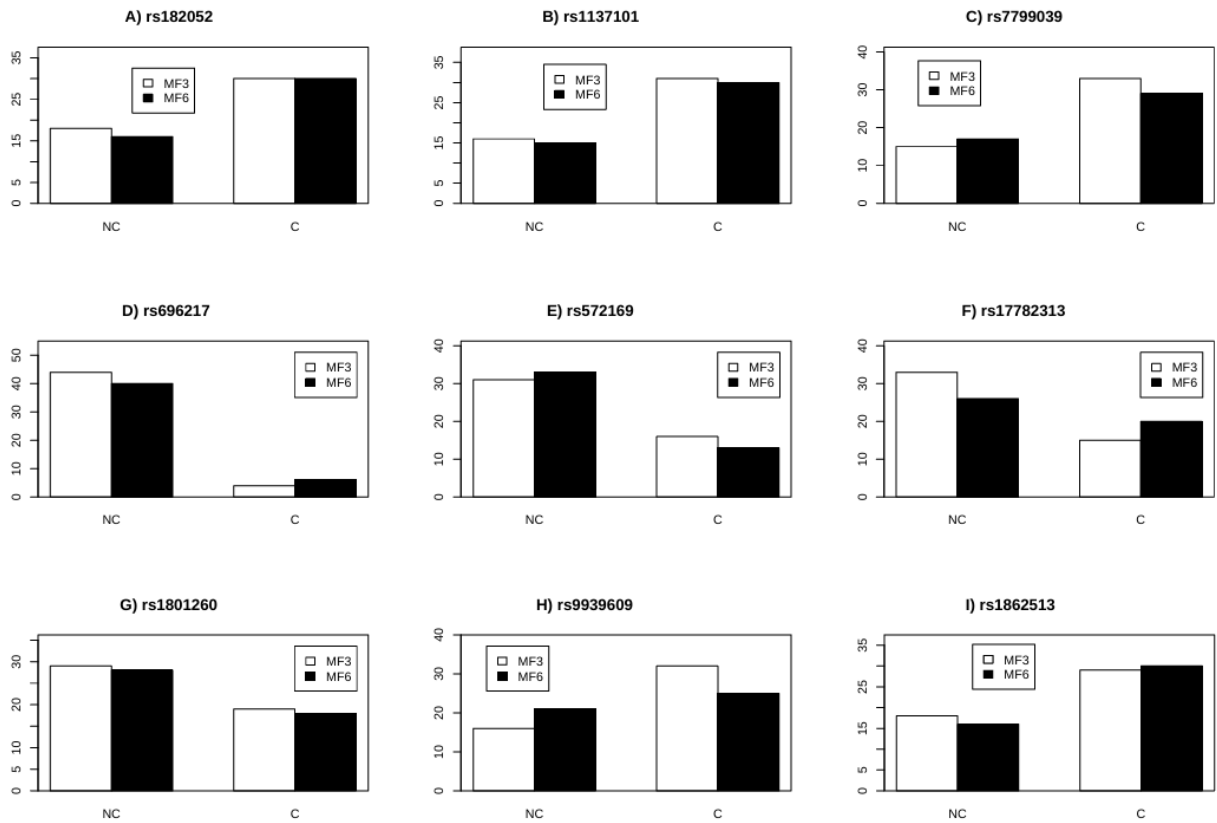


Figure 3. Distribution of individuals who carry and do not carry the risk alleles in the MF3 and MF6 groups. Bar graphs illustrate the distribution of individuals carrying the risk allele and those not carrying the risk allele according to the MF3 and MF6 groups for the polymorphisms: A) *ADIPOQ* *rs182052*; B) *LEPR* *rs1137101*; C) *LEP* *rs7799039*; D) *GHRL* *rs696217*; E) *GHSR* *rs696217*; F) *MC4R* *rs17782313*; G) *CLOCK* *rs1801260*; H) *FTO* *rs9939609*; I) *RETN* *rs1862513*. Legend: NC: non-carriers; C: carriers; MF3: group of 3 meals per day; MF6: group of 6 meals per day.

Table 1. Baseline characteristics of the study, stratified by the MF6 and MF3 groups (median (interquartile range-IQR)).

Indicators	Overall (n=95)	MF3 (n=48)	MF6 (n=47)	p.value*
Age (years)	32 (11.5)	32.5 (12)	32 (11.5)	0.72
BMI (kg/m ²)	35.41 (4.97)	35.63 (5.28)	35.1 (4.73)	0.88
Weight (kg)	93.25 (14.2)	94.8 (11.42)	90.3 (14.47)	0.25
WC (cm)	99.1 (11.15)	102 (10.29)	97.46 (9.67)	0.03
FM (Kg)	43.57 (10.55)	45.73 (11.03)	42.43 (10.11)	0.35
FM (%)	43.2 (4.95)	43.74 (5.46)	42.5 (4.51)	0.42
Glucose (mg/dL)	91 (12.5)	92 (11.25)	90 (11.5)	0.23
Insulin (mcU/mL)	18.6 (12.5)	20.55 (13.85)	17.4 (9.4)	0.10
TC (mg/dL)	178 (51.5)	180.5 (54.5)	177 (53.5)	0.15
TG (mg/dL)	106 (55.5)	111.5 (44.5)	92 (47.5)	0.02
LDL-c (mg/dL)	103 (42)	111.5 (37)	96 (42)	0.08
HDL-c (mg/dL)	45 (13)	45 (9.5)	46 (15.5)	0.46
HOMA-IR	4.19 (2.99)	4.5 (3.41)	3.58 (2.27)	0.06
QUICKI	1.49 (0.19)	1.46 (0.21)	1.51 (0.17)	0.26
BES (score)	15 (9.5)	15 (8.5)	13 (11)	0.50

Legend: MF3: group of 3 meals per day; MF6: group of 6 meals per day; BMI: Body Mass Index; WC: Waist Circumference; FM: Fat Mass; TC: Total cholesterol; LDL-c: low-density lipoprotein; HDL-c: high-density lipoprotein; TG: Triglycerides; HOMA-IR: Homeostasis model assessment index, QUICKI: Quantitative Insulin Sensitivity Check Index, BES: Binge Eating Scale. *Kruskal-Wallis tests.

Table 2. Genotype and allele frequency in women with obesity among the groups.

<i>Genotypes</i>	Overall	MF3	MF6	p-value*
<i>RETN(C>G) rs1862513</i>				
CC	34 (36.6%)	18 (38.3%)	16 (34.8%)	
CG	46 (49.5%)	26 (55.3%)	20 (43.5%)	0.097
GG	13 (14%)	3 (6.4%)	10 (21.7%)	
C Allele	57(61.3%)			
G Allele	36(38.7%)			
<i>ADIPOQ(G>A) rs182052</i>				
GG	34 (36.2%)	18 (37.5%)	16 (34.8%)	
GA	45 (47.9%)	24 (50%)	21 (45.7%)	0.645
AA	15 (16%)	6 (12.5%)	9 (19.6%)	
G Allele	57(60.2%)			
A Allele	37(39.8%)			
<i>LEPR(A>G) rs1137101</i>				
AA	31 (33.7%)	16 (34%)	15 (33.3%)	
AG	43 (46.7%)	23 (48.9%)	20 (44.4%)	0.810
GG	18 (19.6%)	8 (17%)	10 (22.2%)	
A Allele	53(57.1%)			
G Allele	39(42.9%)			
<i>LEP(G>A) rs7799039</i>				
GG	32 (34%)	15 (31.2%)	17 (37%)	
GA	54 (57.4%)	27 (56.2%)	27 (58.7%)	0.353
AA	8 (8.5%)	6 (12.5%)	2 (4.3%)	
G Allele	59(62.8%)			
A Allele	35(37.2%)			
<i>GHRL(G>T) rs696217</i>				
GG	84 (89.4%)	44 (91.7%)	40 (87%)	0.685
GT	10 (10.6%)	4 (8.3%)	6 (13%)	
TT	0	0	0	
G Allele	84(89.4%)			
T Allele	10(10.6%)			
<i>GHSR(G>A) rs572169</i>				
GG	64 (68.8%)	31 (66%)	33 (71.7%)	0.606
GA	26 (28%)	15 (31.9%)	11 (23.9%)	
AA	3 (3.2%)	1 (2.1%)	2 (4.3%)	
G Allele	77(82.8%)			
A Allele	16(17.2%)			
<i>MC4R(T>C) rs17782313</i>				
TT	59 (62.8%)	33 (68.8%)	26 (56.5%)	0.354
TC	31 (33%)	14 (29.2%)	17 (37%)	

CC	4 (4.3%)	1 (2.1%)	3 (6.5%)	
T Allele	75(79.3%)			
C Allele	19(20.7%)			
<i>CLOCK(T>C) rs1801260</i>				
TT	57 (60.6%)	29 (60.4%)	28 (60.9%)	0.775
TC	29 (30.9%)	14 (29.2%)	15 (32.6%)	
CC	8 (8.5%)	5 (10.4%)	3 (6.5%)	
T Allele	72(76.1%)			
C Allele	22(23.9%)			
<i>FTO(T>A) rs9939609</i>				
TT	37 (39.4%)	16 (33.3%)	21 (45.7%)	0.420
TA	34 (36.2%)	20 (41.7%)	14 (30.4%)	
AA	23 (24.5%)	12 (25%)	11 (23.9%)	
T Allele	54(57.5%)			
A Allele	40(42.5%)			

Legend:MF3: group of 3 meals per day; MF6: group of 6 meals per day. Data presented as absolute and relative frequencies, n (%). * Chi square test or Fisher exact test to compare frequencies.

Table 3. Comparison of the percentage of self-reported adherence to the diet during the intervention for the two groups (median (CI 95%)).

	MF3 (n=48)	MF6 (n=47)	p- value **
Self-reported dietary adherence T15 (%)	72.5(30;100)	75(45;100)	0.44
Self-reported dietary adherence T45 (%)	74(10;98)	70(20;100)	0.94
Self-reported dietary adherence T65 (%)	75(20;100)	80(20;100)	0.92

Legend: MF3: group of 3 meals per day; MF6: group of 6 meals per day;T15: 15-day time; T45: 45-day time; T65: 65-day time. The data was shown as mean ± standard deviation. *Differences between groups analyzed by t-test with significance when p <0.05.

Table 4. Estimated marginal means of food intake before and after dietary prescription by group (estimated marginal mean (CI 95%).)

	MF3 (n=48)	MF6 (n=47)	<i>p</i> - value **
Energy (kcal) Baseline	1970.2(1865.3;2075.1)	1897.8(1791.8;2003.7)	0.77
Energy (kcal) Final	1378.4(1273.5;1483.3)	1440.1(1334.1;1546.0)	0.84
<i>p</i> - value *	0.001	0.001	
CHO (%) Baseline	49.4(32.0;65.1)	49.4(35.0;62.8)	0.99
CHO (%) Final	47.7(33.9;62.4)	47.7(30.4;63.8)	0.63
<i>p</i> - value *	0.64	0.99	
PTN (%) Baseline	19.3(17.8;20.8)	18.9(17.8;20.8)	0.98
PTN (%) Final	22.9(21.4;24.8)	24.2(22.7;25.8)	0.62
<i>p</i> - value *	0.001	0.001	
LIP (%) Baseline	31.9(30.4;33.4)	32.2(30.7;33.7)	0.99
LIP (%) Final	29.9(28.4;31.4)	28.3(26.8;29.8)	0.46
<i>p</i> - value *	0.07	0.001	
SFA (%) Baseline	10.2(9.5;10.9)	10.3(9.6;11.0)	0.99
SFA (%) Final	9.8(9.1;10.4)	9.5(8.8;10.2)	0.95
<i>p</i> - value *	0.75	0.23	
MUFA (%) Baseline	9.5(3.8;15.2)	8.5(2.7;14.2)	0.99
MUFA (%) Final	15.6(9.4;20.8)	8.6(2.9;14.4)	0.39
<i>p</i> - value *	0.51	0.99	
PUFA (%) Baseline	6.1(2.1;10.2)	6.9(2.9;11.0)	0.99
PUFA (%) Final	10.4(6.4;14.4)	6.7(2.6;10.8)	0.58
<i>p</i> - value*	0.45	0.99	
Cholesterol (mg) Baseline	338.5(303.0;373.9)	322.1(286.3;357.9)	0.91
Cholesterol (mg) Final	291.0(255.6;326.3)	347.6(311.9;383.3)	0.62
<i>p</i> - value *	0.17	0.69	
Fiber (g) Baseline	17.6(6.2;43.1)	17.9(6.2;48.1)	0.99
Fiber (g) Final	20.0(11.4;34.8)	17.8(7.0;34.8)	0.99
<i>p</i> - value *	0.77	0.93	
Number of meals/day Baseline	4.2(4.0;4.4)	4.1(3.9;4.3)	0.87
Number of meals/day Final	3.4(3.2;3.6)	5.4(5.2;5.7)	0.01
<i>p</i> - value *	0.001	0.01	

Legend: MF3: group of 3 meals per day; MF6: group of 6 meals per day; CHO: carbohydrates; PTN: protein; LIP: lipids; SFA: saturated fatty acid; MUFA: monounsaturated fatty acid; PUFA: polyunsaturated fatty acid. Data represent predicted marginal means (standard deviation) adjusted for age, BMI, and IPAQ, when applicable, and its 95% confidence intervals either by fitting multiple mixed linear models with random multiple intercepts and systematic component given by time, dietary intervention and its first order interaction (4-groups) plus the confounding variables or by fitting multiple linear fixed effects models for the differences between the post-dietary intervention and baseline (Δ) for which the main effect was the difference between dietary interventions (2-groups) plus the confounding variables. For the former, p-values for contrasts/differences between post- and pre-interventions by dietary group were corrected by the number of comparisons with the reference level (type I comparison-wise error) by the Holm-Sidak *post-hoc* method.

*Indicates a p-value comparing estimated marginal means within groups.

**Indicates a p-value comparing estimated marginal means between groups.

Table 5. Estimated marginal means of anthropometric indicators before and after dietary prescription by group (estimated marginal mean (CI 95%)).

	MF3 (n=48)	MF6 (n=47)	p- value **
BMI (kg/m²) Baseline	36.0(34.8;37.1)	35.9(34.7;37.0)	0.99
BMI (kg/m²) Final	35.0(33.8;36.1)	35.0(33.8;36.1)	0.99
p- value *	0.001	0.001	
WC (cm) Baseline	101.4(99.8;103.1)	98.5(96.9;100.2)	0.07
WC (cm) Final	99.2(97.6;100.9)	96.1(94.4;97.7)	0.04
p- value *	0.001	0.001	
FM (kg) Baseline	44.8(43.8;45.9)	43.6(42.6;44.7)	0.39
FM (kg) Final	44.7(43.7;45.8)	43.5(42.5;44.6)	0.48
p- value *	0.93	0.41	
FM (%) Baseline	43.3(41.8;44.9)	42.7(41.1;44.3)	0.94
FM (%) Final	42.5(41.0;44.1)	43.3(41.7;44.93)	0.90
p- value *	0.67	0.84	
FFM (kg) Baseline	50.1(48.7;51.5)	49.6(48.2;51.0)	0.95
FFM (kg) Final	50.1(48.7;51.5)	49.7(48.2;51.1)	0.96
p- value *	0.99	0.99	
RMR (kcal) Baseline	1469.2(1449.0;1543.5)	1494.1(1447.0;1552.3)	0.99
RMR (kcal) Final	1516.34(1469.6;1562.9)	1504(1457.4;1552.3)	0.98
p- value *	0.67	0.92	
RC Baseline	0.80(0.78;0.82)	0.81(0.78;0.83)	0.95
RC Final	0.79(0.77;0.82)	0.80(0.78;0.82)	0.99
p- value *	0.98	0.95	

Legend: MF3: group of 3 meals per day; MF6: group of 6 meals per day; BMI: body mass index; WC: waist circumference; FFM: fat-free mass; FM: fat mass; RMR: resting metabolic rate; RC: respiratory coefficient.

Data represent predicted marginal means (standard deviation) adjusted for age, BMI, and IPAQ, when applicable, and its 95% confidence intervals either by fitting multiple mixed linear models with random multiple intercepts and systematic component given by time, dietary intervention and its first order interaction (4-groups) plus the confounding variables or by fitting multiple linear fixed effects models for the differences between the post-dietary intervention and baseline (Δ) for which the main effect was the difference between dietary interventions (2-groups) plus the confounding variables. For the former, p-values for contrasts/differences between post- and pre-interventions by dietary group were corrected by the number of comparisons with the reference level (type I comparison-wise error) by the Holm-Sidak *post-hoc* method.

*Indicates a p-value comparing estimated marginal means within groups.

**Indicates a p-value comparing estimated marginal means between groups.

Table 6. Estimated marginal means of laboratory indicators before and after dietary prescription by group (estimated marginal mean (CI 95%).

	MF3 (n=48)	MF6 (n=47)	p- value **
Glucose (mg/dL) Baseline	92.7(89.4;96.1)	88.9(85.6;92.3)	0.38
Glucose (mg/dL) Final	90.9(87.6;94.2)	88.2(84.8;91.5)	0.66
p- value *	0.52	0.94	
Insulin (μU/mL) Baseline	22.0(18.9;25.1)	20.1(17.1;23.2)	0.82
Insulin (μU/mL) Final	19.7(16.7;22.7)	16.4(13.3;19.5)	0.44
p- value *	0.33	0.03	
HOMA-IR Baseline	5.03(4.25;5.81)	4.54(3.76;5.31)	0.81
HOMA-IR Final	4.51(3.74;5.27)	3.69(2.91;4.47)	0.45
p- value *	0.40	0.05	
QUICKI Baseline	1.52(1.48;1.57)	1.53(1.48;1.58)	0.99
QUICKI Final	1.51(1.46;1.55)	1.57(1.52;1.62)	0.19
p- value *	0.89	0.33	
TC (mg/dL) Baseline	182.9(173.8;192.0)	173.6(164.5;182.7)	0.48
TC (mg/dL) Final	173.6(164.6;182.5)	168.1(159.0;177.2)	0.83
p- value *	0.05	0.42	
HDL-c (mg/dL) Baseline	47.6(44.5;50.7)	49.8(46.7;52.8)	0.74
HDL-c (mg/dL) Final	46.0(43.0;49.0)	48.2(45.7;51.3)	0.74
p- value *	0.47	0.46	
LDL-c (mg/dL) Baseline	112.3(104.1;120.4)	103.3(95.2;111.5)	0.42
LDL-c (mg/dL) Final	105.9(97.3;113.9)	99.0(90.8;107.1)	0.62
p- value *	0.21	0.53	
TG (mg/dL) Baseline	120.8(107.9;133.7)	106.3(93.5;119.1)	0.39
TG (mg/dL) Final	113.6(100.9;126.2)	95.6(82.7;108.5)	0.20
p- value *	0.59	0.24	
Active ghrelin (pg/mL) Baseline	211.4(85.8;337.0)	313.8(188.6;439.0)	0.66
Active ghrelin (pg/mL) Final	236.4(112.6;360.3)	254.6(128.5;380.7)	0.99
p- value *	0.96	0.65	
Adiponectin (pg/mL) Baseline	2.26(1.85;2.66)	2.05(1.65;2.46)	0.89
Adiponectin (pg/mL) Final	1.98(1.58;2.38)	1.97(1.56;2.37)	0.99
p- value *	0.13	0.89	
Leptin (pg/mL) Baseline	52.0(46.2;57.8)	54.6(48.8;60.4)	0.92
Leptin (pg/mL) Final	46.7(41.2;52.5)	48.8(42.9;54.6)	0.96
p- value *	0.26	0.18	

Legend: MF3: group of 3 meals per day; MF6: group of 6 meals per day; HOMA-IR: Homeostasis Model Assessment; QUICKI: Quantitative Insulin Sensitivity Check Index; TC: total cholesterol; HDL-c: high-density lipoprotein cholesterol; LDL-c: low-density lipoprotein cholesterol; TG: triglycerides.

Data represent predicted marginal means (standard deviation) adjusted for age, BMI, and IPAQ, when applicable, and its 95% confidence intervals either by fitting multiple mixed linear models with random multiple intercepts and systematic component given by time, dietary intervention and its first order interaction (4-groups) plus the confounding variables or by fitting multiple linear fixed effects models for the differences between the post-dietary intervention and baseline (Δ) for which the main effect was the difference between dietary interventions (2-groups) plus the confounding variables. For the former, p-values for contrasts/differences between post- and pre-interventions by dietary group were corrected by the number of comparisons with the reference level (type I comparison-wise error) by the Holm-Sidak *post-hoc* method.

*Indicates a p-value comparing estimated marginal means within groups.

**Indicates a p-value comparing estimated marginal means between groups.

Supplemental Table 1: The caloric value and macronutrient distribution across each eating occasion of daily menu for each treatment.

Diet Plan					
Six daily eating occasion					
Meal/snack	Food groups	Carbohydrates (%)	Proteins (%)	Fats (%)	Total energy (kcal)
Breakfast	- Grain foods (one serving) - Dairy group (one and a half servings) - Fruit (two servings) - Butter (one dessertspoon)	78.63	5.81	15.56	301.09(15%)
Snack	- Fruit (one serving)	91.62	6.70	1.68	42.96(2.14%)
Lunch	- Dark-green vegetables (free) - Red, orange or other vegetables (two servings) - Beans, peas, and lentils vegetables (one serving) - Grain foods (one and a half servings) - Meat, poultry, and eggs (one serving) - Fruit (one and a half servings) - Extra-virgin olive oil (one tablespoon)	58.67	25.02	16.31	707.06(35.23%)
Snack	- Grain foods (one serving) - Dairy group (one servings)	39.58	27.66	75.36	186.01(9.27%)
Dinner	- Dark-green vegetables (freely) - Red, orange or other vegetables (two servings) - Grain foods (one and a half servings) - Meat, poultry, and eggs (one serving) - Fruit (one serving) - Extra-virgin olive oil (one tablespoon)	36.53	41.41	22.06	614.50(30.62%)
Evening snack	- Fruit (two servings)	24.30	2.70	-	108 (5.38%)
Total		54.14	25.62	21.86	2006.47 (100%)

Diet Plan					
Three daily eating occasion					
Meal/snack	Food groups	Carbohydrates (%)	Proteins (%)	Fats (%)	Total energy (kcal)
Breakfast	- Grain foods (one and a half servings) - Dairy group (one and a half servings) - Fruit (three servings) - Butter (one dessertspoon)	69.88	15.71	31.51	463.49(23.10%)
Lunch	- Dark-green vegetables (freely) - Red, orange or other vegetables (three servings) - Beans, peas, and lentils vegetables (one serving) - Grain foods (one and a half servings) - Meat, poultry, and eggs (one serving) - Fruit (two servings) - Extra-virgin olive oil (one tablespoon)	55.09	24.97	19.93	736.17(36.70%)
Dinner	- Dark-green vegetables (freely) - Red, orange or other vegetables (three servings) - Grain foods (one and a half servings) - Meat, poultry, and eggs (one serving) - Fruit (two serving) - Extra-virgin olive oil (one tablespoon)	37.89	34.76	27.35	757.50(37.76%)
Total		50.68	25.92	24.93	2005.63 (100%)

Supplemental Table 2. Comparison of the difference of the estimated marginal means (T90-T0) of the dietary, hormones, anthropometric, and energy expenditure indicators between woman carries and no-carries of the rs1862513, rs182052, rs1137101, rs7799039, rs696217, rs572169, rs17782313, rs1801260 and rs9939609 polymorphisms before and after dietary prescription by group and within groups (difference in estimated marginal means (95% CI)).

		MF3	MF6	<i>p</i> - value **
RETN(C>G) rs1862513				
DIETARY				
Energy (kcal)	NC	-735.8(-977.6;-494.0)	-422.5(-681.0;-164.1)	0.31
	C	-507.0(-696.7;-317.4)	-523.3(-708.2;-338.3)	0.99
<i>p</i> - value *		0.45	0.92	
CHO (%)	NC	-4.4(-64.8;56.0)	7.2(-65.0;62.5)	0.72
	C	32.13(-33.1;67.3)	-0.4(-54.3;53.3)	0.99
<i>p</i> - value *		0.72	0.98	
PTN (%)	NC	3.8(1.0;6.7)	4.1(1.0;7.1)	0.99
	C	3.4(1.2;5.7)	6.0(3.8;8.2)	0.36
<i>p</i> - value *		0.99	0.72	
LIP (%)	NC	-0.2(-3.1;2.6)	-4.7(-7.8;-1.6)	0.17
	C	-2.5(-4.8;-0.3)	-3.9(-6.1;-1.7)	0.83
<i>p</i> - value *		0.59	0.97	
Fiber (g)	NC	6.5(-38.7;41.8)	-6.09(-44.5;32.3)	0.98
	C	-16.5(-42.0;9.0)	-18.2(-42.9;16.3)	0.98
<i>p</i> - value *		0.66	0.97	
Number of meals/day	NC	-1.2(-1.6;-0.8)	1.1(0.7;1.6)	0.001
	C	-0.7(-1.0;-0.4)	1.3(1.0;1.7)	0.001
		0.34	0.82	
HORMONES				
Active ghrelin (pg/mL)	NC	43.7(-124.7;212.2)	-147.4(-324.9;30.0)	0.40
	C	-3.5(-134.7;127.6)	-34.30(-162.5;93.7)	0.98
<i>p</i> - value *		0.97	0.73	
Adiponectin (pg/mL)	NC	-0.2(-0.6;0.1)	-0.1(-0.5;0.2)	0.96
	C	-0.2(-0.5;0.06)	-0.02(-0.3;0.2)	0.72
<i>p</i> - value *		0.99	0.96	
Leptin (pg/mL)	NC	-7.8(-17.1;1.4)	-10.8(-20.6;-1.0)	0.97
	C	-5.8(-13.0;1.3)	-5.4(-12.5;1.6)	0.99
<i>p</i> - value *		0.98	0.81	
ANTHROPOMETRIC				
BMI (kg/m ²)	NC	-1.5(-2.11;-0.9)	-1.1(-1.7;-0.4)	0.76
	C	-0.6(-1.1;-0.2)	-0.6 (-1.1;-0.2)	0.99
<i>p</i> - value *		0.11	0.71	
WC (cm)	NC	-3.3(-5.1;-1.4)	-4.4(-6.3;-2.5)	0.83
	C	-3.8(-5.2;-2.4)	-3.7(-5.1;-2.3)	0.99
<i>p</i> - value *		0.97	0.94	
ENERGY EXPENDITURE				
RMR (kcal)	NC	31.6(-25.2;88.6)	17.39(-42.5;77.3)	0.98
	C	-35.5(-79.8;8.8)	-39.8(-83.1;3.4)	0.99
<i>p</i> - value *		0.26	0.42	
ADIPOQ(G>A) rs182052				
DIETARY				

Energy (kcal)	NC	-611.2(-866.5;-355.9)	-372.3(-627.4;-117.2)	0.56
	C	-582.5(-768.2;-396.7)	-550.0(-737.4;-362.5)	0.99
<i>p</i> - value *		0.99	0.67	
CHO (%)	NC	65.9(-4.4;62.2)	1.9(-61.3;65.2)	0.58
	C	-0.4(-53.8;52.9)	-0.8(-54.7;53.0)	0.99
<i>p</i> - value *		0.44	0.99	
PTN (%)	NC	4.3(1.3;7.3)	5.7(2.7;8.8)	0.90
	C	3.3(1.1;5.5)	5.1(2.9;7.3)	0.65
<i>p</i> - value *		0.95	0.99	
LIP (%)	NC	-1.8(-4.9;1.1)	-3.6(-6.7;-0.6)	0.84
	C	-1.6(-3.8;0.6)	-4.4(-6.7;-2.2)	0.27
<i>p</i> - value *		0.99	0.97	
Fiber (g)	NC	-14.0(-41.5;13.3)	5.3(-32.0;42.7)	0.65
	C	-2.6(-37.1;31.9)	-13.2(-38.0;11.6)	0.83
<i>p</i> - value *		0.71	0.76	
Number of meals/day	NC	-1.1(-1.5;-0.6)	1.3(0.8;1.7)	0.001
	C	-0.8(-1.1;-0.4)	1.3(1.0;1.6)	0.001
		0.69	0.99	
HORMONES				
Active ghrelin (pg/mL)	NC	-23.6(-118.4;141.7)	-88.3(-263.4;86.7)	0.95
	C	35.6(-92.3;163.7)	-64.0(-192.3;64.3)	0.69
<i>p</i> - value *		0.94	0.99	
Adiponectin (pg/mL)	NC	-0.2(-0.6;0.1)	-0.2(-0.7;0.1)	0.99
	C	-0.2(-0.5;0.02)	-0.05(-0.2;0.3)	0.41
<i>p</i> - value *		0.99	0.56	
Leptin (pg/mL)	NC	-8.7(-17.6;0.08)	0.8(-8.5;10.3)	0.45
	C	-5.4(-12.3;1.3)	-11.6(-18.5;-4.7)	0.59
<i>p</i> - value *		0.93	0.15	
ANTHROPOMETRIC				
BMI (kg/m ²)	NC	-0.7(-1.3;-0.1)	-1.1(-1.7;-0.4)	0.80
	C	-1.1(-1.6;-0.7)	-0.6 (-1.1;-0.2)	0.43
<i>p</i> - value *		0.63	0.67	
WC (cm)	NC	-4.0(-5.7;-2.2)	-2.4(-4.2;-0.5)	0.59
	C	-3.5(-4.8;-2.1)	-4.8(-6.2;-3.5)	0.50
<i>p</i> - value *		0.96	0.15	
ENERGY EXPENDITURE				
RMR (kcal)	NC	-9.7(-67.0;47.4)	-28.9(-89.7;31.7)	0.96
	C	-7.9(-52.3;36.4)	-14.9(-59.4;29.5)	0.99
<i>p</i> - value *		0.99	0.98	
LEPR(A>G) rs1137101				
DIETARY				
Energy (kcal)	NC	-552.9(-811.3;-294.4)	-450.0(-719.6;-180.3)	0.94
	C	-616.7(-804.6;-428.8)	-494.0(-684.8;-303.2)	0.80
<i>p</i> - value *		0.97	0.99	
CHO (%)	NC	60.3(36.7;63.8)	10.1(-56.5;66.9)	0.43
	C	-11.06(-64.5;42.4)	-0.3(54.6;53.9)	0.99
<i>p</i> - value *		0.12	0.99	
PTN (%)	NC	1.2(-1.8;4.0)	7.1(4.0;10.2)	0.02
	C	4.9(2.8;7.0)	4.5(2.3;6.6)	0.99
<i>p</i> - value *		0.16	0.50	
LIP (%)	NC	-0.8(-3.8;2.2)	-5.5(-8.7;-2.3)	0.15

	C	-2.1(-4.4;0.03)	-3.5(-5.8;-1.3)	0.83
<i>p</i> -value *		0.88	0.75	
Fiber (g)	NC	-33.7(-41.4;4.0)	-32.5(-42.4;17.2)	0.99
	C	1.95(-32.7;36.6)	-5.6(-40.9;29.6)	0.99
<i>p</i> -value *		0.41	0.81	
Number of meals/day	NC	-0.6(-1.0;-0.2)	1.5(1.0;1.9)	0.001
	C	-1.1(-1.4;-0.7)	1.2(0.8;1.5)	0.001
		0.20	0.60	
HORMONES				
Active ghrelin (pg/mL)	NC	77.5(-100.3;255.3)	-67.7(-252.6;117.5)	0.67
	C	-17.5(-145.0;109.9)	-79.9(-208.5;48.6)	0.90
<i>p</i> -value *		0.82	0.99	
Adiponectin (pg/mL)	NC	-0.06(-0.4;0.3)	-0.3(-0.7;0.08)	0.78
	C	-0.3(-0.6;0.05)	0.08(-0.2;0.3)	0.17
<i>p</i> -value *		0.67	0.38	
Leptin (pg/mL)	NC	-3.1(-12.5;6.3)	-14.9(-24.5;-4.6)	0.35
	C	-8.3(-15.2;-1.5)	-4.6(-11.5;2.2)	0.86
<i>p</i> -value *		0.82	0.36	
ANTHROPOMETRIC				
BMI (kg/m ²)	NC	-0.5(-1.1;0.05)	-0.5(-1.2;0.05)	0.99
	C	-1.2(-1.6;0.05)	-1.0(-1.5;-0.6)	0.94
<i>p</i> -value *		0.26	0.60	
WC (cm)	NC	-4.1(-5.9;-2.0)	-5.1(-6.9;-3.2)	0.86
	C	-3.4(-4.7;-2.1)	-3.9(-5.2;-2.6)	0.95
<i>p</i> -value *		0.93	0.73	
ENERGY EXPENDITURE				
RMR (kcal)	NC	8.1(-53.4;69.8)	-26.9(-90.9;36.9)	0.85
	C	-19.7(-63.8;24.3)	-19.5(-64.0;24.9)	0.99
<i>p</i> -value *		0.88	0.99	
LEP(G>A) rs7799039				
DIETARY				
Energy (kcal)	NC	-702.1(-965.9;-438.3)	-383.9(-628.4;-139.0)	0.30
	C	-541.4(-718.8;-364.0)	-552.2(-473.1;-361.02)	0.99
<i>p</i> -value *		0.74	0.70	
CHO (%)	NC	-10.0(-66.7;56.3)	-2.38(-63.4;58.7)	0.99
	C	19.1(-32.44;60.7)	4.57(-50.9;60.0)	0.80
<i>p</i> -value *		0.71	0.99	
PTN (%)	NC	3.0(-0.13;6.15)	5.1(2.2;8.0)	0.74
	C	4.0(1.89;6.11)	5.5(3.2;7.8)	0.76
<i>p</i> -value *		0.95	0.99	
LIP (%)	NC	-0.3(-3.5;2.7)	-4.8(-7.7;-1.8)	0.17
	C	-2.3(-4.4;0.1)	-3.8(-6.1;-1.5)	0.77
<i>p</i> -value *		0.74	0.95	
Fiber (g)	NC	-4.6(-44.0;34.7)	-0.9(-46.8;44.8)	0.99
	C	-17.5(-40.7;15.7)	-11.9(-47.7;13.7)	0.99
<i>p</i> -value *		0.97	0.88	
Number of meals/day	NC	-0.8(-1.2;-0.4)	0.9(0.5;1.4)	0.001
	C	-0.9(-1.2;-0.6)	1.5(1.1;1.8)	0.001
		0.97	0.21	
HORMONES				
Active ghrelin (pg/mL)	NC	44.1(-135.3;223.5)	8.4(-160.7;177.7)	0.99

	C	-1.1(-122.8;120.5)	-119.0(-247.7;9.7)	0.55
<i>p</i> - value *		0.97	0.63	
Adiponectin (pg/mL)	NC	-0.3(-0.7;-0.08)	-0.1(-0.5;0.2)	0.92
	C	-0.2(-0.5;0.07)	-0.01(-0.3;0.3)	0.74
<i>p</i> - value *		0.96	0.92	
Leptin (pg/mL)	NC	-4.4(-14.3;5.5)	-7.2(-16.6;2.1)	0.97
	C	-7.8(-14.6;-1.0)	-7.2(-14.3;0.01)	0.99
<i>p</i> - value *		0.94	0.99	
ANTHROPOMETRIC				
BMI (kg/m ²)	NC	-0.7(-1.4;-0.1)	-0.6(-1.2;-0.02)	0.98
	C	-1.1(-1.5;-0.6)	-0.9 (-1.4;-0.4)	0.96
<i>p</i> - value *		0.86	0.86	
WC (cm)	NC	-2.5(-4.1;-0.3)	-2.9(-4.7;-1.1)	0.95
	C	-4.3(-5.6;-3.1)	-4.6(-5.9;-3.2)	0.99
<i>p</i> - value *		0.26	0.44	
ENERGY EXPENDITURE				
RMR (kcal)	NC	-86.4(-145.8;-27.0)	-13.9(-69.9;42.0)	0.29
	C	27.5(-12.77;67.7)	-24.1(-66.7;18.4)	0.30
<i>p</i> - value *		0.01	0.99	
GHRL(G>T) rs696217				
DIETARY				
Energy (kcal)	NC	-567.7(-721.2;-414.1)	-501.3(-663.2;-339.4)	0.93
	C	-887.8(-1402.7;-372.9)	-392.1(-810.1;25.7)	0.45
<i>p</i> - value *		0.63	0.96	
CHO (%)	NC	25.8(-38.9;60.5)	2.2(-51.0;62.5;)	0.89
	C	0.6(-59.3;50.7)	0.7(-61.0;62.5)	0.99
<i>p</i> - value *		0.98	0.99	
PTN (%)	NC	3.9(2.0;5.7)	5.4(3.5;7.4)	0.64
	C	1.2(-4.8;7.3)	4.9(0.0;9.9)	0.79
<i>p</i> - value *		0.84	0.99	
LIP (%)	NC	-1.5(-3.4;0.2)	-4.2(-6.1;-2.2)	0.21
	C	-3.3(-9.5;2.8)	-4.0(-9.0;0.9)	0.98
<i>p</i> - value *		0.94	0.99	
Fiber (g)	NC	-16.4(-45.1;12.2)	-15.84(-46.0;14.3)	0.99
	C	8.5(-37.6;54.6)	-3.2(-61.2;54.7)	0.98
<i>p</i> - value *		0.89	0.99	
Number of meals/day	NC	-0.8(-1.1;-0.6)	1.3(1.0;1.5)	0.001
	C	-1.1(-2.0;-0.3)	1.3(0.5;2.0)	0.001
		0.92	0.99	
HORMONES				
Active ghrelin (pg/mL)	NC	17.7(-83.2;118.8)	-15.2(-121.7;91.2)	0.97
	C	-53.2(-387.6;281.2)	-440.5(-715.9;-165.0)	0.29
<i>p</i> - value *		0.97	0.02	
Adiponectin (pg/mL)	NC	-0.2(-0.5;-0.02)	-0.01(-0.2;0.2)	0.49
	C	-0.1(-1.0;0.6)	-0.4(-1.9;0.2)	0.97
<i>p</i> - value *		0.99	0.72	
Leptin (pg/mL)	NC	-5.7(-11.4;0.06)	-7.9(-14.0;-1.8)	0.95
	C	-18.0(-37.1;1.4)	-3.0(-18.1;12.6)	0.63
<i>p</i> - value *		0.61	0.94	
ANTHROPOMETRIC				
BMI (kg/m ²)	NC	-1.0(-1.4;-0.6)	-0.7(-1.1;-0.3)	0.77
	C	-0.6(-1.8;0.6)	-1.2(-2.2;-0.1)	0.88

<i>p</i> -value *		0.92	0.84	
WC (cm)	NC	-3.9(-5.1;-2.8)	-4.2(-5.5;-3.0)	0.99
	C	-0.6(-4.3;3.1)	-2.5(-5.6;0.4)	0.85
<i>p</i> -value *		0.32	0.75	
ENERGY EXPENDITURE				
RMR (kcal)	NC	-4.2(-40.6;32.1)	-15.4(-53.7;22.9)	0.97
	C	-57.0(-177.4;63.3)	-48.9(-148.1;50.2)	0.99
<i>p</i> -value *		0.83	0.92	
GHSR(G>A) rs572169				
DIETARY				
Energy (kcal)	NC	-557.2(-740.9;-373.4)	-569.3(-747.7;-390.9)	0.99
	C	-665.1(-918.8;-411.3)	-285.2(-575.2;4.6)	0.22
<i>p</i> -value *		0.90	0.35	
CHO (%)	NC	10.9(-32.6;64.6)	-2.4(-54.5;49.6)	0.66
	C	-7.2(-61.3;56.9)	12.9(-51.7;67.4)	0.98
<i>p</i> -value *		0.72	0.99	
PTN (%)	NC	3.9(1.7;6.1)	4.8(2.7;6.9)	0.93
	C	2.9(-0.02;6.0)	6.8(3.3;10.2)	0.35
<i>p</i> -value *		0.95	0.77	
LIP (%)	NC	-1.9(-4.1;0.3)	-4.1(-6.8;-1.9)	0.50
	C	-1.3(-4.4;1.7)	-4.4(-7.9;-0.9)	0.57
<i>p</i> -value *		0.99	0.99	
Fiber (g)	NC	-10.4(-34.9;14.8)	-13.2(-46.7;10.2)	0.99
	C	-1.57(-39.2;46.1)	9.9(-34.5;44.3)	0.98
<i>p</i> -value *		0.91	0.73	
Number of meals/day	NC	-0.9(-1.2;-0.6)	1.2(0.9;1.5)	0.001
	C	-0.8(-1.3;-0.4)	1.4(0.9;1.9)	0.001
		0.99	0.85	
HORMONES				
Active ghrelin (pg/mL)	NC	7.5(-112.2;127.8)	25.4(-90.7;141.6)	0.99
	C	29.2(-137.5;196.0)	-326.7.0(-513.8;-139.6)	0.03
<i>p</i> -value *		0.99	0.01	
Adiponectin (pg/mL)	NC	-0.2(-0.5;-0.01)	0.07(-0.2;0.3)	0.29
	C	-0.2(-0.6;0.2)	-0.42(-0.8;0.03)	0.27
<i>p</i> -value *		0.98	0.12	
Leptin (pg/mL)	NC	-2.2(-8.9;4.5)	-8.6(-15.1;-2.8)	0.53
	C	-15.1(-24.5;5.7)	-3.9(-14.4;6.6)	0.39
<i>p</i> -value *		0.12	0.87	
ANTHROPOMETRIC				
BMI (kg/m ²)	NC	-0.9(-1.4;-0.4)	-0.9(-1.4;-0.5)	0.99
	C	-1.1(-1.7;-0.5)	-0.5(-1.2;0.1)	0.58
<i>p</i> -value *		0.95	0.73	
WC (cm)	NC	-3.4(-4.8;-2.1)	-3.8(-5.2;-2.5)	0.97
	C	-3.9(-5.8;-2.0)	-4.3(-6.5;-2.2)	0.99
<i>p</i> -value *		0.98	0.97	
ENERGY EXPENDITURE				
RMR (kcal)	NC	6.9(-36.1;50.0)	-31.0(-72.9;10.7)	0.59
	C	-42.4(-102.4;17.6)	8.5(-58.8;75.8)	0.68
<i>p</i> -value *		0.54	0.75	
MC4R(T>C) rs17782313				

DIETARY				
Energy (kcal)	NC	-520.1(-696.3;-343.9)	-469.7(-669.3;-270.2)	0.98
	C	-758.2(-1023.8;-492.6)	-509.2(-739.1;-279.3)	0.51
<i>p</i> - value *		0.44	0.99	
CHO (%)	NC	16.32(-35.0;67.6)	3.63(-54.5;61.7)	0.83
	C	-4.48(-51.9;62.9)	0.32(-66.6;67.3)	0.99
<i>p</i> - value *		0.81	0.99	
PTN (%)	NC	4.25(2.16;6.3)	5.57(3.20;7.94)	0.84
	C	2.43(-0.71;5.58)	5.21(2.49;7.94)	0.24
<i>p</i> - value *		0.77	0.99	
LIP (%)	NC	-2.05(-4.17;0.06)	-4.71(-7.11;2.31)	0.36
	C	-0.94(-4.14;2.24)	-3.56(-6.33;-0.80)	0.62
<i>p</i> - value *		0.93	0.92	
Fiber (g)	NC	-13.52(-46.38;9.32)	3.61(-33.60;40.83)	0.70
	C	9.31(-40.22;48.85)	-18.0(-30.87;4.87)	0.49
<i>p</i> - value *		0.69	0.46	
Number of meals/day	NC	-0.84(-0.14;-0.55)	1.54(1.20;1.87)	0.001
	C	-1.07(-1.52;0.63)	1.01(0.63;1.40)	0.001
		0.82	0.18	
HORMONES				
Active ghrelin (pg/mL)	NC	10.7(-111.5;133.11)	-73.3(-211.6;64.95)	0.80
	C	19.7(-165.1;204.5)	-71.3(-231.9;89.2)	0.88
<i>p</i> - value *		0.99	0.99	
Adiponectin (pg/mL)	NC	-0.2(-0.5;0.01)	-0.1(-0.4;0.1)	0.96
	C	-0.2(-0.6;0.1)	0.07(-0.3;0.4)	0.71
<i>p</i> - value *		0.99	0.79	
Leptin (pg/mL)	NC	-8.7(-15.4;-2.0)	-7.5(-15.9;0.05)	0.99
	C	-2.2(-12.3;7.8)	-6.9(-15.7;1.7)	0.90
		0.71	0.99	
ANTHROPOMETRIC				
BMI (kg/m ²)	NC	-1.0(-1.5;-0.6)	-1.0(-1.5;-0.5)	0.99
	C	-0.8(-1.5;-0.2)	-0.5 (-1.1;0.04)	0.96
<i>p</i> - value *		0.96	0.86	
WC (cm)	NC	-3.6(-4.9;-2.2)	-4.0(-5.5;-2.4)	0.97
	C	-3.9(-5.9;-1.9)	-3.9(-5.7;-2.2)	0.99
<i>p</i> - value *		0.99	0.99	
ENERGY EXPENDITURE				
RMR (kcal)	NC	0.5(-41.4;42.5)	-34.8(-82.3;12.6)	0.68
	C	-29.9(-93.4;33.5)	0.4(-54.6;55.6)	0.89
<i>p</i> - value *		0.85	0.77	
CLOCK(T>C) rs1801260				
DIETARY				
Energy (kcal)	NC	-629.7(-820.5;-439.0)	-534.2(-729.2;-339.2)	0.90
	C	-535.6(-769.7;-301.5)	-418.7(-658.9;-178.5)	0.89
<i>p</i> - value *		0.92	0.87	
CHO (%)	NC	4.0(-55.0;65.1)	5.28(-51.0;61.6)	0.82
	C	-0.6(-68.3;66.9)	-3.5(-62.9;55.8)	0.99
<i>p</i> - value *		0.78	0.99	
PTN (%)	NC	4.6(2.4;6.9)	5.0(2.7;7.3)	0.99
	C	2.2(-0.4;4.9)	5.9(3.1;8.7)	0.24
<i>p</i> - value *		0.52	0.96	

LIP (%)	NC	-0.7(-2.9;1.5)	-4.6(-6.9;-2.3)	0.08
	C	-3.2(-5.9;-0.4)	-3.5(-6.4;-0.7)	0.99
<i>p</i> - value *		0.50	0.94	
Fiber (g)	NC	-14.8(-40.2;10.5)	-11.1(-47.3;15.0)	0.99
	C	3.3(-40.1;46.8)	-3.0(-47.6;41.6)	0.99
<i>p</i> - value *		0.74	0.92	
Number of meals/day	NC	-0.9(-1.2;-0.6)	1.5(1.2;1.8)	0.001
	C	-0.9(-1.3;-0.5)	0.9(0.5;1.3)	0.001
		0.99	0.13	
HORMONES				
Active ghrelin (pg/mL)	NC	49.9(-78.9;178.8)	-20.2(-150.7;110.1)	0.87
	C	-41.5(-201.4;118.3)	-154.1(-317.7;9.3)	0.76
<i>p</i> - value *		0.81	0.58	
Adiponectin (pg/mL)	NC	-0.2(-0.5;-0.08)	-0.09(-0.2;0.4)	0.47
	C	-0.3(-0.7;0.05)	-0.3(-0.7;0.07)	0.99
<i>p</i> - value *		0.97	0.35	
Leptin (pg/mL)	NC	-8.1(-15.1;-1.3)	-12.1(-19.2;-5.0)	0.85
	C	-4.7(-13.4;3.9)	0.3(-8.5;9.2)	0.84
<i>p</i> - value *		0.93	0.13	
ANTHROPOMETRIC				
BMI (kg/m ²)	NC	-0.7(-1.2;-0.3)	-0.9(-1.4;-0.4)	0.95
	C	-1.3(-1.9;-0.7)	-0.6 (-1.2;-0.03)	0.34
<i>p</i> - value *		0.51	0.80	
WC (cm)	NC	-3.3(-4.7;-1.9)	-4.5(-5.9;-3.1)	0.61
	C	-4.2(-6.0;-2.5)	-3.1(-4.8;-1.3)	0.77
<i>p</i> - value *		0.83	0.57	
ENERGY EXPENDITURE				
RMR (kcal)	NC	11.6(-33.0;56.2)	-27.8(-73.0;17.3)	0.60
	C	-39.8(-95.0;15.7)	-7.16(-63.8;49.7)	0.84
<i>p</i> - value *		0.48	0.94	
FTO(T>A) rs9939609				
DIETARY				
Energy (kcal)	NC	-391.6(-636.4;-146.9)	-653.3(-867.3;-439.1)	0.38
	C	-696.8(-872.4;-521.2)	-346.1(-542.3;-149.8)	0.05
<i>p</i> - value *		0.19	0.15	
CHO (%)	NC	-0.49(-64.3;63.3)	0.61(-63.9;65.1)	0.99
	C	6.4(-36.4;69.4)	2.42(-56.7;61.5)	0.83
<i>p</i> - value *		0.85	0.99	
PTN (%)	NC	4.57(1.56;7.58)	5.82(3.19;8.45)	0.92
	C	3.24(1.08;5.40)	5.07(2.66;7.48)	0.68
<i>p</i> - value *		0.89	0.97	
LIP (%)	NC	-2.31(-5.35;0.73)	-4.91(-7.57;-2.24)	0.58
	C	-1.39(-3.58;0.78)	-3.63(-6.07;1.19)	0.93
<i>p</i> - value *		0.96	0.96	
Fiber (g)	NC	-12.1(-49.3;4.97)	-22.3(-43.5;8.89)	0.98
	C	1.04(-32.7;34.88)	0.72(-37.0;38.5)	0.99
<i>p</i> - value *		0.45	0.64	
Number of meals/day	NC	-0.72(-1.15;-0.28)	1.29(0.91;1.67)	0.001
	C	-1.02(-1.33;-0.70)	1.33(0.98;1.68)	0.001
		0.68	0.99	
HORMONES				

Active ghrelin (pg/mL)	NC	-26.7(-196.9;143.4)	52.0(-97.2;201.2)	0.89
	C	35.6(-84.7;156.1)	-179.5(-317.6;-41.4)	0.10
<i>p</i> - value *		0.93	0.12	
Adiponectin (pg/mL)	NC	-0.2(-0.6;0.1)	-0.1(-0.5;0.0)	0.99
	C	-0.2(-0.5;-0.0)	0.04(-0.3;0.3)	0.52
<i>p</i> - value *		0.99	0.81	
Leptin (pg/mL)	NC	-7.3(-17.0;2.3)	-8.0(-16.4;0.4)	0.99
	C	-6.4(-13.3;0.3)	-6.6(-14.4;1.2)	0.99
<i>p</i> - value *		0.99	0.99	
ANTHROPOMETRIC				
BMI (kg/m ²)	NC	-0.7(-1.3;-0.1)	-0.75(-1.3;-0.1)	0.99
	C	-1.13(-1.5;-0.6)	-0.9(-1.4;-0.3)	0.90
<i>p</i> - value *		0.74	0.98	
WC (cm)	NC	-3.7(-5.6;-1.8)	-4.3(-6.0;-2.6)	0.97
	C	-3.6(-5.0;-2.3)	-3.7(-5.2;-2.1)	0.90
<i>p</i> - value *		0.99	0.70	
ENERGY EXPENDITURE				
RMR (kcal)	NC	4.8(-55.3;65.1)	0.6(-52.1;53.5)	0.99
	C	-15.0(-57.7;27.5)	-37.4(-86.3;11.4)	0.90
<i>p</i> - value *		0.94	0.70	

Legend: MF3: group of 3 meals per day; MF6: group of 6 meals per day; NC: no-carries; C: carries; CHO: carbohydrates; PTN: protein; LIP: lipids; BMI: body mass index ; WC: waist circumference; RMR: resting metabolic rate. Data represent the predicted difference in estimated marginal means (T90-T0) (95% CI) adjusted for age, BMI and IPAQ, where applicable, and their 95% confidence intervals, either by fitting multiple fixed-effects linear models for the differences between the post-dietary intervention and baseline (Δ), for which the main effect was the difference between the dietary interventions (2 groups) plus the confounding variables. For the former, p-values for contrasts/differences between post-interventions and pre-interventions by diet group were corrected for the number of comparisons with the reference level (type I comparison error) using the Holm-Sidak post-hoc method.

*Indicates a p-value comparing difference of the estimated marginal means within groups.

**Indicates a p-value comparing difference of the estimated marginal means between groups.

References

1. Vigil Brasil 2023. Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico: Brasil. Estimativas sobre frequência e distribuição sociodemográfica de fatores de risco e proteção para doenças crônicas. [(accessed on 08 April 2024)]. Available online: <<https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/svsa/vigitel/vigitel-brasil-2023-vigilancia-de-fatores-de-risco-e-protacao-para-doencas-cronicas-por-inquerito-telefonico>>
2. World Obesity Federation. World Obesity Atlas 2024. World Obesity Federation; London, UK: 2024. [(accessed on 08 April 2024)]. Available online: <<https://data.worldobesity.org/publications/?cat=22>>

3. International Classification of Diseases for Mortality and Morbidity Statistics (11th Revision) World Health Organization; Geneva, Switzerland: 2024. [(accessed on 08 April 2024)]. Available online: <https://icd.who.int/browse/2024-01/mms/en#149403041>
4. Chong B, Jayabaskaran J, Kong G, et al. Trends and predictions of malnutrition and obesity in 204 countries and territories: an analysis of the Global Burden of Disease Study 2019. *EClinicalMedicine*. 2023;57:101850. Published 2023 Feb 16.
doi:10.1016/j.eclinm.2023.101850
5. ElSayed NA, Aleppo G, Aroda VR, et al. 8. Obesity and Weight Management for the Prevention and Treatment of Type 2 Diabetes: Standards of Care in Diabetes-2023. *Diabetes Care*. 2023;46(Suppl 1):S128-S139. doi:10.2337/dc23-S008
6. Raynor HA, Champagne CM. Position of the Academy of Nutrition and Dietetics: Interventions for the Treatment of Overweight and Obesity in Adults. *J Acad Nutr Diet*. 2016;116(1):129-147. doi:10.1016/j.jand.2015.10.031
7. Jensen MD, Ryan DH, Apovian CM, 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 [published correction appears in *Circulation*. 2014 Jun 24;129(25 Suppl 2):S139-40]. *Circulation*. 2014;129(25 Suppl 2):S102-S138.
doi:10.1161/01.cir.0000437739.71477.ee
8. Hutchison AT, Heilbronn LK. Metabolic impacts of altering meal frequency and timing - Does when we eat matter?. *Biochimie*. 2016;124:187-197.
doi:10.1016/j.biochi.2015.07.025
9. Alkhulaifi F, Darkoh C. Meal Timing, Meal Frequency and Metabolic Syndrome. *Nutrients*. 2022;14(9):1719. Published 2022 Apr 21. doi:10.3390/nu14091719

10. Kulovitz MG, Kravitz LR, Mermier C, et al. Potential role of meal frequency as a strategy for weight loss and health in overweight or obese adults. *Nutrition*. 2014;30(4):386-392. doi:10.1016/j.nut.2013.08.009
11. Canuto R, da Silva Garcez A, Kac G, de Lira PIC, Olinto MTA. Eating frequency and weight and body composition: a systematic review of observational studies. *Public Health Nutr*. 2017;20(12):2079-2095. doi:10.1017/S1368980017000994
12. Paoli A, Tinsley G, Bianco A, Moro T. The Influence of Meal Frequency and Timing on Health in Humans: The Role of Fasting. *Nutrients*. 2019;11(4):719. Published 2019 Mar 28. doi:10.3390/nu11040719
13. Schwingshackl L, Nitschke K, Zähringer J, et al. Impact of Meal Frequency on Anthropometric Outcomes: A Systematic Review and Network Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Adv Nutr*. 2020;11(5):1108-1122. doi:10.1093/advances/nmaa056
14. Ötüken Köroğlu Y, Öztürk M. Meal Frequency Does Not Affect Weight Loss in Overweight/Obese Women but Affects the Body Composition: A Randomized Controlled Trial. *J Am Nutr Assoc*. Published online February 13, 2024. doi:10.1080/27697061.2024.2316636
15. Garcidueñas-Fimbres TE, Paz-Graniel I, Nishi SK, Salas-Salvadó J, Babio N. Eating Speed, Eating Frequency, and Their Relationships with Diet Quality, Adiposity, and Metabolic Syndrome, or Its Components. *Nutrients*. 2021;13(5):1687. Published 2021 May 15. doi:10.3390/nu13051687
16. Huang C, Chen W, Wang X. Studies on the fat mass and obesity-associated (FTO) gene and its impact on obesity-associated diseases. *Genes Dis*. 2022;10(6):2351-2365. Published 2022 May 6. doi:10.1016/j.gendis.2022.04.014

17. Baldini G, Phelan KD. The melanocortin pathway and control of appetite-progress and therapeutic implications. *J Endocrinol*. 2019;241(1):R1-R33. doi:10.1530/JOE-18-0596
18. Rahati S, Qorbani M, Naghavi A, Nia MH, Pishva H. Association between CLOCK 3111 T/C polymorphism with ghrelin, GLP-1, food timing, sleep and chronotype in overweight and obese Iranian adults. *BMC Endocr Disord*. 2022;22(1):147. Published 2022 Jun 2. doi:10.1186/s12902-022-01063-x
19. Supti DA, Akter F, Rahman MI, et al. Meta-analysis investigating the impact of the LEPR rs1137101 (A>G) polymorphism on obesity risk in Asian and Caucasian ethnicities. *Heliyon*. 2024;10(6):e27213. Published 2024 Mar 4. doi:10.1016/j.heliyon.2024.e27213
20. Zayani N, Omezzine A, Boumaiza I, et al. Association of ADIPOQ, leptin, LEPR, and resistin polymorphisms with obesity parameters in Hammam Sousse Sahloul Heart Study. *J Clin Lab Anal*. 2017;31(6):e22148. doi:10.1002/jcla.22148
21. Joatar FE, Al Qarni AA, Ali ME, et al. Leu72Met and Other Intronic Polymorphisms in the GHRL and GHSR Genes Are Not Associated with Type 2 Diabetes Mellitus, Insulin Resistance, or Serum Ghrelin Levels in a Saudi Population. *Endocrinol Metab (Seoul)*. 2017;32(3):360-369. doi:10.3803/EnM.2017.32.3.360
22. Crovesy L, Rosado EL. Interaction between genes involved in energy intake regulation and diet in obesity. *Nutrition*. 2019;67-68:110547. doi:10.1016/j.nut.2019.06.027
23. Magno FCCM, Guaraná HC, da Fonseca ACP, et al. Association of the MC4R rs17782313 polymorphism with plasma ghrelin, leptin, IL6 and TNF α concentrations, food intake and eating behaviors in morbidly obese women. *Eat Weight Disord*. 2021;26(4):1079-1087. doi:10.1007/s40519-020-01003-5
24. Cui M, Gao Y, Zhao Y, et al. Association between Adiponectin Gene Polymorphism and Environmental Risk Factors of Type 2 Diabetes Mellitus among the Chinese Population in

Hohhot. Biomed Res Int. 2020;2020:6383906. Published 2020 Jun 21.

doi:10.1155/2020/6383906

25. Gueorguiev M, Lecoecur C, Meyre D, et al. Association studies on ghrelin and ghrelin receptor gene polymorphisms with obesity. *Obesity (Silver Spring)*. 2009;17(4):745-754. doi:10.1038/oby.2008.589
26. Yadegari M, Zare-Feyzabadi R, Zakariaeiseraji M, et al. Interaction between the genetic variant of rs696217-ghrelin and food intake and obesity and dyslipidemia. *Ann Hum Genet*. 2022;86(1):14-23. doi:10.1111/ahg.12443
27. Valladares M, Obregón AM, Chaput JP. Association between genetic variants of the clock gene and obesity and sleep duration. *J Physiol Biochem*. 2015;71(4):855-860. doi:10.1007/s13105-015-0447-3
28. Ponzio V, Scumaci E, Goitre I, et al. Predictors of attrition from a weight loss program. A study of adult patients with obesity in a community setting. *Eat Weight Disord*. 2021;26(6):1729-1736. doi:10.1007/s40519-020-00990-9
29. Martin CK, Höchsmann C, Dorling JL, et al. Challenges in defining successful adherence to calorie restriction goals in humans: Results from CALERIE™ 2. *Exp Gerontol*. 2022;162:111757. doi:10.1016/j.exger.2022.111757
30. Unick JL, Pellegrini CA, Demos KE, Dorfman L. Initial Weight Loss Response as an Indicator for Providing Early Rescue Efforts to Improve Long-term Treatment Outcomes. *Curr Diab Rep*. 2017;17(9):69. doi:10.1007/s11892-017-0904-1
31. FAO/WHO/UNU. Report of a Joint FAO/WHO/UNU Expert Consultation. Human energy requirements, 2004. [(accessed on 14 April 2024)]. Available online: <<https://www.fao.org/documents/card/en?details=e1faed04-3a4c-558d-8ec4->>
32. Wishnofsky M. Caloric equivalents of gained or lost weight. *Am J Clin Nutr*. 1958;6(5):542-546. doi:10.1093/ajcn/6.5.542

33. Trumbo P, Schlicker S, Yates AA, Poos M; Food and Nutrition Board of the Institute of Medicine, The National Academies. Dietary reference intakes for energy, carbohydrate, fiber, fat, fatty acids, cholesterol, protein and amino acids [published correction appears in *J Am Diet Assoc*. 2003 May;103(5):563]. *J Am Diet Assoc*. 2002;102(11):1621-1630. doi:10.1016/s0002-8223(02)90346-9
34. St-Onge MP, Ard J, Baskin ML, et al. Meal Timing and Frequency: Implications for Cardiovascular Disease Prevention: A Scientific Statement From the American Heart Association. *Circulation*. 2017;135(9):e96-e121. doi:10.1161/CIR.0000000000000476
35. Racette SB, Das SK, Bhapkar M, et al. Approaches for quantifying energy intake and %calorie restriction during calorie restriction interventions in humans: the multicenter CALERIE study. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2012;302(4):E441-E448. doi:10.1152/ajpendo.00290.2011
36. Lohman, T. et al. Anthropometric standardization reference manual. [s.l.] Abridged edition, 1991.
37. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation. *World Health Organ Tech Rep Ser*. 2000;894:i-253.
38. Lukaski HC, Johnson PE, Bolonchuk WW, Lykken GI. Assessment of fat-free mass using bioelectrical impedance measurements of the human body. *Am J Clin Nutr*. 1985;41(4):810-817. doi:10.1093/ajcn/41.4.810
39. Sampaio HA de C. Aspectos nutricionais relacionados ao ciclo menstrual. *Rev Nutr* [Internet]. 2002Sep;15(3):309–17. Available from: <https://doi.org/10.1590/S1415-52732002000300007>
40. Casas-Agustench P, López-Uriarte P, Bulló M, Ros E, Gómez-Flores A, Salas-Salvadó J. Acute effects of three high-fat meals with different fat saturations on energy expenditure,

substrate oxidation and satiety. *Clin Nutr.* 2009;28(1):39-45.

doi:10.1016/j.clnu.2008.10.008

41. Wahrlich V, Anjos LA dos. Aspectos históricos e metodológicos da medição e estimativa da taxa metabólica basal: uma revisão da literatura. *Cad Saúde Pública* [Internet]. 2001Jul;17(4):801–17. Available from:
<https://doi.org/10.1590/S0102-311X2001000400015>
42. Weir JB. New methods for calculating metabolic rate with special reference to protein metabolism. *J Physiol.* 1949;109(1-2):1-9. doi:10.1113/jphysiol.1949.sp004363
43. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem.* 1972;18(6):499-502.
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. Katz A, Nambi SS, Mather K, et al. Quantitative insulin sensitivity check index: a simple, accurate method for assessing insulin sensitivity in humans. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000;85(7):2402-2410. doi:10.1210/jcem.85.7.6661
46. Latner JD, Clyne C. The diagnostic validity of the criteria for binge eating disorder. *Int J Eat Disord.* 2008;41(1):1-14. doi:10.1002/eat.20465
47. Faludi AA, Izar MCO, Saraiva JFK, Chacra APM, Bianco HT, Afiune Neto A, Bertolami A, et al. Atualização da Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose – 2017. *Arq. Bras. Cardiol.* 2017;109(2 suppl 1):1-76.
48. Alkhulaifi F, Darkoh C. Meal Timing, Meal Frequency and Metabolic Syndrome. *Nutrients.* 2022;14(9):1719. Published 2022 Apr 21. doi:10.3390/nu14091719

49. Holmbäck I, Ericson U, Gullberg B, Wirfält E. A high eating frequency is associated with an overall healthy lifestyle in middle-aged men and women and reduced likelihood of general and central obesity in men. *Br J Nutr.* 2010;104(7):1065-1073. doi:10.1017/S0007114510001753
50. Blazey P, Habibi A, Hassen N, Friedman D, Khan KM, Ardern CL. The effects of eating frequency on changes in body composition and cardiometabolic health in adults: a systematic review with meta-analysis of randomized trials. *Int J Behav Nutr Phys Act.* 2023;20(1):133. Published 2023 Nov 14. doi:10.1186/s12966-023-01532-z
51. 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
52. Yazıcı D, Sezer H. Insulin Resistance, Obesity and Lipotoxicity. *Adv Exp Med Biol.* 2017;960:277-304. doi:10.1007/978-3-319-48382-5_12
53. Ross R, Neeland IJ, Yamashita S, et al. Waist circumference as a vital sign in clinical practice: a Consensus Statement from the IAS and ICCR Working Group on Visceral Obesity. *Nat Rev Endocrinol.* 2020;16(3):177-189. doi:10.1038/s41574-019-0310-7
54. Scheer FA, Morris CJ, Shea SA. The internal circadian clock increases hunger and appetite in the evening independent of food intake and other behaviors. *Obesity (Silver Spring).* 2013;21(3):421-423. doi:10.1002/oby.20351
55. Solomon TP, Chambers ES, Jeukendrup AE, Toogood AA, Blannin AK. The effect of feeding frequency on insulin and ghrelin responses in human subjects. *Br J Nutr.* 2008;100(4):810-819. doi:10.1017/S000711450896757X
56. Garaulet M, Madrid JA. Chronobiological aspects of nutrition, metabolic syndrome and obesity. *Adv Drug Deliv Rev.* 2010;62(9-10):967-978. doi:10.1016/j.addr.2010.05.005

57. Saliba LF, Reis RS, Brownson RC, et al. Obesity-related gene ADRB2, ADRB3 and GHRL polymorphisms and the response to a weight loss diet intervention in adult women. *Genet Mol Biol.* 2014;37(1):15-22. doi:10.1590/s1415-47572014000100005
58. Garaulet M, Esteban Tardido A, Lee YC, Smith CE, Parnell LD, Ordovás JM. SIRT1 and CLOCK 3111T> C combined genotype is associated with evening preference and weight loss resistance in a behavioral therapy treatment for obesity. *Int J Obes (Lond).* 2012;36(11):1436-1441. doi:10.1038/ijo.2011.270
59. Labayen I, Margareto J, Maldonado-Martin S, et al. Independent and combined influence of the FTO rs9939609 and MC4Rrs17782313 polymorphisms on hypocaloric diet induced changes in body mass and composition and energy metabolism in non-morbid obese premenopausal women. *Nutr Hosp.* 2015;31(5):2025-2032. Published 2015 May 1. doi:10.3305/nh.2015.31.5.8666
60. do Nascimento GA, Teixeira MD, Furtado-Alle L, et al. FTO rs9939609 A allele influences anthropometric outcome in response to dietary intervention, but not in response to physical exercise program. *Eur J Nutr.* 2019;58(1):325-334. doi:10.1007/s00394-017-1596-7
61. Hinuy HM, Hirata MH, Forti N, et al. Leptin G-2548A promoter polymorphism is associated with increased plasma leptin and BMI in Brazilian women. *Arq Bras Endocrinol Metabol.* 2008;52(4):611-616. doi:10.1590/s0004-27302008000400006
62. Manju SK, Anilkumar TR, Vysakh G, et al. A Case-Control Study of the Association of Leptin Gene Polymorphisms with Plasma Leptin Levels and Obesity in the Kerala Population. *J Obes.* 2022;2022:1040650. Published 2022 Dec 28. doi:10.1155/2022/1040650

63. Mammès O, Betoulle D, Aubert R, Herbeth B, Siest G, Fumeron F. Association of the G-2548A polymorphism in the 5' region of the LEP gene with overweight. *Ann Hum Genet.* 2000;64(Pt 5):391-394. doi:10.1017/s000348000008277
64. Joatar FE, Al Qarni AA, Ali ME, et al. Leu72Met and Other Intronic Polymorphisms in the GHRL and GHSR Genes Are Not Associated with Type 2 Diabetes Mellitus, Insulin Resistance, or Serum Ghrelin Levels in a Saudi Population. *Endocrinol Metab (Seoul).* 2017;32(3):360-369. doi:10.3803/EnM.2017.32.3.360
65. Hedayatizadeh-Omran A, Rafiei A, Khajavi R, Alizadeh-Navaei R, Mokhberi V, Moradzadeh K. Association between ghrelin gene (Leu72Met) polymorphism and ghrelin serum level with coronary artery diseases. *DNA Cell Biol.* 2014;33(2):95-101. doi:10.1089/dna.2013.2218

Manuscrito 2

Impact of a moderately hypocaloric diet with different meal frequency on alpha-diversity of gut microbiota in obesity: a brief communication

Será submetido na revista *International Journal of Obesity*

Além do consumo de dieta hipocalórica, parece que o jejum entre as refeições é capaz de modificar a MI em análises com animais e ainda não foi descrito em humanos. Portanto, apesar do presente estudo não ter encontrado diferença estatística significativa entre os diferentes FD hipocalórica na MI, o nosso trabalho consiste em uma contribuição inédita com *insight* para futuras pesquisas nesta temática.

Impact of a moderately hypocaloric diet with different meal frequency on *alpha*-diversity of gut microbiota in obesity: a brief communication

Obesity is a chronic, complex disease that is increasing in prevalence worldwide, contributing to the risk of morbidity and mortality [1,2]. Dietary approaches are essential to control obesity, but the efficacy of meal frequency (MF) modifications as weight loss or maintenance strategies remains unclear [3]. Studies have described a possible association between MF and meal timing in colonizing gut microbiota (GM). Reducing the MF by increasing the fasting period between meals could affect the composition of the GM beneficially for the host, reducing intestinal permeability and modulating low-grade systemic inflammation [4,5], but studies are needed to adequately explore the effects of the GM in humans and MF under controlled conditions. Therefore, we aimed to evaluate the effect of MF on *phylum* and *genus alpha*-diversity of GM, anthropometric, biochemical and dietary indicators in women with obesity.

This is a secondary analysis of a sample of 95 women with class I and II obesity enrolled in a clinical trial (RBR-3p8346g (U1111-1264-7413, UTN-WHO)). A total of 31 women were evaluated before and after the intervention for GM analysis. A randomized clinical trial was conducted where participants were divided into two groups receiving a moderately hypocaloric diet (700 kcal reduction in total energy expenditure (TEE) obtained via indirect calorimetry (*Vmax 29*[®], *ViasysHealthcare*, EUA)) with different MF: MF6: six meals per day (breakfast (15% TEE), snack (5-10% TEE), lunch (25% TEE), snack (5-10% TEE), dinner (25% TEE), and supper (5-10% TEE); and MF3: three meals per day (breakfast (20-25% TEE), lunch (35-40% TEE), and dinner (35-40% TEE)). The distribution of macronutrients was based on the reference dietary intake for carbohydrates (57.3% TEE), lipids (23.5% TEE), proteins (19.1% TEE), and dietary fiber (38.5 g/day).

For the analysis of the habitual consumption, a food diary was kept for three days prior to the intervention (two typical days and one atypical day). During the intervention, participants filled

out three periodic food diaries and returned them at 15, 45, and 65 days post intervention. The DietProClínico®6.1 software was used to calculate caloric, carbohydrate, protein and fiber intake. Anthropometric measurements included weight, height, and BMI. Waist circumference (WC) was measured at the midpoint between the last rib and the iliac crest. Blood samples were taken after a 12-hour fast before and after the intervention for the assessment of blood glucose, insulin, and lipid levels.

For GM analysis, stool samples were collected according to the PROBIOME kit protocol. Fecal DNA was extracted using the Qiaamp Power Soil Kit (Qiagen) according to the manufacturer's recommendations. For bacterial identification, the specific V3/V4 region of the 16S rRNA gene was amplified in each DNA sample (341F: CCTACGGGGRSGCAGCAG and 806R: GGACTACHVGGGTWTCTAAT). The analyses were performed by experts from BiomeHub (Florianópolis, Brazil). All the participants were not taking any antibiotics, prebiotics, or other medications that could affect the GM.

For statistical analysis, the differences between groups were analyzed using the Mann-Whitney and Wilcoxon tests to analyze before and after intra-group intervention, in the statistical analysis program SPSS (Statistical Package for Social Science, IBM Corporation, NY) version 22.0.

For inferences of microbial richness and diversity and the ratio between the *Bacillota* (*Firmicutes*) and *Bacteroidota* (*Bacteroidetes*) phyla, multiple linear fixed-effects models were fitted, including confounding variables (e.g. age, BMI and IPAQ) in their systematic component. Similarly, for inferences of counts/proportions of phyla and genera of intestinal tract microorganisms, either multiple negative binomial models inflated by zeros (log-link) of fixed effects (counts), weighted (i.e. individual weights inversely proportional to the sequencing depth or the number of sequenced reads), or multiple beta models inflated by zeros (proportions) of fixed effects were used. Again, confounding variables (e.g. age, BMI and IPAQ) were included in

the systematic components of these models. The results, regardless of the model used in the inference, were presented graphically for the estimated average marginal effects and their 95% confidence intervals, where the effects for the variables of interest were estimated assuming average values (continuous numerical) for the confounding variables. Contrasts were constructed from these average marginal effects. The Tukey Honest Significant Difference (HSD) method was used to correct p-values whenever necessary (i.e. when the number of comparisons was ≥ 3). R software version 4.2.1 was used for all the analyses, considering a p-value of <0.05 to be statistically significant. The 'lme4' and 'emmeans' packages and their dependencies were used to make statistical inferences. The MI richness and diversity measures (i.e. R, PE, H, S, InvS and UnbS) were calculated using the `specnumber()` and `diversity()` functions of the 'vegan' package and its dependencies.

A total of 15 women with class I and II obesity were included in the MF3 group, while 16 were included in the MF6. **Table 1** demonstrates that only the MF3 experienced a decline in weight after the intervention, with both groups demonstrating a reduction in BMI and WC. No statistically significant differences were observed between the groups. Furthermore, the MF6 was the only one to exhibit a reduction in insulin, HOMA-IR and LDL-C values after the intervention, with no difference between the groups. A comparative analysis of the pre- and post-intervention dietary intake of both groups indicated a reduction in calorie intake and an increase in protein intake, with no statistically significant difference between the two groups. Only the MF6 reduced its lipid consumption. After intervention, the MF differed significantly between the two groups, in accordance with the prescribed dietary for each.

Figure 1 shows a comparison of *phylum alpha*-diversity between the MF3 and MF6 groups before and after the intervention, and the results indicate that there was no statistically significant difference in the indicators of richness (R) ($p=0.37$; $p=0.99$), Pielou's evenness (PE) ($p=0.93$; $p=0.93$), Shannon-Weaver index (H) ($p=0.60$; $p=0.21$), Simpson's Similarly (S) ($p=0.99$; $p=0.97$),

Inverse Simpson's Similarly index (InvS) ($p=0.97$; $p=0.84$), and Simpson.unb. (UnbS) ($p=0.99$; $p=0.97$). Furthermore, no significant differences were observed within the groups before and after the intervention in the indicators R ($p=0.99$; $p=0.21$), PE ($p=0.95$; $p=0.83$), H ($p=0.81$; $p=0.49$), S ($p=0.93$; $p=0.98$), InvS ($p=0.70$; $p=0.93$), and UnbS ($p=0.93$; $p=0.39$). The same was observed for genus *alpha*-diversity, with no differences between the groups before and after the intervention in the indicators R ($p=0.94$; $p=0.33$), PE ($p=0.06$; $p=0.99$), H ($p=0.13$; $p=0.83$), S ($p=0.18$; $p=0.97$), InvS ($p=0.08$; $p=0.94$), and UnvS ($p=0.18$; $p=0.97$). The difference between the pre- and post-intervention indicators within each group did not differ significantly for R ($p=0.86$; $p=0.26$), PE ($p=0.75$; $p=0.26$), H ($p=0.67$; $p=0.83$), S ($p=0.84$; $p=0.21$), InvS ($p=0.59$; $p=0.17$), and UnvS ($p=0.83$; $p=0.21$).

The biodiversity of the GM plays an important role in maintaining the balance of this ecosystem. Studies have demonstrated that diversity is related to the health status of the individual, and indicators of *alpha*-diversity have been used for this purpose [6,7]. Study has indicated that reduced *alpha*-diversity values have been associated with various acute and chronic diseases [8]. In a study by Pinart et al. [9], the diversity and richness of GM were evaluated. There were differences in the relative abundance of *phylum* and *genus* between individuals with and without obesity. Modifying the composition of the GM can compromise the health of the individual [10], which is why studies evaluating the influence of dietary interventions as possible modulators of the GM are of great relevance. There are reports that a hypocaloric diet can beneficially modify the composition of the GM [11], but studies evaluating changes in MF in the population with obesity still need to be further explored.

With regard to MF, there are currently no human studies evaluating the impact on GM, as illustrated by the findings presented by Paoli et al.[4]. However, there are reports in the literature indicating that MF can alter the regularity of fasting periods between meals, with the potential to enhance the circadian rhythm and composition of the GM in animals. Consequently, the study in

question represented a significant contribution to the examination of GM profiles in individuals with obesity on moderately hypocaloric diets with different MF. It is our recommendation that further studies be conducted on this topic to enhance our understanding of this subject.

References

1. World Obesity Atlas 2024. World Obesity Federation. 2024. [Last accessed on 08 Jun 2024]. Available from: <https://data.worldobesity.org/publications/?cat=22> .
2. Abdelaal M, le Roux CW, Docherty NG. Morbidity and mortality associated with obesity. *Ann Transl Med.* 2017;5(7):161. doi:10.21037/atm.2017.03.107
3. Alkhulaifi F, Darkoh C. Meal Timing, Meal Frequency and Metabolic Syndrome. *Nutrients.* 2022;14(9):1719. Published 2022 Apr 21. doi:10.3390/nu14091719
4. Paoli A, Tinsley G, Bianco A, Moro T. The Influence of Meal Frequency and Timing on Health in Humans: The Role of Fasting. *Nutrients.* 2019 Mar 28;11(4):719. doi: 10.3390/nu11040719. PMID: 30925707; PMCID: PMC6520689
5. Bishehsari F, Voigt RM, Keshavarzian A. Circadian rhythms and the gut microbiota: from the metabolic syndrome to cancer. *Nat Rev Endocrinol.* 2020 Dec;16(12):731-739. doi: 10.1038/s41574-020-00427-4. Epub 2020 Oct 26. PMID: 33106657; PMCID: PMC8085809
6. Manor O, Dai CL, Kornilov SA, et al. Health and disease markers correlate with gut microbiome composition across thousands of people. *Nat Commun.* 2020;11(1):5206. Published 2020 Oct 15. doi:10.1038/s41467-020-18871-1
7. Mayer EA, Nance K, Chen S. The Gut-Brain Axis. *Annu Rev Med.* 2022;73:439-453. doi:10.1146/annurev-med-042320-014032

8. Pickard JM, Zeng MY, Caruso R, Núñez G. Gut microbiota: Role in pathogen colonization, immune responses, and inflammatory disease. *Immunol Rev.* 2017;279(1):70-89. doi:10.1111/imr.12567
9. Pinart M, Dötsch A, Schlicht K, et al. Gut Microbiome Composition in Obese and Non-Obese Persons: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Nutrients.* 2021;14(1):12. Published 2021 Dec 21. doi:10.3390/nu14010012
10. Angoorani P, Ejtahed HS, Hasani-Ranjbar S, Siadat SD, Soroush AR, Larijani B. Gut microbiota modulation as a possible mediating mechanism for fasting-induced alleviation of metabolic complications: a systematic review. *Nutr Metab (Lond).* 2021;18(1):105. Published 2021 Dec 14. doi:10.1186/s12986-021-00635-3
11. Wang H, Song W, Yuan W, et al. Modulating the Human Gut Microbiota through Hypocaloric Balanced Diets: An Effective Approach for Managing Obesity. *Nutrients.* 2023;15(14):3101. Published 2023 Jul 11. doi:10.3390/nu15143101

Table 1. Comparison of anthropometric, biochemical and dietary indicators before and after dietary prescription by group and within groups (median (interquartile range - IQR)).

	MF3 (n=15)	MF6 (n=16)	<i>p</i> - value **
ANTHROPOMETRIC			
Weight (kg) Baseline	98.0(21.1)	91.1(15.91)	0.28
Weight (kg) Final	96.6(23.4)	90.5(14.5)	0.47
<i>p</i> - value *	0.04	0.16	
BMI (kg/m ²) Baseline	35.8(16.3)	35.6(5.5)	0.65
BMI (kg/m ²) Final	35.3(5.8)	35.3(4.1)	0.77
<i>p</i> - value *	0.02	0.08	
WC (cm) Baseline	102.2(8.9)	97.4(4.38)	0.06
WC (cm) Final	100.1(13.4)	94.5(7.1)	0.23
<i>p</i> - value *	0.01	0.02	
BIOCHEMICAL			
Glucose (mg/dL) Baseline	94.0(13.0)	93.5(6.5)	0.59
Glucose (mg/dL) Final	86.0(15.0)	88.5(11.5)	0.41
<i>p</i> - value *	0.32	0.17	
Insulin (μU/mL) Baseline	22.1(13.8)	18.4(8.8)	0.17
Insulin (μU/mL) Final	17.7(9.2)	14.8(5.1)	0.33
<i>p</i> - value *	0.33	0.04	
HOMA-IR Baseline	5.1(3.5)	4.1(2.2)	0.23
HOMA-IR Final	3.7(2.2)	3.4(1.3)	0.42
<i>p</i> - value *	0.28	0.03	
CT (mg/dL) Baseline	175.0(88.0)	179.0(59.2)	0.70
CT (mg/dL) (kcal) Final	154(81.0)	172.5(36.2)	0.74
<i>p</i> - value *	0.49	0.22	
HDL (mg/dL) Baseline	44(9.0)	43.0(9.2)	0.59
HDL (mg/dL) Final	41.0(14.0)	43.5(8.7)	0.40
<i>p</i> - value *	0.12	0.84	
LDL (mg/dL) Baseline	103.0(77.0)	101.5(41.0)	0.92
LDL (mg/dL) Final	91.0(45.0)	94.5(40.0)	0.83
<i>p</i> - value *	0.55	0.14	
TG (mg/dL) Baseline	107.0(64.0)	98.0(45.5)	0.40
TG (mg/dL) Final	109.0(56.0)	105.0(39.5)	0.47
<i>p</i> - value *	0.58	0.64	
DIETARY			
Energy (kcal) Baseline	1939.3(847.4)	1735.3(855.6)	0.46
Energy (kcal) Final	1346.2(400.4)	1407.3(396.0)	0.20
<i>p</i> - value *	0.001	0.001	
Carbohydrate (%) Baseline	47.8(15.9)	51.40(10.7)	0.47
Carbohydrate (%) Final	47.9(10.2)	45.6(11.3)	0.28
<i>p</i> - value *	0.81	0.04	
Protein (%) Baseline	18.1(8.5)	17.4(7.1)	0.51
Protein (%) Final	24.8(8.6)	26.4(9.1)	0.10
<i>p</i> - value *	0.001	0.001	
Lipids (%) Baseline	31.8(11.8)	31.5(11.1)	0.54
Lipids (%) Final	27.1(10.7)	26.5(11.4)	0.83
<i>p</i> - value *	0.001	0.001	
Fiber (g) Baseline	19.4(15.9)	16.9(16.6)	0.64

Fiber (g) Final	21.4(10.4)	19.4(10.1)	0.27
<i>p</i>- value *	0.47	0.67	
Number of meals/day Baseline	4.0(1.0)	4.0(2.0)	0.31
Number of meals/day Final	3.0(0.0)	6.0(2.0)	0.01
<i>p</i>- value *	0.95	0.54	

Legend: MF3: group of 3 meals per day; MF6: group of 6 meals per day; BMI: body mass index; WC: waist circumference; HOMA-IR: Homeostasis Model Assessment; TC: total cholesterol; HDL-c: high-density lipoprotein cholesterol; LDL-c: low-density lipoprotein cholesterol; TG: triglycerides. The values are represented as medians and 95% confidence intervals. **Differences between groups were determined by a Mann-Whitney, with a p-value of less than 0.05 considered to be statistically significant.

*Wilcoxon was employed to assess the intra-group comparison (before and after the intervention).

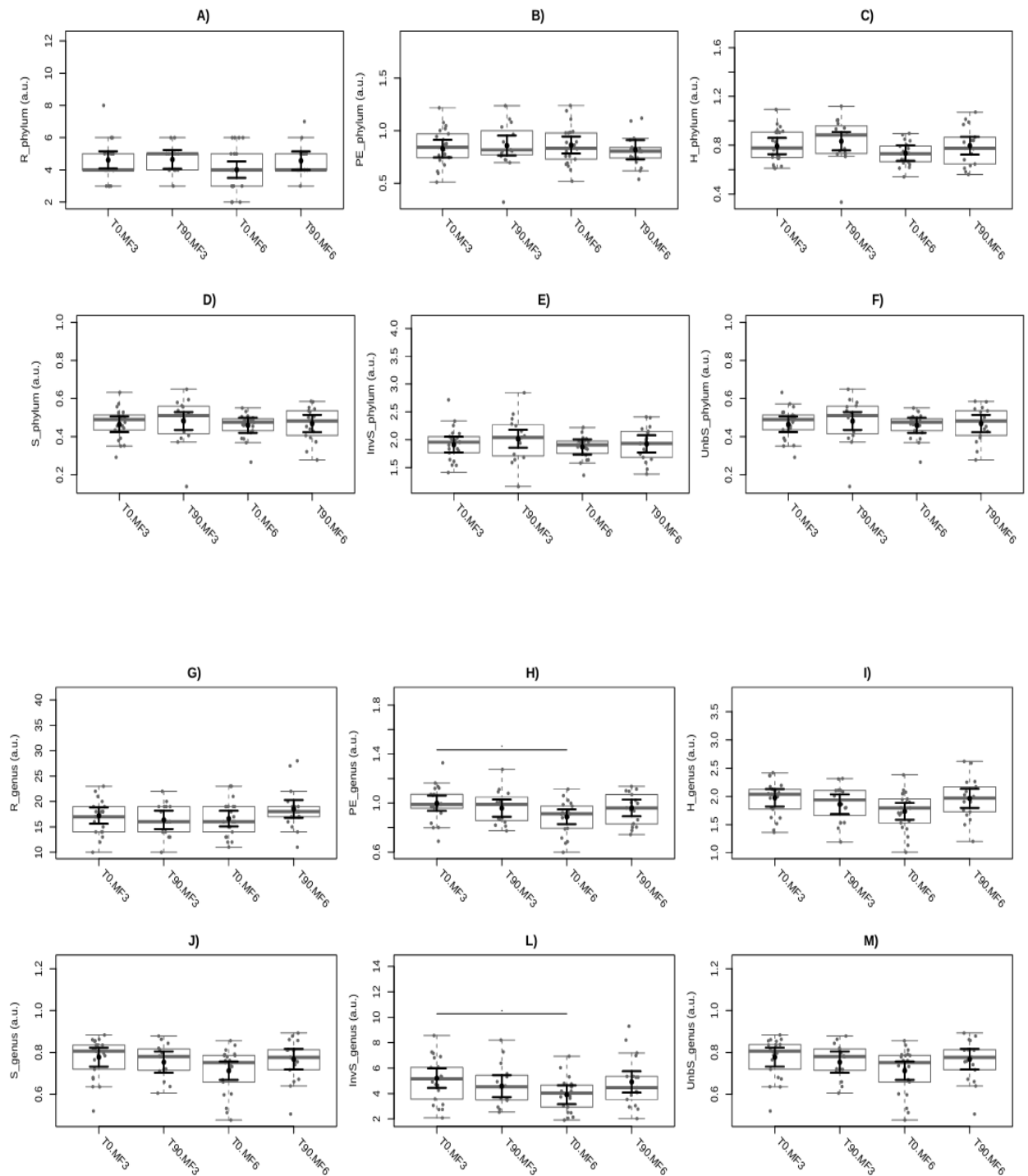


Figure 1. Alpha-diversity of *phylum* and *genus* variation by MF3 and MF6 groups (before (T0) and after (T90) intervention). Box plots showing (A) *phylum* Richness (B) *phylum* Pielou's evenness (C) Shannon-Wiener index (D) *phylum* Simpson's Similarly index (E) *phylum* Inverse Simpson's Similarly index (F) *phylum* UnbS (G) *genus* Richness (H) *genus* Pielou's evenness (I) *genus* Shannon-Wiener index (J) *genus* Simpson's Similarly index (L) *genus* Inverse Simpson's Similarly index (M) *genus* UnbS. In gray, the sampling distributions of the data are represented in the form of box plots and strip plots. In black, the center circle represents each group's expected average marginal effect, estimated from multiple linear fixed effects models.

Manuscrito 3

CLOCK Gene Polymorphism rs1801260 and Obesity: Influence on Breakfast Consumption, Total Energy Intake, Physical Activity Level, and Alpha-Diversity of the Gut Microbiota

Será submetido na revista *Clinical Nutrition*

O polimorfismo no gene *CLOCK* rs1801260 parece se relacionar com modificações no ritmo circadiano, culminando em resultados adversos na saúde. O presente artigo mostra que na obesidade, os indivíduos com o alelo de risco homocigoto eram menos ativos fisicamente do que aqueles heterocigotos. Além disso, o polimorfismo *CLOCK* rs1801260 não levou a modificações na ingestão total de energia, no consumo do desjejum e na alfa diversidade da MI. No entanto, a presença do alelo de risco para este polimorfismo influenciou a composição da MI. Os indivíduos com obesidade e com o polimorfismo demonstraram valores e proporções elevados de bactérias com efeitos adversos, além de proporções mais baixas de bactérias com efeitos positivos na saúde do hospedeiro. Em acréscimo, apresentamos de forma inédita a frequência do alelo menor desta variante em mulheres brasileiras com obesidade.

***CLOCK* Gene Polymorphism rs1801260 and Obesity: Influence on Breakfast Consumption, Total Energy Intake, Physical Activity Level, and Gut Microbiota**

ABSTRACT

Background & Aims: Circadian Locomotor Output Cycles Kaput (*CLOCK*) rs1801260 variant (A>G) may have an effect in the circadian rhythm. Circadian misalignment has been associated with inadequate dietary intake, and changes in physical activity levels and in the gut microbiota (GM), increasing the risk of developing metabolic diseases. From this point of view, this study aimed to evaluate the influence of the *CLOCK* rs1801260 polymorphism in these indicators in women with obesity. **Methods:** In this cross-sectional study, the total energy and breakfast consumption, physical activity levels, anthropometric indicators, plasma lipid, insulin and glucose concentrations, index associated with insulin resistance, *alpha*-diversity (16S rRNA V3/V4 regions), and *CLOCK* variant were determined in women with obesity. **Results:** One hundred and forty-six women were enrolled and divided into G allele carrier (G/A and G/G genotypes) and non-carrier (A/A genotype) groups. The risk allele (G) was found in 58 (22.94%) of all participants. There were no significant differences in *alpha*-diversity, total energy and breakfast intake, anthropometric and biochemical indicators between carriers and non-carriers of the G allele. However, we found that individuals with the homozygous genotype (GG) were less physically active than those heterozygous (AG). Individuals with the polymorphism exhibited elevated levels of *Negativicutes*, *Betaproteobacteria*, *Sutterellaceae*, *Parabacteroides.merdae*, and *Dialister* sp. Additionally, they demonstrated a higher proportion of *Bifidobacteriales*, *Bifidobacteriaceae*, *Prevotellaceae*, *Acidaminococcaceae*, *Bifidobacterium*, *Prevotella*, and *Bifidobacterium. adolescentis*; and a smaller proportion of *Coriobacteriia*, *Coriobacteriales*, *Clostridiales*, *Pasteurellales*, *Oscillospiraceae*, *Pasteurellaceae*, *Ruminiclostridium*, *Sutterella*, *Bacteroides*, *Bacteroides.xylanisolvens*, *Parabacteroides.johnsonii*, *Eubacterium.eligens*,

Coprococcus.eutactus, *Eubacterium.siraeum*, *Holdemanella.biformis*, *Dialister.invisus*, and *Klebsiella.pneumoniae* when compared between those non-carriers of the polymorphism.

Conclusions: Our results suggest that the *CLOCK* gene variant (rs1801260) does not influence anthropometric and biochemical indicators, total energy intake, breakfast eating, and *alpha*-diversity of GM. Nevertheless, this polymorphism resulted in a change in the composition of GM. Furthermore, this study represents the first assessment of the effect of the rs1801260 polymorphism on GM using 16S rRNA sequencing.

Keywords: obesity, *CLOCK* gene, circadian rhythm, breakfast eating, *alpha*-diversity, energy intake, physical activity.

1. Introduction

Obesity is a complex and multifactorial disease affecting millions of people worldwide 1-2. This disease occurs due to genetics and environmental factors, resulting in energy disbalance. Interestingly, the desynchronization of internal clocks, and thus the imbalance of gut microbiota (GM), can also modify the functioning of the intestinal barrier, which could develop insulin resistance and alter the production of gastrointestinal hormones related to satiety, thus increasing food intake 3.

Among the genetic factors that may be involved in obesity, the rs1801260 polymorphism of the Circadian Locomotor Output Cycles Kaput (*CLOCK*) gene has been studied 4-5. *CLOCK* polymorphism (A>G) in the 3'-untranslated region of rs1801260 is associated with the regulation of circadian rhythms and may also be associated with metabolic disorders 6. *CLOCK* gene also plays an important role in the regulation of plasma lipid and glucose levels, in which studies have shown that carriers of rs1801260 (GG) had significantly increased fasting insulin levels and Homeostatic Model Assessment for Insulin Resistance (HOMA-IR) compared to non-carriers of polymorphism 7-8.

In this context, this genetic variation may have an impact on obesity-related environmental factors such as total energy and breakfast intake, weight gain, and physical activity (PA) levels, all of which impact GM **6;9-11**. However, evidence is still scarce and there is no research on Brazilians with obesity. Therefore, this study aims to investigate potential interactions between genotypes of *CLOCK* rs1801260 and total energy intake, breakfast consumption, biochemical and anthropometric indicators, PA level, and composition and *alpha*-diversity of the GM in Brazilian women with obesity. Furthermore, this study is a contribution to the understanding of the genetic background concerning different obesity phenotypes.

2. Methods

Ethics statement

The study was performed following the Research Ethics Committee of the Hospital Universitário Clementino Fraga Filho (HUCFF) of the Federal University of Rio de Janeiro (UFRJ) (Protocol: 3.015.648). Written informed consent was obtained before the subjects were accepted into the study.

Study design and subjects

Cross-sectional study was carried out with adult women, on a convenience sampling, during their visits to the registered dietitians at the Hospital Clementino Fraga Filho, Rio de Janeiro/RJ/Brazil, and at the Laboratório de Avaliação Nutricional (LANUTRI). The data was collected between 2021 and 2023. The eligibility criteria for this study were: adult women, with obesity (Body Mass Index (BMI) ≥ 30 kg/m²) **12**, not menopausal, who have not had bariatric surgery. Ineligible were users of medication or supplements for weight control, chronic use of antibiotics (sporadic use for less than a month), use of probiotics, smokers, alcoholics, those with cardiac and respiratory complications, clinical diagnosis of diabetes mellitus types 1 and 2,

decompensated hypothyroidism, pregnant/breastfeeding women, illiterate women and those with cancer, liver disease, inflammatory bowel disease, and severe nephropathy. Subjects who did not follow the entire protocol proposed or had complications that interfered with their participation during the study were excluded.

After recruitment, participants were invited to a meeting where they were given instructions about the research, signed an informed consent form, were instructed to complete the dietary record, and were scheduled to have blood collection and the other tests and questionnaires. The completed dietary record was to be handed in on the day of the tests. The collection of blood, the collection of stool samples, the anthropometric assessment, and the completion of the questionnaire were scheduled for the same day. After this phase, telephone calls were made to complete the 24-hour records, the time of which was agreed in advance with the participant. All analyses were performed by trained and experienced professionals.

Anthropometric measurements

The weight was measured with the participants wearing light clothes, without shoes, using a digital scale Filizola® model Personal Line 200, with a capacity of 200kg and an accuracy of 50g, always in the morning. Height was assessed using a portable vertical anthropometer Altorexata®, precision of one millimeter. Each participant was positioned upright, and relaxed, with head on the Frankfurt plane. After that, the BMI was estimated and classified as 30.0–34.9 kg/m² obesity class 1; 35.0–39.9 kg/m² obesity class 2; Above 40 kg/m² obesity class 3 **13**. Waist circumference was measured at the midpoint between the iliac crest and the last rib using an inelastic anthropometric tape 2.0m long, Cescor® brand, with a scale in cm. The total fat mass (FM) (in kg and percentage) was estimated using a bioelectrical impedance analysis (BIA) (Biodynamics Corporations 450 –USA) follow-up protocol.

Energy intake, Breakfast eating, and Physical activity assessment

The average total energy intake was assessed through three-day Dietary Registration Forms on non-consecutive days - two typical days and one atypical day - and two 24-hour dietary recalls (one typical day and one atypical day), via telephone. The application of two 24-hour recalls was by The Multiple-Pass Method. The energy intake was quantified using DietProClínico®6.1 and Brazil Nutri software. All Dietary Registration Forms were reviewed by registered dietitians to identify any omissions regarding meals, added sugars, spoon size, amount consumed, and how prepared.

Breakfast consumption was assessed by a question and the answer was self-reported. The question about breakfast consumption was whether or not the person usually ate breakfast, with the answer being "yes" or "no". The PA was assessed using the International Physical Activity Questionnaire (IPAQ) and women were classified as (1) sedentary, (2) insufficiently active, (3) active, and (4) very active **14**. The IPAQ short form asks questions about three specific types of physical activity, such as walking, moderate-intensity activity, and vigorous-intensity activity; frequency (measured in days per week) and duration (time per day) are collected separately for each specific type of activity. The score is calculated as the sum of the duration (in minutes) and frequency (in days) of walking, moderate-intensity, activity, and vigorous-intensity activity, and then the classification is made.

Analysis of biochemical variables

All analyses were carried out using blood samples collected at the Clinical Analysis Laboratory of the Faculty of Pharmacy (LACFAR) at UFRJ after a 12-hour overnight fast. Total cholesterol (TC), high-density lipoprotein cholesterol (HDL-c), and triglyceride (TG) were determined by the enzymatic colorimetric method (CELM® e KATAL®)**15-17**. The very low-density lipoprotein (VLDL) and low-density lipoprotein (LDL) were calculated using the

Friedewald formula **18**. Insulin was determined through the Enzyme Linked Immunoassay (ELISA) with Insulin ELISA kit (Kit DSL – Diagnostic Systems Laboratories, Inc, Webster-TX, USA) **19**. Fasting glucose level was verified by enzymatic colorimetric method (CELM® e KATAL®)**20**. The HOMA-IR index was calculated with the accepted formula: $HOMA = \text{fasting glucose (mmol/l)} \times \text{fasting insulin (mIU/l)} / 22.5$ **21**.

DNA isolation and molecular analysis

DNA was isolated from blood samples (Qiagen, Valencia, CA, USA), according to the manufacturing protocol. We performed the *CLOCK* rs1801260 polymorphism genotyping using the TaqMan® Genotyping Assays in a StepOne® Plus Real-Time PCR System (ThermoFisher, Carlsbad, CA). Genotype was detected using a 7500 Fast Real-Time PCR System SDS 2.3 software (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) with SDS 2.3 Software (Applied Biosystems).

Fecal microbiome analysis

During the initial meeting, participants were given instructions and provided with the PROBIOME kit for collecting stool samples. The kit includes a swab, collection bottle, and collection device (ColOff) with a stabilizing solution (ZSample -BiomeHub, Brazil) for proper storage and transport of the sample at room temperature. Transportation is carried out for up to 30 days in a solution that interrupts biological and metabolic processes, preserving only the DNA of the organisms present in the sample. The samples were then sent to BiomeHub for molecular biology tests and bioinformatic analysis.

The stool sample was collected following the protocol with the PROBIOME kit. Fecal DNA extraction was carried out using the Qiaamp Power Soil kit (Qiagen) following the manufacturer's recommendations. For the identification of bacteria, the specific V3/V4 region of the 16S rRNA gene were amplified in each DNA sample (341F: CCTACGGGRSGCAGCAG and 806R: GGACTACHVGGGTWTCTAAT). The analyses were carried out by specialists from the company BiomeHub, located in Florianópolis – Brazil.

Statistical Analyses

Continuous variables were expressed as medians and interquartile range (IQRs), and categorical variables as n and percentages. Comparisons among *CLOCK* rs1801260 polymorphism Genotypes were achieved by either the Kruskal-Wallis tests or Fisher's exact tests for continuous-numerical and categorical-nominal variables, respectively. For inferences of sociodemographic, clinical, and GM richness and diversity measures, and Firmicutes Bacteroidetes ratio outcomes, multiple linear models were designed and adjusted including confounder variables (i.e., Age, BMI, and IPAQ). Similarly, for inferences of *phylum* and *genus* GM counts, weighted (i.e., weights inversely proportional to the sequencing depth or the number of sequenced reads) zero-inflated negative-binomial (log-link) models were adjusted including confounder variables (i.e., Age, and BMI). The results were presented graphically for the estimated mean marginal effects, where all other variables in the models were kept at their mean values or equal proportions, and their 95% confidence intervals. Contrasts were constructed from these mean marginal effects. The Tukey Honest Significant Difference (HSD) method was used to correct p-values for the number of comparisons whenever necessary (≥ 3); p-values < 0.05 were considered statistically significant. To test the difference between groups with and without the *CLOCK* gene polymorphism in taxonomic resolution, similarity analysis (ANOSIM) was used based on dissimilarity matrices produced by the Bray-Curtis (counts) or Sorensen (presence

or absence) distances. Dissimilarities between and within the groups were calculated. The R statistic was then calculated. The value $R=0$ means completely random clustering. The statistical significance of the observed R was assessed by permuting the clustering vector. This gave the empirical distribution of R under the null model by permutation. We also used the Multiple Response Permutation Procedure (MRPP) to test differences in distances within groups. In the overall weighted average of within-group distances between sampling units, weights were calculated as the number of unique distances between n sampling units ($n(n-1)/2$) (Warton et al. 2012). The Classification Strength (CS) was calculated for dissimilarities between clusters and within clusters. It was reported with dendrograms, with the within-group agreement corrected for changes. The δ statistic is the overall weighted average of the within-group averages of pairwise dissimilarities between sampling units. $E(\delta)$ is the expected δ , evaluated as the average of the dissimilarities. Next, δ was recalculated based on permuted sampling units and their distances (Van Sickle & Hughes 2000). Finally, the IndVal method (Dufrêne & Legendre 1997) was used to find the most representative taxa of MI in carriers and non-carriers of the polymorphism. Values below 0.05 were considered significant. All analyses were done with R software version 4.2.1. The 'lme4' and 'emmeans' packages were used to make statistical inferences. The MI richness and diversity measures were calculated using the 'vegan' package and its dependencies. The 'vegan' and 'cluster' packages were used for compositional analyses of MI (β -diversity).

3. Results

A total of one hundred and forty-six Brazilian women with obesity were included in this study. The sample was divided into three groups: carriers of the G allele (G/A and G/G genotypes) and non-carriers (A/A genotype). The details of genotype and allele distribution are shown in **Table 1**. Of all participants, 25.3% (n=37) were classified as class 1, 31.5% (n=46) as class 2, 34.2% (n=50) as class 3, 6.2% (n=9) as class 4, and 2.7% (n=4) as class 5 of obesity.

Similarly, 31.5% did not eat breakfast while 68.5% were habitual breakfast eaters. In addition, **Figure 1** shows the genotype distribution of the *CLOCK* variant between obesity classes and breakfast and non-breakfast eaters.

The basic characteristics of our sample are presented in **Table 2**. Our results showed that individuals with the homozygous genotype (GG) had lower PA than those with the heterozygous (AG) ($p=0.03$) according to the IPAQ classification. There was no statistically significant difference in baseline anthropometric, biochemical, and total energy intake indicators among genotypes. We also investigated whether the *CLOCK* variant can impact GM (**Table 3**). Our data showed that there was no significant difference in the marginal means of *alpha*-diversity of *phylum*, class, order, family, genus, and species between women carriers and non-carriers of the *CLOCK* polymorphism. In addition, we found no difference in the *Bacillota* (*Firmicutes*)/*Bacteroidota* (*Bacteroidetes*) ratio between women carriers (1.44(0.99;1.89)) and non-carriers (2.02(1.65;2.40)) of the polymorphism ($p=0.052$).

A comparative analysis of the GM composition between carriers of the risk allele and non-carriers showed that carriers exhibited elevated values of the *Negativicutes* ($p=0.038$) and *Betaproteobacteria* ($p=0.029$) classes, the *Sutterellaceae* ($p=0.011$) family, and the *Parabacteroides.merdae* ($p=0.025$) and *Dialister* sp. ($p=0.041$) species (**Supplementary Table 1**). The findings revealed no significant difference between individuals possessing or lacking the *CLOCK* gene polymorphism in the other bacteria examined. In relation to the proportion of bacteria according to the taxonomic level, our observations revealed that individuals with the polymorphism exhibited a high proportion of *Bifidobacteriales* ($p=0.002$), *Bifidobacteriaceae* ($p=0.002$), *Prevotellaceae* ($p=0.001$), *Acidaminococcaceae* ($p=0.016$), *Bifidobacterium* ($p=0.002$), *Prevotella* ($p=0.004$), *Bifidobacterium.adolescentis* ($p=0.001$), *Segatella.copri* (*Prevotella.copri*) ($p=0.002$), and *Sutterella.wadsworthensis* ($p=0.009$), and lower proportions of *Coriobacteriia* ($p=0.002$), *Coriobacteriales* ($p=0.047$), *Clostridiales* ($p=0.047$), *Pasteurellales* ($p=0.002$), *Oscillospiraceae* ($p=0.012$), *Pasteurellaceae* ($p=0.002$), *Ruminiclostridium* ($p=0.049$), *Sutterella*

($p=0.009$), *Bacteroides.faecis* ($p=0.001$), *Bacteroides.xyloxylicans* ($p=0.045$), *Parabacteroides.johnsonii* ($p=0.009$), *Eubacterium.eligens* ($p=0.030$), *Coprococcus.eutactus* ($p=0.001$), *Eubacterium.siraeum* ($p=0.049$), *Holdemanella.biformis* ($p=0.018$), *Dialister.invisus* ($p=0.001$), *Klebsiella.pneumoniae* ($p=0.001$) (**Figure 2**).

4. Discussion

The *CLOCK* rs1801260 variant has been associated with metabolic disorders, such as obesity and its comorbidities, as it may be involved in circadian rhythm disruption **22-23**. Circadian misalignment can affect several metabolic pathways, including inflammatory markers, glucose and lipid profiles, eating behaviors, and PA levels, which may play a role in the development of disease **22-24**. However, the results of the research on the effect of the *CLOCK* rs1801260 polymorphism on the above-mentioned indicators are rare and not consistent. In this context, we investigated the effect of the *CLOCK* rs1801260 variant on total energy and breakfast intake, weight gain, and PA levels in women with obesity. In addition, the integrity of the gut barrier may be affected by circadian disruption **25**, and this study is the first to examine the impact of this *CLOCK* polymorphism on GM in obesity.

We found that the frequency of the minor allele of the *CLOCK* rs1801260 variant in Brazilian women with obesity was 22.5%. There is no research showing the rs1801260 variant in Brazilian adults with obesity; however, Carpena et al. showed the frequency of the minor allele in Brazilian children was 25.3% **26**. This result is in line with our findings. Furthermore, Rahati et al. showed that the frequency of the minor allele in adult Iranian subjects with overweight and obesity was 37% **22**. Similarly, the frequency of minor alleles among individuals from 5 Spanish regions (Asturias, Gipuzkoa, Navarra, Granada, and Murcia) was 30.5% **4**.

In the present study, our results showed that the GG genotype was associated with a lower level of PA when compared to the AG genotype. There are few studies evaluating the effect of this polymorphism on PA. Interestingly, a previous study reported that PA levels may act by modifying the association of *CLOCK* rs1801260 with risk of overweight/obesity in older women, because the association of the G allele with a decreased risk of overweight/obesity may be enhanced in women with high PA **9**.

The *CLOCK* polymorphism did not influence the observed anthropometric indicators. It is important to note that our study was clinical in design, and that women with obesity were already pre-selected. Therefore, we did not expect to find an association with BMI. In a study that included overweight and older women with obesity, this variant was not associated with changing BMI **27**. On the other hand, previous research has shown that the minor allele carriers of the variant rs1801260 tend to have lower BMI values in subjects with overweight and obesity **5,28**. Monteleone et al. conclude that this polymorphism appears to predispose individuals with obesity to a higher BMI **29**. These different findings could be explained by sample criteria selection and genetic background.

Furthermore, we did not observe a significant difference in glucose levels and lipid profile between carriers and non-carriers of this polymorphism. Semenova et al. show that TC and LDL-c levels were higher in the subgroup of women with BMI ≥ 25 kg/m² and *CLOCK* AA genotype compared to the group with BMI ≥ 25 kg/m² and minor allele **27**. Pagliai et al. also showed that the rs1801260 variant was associated with higher fasting glucose levels **30**. It is important to note that this result may be explained by the effects of this variant on glucose metabolism, since the *CLOCK* genes expressed in human pancreatic islets contribute to glucose homeostasis **31**.

We found no significant difference between rs1801260 genotypes and total energy and breakfast intake. However, previous research showed that energy intake in individuals with overweight and obesity from Iran was lower in those with the AA genotype than in those with the GG and GA genotypes **21**. Another study, including individuals with overweight and obesity from Spain, showed that carriers of the minor G allele consumed a higher percentage of their daily energy intake **28**. Meta-analyses of longitudinal observational studies suggest that skipping breakfast may lead to weight gain and the onset of overweight and obesity **32**. Skipping breakfast itself is also a heritable trait with an estimated heritability **33**, and unusual eating times may disrupt the circadian system **34**. To date, earlier studies have provided results on the effect of this polymorphism on the timing of breakfast intake **28**; however, no study has evaluated the effect of this polymorphism on whether or not breakfast is consumed. Thus, we suggest that more studies should investigate this association to understand the impact of the *CLOCK* rs1801260 variant on breakfast consumed.

Alpha-diversity (enrichment) has been a common indicator used to assess the health of GM **35** and Cryan et al. have shown that the greater the diversity of the GM, the better the health outcomes **36**. We evaluated the effect of *CLOCK* rs1801260 on *alpha*-diversity, investigating that this polymorphism could influence circadian rhythms and that this misalignment may alter the GM. The effect of rs1801260 on the *phylum*, class, order, family, *genus* and species *alpha*-diversity of GM is shown in this study for the first time. No significant differences in *alpha*-diversity between rs1801260 genotypes were observed in our results. However, this study provides insight into a new understanding of the influence of *CLOCK* rs1801260 on *alpha*-diversity. Nevertheless, we emphasize that further research needs to investigate this potential association.

The study revealed that the class *Negativicutes*, which belongs to the phylum *Bacillota* (*Firmicutes*), was present at a higher level in individuals exhibiting a *CLOCK* polymorphism. A study examining individuals with obesity demonstrated that the *Negativicutes* class was present in greater numbers in Class 3 obesity **37**. This finding aligns with previous studies that observed an increased abundance of this class in metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease (MASLD) **38,39**. Zeybel et al. present evidence suggesting that the elevated abundance of *Negativicutes* is indicative of the advanced stage of hepatic steatosis **40**. The present study did not observe a difference in the *Eubacterium* genus between the genotypes under investigation. However, the subjects with the polymorphism in the *CLOCK* gene exhibited elevated values for the *Dialister* sp., a gram-negative bacterium. With respect to genus, a study suggests that *Eubacterium* and *Dialister* exhibited greater relative abundance in individuals with obesity and Type 2 diabetes compared with individuals with obesity without Type 2 diabetes **41**. Studies indicate that an increase in *Dialister* is associated with elevated circulating lipopolysaccharides (LPS) levels in individuals with obesity and type 2 diabetes mellitus. The binding of circulating LPS to CD14 mediates an inflammatory response, which contributes to the development of obesity and insulin resistance **42,43**.

Betaproteobacteria is a class of *Proteobacteria* that is a gram-negative bacterium. The results of studies evaluating *Betaproteobacteria* are still inconsistent. A study of children with obesity demonstrated a higher value of this class of bacteria, whereas another study indicated that the increase in the order *Burkholderiales*, which includes the class *Betaproteobacteria*, correlated with weight gain **44,45**. The results of this study indicated that individuals with the risk allele for the polymorphism under investigation exhibited elevated values for the *Betaproteobacteria* class. Similarly, the current study identified elevated levels of the *Sutterellaceae* family, which belongs to the *Betaproteobacteria* class. This family includes gram-negative bacteria, which are notable for their proinflammatory LPS molecules **46**. Conversely, our study revealed elevated levels of

the species *Parabacteroides.merdae* in individuals exhibiting the polymorphism. The species of bacteria in question has been demonstrated to exhibit protective effects against obesity in mice **47**.

The *Bifidobacteriaceae* is the family of bacteria within the order *Bifidobacteriales*, and the genus *Bifidobacterium*, and *Bifidobacterium.adolescentis* is a species. Interestingly, all of these taxonomic levels exhibited a higher proportion of individuals with the aforementioned polymorphism compared to those lacking this polymorphism. These bacteria are gram-positive and exhibit a significant decrease in individuals with increased visceral adipose tissue, BMI, blood triglycerides, and fatty liver **48**. The *Bifidobacterium* genus is capable of absorbing sugars and producing short-chain fatty acids, such as acetate. This modulates the host's energy metabolism by inhibiting the accumulation of fat in adipose tissue, increasing insulin sensitivity, and improving the metabolism of fatty acids and glucose **49**.

Prevotellaceae is a family of bacteria belonging to the *phylum Bacteroidota (Bacteroidetes)*. It is composed of the genus *Prevotella* and the species *Prevotella.copri*. In the present study, all taxonomic levels showed a higher proportion of individuals exhibiting the *CLOCK* polymorphism. The role of the *Prevotella* genus in the GM and its effects on the host are not yet fully understood, and somewhat contradictory interpretations have been reported. The colonization of the GM by *Prevotella* results in metabolic changes that reduce IL-18 production and consequently exacerbate intestinal inflammation and potential systemic autoimmunity **50**. *Prevotella.copri* is one of the main species of the *Prevotella* genus that inhabit the human GM. Its relative abundance has been observed to have both positive and negative impacts on diseases. A study indicates that the *Prevotella.copri* species is increased in individuals with obesity compared to eutrophic **51**. Furthermore, this species is positively related to the presence of fecal butyrate and propionate, indicating a low absorption of these substances **52**.

The *Sutterella.wadsworthensis* species is a gram-negative bacterium belonging to the *Sutterella* genus of the *Sutterellaceae* family, and this species has been positively correlated with obesity and insulin resistance **53**. Our study indicated that individuals with the polymorphism of the *CLOCK* gene exhibited higher proportions of *Sutterella.wadsworthensis*. In the present study, the *Acidaminococcaceae* family was found to exhibit the highest proportion in the individual with the aforementioned polymorphisms in the *CLOCK* gene. The *Acidaminococcaceae* family belongs to the *phylum Bacillota (Firmicutes)* and is characterized as gram-negative bacteria that produce butyrate. A study indicated that the *Acidaminococcaceae* may be associated with diet-induced obesity **54**. However, another study demonstrated that the *Acidaminococcaceae* is reduced in individuals with higher BMI, indicating that further research is necessary to determine its role in obesity **55**.

The class *Coriobacteriia (phylum Actinobacteria)*, which is within the order *Coriobacteriales*, is comprised of gram-positive bacteria. The order *Clostridiales* is a member of the *Oscillospiraceae* family and, according to Palmas et al., it is negatively associated with metabolic diseases **56**. The current study demonstrated that individuals carrying the studied polymorphism exhibited reduced proportions of *Coriobacteriia* and *Coriobacteriales*. Furthermore, individuals with the polymorphism showed a lower proportion of *Pasteurellaceae*. The *Pasteurellaceae* family is composed of gram-negative bacteria belonging to the order *Pasteurellales* and the *phylum Proteobacteria*. The results of a recent study demonstrated that individuals diagnosed with both obesity and insulin resistance demonstrated a higher prevalence of pro-inflammatory bacteria, including those belonging to the *Pasteurellaceae* family **57**.

A smaller proportion of the genus *Ruminiclostridium* was found in the polymorphisms studied. A study of women demonstrated that *Ruminiclostridium* is functionally associated with 83 metabolic pathways, including pathways previously linked to blood pressure regulation **58**. The *Sutterella* genus was present in lower proportion in the individuals with the risk allele for the

CLOCK gene polymorphism in our study. A previous study has indicated a negative correlation between the *Sutterella* genus and obesity **59**.

The species *Bacteroides.faecis* and *Bacteroides.xylanisolvens* are gram-negative bacterium that are commonly found in healthy individuals, although they are rarely reported in the literature **60**. The *Eubacterium.eligens*, *Eubacterium.siraeum*, and *Dialister.invisus* are species that have been associated with a negative correlation with obesity and are found in healthy individuals **61,62**. *Parabacteroides.johnsonii* is also a gram-negative bacterium. Study indicated that *Parabacteroides.johnsonii* may possess the capacity to regulate host immunity **63**.

The species *Holdemanella.biformis* demonstrated the ability to improve hyperglycemia, oral glucose tolerance, and restore gluconeogenesis and insulin signaling in the liver of mice with obesity **64**. All of these species were found to be present in lower proportion in the individuals with the polymorphism studied. *Klebsiella.pneumoniae* is a gram-negative bacterium belonging to the *Enterobacteriaceae* family that may play a role in inflammatory bowel disease due to its ability to negatively impact the immune system **65**. Interestingly, it was found in lower proportions in individuals with the polymorphism studied.

Our study has some limitations, such as the limited number of women in the groups. Also, the contribution of other components of the circadian oscillator to the genetic susceptibility to obesity should be investigated. However, we would like to emphasize that this is the first study to evaluate the presence of *CLOCK* rs1801260 polymorphism in Brazilian women with obesity and its influence on the GM. Furthermore, it is important to mention that the current studies analyzing the GM in obesity, besides being scarce, have analyzed different samples from our study population. As our study population consisted of individuals with obesity without a previous diagnosis of comorbidities, we did not aim to associate this polymorphism with comorbidities and inflammation. However, due to the limited number of reports in the scientific

literature and the innovative nature of our study, we utilized existing research to investigate the potential influence of distinct classes, genera, and species of human GM on metabolic processes and their possible correlation with the health status of individuals with obesity.

5. Conclusion

In summary, we provided the evidence of the minor allele frequency of *CLOCK* rs1801260 variant in Brazilian women with obesity, being 22.94%. Our results showed that individuals with the homozygous allele (GG) were less physically active than those with the heterozygous (AG). In addition, our study suggested that the *CLOCK* rs1801260 polymorphism could not modify the total energy and breakfast intake and the *alpha*-diversity of the GM. However, the presence of the risk allele for this polymorphism can influence the composition of the GM. The findings of our study indicated that individuals with obesity and the polymorphism demonstrated elevated values and proportions of bacteria with adverse effects, in addition to lower proportions of bacteria with reported positive effects on the host's health.

References

1. Chooi YC, Ding C, Magkos F. The epidemiology of obesity. *Metabolism*. 2019 Mar;92:6-10. doi: 10.1016/j.metabol.2018.09.005. Epub 2018 Sep 22. PMID: 30253139.
2. Stierman B, Afful, J, Carroll, MD, et al. National Health and Nutrition Examination Survey 2017–March 2020 Prepandemic Data Files Development of Files and Prevalence Estimates for Selected Health Outcomes. (158).
3. Gomes AC, Hoffmann C, Mota JF. The human gut microbiota: Metabolism and perspective in obesity. *Gut Microbes*. 2018 Jul 4;9(4):308-325. doi: 10.1080/19490976.2018.1465157. Epub 2018 May 24. PMID: 29667480; PMCID: PMC6219651.

4. Škrlec I, Talapko J, Džijan S, et al. The Association between Circadian Clock Gene Polymorphisms and Metabolic Syndrome: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Biology (Basel)*. 2021 Dec 24;11(1):20. doi: 10.3390/biology11010020. PMID: 35053018; PMCID: PMC8773381. 6/j.clnu.2022.07.027. Epub 2022 Jul 31. PMID: 35961261.
5. Molina-Montes E, Rodríguez-Barranco M, Ching-López A, et al. Circadian clock gene variants and their link with chronotype, chrononutrition, sleeping patterns and obesity in the European prospective investigation into cancer and nutrition (EPIC) study. *Clin Nutr*. 2022 Sep;41(9):1977-1990. doi: 10.1016/j.clnu.2022.07.027. Epub 2022 Jul 31. PMID: 35961261.
6. Valladares M, Obregón AM, Chaput JP. Association between genetic variants of the clock gene and obesity and sleep duration. *J. Physiol. Biochem*. 2015;71:855–860. doi: 10.1007/s13105-015-0447-3.
7. Pagliai G, Sofi F, Dinu M, et al. CLOCK gene polymorphisms and quality of aging in a cohort of nonagenarians - The MUGELLO Study. *Sci Rep*. 2019 Feb 6;9(1):1472. doi: 10.1038/s41598-018-37992-8. PMID: 30728411; PMCID: PMC6365537.
8. Shin D, Lee KW. CLOCK Gene Variation Is Associated with the Incidence of Metabolic Syndrome Modulated by Monounsaturated Fatty Acids. *J Pers Med*. 2021 May 14;11(5):412. doi: 10.3390/jpm11050412. PMID: 34068889; PMCID: PMC8156860.
9. Galbete C, Contreras R, Martínez JA, et al. Physical activity and sex modulate obesity risk linked to 3111T/C gene variant of the CLOCK gene in an elderly population: the SUN Project. *Chronobiol Int*. 2012 Dec;29(10):1397-404. doi: 10.3109/07420528.2012.728657. Epub 2012 Nov 6. PMID: 23131019.

10. Oren F., Metabolism and Circadian Rhythms—Implications for Obesity, *Endocrine Reviews*, Volume 31, Issue 1, 1 February 2010, Pages 1–24, <https://doi.org/10.1210/er.2009-0014>
11. Kaczmarek JL, Thompson SV, Holscher HD. Complex interactions of circadian rhythms, eating behaviors, and the gastrointestinal microbiota and their potential impact on health. *Nutr Rev*. 2017 Sep 1;75(9):673-682. doi: 10.1093/nutrit/nux036. PMID: 28938796; PMCID: PMC5914376.
12. Physical status : the use of and interpretation of anthropometry, report of a WHO expert committee. [Internet]. World Health Organ. 1995 [cited 2018 Aug 14]. Available from: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/37003>
13. Obesity: preventing and managing the global epidemic - report of a WHO consultation on obesity. [Internet]. World Health Organ. 1998 [cited 2018 Aug 15]. Available from: <http://www.who.int/nutrition/publications/obesity/en/index.html>>
14. Matsudo S, Araújo T, Matsudo V, et al. QUESTIONÁRIO INTERNACIONAL DE ATIVIDADE FÍSICA (IPAQ): ESTUDO DE VALIDADE E REPRODUTIBILIDADE NO BRASIL. *Rev Bras Atividade Física Saúde*. 2012;6:5–18.
15. Richmond W. Preparation and properties of a cholesterol oxidase from *Nocardia* sp. and its application to the enzymatic assay of total cholesterol in serum. *Clin Chem*. 1973 Dec;19(12):1350-6. PMID: 4757363.
16. Kostner GM, Avogaro P, Bon GB, et al. Determination of high-density lipoproteins: screening methods compared. *Clin Chem*. 1979 Jun;25(6):939-42. PMID: 221139.
17. McGowan MW, Artiss JD, Strandbergh DR, et al. A peroxidase-coupled method for the colorimetric determination of serum triglycerides. *Clin Chem*. 1983 Mar;29(3):538-42. PMID: 6825269.

18. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem.* 1972 Jun;18(6):499-502. PMID: 4337382.
19. Iida T, Kishimoto Y, Yoshikawa Y, et al. Acute D-psicose administration decreases the glycemic responses to an oral maltodextrin tolerance test in normal adults. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo).* 2008 Dec;54(6):511-4. doi: 10.3177/jnsv.54.511. PMID: 19155592.
20. Lott JA, Turner K. Evaluation of Trinder's glucose oxidase method for measuring glucose in serum and urine. *Clin Chem.* 1975 Nov;21(12):1754-60. PMID: 1237363.
21. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, et al. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia.* 1985 Jul;28(7):412-9. doi: 10.1007/BF00280883. PMID: 3899825.
22. Rahati S, Qorbani M, Naghavi A, et al. Association between CLOCK 3111 T/C polymorphism with ghrelin, GLP-1, food timing, sleep and chronotype in overweight and obese Iranian adults. *BMC Endocr Disord.* 2022 Jun 2;22(1):147. doi: 10.1186/s12902-022-01063-x. PMID: 35655162; PMCID: PMC9161580.
23. Meng Y, Lohse B, Cunningham-Sabo L. Sex modifies the association between the CLOCK variant rs1801260 and BMI in school-age children. *PLoS One.* 2020 Aug 12;15(8):e0236991. doi: 10.1371/journal.pone.0236991. PMID: 32785234; PMCID: PMC7423126.
24. Vieira E, Mirizio GG, Barin GR, et al. Clock Genes, Inflammation and the Immune System-Implications for Diabetes, Obesity and Neurodegenerative Diseases. *Int J Mol Sci.* 2020 Dec 21;21(24):9743. doi: 10.3390/ijms21249743. PMID: 33371208; PMCID: PMC7766955.

25. Martel J, Chang SH, Ko YF, et al. Gut barrier disruption and chronic disease. *Trends Endocrinol Metab.* 2022 Apr;33(4):247-265. doi: 10.1016/j.tem.2022.01.002. Epub 2022 Feb 9. PMID: 35151560.
26. Carpena MX, Hutz MH, Salatino-Oliveira A, et al. CLOCK Polymorphisms in Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder (ADHD): Further Evidence Linking Sleep and Circadian Disturbances and ADHD. *Genes (Basel).* 2019 Jan 28;10(2):88. doi: 10.3390/genes10020088. PMID: 30696097; PMCID: PMC6410065.
27. Semenova N, Madaeva I, Kolesnikov S, et al. CLOCK 3111TT Genotype Is Associated with Increased Total Cholesterol and Low-Density Lipoprotein Levels in Menopausal Women with a Body Mass Index of at Least 25 kg/m². *Pathophysiology.* 2020 Dec 30;28(1):1-9. doi: 10.3390/pathophysiology28010001. PMID: 35366265; PMCID: PMC8830446.
28. M, Corbalán MD, Madrid JA, Morales E, et al. *CLOCK* gene is implicated in weight reduction in obese patients participating in a dietary programme based on the Mediterranean diet. *Int J Obes (Lond).* 2010 Mar;34(3):516-23. doi: 10.1038/ijo.2009.255. Epub 2010 Jan 12. PMID: 20065968; PMCID: PMC4426985.
29. Monteleone P, Tortorella A, Docimo L, et al. Investigation of 3111T/C polymorphism of the *CLOCK* gene in obese individuals with or without binge eating disorder: association with higher body mass index. *Neurosci Lett.* 2008 Apr 11;435(1):30-3. doi: 10.1016/j.neulet.2008.02.003. Epub 2008 Feb 9. PMID: 18314271.
30. Pagliai G, Sofi F, Dinu M, et al. *CLOCK* gene polymorphisms and quality of aging in a cohort of nonagenarians - The MUGELLO Study. *Sci Rep.* 2019 Feb 6;9(1):1472. doi: 10.1038/s41598-018-37992-8. PMID: 30728411; PMCID: PMC6365537.

31. Stamenkovic JA, Olsson AH, Nagorny CL, et al. Regulation of core clock genes in human islets. *Metabolism*. 2012 Jul;61(7):978-85. doi: 10.1016/j.metabol.2011.11.013. Epub 2012 Feb 2. PMID: 22304835.
32. Wicherski J, Schlesinger S, Fischer F. Association between Breakfast Skipping and Body Weight-A Systematic Review and Meta-Analysis of Observational Longitudinal Studies. *Nutrients*. 2021 Jan 19;13(1):272. doi: 10.3390/nu13010272. PMID: 33477881; PMCID: PMC7832891.
33. Keski-Rahkonen A, Viken RJ, Kaprio J, et al. Genetic and environmental factors in breakfast eating patterns. *Behav Genet*. 2004 Sep;34(5):503-14. doi: 10.1023/B:BEGE.0000038488.22974.b1. PMID: 15319573.
34. Lopez-Minguez J, Gómez-Abellán P, Garaulet M. Timing of Breakfast, Lunch, and Dinner. Effects on Obesity and Metabolic Risk. *Nutrients*. 2019 Nov 1;11(11):2624. doi: 10.3390/nu11112624. PMID: 31684003; PMCID: PMC6893547.
35. Gong D, Gong X, Wang L, et al. Involvement of Reduced Microbial Diversity in Inflammatory Bowel Disease. *Gastroenterol Res Pract*. 2016;2016:6951091. doi: 10.1155/2016/6951091. Epub 2016 Dec 15. PMID: 28074093; PMCID: PMC5198157.
36. Cryan JF, O'Riordan KJ, Sandhu K, et al. The gut microbiome in neurological disorders. *Lancet Neurol*. 2020 Feb;19(2):179-194. doi: 10.1016/S1474-4422(19)30356-4. Epub 2019 Nov 18. PMID: 31753762.
37. Hu J, Guo P, Mao R, et al. Gut Microbiota Signature of Obese Adults Across Different Classifications. *Diabetes Metab Syndr Obes*. 2022;15:3933-3947. Published 2022 Dec 29. doi:10.2147/DMSO.S387523.
38. Loomba R, Seguritan V, Li W, et al. Gut Microbiome-Based Metagenomic Signature for Non-invasive Detection of Advanced Fibrosis in Human Nonalcoholic Fatty Liver

- Disease [published correction appears in *Cell Metab.* 2019 Sep 3;30(3):607]. *Cell Metab.* 2017;25(5):1054-1062.e5. doi:10.1016/j.cmet.2017.04.001.
39. Oh TG, Kim SM, Caussy C, et al. A Universal Gut-Microbiome-Derived Signature Predicts Cirrhosis [published correction appears in *Cell Metab.* 2020 Nov 3;32(5):901]. *Cell Metab.* 2020;32(5):878-888.e6. doi:10.1016/j.cmet.2020.06.005.
40. Zeybel M, Arif M, Li X, et al. Multiomics Analysis Reveals the Impact of Microbiota on Host Metabolism in Hepatic Steatosis. *Adv Sci (Weinh).* 2022;9(11):e2104373. doi:10.1002/advs.202104373.
41. Ahmad A, Yang W, Chen G, et al. Analysis of gut microbiota of obese individuals with type 2 diabetes and healthy individuals. *PLoS One.* 2019;14(12):e0226372. Published 2019 Dec 31. doi:10.1371/journal.pone.0226372.
42. Shen J, Obin MS, Zhao L. The gut microbiota, obesity and insulin resistance. *Mol Aspects Med.* 2013;34(1):39-58. doi:10.1016/j.mam.2012.11.001.
43. Cani PD, Osto M, Geurts L, Everard A. Involvement of gut microbiota in the development of low-grade inflammation and type 2 diabetes associated with obesity. *Gut Microbes.* 2012;3(4):279-288. doi:10.4161/gmic.19625.
44. Quiroga R, Nistal E, Estébanez B, et al. Exercise training modulates the gut microbiota profile and impairs inflammatory signaling pathways in obese children. *Exp Mol Med.* 2020;52(7):1048-1061. doi:10.1038/s12276-020-0459-0.
45. Volynets V, Louis S, Pretz D, et al. Intestinal Barrier Function and the Gut Microbiome Are Differentially Affected in Mice Fed a Western-Style Diet or Drinking Water Supplemented with Fructose. *J Nutr.* 2017;147(5):770-780. doi:10.3945/jn.116.242859.
46. Besnard P, Christensen JE, Brignot H, et al. Obese Subjects With Specific Gustatory Papillae Microbiota and Salivary Cues Display an Impairment to Sense Lipids [published

- correction appears in Sci Rep. 2018 Jun 22;8(1):9773]. Sci Rep. 2018;8(1):6742. Published 2018 Apr 30. doi:10.1038/s41598-018-24619-1.
47. Qiao S, Liu C, Sun L, et al. Gut Parabacteroides merdae protects against cardiovascular damage by enhancing branched-chain amino acid catabolism [published correction appears in Nat Metab. 2023 Jan;5(1):184]. Nat Metab. 2022;4(10):1271-1286. doi:10.1038/s42255-022-00649-y.
48. Kim G, Yoon Y, Park JH, et al. Bifidobacterial carbohydrate/nucleoside metabolism enhances oxidative phosphorylation in white adipose tissue to protect against diet-induced obesity. Microbiome. 2022;10(1):188. Published 2022 Nov 4. doi:10.1186/s40168-022-01374-0.
49. Horiuchi H, Kamikado K, Aoki R, et al. Bifidobacterium animalis subsp. lactis GCL2505 modulates host energy metabolism via the short-chain fatty acid receptor GPR43. Sci Rep. 2020;10(1):4158. Published 2020 Mar 5. doi:10.1038/s41598-020-60984-6.
50. Iljazovic A, Roy U, Gálvez EJC, et al. Perturbation of the gut microbiome by Prevotella spp. enhances host susceptibility to mucosal inflammation. Mucosal Immunol. 2021;14(1):113-124. doi:10.1038/s41385-020-0296-4.
51. Abdelsalam NA, Hegazy SM, Aziz RK. The curious case of Prevotella copri. Gut Microbes. 2023;15(2):2249152. doi:10.1080/19490976.2023.2249152.
52. Duan M, Wang Y, Zhang Q, Zou R, Guo M, Zheng H. Characteristics of gut microbiota in people with obesity. PLoS One. 2021;16(8):e0255446. Published 2021 Aug 10. doi:10.1371/journal.pone.0255446.
53. Squillario M, Bonaretti C, La Valle A, et al. Gut-microbiota in children and adolescents with obesity: inferred functional analysis and machine-learning algorithms to classify microorganisms. Sci Rep. 2023;13(1):11294. Published 2023 Jul 12. doi:10.1038/s41598-023-36533-2.

54. Zhao L, Zhang Q, Ma W, Tian F, Shen H, Zhou M. A combination of quercetin and resveratrol reduces obesity in high-fat diet-fed rats by modulation of gut microbiota. *Food Funct.* 2017;8(12):4644-4656. doi:10.1039/c7fo01383c.
55. Lv Y, Qin X, Jia H, Chen S, Sun W, Wang X. The association between gut microbiota composition and BMI in Chinese male college students, as analysed by next-generation sequencing. *Br J Nutr.* 2019;122(9):986-995. doi:10.1017/S0007114519001909.
56. Palmas V, Pisanu S, Madau V, et al. Gut microbiota markers associated with obesity and overweight in Italian adults. *Sci Rep.* 2021;11(1):5532. Published 2021 Mar 9. doi:10.1038/s41598-021-84928-w.
57. Yuan X, Chen R, Zhang Y, Lin X, Yang X, McCormick KL. Gut Microbiota of Chinese Obese Children and Adolescents With and Without Insulin Resistance. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2021;12:636272. Published 2021 Mar 19. doi:10.3389/fendo.2021.636272.
58. Louca P, Nogal A, Wells PM, et al. Gut microbiome diversity and composition is associated with hypertension in women. *J Hypertens.* 2021;39(9):1810-1816. doi:10.1097/HJH.0000000000002878.
59. Mbakwa CA, Hermes GDA, Penders J, et al. Gut Microbiota and Body Weight in School-Aged Children: The KOALA Birth Cohort Study. *Obesity (Silver Spring).* 2018;26(11):1767-1776. doi:10.1002/oby.22320.
60. Ge Y, Zhang G, Yang J, et al. *Bacteroides luhongzhouii* sp. nov. and *Bacteroides zhangwenhongii* sp. nov., isolated from human faeces. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2021;71(4):10.1099/ijsem.0.004772. doi:10.1099/ijsem.0.004772.
61. Cui Y, Zhang L, Wang X, et al. Roles of intestinal Parabacteroides in human health and diseases. *FEMS Microbiol Lett.* 2022;369(1):fnac072. doi:10.1093/femsle/fnac072.

62. Latorre-Pérez A, Hernández M, Iglesias JR, et al. The Spanish gut microbiome reveals links between microorganisms and Mediterranean diet. *Sci Rep.* 2021;11(1):21602. Published 2021 Nov 10. doi:10.1038/s41598-021-01002-1.
63. Zhou J, Zhang Q, Zhao Y, et al. The relationship of Megamonas species with nonalcoholic fatty liver disease in children and adolescents revealed by metagenomics of gut microbiota. *Sci Rep.* 2022;12(1):22001. Published 2022 Dec 20. doi:10.1038/s41598-022-25140-2.
64. Romaní-Pérez M, López-Almela I, Bullich-Vilarrubias C, et al. Holdemanella biformis improves glucose tolerance and regulates GLP-1 signaling in obese mice. *FASEB J.* 2021;35(7):e21734. doi:10.1096/fj.202100126R.
65. Zhang Q, Su X, Zhang C, et al. Klebsiella pneumoniae Induces Inflammatory Bowel Disease Through Caspase-11-Mediated IL18 in the Gut Epithelial Cells. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol.* 2023;15(3):613-632. doi:10.1016/j.jcmgh.2022.11.005.

Table 1. Frequency of *CLOCK* rs1801260 genotypes and alleles in Brazilian women with obesity.

Overall n(%)	Genotype n(%)			Allele (%)	
	AA	AG	GG	A	G
146(100%)	88(60.3)	49(33.56)	9(6.16)	77.06	22.94

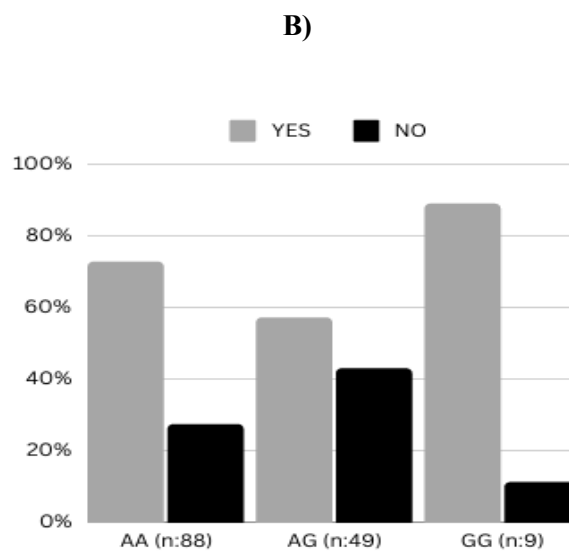
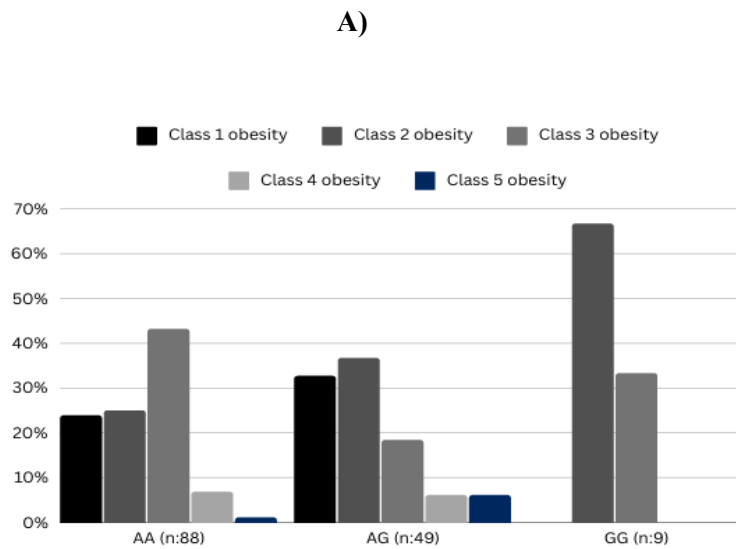


Figure 1. Genotype distribution of *CLOCK* variant between classes of obesity and breakfast eating. Bar graphs depict showing genotype distribution according to the A) class of obesity and B) breakfast and non-breakfast eaters.

Table 2. Baseline characteristics of our study, stratified by *CLOCK* rs1801260 genotypes (median (interquartile range-IQR)).

Indicators	Overall (n:146)	rs1801260			p.value*
		AA (n:88)	AG (n:49)	GG (n:9)	
Age (years)	36 (19)	37 (17.5)	32 (21)	32 (19)	0.638
BMI (kg/m ²)	38.75 (9.61)	40.39 (9.22)	36.5 (8.17)	36.87 (4.16)	0.370
Weight (kg)	99.65 (21.46)	101.03 (20.88)	94 (24.4)	96.5(9.4)	0.193
WC (cm)	106.03 (18.35)	106.78 (18.21)	102.2 (16.5)	105.6 (15.95)	0.343
FM (Kg)	43.5 (14.53)	43.93 (12.38)	42.25 (13.9)	38 (4.6)	0.205
FM (%)	43.25 (7.02)	43.9 (5.63)	42 (9.1)	42.9(4.8)	0.339
Glucose (mg/dL)	96 (29)	99 (28.8)	96 (30)	93 (9)	0.798
Insulin (mcU/mL)	20.7 (14.5)	21.6 (15.15)	18.4 (12.7)	22.1 (19.5)	0.248
TC (mg/dL)	175 (54)	175 (47)	173 (66)	182 (40)	0.861
TG (mg/dL)	106 (63)	106 (64)	104 (66)	123 (45)	0.658
LDL-c (mg/dL)	102 (43)	101 (38.5)	101 (48)	106 (36)	0.785
HDL-c (mg/dL)	45 (11)	44 (10.5)	45 (13)	47 (5)	0.581
VLDL-c (mg/dL)	21 (10)	21 (10.5)	20 (8)	24 (5)	0.676
HOMA-IR	4.93 (3.74)	5.(3.97)	4.5 (3.39)	5.12 (3.85)	0.521
Total Energy intake (kcal)	1794.13 (894.73)	1778 (891.87)	1829.29 (864.3)	1798.8 (1092)	0.844
Physical Activity	2 (1)	2 (2)	3 (1)	1(1)	0.028

Legend: BMI: Body Mass Index; WC: Waist Circumference; FM: Fat Mass; TC: Total cholesterol; LDL-c: low-density lipoprotein; HDL-c: high-density lipoprotein; VLDL-c: very low-density lipoprotein; TG: Triglycerides; HbA1c: glycated hemoglobin; HOMA-IR: Homeostasis model assessment index. *Kruskal-Wallis tests.

Table 3. Comparison of the *alpha*-diversity across genotypes (estimated marginal mean (CI 95%))

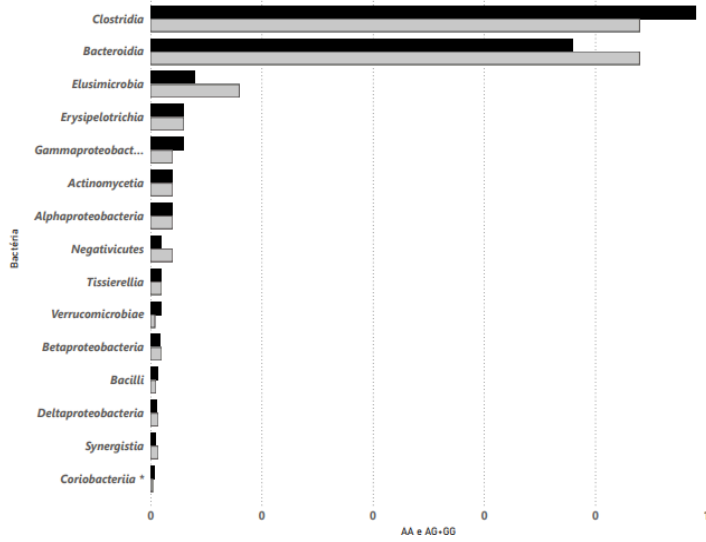
<i>Phylum</i>	Carrier profiles		p-value*
	AA (n=88)	AG+GG (n=58)	
Richness	4.87 (4.51;5.22)	4.53 (4.11;4.96)	0.242
PE	0.84 (0.80;0.88)	0.89 (0.84;0.94)	0.132
Shannon-Weaver index	0.83 (0.79;0.87)	0.84 (0.79;0.88)	0.753
Simpson's Similarly	0.49 (0.47;0.51)	0.50 (0.48;0.52)	0.488
InvS	2.01 (1.94;2.08)	2.04 (1.95;2.12)	0.616
UnbS	0.49 (0.47;0.51)	0.50 (0.48;0.52)	0.489
<i>Class</i>			
Richness	7.59 (6.98;8.20)	7.40 (6.67;8.12)	0.688
PE	0.76 (0.73;0.79)	0.79 (0.75;0.82)	0.237
Shannon-Weaver index	0.99 (0.94;1.04)	1.00 (0.94;1.06)	0.721
Simpson's Similarly	0.53 (0.51;0.55)	0.54 (0.52;0.56)	0.542
InvS	2.21 (2.11;2.30)	2.24 (2.12;2.35)	0.693
UnbS	0.53 (0.51;0.55)	0.54 (0.52;0.56)	0.543
<i>Order</i>			
Richness	8.58 (7.82;9.33)	8.35 (7.46;9.24)	0.698
PE	0.76 (0.73;0.79)	0.79 (0.75;0.83)	0.258
Shannon-Weaver index	1.06 (0.99;1.12)	1.07 (0.99;1.15)	0.824
Simpson's Similarly	0.55 (0.53;0.57)	0.56 (0.53;0.58)	0.625
InvS	2.32 (2.20;2.44)	2.37 (2.23;2.52)	0.577
UnbS	0.55 (0.53;0.57)	0.56 (0.53;0.58)	0.626
<i>Family</i>			
Richness	16.01 (15.11;16.92)	15.26 (14.16;16.33)	0.290
PE	0.94 (0.91;0.97)	0.94 (0.91;0.98)	0.983
Shannon-Weaver index	1.81 (0.79;0.87)	1.77 (1.68;1.86)	0.545
Simpson's Similarly	0.74 (0.72;0.76)	0.73 (0.71;0.76)	0.561
InvS	4.37 (4.02;4.72)	4.21 (3.79;4.62)	0.544
UnbS	0.74 (0.72;0.76)	0.73 (0.71;0.76)	0.560
<i>Genus</i>			
Richness	24.63 (23.20;26.05)	23.60 (21.91;25.30)	0.363
PE	0.96 (0.93;0.98)	0.94 (0.90;0.97)	0.378

Shannon-Weaver index	2.20 (2.11;2.30)	2.13 (2.01;2.24)	0.312
Simpson's Similarly	0.80 (0.78;0.83)	0.79 (0.76;0.81)	0.290
InvS	6.24 (5.61;6.88)	5.60 (4.84;6.36)	0.201
UnbS	0.80 (0.78;0.83)	0.79 (0.76;0.81)	0.289
<i>Species</i>			
Richness	33.81 (32.02;35.61)	33.08 (29.95;34.21)	0.222
PE	1.02 (1.00;1.04)	1.02 (0.99;1.04)	0.879
Shannon-Weaver index	2.63 (2.56;2.71)	2.58 (2.49;2.67)	0.387
Simpson's Similarly	0.87 (0.86;0.88)	0.87 (0.86;0.88)	0.836
InvS	9.07 (8.37;9.78)	8.76 (7.93;9.60)	0.579
UnbS	0.87 (0.86;0.88)	0.87 (0.86;0.88)	0.832

Legend: PE: Pielou's evenness; InvS: Inverse Simpson's Similarly index; UnbS: Simpson.unb. *T-tests followed by p-values adjustment for the number of comparisons (n=3) by the Tukey Honest Significant Difference (HSD) method on estimated multiple linear models adjusted for confounder variables (i.e., Age, BMI, and IPAQ).

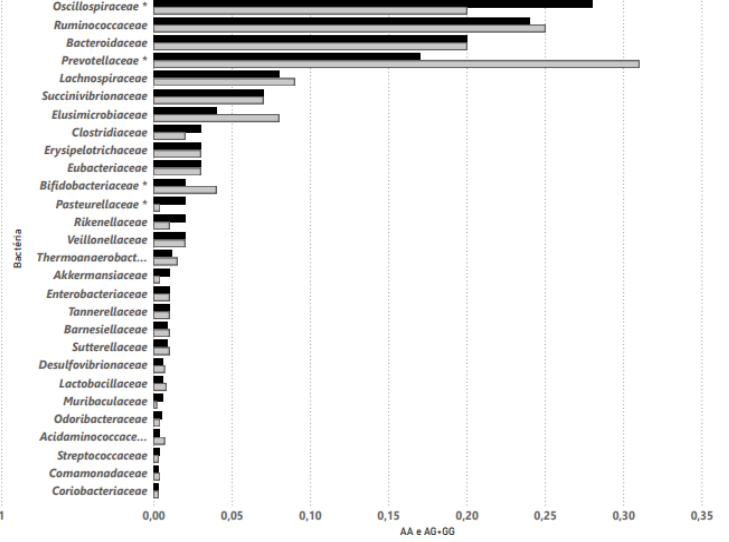
Class

Genotype ● AA @AG+GG



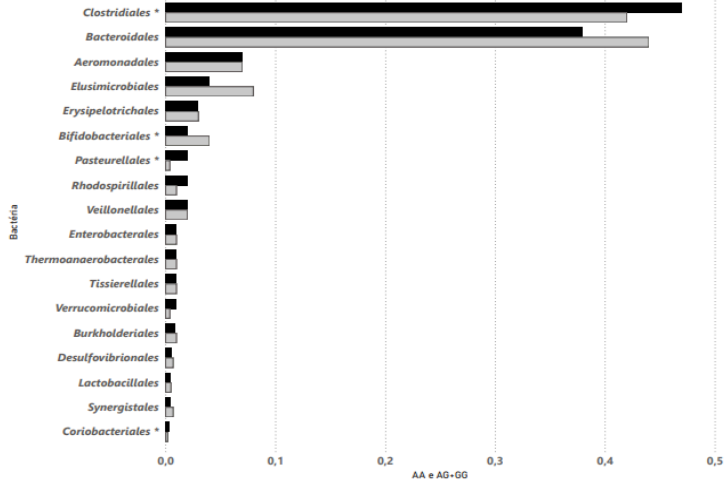
Family

Genotype ● AA @AG+GG



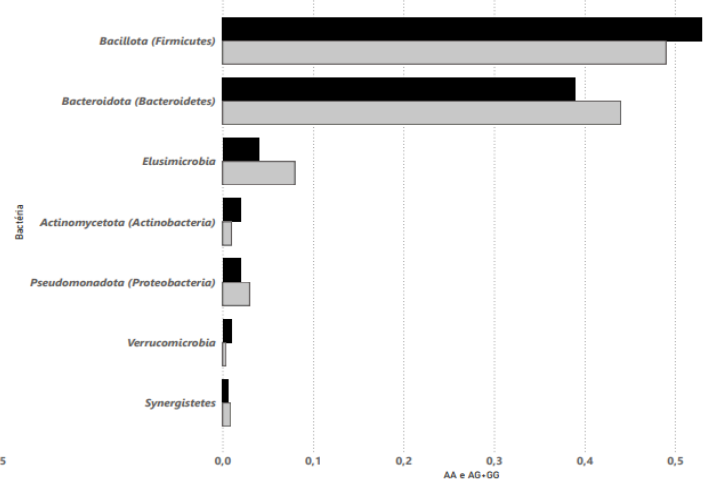
Order

Genotype ● AA @AG+GG



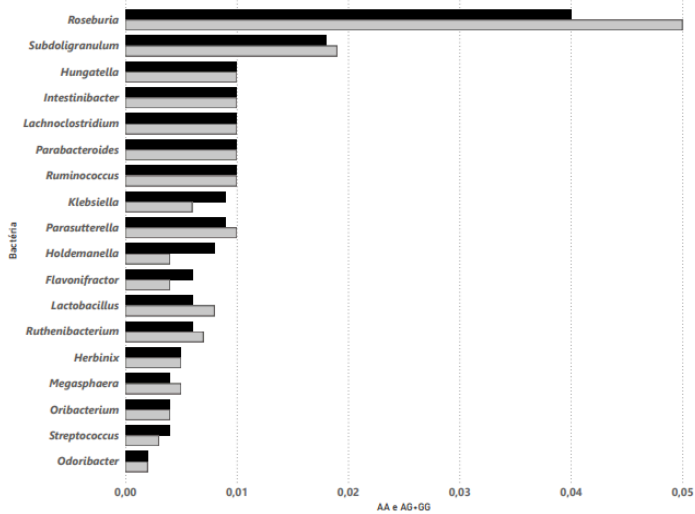
Phylum

Genotype ● AA @AG+GG



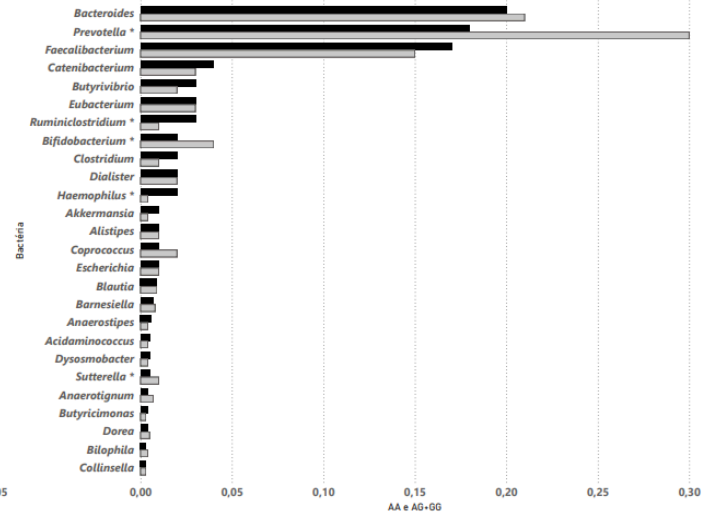
Genus 1

Genotype ● AA @AG+GG



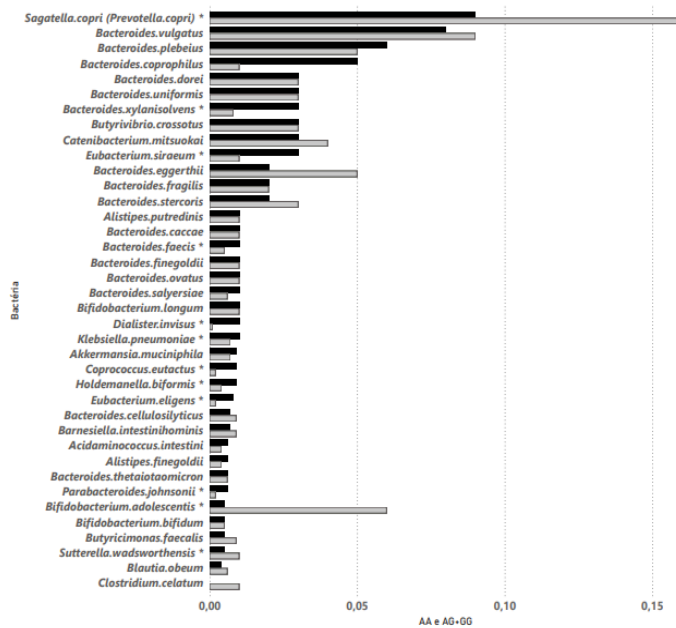
Genus 2

Genotype ● AA @AG+GG



Species 1

Genotype ● AA @AG+GG



Species 2

Genotype ● AA @AG+GG

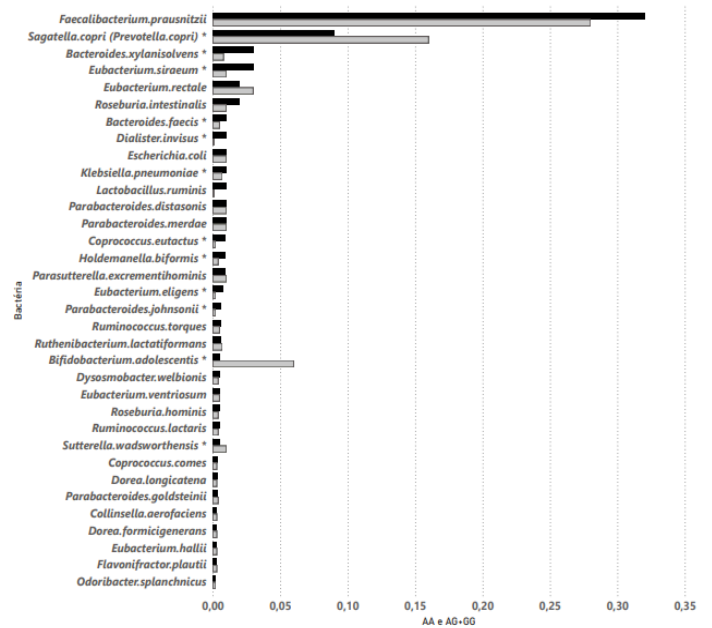


Figura 2. Proportion of bacteria according to taxonomic level in individuals carrying and not carrying the *CLOCK* polymorphism.

Supplementary Table 1. Comparison of the bacterial count at different taxonomic levels among the rs1801260 polymorphism genotypes (estimated marginal mean (CI 95%)).

Bacterial Taxonomy		Genotype		<i>p-value</i>
		AA (n=88)	AG+GG (n=58)	
<i>Phylum</i>				
	<i>Bacteria</i>	386.47(197.58;575.35)	571.44(295.41;847.47)	0.289
<i>Class</i>				
	<i>Erysipelotrichia</i>	547.11(326.82;767.40)	535.257(248.38;822.13)	0.950
	<i>Negativicutes</i>	349.47(231.49;467.46)	599.09(394.15;804.02)	0.038
	<i>Betaproteobacteria</i>	125.21(76.90;173.51)	293.09(149.44;436.74)	0.029
<i>Order</i>				
	<i>Erysipelotrichales</i>	546.41(322.60;770.23)	534.46(248.68;820.24)	0.950
	<i>Veillonellales</i>	284.41(163.59;405.22)	480.10(283.16;677.05)	0.096
	<i>Burkholderiales</i>	125.21(76.90;173.51)	293.09(149.44;436.74)	0.029
<i>Family</i>				
	<i>Barnesiellaceae</i>	110.05(65.99;154.10)	77.55(34.02;121.07)	0.299
	<i>Prevotellaceae</i>	3951.00(2455.15;5446.85)	6371.22(3396.57;9345.86)	0.153
	<i>Clostridiaceae</i>	659.47(375.49;943.46)	722.06(356.19;1087.93)	0.778
	<i>Erysipelotrichaceae</i>	542.37(317.59;767.15)	532.88(244.77;820.99)	0.960
	<i>Veillonellaceae</i>	284.41(163.59;405.22)	480.10(283.16;677.05)	0.096
	<i>Sutterellaceae</i>	96.90(54.54;139.26)	285.89(145.15;426.62)	0.011
<i>Genus</i>				
	<i>Bacteroides</i>	5124.84(3180.48;7069.20)	7674.55(4282.83;11066.28)	0.425
	<i>Prevotella</i>	3228.07(1951.95;4504.18)	5480.56(2863.07;8098.06)	0.538
	<i>Hungatella</i>	408.72(274.92;542.51)	424.66(260.49; 588.83)	0.595
	<i>Coprococcus</i>	311.75(181.57;441.92)	363.17(158.77;567.58)	0.505
	<i>Oribacterium</i>	47.69(29.84;65.54)	49.66(26.23;73.10)	0.684
	<i>Catenibacterium</i>	492.64(226.83;758.46)	453.44(173.53;733.35)	0.895

	<i>Dialister</i>	271.10(149.00;393.20)	446.88(253.01;640.75)	0.847
Species				
	<i>Bacteroides.caccae</i>	183.09(114.62;251.57)	137.38(67.68;207.08)	0.365
	<i>Bacteroides.ovatus</i>	158.84(68.35;249.33)	284.65(110.61;458.70)	0.221
	<i>Bacteroides.stercoris</i>	340.60(176.67;504.52)	656.10(295.73;1016.46)	0.124
	<i>Prevotella.copri</i>	1180.55(597.35;1763.76)	2389.53(1177.55;3601.50)	0.077
	<i>Alistipes.putredinis</i>	210.81(119.75;301.87)	329.93(168.12;491.73)	0.210
	<i>Parabacteroides.merdae</i>	137.01(90.39;183.62)	267.92(162.43;373.42)	0.025
	<i>Eubacterium</i> sp.	111.26(73.90;148.62)	135.34(82.89;187.79)	0.460
	<i>Roseburia.intestinali</i>	314.75(163.33;466.17)	395.66(204.06;587.26)	0.516
	<i>Ruminococcus</i> sp.	111.78(36.06;187.50)	81.58(11.84;151.33)	0.590
	<i>Dialister</i> sp.	205.15(97.42;312.89)	441.49(241.40;641.58)	0.041

*T-tests followed by p-values adjustment for the number of comparisons (n=3) by the Tukey Honest Significant Difference (HSD) method on estimated multiple linear models adjusted for confounder variables (i.e., Age, BMI, and IPAQ).

7 Considerações finais

O nosso estudo aponta que independente do fracionamento, a dieta moderadamente hipocalórica proporcionou diminuição do IMC e PC em mulheres com obesidade, reduzindo o risco de complicações metabólicas relacionadas ao excesso de adiposidade central. No entanto, ingerir seis refeições por dia trouxe melhores resultados na redução do PC e na insulinemia, mas como limitação do estudo, não podemos afirmar sobre os efeitos de realizar seis refeições por dia em longo prazo, tanto no que diz respeito a adesão ao tratamento quanto nos resultados na saúde. Durante o período de intervenção, as participantes relataram ter dificuldade de consumir seis refeições por dia pela rotina de cuidados domésticos ou pelo trabalho, o maior desafio mencionado foi o de realizar a colação e em alguns momentos a ceia. Em contrapartida, as participantes alocadas no grupo FD3 relataram que no início foi desafiador, mas com o passar dos

dias houve adaptação e melhor controle do apetite, porém não houve diferença na secreção de hormônios de fome e saciedade entre os grupos.

Com relação aos resultados no peso corporal, apesar de não encontrarmos diferença após a intervenção entre os grupos, nós verificamos que durante a intervenção os resultados foram peculiares, uma vez que algumas participantes reduziram o peso no início do tratamento e posteriormente ganharam peso o perdido, ou tiveram dificuldades de redução de peso no início, mas houve redução no final do estudo, sendo que todas as incluídas demonstraram esforço e dedicação para seguirem o plano prescrito. Fato curioso foi a observação da variação na redução de peso entre as participantes, nós vivenciamos tanto redução considerável de peso, como quatorze quilos, quanto de poucos gramas entre as participantes do estudo durante os três meses. Enfatizamos que aquelas que não seguiram a prescrição dietética, foram excluídas. Além disso, houve relatos de quadros de ansiedade após o início da dieta, por isso nós recomendamos apoio psicológico. Todos esses relatos apresentados podem ser relevantes, pois nos mostra o quão desafiador é elaborar e prescrever o tratamento dietético na assistência ao indivíduo com obesidade para haver uma adequada aceitação, repercutindo na redução e manutenção do peso perdido.

Até o momento, o nosso estudo é o primeiro a analisar a interação de nove polimorfismos genéticos e de dieta hipocalórica com diferentes fracionamentos em mulheres brasileiras com obesidade nos resultados antropométricos, hormonais e na MI. Portanto, o nosso estudo compreende aspectos de nutrigenética visando contribuir para mais entendimentos sobre a interação genótipo-dieta no que tange ao FD a ser aplicado no tratamento da obesidade.

Os resultados do presente estudo apontaram que as portadoras do polimorfismo no gene *LEP* consumindo três refeições por dia aumentaram o TMR. Já ao consumir seis refeições por dia, as carreadoras do alelo de risco para o *GHRL* e *GHSR* mostraram redução da grelina ativa. No entanto, a presença dos alelos de risco para os polimorfismos não interferiram nos resultados

antropométricos. No que tange a análise de MI, modificar o FD não alterou a alfa diversidade nas participantes do presente estudo. Contudo, os nossos resultados precisam ser considerados com cautela, devido ao limitado tamanho amostral. Ressaltamos que a análise de MI foi realizada pelo sequenciamento de amplicon 16S rRNA com tecnologia de alto desempenho desenvolvida para análise de MI.

Por fim, reforçamos que a análise de nutrigenética desenvolvida no nosso estudo poderia ser avaliada em uma amostra ampliada, assim como incluir outros polimorfismos genéticos, marcadores inflamatórios, e avaliar outros parâmetros relacionados à alimentação, padrão de sono, ou outros padrões dietéticos.

Este estudo foi financiado pela FAPERJ - Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro, Processo SEI 202.359/2022.

Referências bibliográficas

ABATE, N. et al. Relationships of generalized and regional adiposity to insulin sensitivity in men. **Journal of Clinical Investigation**, v. 96, n. 1, p. 88–98, jul. 1995.

ABBASI, J. Interest in the Ketogenic Diet Grows for Weight Loss and Type 2 Diabetes. **JAMA**, v. 319, n. 3, p. 215–217, 2018.

ABDOLLAHI, S. et al. The effect of meal frequency on biochemical cardiometabolic factors: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. **Clinical Nutrition (Edinburgh, Scotland)**, v. 40, n. 5, p. 3170–3181, 2021.

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, p. 1321, 2017.

1000 Genomes Project Consortium, Auton, A. Brooks, L.D. et al. A global reference for human genetic variation. **Nature**, v. 526, n. 7571, p. 68–74, 2015.

ADRIAENS, M.; SCHOFFELEN, P.; WESTERTERP, K. **Intra-individual variation of basal metabolic rate and the influence of daily habitual physical activity before testing.** - PubMed - NCBI. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12908903>>. Acesso em: 2 nov. 2019.

ADULTS (US), N. O. E. I. E. P. ON THE I., Evaluation, and Treatment of Obesity in. **Clinical Guidelines on the Identification, Evaluation, and Treatment of Overweight and Obesity in Adults.** [s.l.] National Heart, Lung, and Blood Institute, 1998.

- AL-LAHHAM, S. H. et al. Biological effects of propionic acid in humans; metabolism, potential applications and underlying mechanisms. **Biochimica Et Biophysica Acta**, v. 1801, n. 11, p. 1175–1183, 2010.
- ALBUQUERQUE, D. et al. Current review of genetics of human obesity: from molecular mechanisms to an evolutionary perspective. **Molecular genetics and genomics: MGG**, v. 290, n. 4, p. 1191–1221, 2015.
- ALKHULAIFI, F. & DARKO, C. Meal Timing, Meal Frequency and Metabolic Syndrome. **Nutrients**, n. 14, n. 9, p. 1719, 2022.
- ALWI, Z. B. The Use of SNPs in Pharmacogenomics Studies. **The Malaysian journal of medical sciences: MJMS**, v. 12, n. 2, p. 4–12, 2005.
- AMERICAN COLLEGE OF CARDIOLOGY/AMERICAN HEART ASSOCIATION TASK FORCE ON PRACTICE GUIDELINES, OBESITY EXPERT PANEL, 2013. Executive summary: Guidelines (2013) 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 published by the Obesity Society and American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. Based on a systematic review from the The Obesity Expert Panel, 2013. **Obesity (Silver Spring, Md.)**, v. 22 Suppl 2, p. S5-39, 2014.
- ANDARINI, S.; KANGSAPUTRA, F.; HANDAYANI, D. Pre- and postprandial acylated ghrelin in obese and normal weight men. **Asia Pacific journal of clinical nutrition**, v. 26, p. S85–S91, 2017.
- ANGEL-CHÁVEZ, L. I. et al. Influence of serum leptin levels and Q223R leptin receptor polymorphism on clinical characteristic of patients with rheumatoid arthritis from Western Mexico. **EJIFCC**, v. 29, n. 1, p. 26-35, 2018.
- ANGOORANI, P. et al. Gut microbiota modulation as a possible mediating mechanism for fasting-induced alleviation of metabolic complications: a systematic review. **Nutrition & Metabolism**, v. 18, n. 1, p. 105, 2021.
- ANSON, R. M. et al. Intermittent fasting dissociates beneficial effects of dietary restriction on glucose metabolism and neuronal resistance to injury from calorie intake. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 100, n. 10, p. 6216–6220, 2003.
- ANTOINE, J. M. et al. Feeding frequency and nitrogen balance in weight-reducing obese women. **Human Nutrition. Clinical Nutrition**, v. 38, n. 1, p. 31–38, 1984.
- ARITA, Y. et al. Paradoxical decrease of an adipose-specific protein, adiponectin, in obesity. 1999. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 425, n. 3, p. 560–564, 2012.
- ARNETT, D. H. et al. "2019 ACC/AHA guideline on the primary prevention of cardiovascular disease: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines". **J Am Coll Cardiol**, v. 74, p. e177-e232, 2019.
- ARRIZABALAGA, M. et al. Preliminary findings on the influence of FTO rs9939609 and MC4R rs17782313 polymorphisms on resting energy expenditure, leptin and thyrotropin levels in obese non-morbid premenopausal women. **Journal of Physiology and Biochemistry**, v. 70, n. 1, p. 255–262, 2014.
- ARROYO-JOHNSON, C.; MINCEY, K. D. Obesity epidemiology trends by race/ethnicity, gender, and education: National Health Interview Survey, 1997–2012. **Gastroenterology clinics of North America**, v. 45, n. 4, p. 571–579, 2016.

ASHER, G.; SASSONE-CORSI, P. Time for food: the intimate interplay between nutrition, metabolism, and the circadian clock. **Cell**, v. 161, n. 1, p. 84–92, 2015.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA PARA O ESTUDO DA OBESIDADE E DA SÍNDROME METABÓLICA (ABESO). **Diretrizes brasileiras de obesidade 4.ed.** São Paulo: Abeso; 2016.

Disponível em:

<<https://abeso.org.br/wpcontent/uploads/2019/12/Diretrizes-Download-Diretrizes-Brasileiras-de-Obesidade2016>>. Acesso em: 11 nov. 2019.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA PARA O ESTUDO DA OBESIDADE E DA SÍNDROME METABÓLICA (ABESO). **Posicionamento sobre o tratamento nutricional do sobrepeso e da obesidade: departamento de nutrição da Associação Brasileira para o estudo da obesidade e da síndrome metabólica** (ABESO - 2022) São Paulo: Abeso, 2022.

ASTRUP, A. et al. Low resting metabolic rate in subjects predisposed to obesity: a role for thyroid status. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 63, n. 6, p. 879–883, 1996.

ASTRUP, A. et al. Meta-analysis of resting metabolic rate in formerly obese subjects. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 69, n. 6, p. 1117–1122, 1999.

AZADBAKHT, L. et al. Breakfast eating pattern and its association with dietary quality indices and anthropometric measurements in young women in Isfahan. **Nutrition (Burbank, Los Angeles County, Calif.)**, v. 29, n. 2, p. 420–425, 2013.

BÄCKHED, F. et al. The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 101, n. 44, p. 15718–15723, 2004.

BALDINI, G.; PHELAN, K. D. The melanocortin pathway and control of appetite-progress and therapeutic implications. **The Journal of Endocrinology**, v. 241, n. 1, p. R1–R33, 2019.

BALSAN, G. A. et al. Relationship between adiponectin, obesity and insulin resistance. **Rev Assoc Med Bras (1992)**, v. 61, n. 1, p. 72-80, 2015.

BARAZZONI, R. et al. Relationships between Desacylated and Acylated Ghrelin and Insulin Sensitivity in the Metabolic Syndrome. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 92, n. 10, p. 3935–3940, 2007.

BAYER, S. et al. Associations between Genotype-Diet Interactions and Weight Loss-A Systematic Review. **Nutrients**, v. 12, n. 9, p. 2891, 2020.

BECER, E.; ERGOREN, M. C. Dual Effect of the GHRL Gene Variant in the Molecular Pathogenesis of Obesity. **Balkan journal of medical genetics: BJMG**, v. 24, n. 1, p. 27–34, 2021.

BECROFT, L. et al. Validity of multi-frequency bioelectric impedance methods to measure body composition in obese patients: a systematic review. **International Journal of Obesity (2005)**, v. 43, n. 8, p. 1497–1507, 2019.

BELINOVA, L. et al. The effect of meal frequency in a reduced-energy regimen on the gastrointestinal and appetite hormones in patients with type 2 diabetes: A randomised crossover study. **PloS One**, v. 12, n. 4, p. e0174820, 2017.

BELLISLE, F.; MCDEVITT, R.; PRENTICE, A. M. Meal frequency and energy balance. **The British Journal of Nutrition**, v. 77 Suppl 1, p. S57-70, 1997.

- BEN ALI, S. et al. LEPR p.Q223R Polymorphism influences plasma leptin levels and body mass index in Tunisian obese patients. **Arch Med Res.**, v. 40, n. 3, p. 186-190, 2009.
- BERG, C.; FORSLUND, H. B. The Influence of Portion Size and Timing of Meals on Weight Balance and Obesity. **Current Obesity Reports**, v. 4, n. 1, p. 11–18, 2015.
- BERNER, H. S. et al. Adiponectin and its receptors are expressed in bone-forming cells. **Bone**, v. 35, n. 4, p. 842–849, 2004.
- BIOMEHUB. Metodologia de análise de microbioma intestinal. Florianópolis, 2022.
- BISHEHSARI, F.; VOIGT, R. M.; KESHAVARZIAN, A. Circadian rhythms and the gut microbiota: from the metabolic syndrome to cancer. **Nature reviews. Endocrinology**, v. 16, n. 12, p. 731–739, 2020.
- BLOM, W. A. M. et al. Postprandial ghrelin responses are associated with the intermeal interval in time-blinded normal weight men, but not in obese men. **Physiology & Behavior**, v. 96, n. 4, p. 742–748, 2009.
- BLUNDELL, J. E.; GILLET, A. Control of food intake in the obese. **Obesity Research**, v. 9 Suppl 4, p. 263S-270S, 2001.
- 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. 3419–3423, 1996.
- BOSY-WESTPHAL, A. et al. Contribution of individual organ mass loss to weight loss-associated decline in resting energy expenditure. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 90, n. 4, p. 993–1001, 2009.
- BOUAFI, H. et al. Genetic Association of LEP Gene Polymorphisms with Obesity in Moroccan Individuals: Case-Control Study and Updated Meta-analysis. **Biochemical Genetics.**, v. 61, n. 5, p.1758-1774, 2023.
- BOUMAIZA, I. et al. . Relationship between leptin G2548A and leptin receptor Q223R gene polymorphisms and obesity and metabolic syndrome risk in Tunisian volunteers. **Genet Test Mol Biomarkers.**, v. 16, n. 7, p. 726-33, 2012.
- BRASIL. SBD. Sociedade Brasileira de Diabetes. Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes 2017-2018. Organização José Egídio. Disponível em: <<https://www.diabetes.org.br/profissionais/images/2017/diretrizes/diretrizes-sbd-2017-2018.pdf>>. Acesso em: 20 nov. 2019
- BRASIL. SISVAN. **Relatórios do Estado nutricional dos indivíduos acompanhados por período, fase do ciclo da vida e índice.** Disponível em: <<https://sisaps.saude.gov.br/sisvan/relatoriopublico/index>>. Acesso em: 19 mar. 2024.
- BRASIL. Tabela brasileira de composição de alimentos / NEPA – UNICAMP.- **4. ed. rev. e ampl.** Campinas: NEPA- UNICAMP, 2011. 161 p. Disponível em: <http://www.cfn.org.br/wp-content/uploads/2017/03/taco_4_edicao_ampliada_e_revisada.pdf>. Acesso em: 20 nov. 2019
- BRASIL. VIGITEL. **ESTIMATIVAS SOBRE FREQUÊNCIA E DISTRIBUIÇÃO SOCIODEMOGRÁFICA DE FATORES DE RISCO E PROTEÇÃO PARA DOENÇAS CRÔNICAS, 2018.** Disponível em: <<http://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2019/julho/25/vigitel-brasil-2018.pdf>>. Acesso em: 22 abr. 2020

BRASIL. VIGITEL. **ESTIMATIVAS SOBRE FREQUÊNCIA E DISTRIBUIÇÃO SOCIODEMOGRÁFICA DE FATORES DE RISCO E PROTEÇÃO PARA DOENÇAS CRÔNICAS, 2019**. Disponível em:

<http://bvsmis.saude.gov.br/bvs/publicacoes/vigitel_brasil_2019_vigilancia_fatores_risco.pdf>. Acesso em: 19 abr. 2021

BRASIL. VIGITEL. **ESTIMATIVAS SOBRE FREQUÊNCIA E DISTRIBUIÇÃO SOCIODEMOGRÁFICA DE FATORES DE RISCO E PROTEÇÃO PARA DOENÇAS CRÔNICAS, 2020**. Disponível em:

<<https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/publicacoes-svs/vigitel/relatorio-vigitel-2020-original.pdf>>. Acesso em: 21 abr. 2022

BRASIL. VIGITEL. **ESTIMATIVAS SOBRE FREQUÊNCIA E DISTRIBUIÇÃO SOCIODEMOGRÁFICA DE FATORES DE RISCO E PROTEÇÃO PARA DOENÇAS CRÔNICAS, 2021**. Disponível em:

<<https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/publicacoes-svs/vigitel/vigitel-brasil-2021-estimativas-sobre-frequencia-e-distribuicao-sociodemografica-de-fatores-de-risco-e-protecao-para-doencas-cronicas/view>>. Acesso em: 21 abr. 2022.

BRASIL. VIGITEL. **ESTIMATIVAS SOBRE FREQUÊNCIA E DISTRIBUIÇÃO SOCIODEMOGRÁFICA DE FATORES DE RISCO E PROTEÇÃO PARA DOENÇAS CRÔNICAS**. Disponível em:

<<https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/svsa/vigitel/vigitel-brasil-2023-vigilancia-de-fatores-de-risco-e-protecao-para-doencas-cronicas-por-inquerito-telefonico>>. Acesso em: 18 mar. 2024.

BRAY, G. A. et al. Effect of diet composition on energy expenditure during weight loss: the POUNDS LOST Study. **International Journal of Obesity (2005)**, v. 36, n. 3, p. 448–455, 2012.

BRAZIL. Ministry of Health of Brazil. Secretariat of Health Care. Primary Health Care Department. Dietary Guidelines for the Brazilian population / Ministry of Health of Brazil, Secretariat of Health Care, Primary Health Care Department ; translated by Carlos Augusto Monteiro. – Brasília : Ministry of Health of Brazil, 2015.

BRIKOU, D. et al. **Breakfast consumption and weight-loss maintenance: results from the MedWeight study. - PubMed - NCBI**. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27185413>>. Acesso em: 11 nov. 2019.

BROUWERS, B. et al. Human MC4R variants affect endocytosis, trafficking and dimerization revealing multiple cellular mechanisms involved in weight regulation. **Cell Rep.**, v.34, n.12, p.108862, 2021.

BRUUN, J. M. et al. Regulation of adiponectin by adipose tissue-derived cytokines: in vivo and in vitro investigations in humans. **American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism**, v. 285, n. 3, p. E527-533, 2003.

BRZEZINSKI, M.; MICHELOTTI, G. A.; SCHWINN, D. A. Chapter 5 - Genomics and proteomics. Em: HEMMINGS, H. C.; HOPKINS, P. M. (Eds.). **Foundations of Anesthesia (Second Edition)**. Edinburgh: Mosby, p. 71–78, 2006.

BURGUERA, B. et al. Obesity is associated with a decreased leptin transport across the blood-brain barrier in rats. **Diabetes**, v. 49, n. 7, p. 1219–1223, 2000.

CALCAGNO, M. et al. The Thermic Effect of Food: A Review. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 38, n. 6, p. 547–551, 2019.

CAMERON, J. D.; CYR, M.-J.; DOUCET, E. Increased meal frequency does not promote greater weight loss in subjects who were prescribed an 8-week equi-energetic energy-restricted diet. **The British Journal of Nutrition**, v. 103, n. 8, p. 1098–1101, 2010.

CANUTO, R. et al. Eating frequency and weight and body composition: a systematic review of observational studies. **Public Health Nutrition**, v. 20, n. 12, p. 2079–2095, 2017.

CARNEIRO, I. P. et al. Is Obesity Associated with Altered Energy Expenditure? **Advances in Nutrition (Bethesda, Md.)**, v. 7, n. 3, p. 476–487, 2016.

CARRASCO-LUNA, J. et al. Association of the rs17782313, rs17773430 and rs34114122 Polymorphisms of/near MC4R Gene with Obesity-Related Biomarkers in a Spanish Pediatric Cohort. **Children (Basel)**, v.10, n.7, p.1221., 2023.

CASAS-AGUSTENCH, P. et al. Acute effects of three high-fat meals with different fat saturations on energy expenditure, substrate oxidation and satiety. **Clinical Nutrition (Edinburgh, Scotland)**, v. 28, n. 1, p. 39–45, 2009.

CASTRO, G. V. et al. The Impact of Variants in Four Genes: MC4R, FTO, PPARG and PPARGC1A in Overweight and Obesity in a Large Sample of the Brazilian Population. **Biochemical Genetics**, v. 59, n. 6, p. 1666–1679, 2021.

CATERINA, R.; MARTINEZ; KOHLMEIER, M. **Principles of Nutrigenetics and Nutrigenomics - 1st Edition**, 2019.

CEFALU, W. T. et al. Advances in the Science, Treatment, and Prevention of the Disease of Obesity: Reflections From a Diabetes Care Editors' Expert Forum. **Diabetes Care**, v. 38, n. 8, p. 1567–1582, 2015.

CHADWICK, R. Nutrigenomics, individualism and public health. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 63, n. 1, p. 161-166, 2004.

CHAN, J. L. et al. Regulation of circulating soluble leptin receptor levels by gender, adiposity, sex steroids, and leptin: observational and interventional studies in humans. **Diabetes**, v. 51, n. 7, p. 2105–2112, 2002.

CHAN, J. L. et al. The role of falling leptin levels in the neuroendocrine and metabolic adaptation to short-term starvation in healthy men. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 111, n. 9, p. 1409–1421, 2003.

CHAN, R. S. M.; WOO, J. Prevention of Overweight and Obesity: How Effective is the Current Public Health Approach. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 7, n. 3, p. 765–783, 2010.

CHEN, J.; DU, B. Novel positioning from obesity to cancer: FTO, an m6A RNA demethylase, regulates tumour progression. **Journal of Cancer Research and Clinical Oncology**, v. 145, n. 1, p. 19–29, 2019.

CHEN, Y. H. et al. . IGF-I downregulates resistin gene expression and protein secretion. **Am J Physiol Endocrinol Metab.**, v. 288, n. 5, p. E1019-E1027, 2005.

CHO, Y. S. et al. A large-scale genome-wide association study of Asian populations uncovers genetic factors influencing eight quantitative traits. **Nature Genetics**, v. 41, n. 5, p. 527–534, 2009.

CHOBAN, P. S. et al. Bariatric surgery for morbid obesity: why, who, when, how, where, and then what? **Cleveland Clinic Journal of Medicine**, v. 69, n. 11, p. 897–903, 2002.

- CHOWDHURY, E. A. et al. The causal role of breakfast in energy balance and health: a randomized controlled trial in obese adults. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 103, n. 3, p. 747–756, 2016.
- CHRISTODOULOU, A. et al. Variants in ADIPOQ gene are linked to adiponectin levels and lung function in young males independent of obesity. **PLoS One.**, v. 15 n. 1, p. e0225662, 2020.
- CLARKE, G. et al. Minireview: Gut Microbiota: The Neglected Endocrine Organ. **Molecular Endocrinology**, v. 28, n. 8, p. 1221–1238, 2014.
- COLLADO, M. C. et al. Distinct composition of gut microbiota during pregnancy in overweight and normal-weight women. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 88, n. 4, p. 894–899, 2008.
- CÔMODO, A. R. O et al. Utilização da bioimpedância para avaliação da massa corpórea. São Paulo: **Associação Médica Brasileira**, 2009.
- COWLEY, M. A. et al. Leptin activates anorexigenic POMC neurons through a neural network in the arcuate nucleus. **Nature**, v. 411, n. 6836, p. 480–484, 2001.
- COX, H. M. et al. Peptide YY Is Critical for Acylethanolamine Receptor Gpr119-Induced Activation of Gastrointestinal Mucosal Responses. **Cell Metabolism**, v. 11, n. 6, p. 532–542, 2010.
- CROVESY, L.; ROSADO, E. L. Interaction between genes involved in energy intake regulation and diet in obesity. **Nutrition (Burbank, Los Angeles County, Calif.)**, v. 67–68, p. 110547, 2019.
- CRUJEIRAS, A. B. et al. Weight regain after a diet-induced loss is predicted by higher baseline leptin and lower ghrelin plasma levels. **The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 95, n. 11, p. 5037–5044, 2010.
- CRUZ, G. N. F. et al. Equivolumetric Protocol Generates Library Sizes Proportional to Total Microbial Load in 16S Amplicon Sequencing. **Frontiers in microbiology**, v.12, n. 638231, 2021.
- CUI, H.; LÓPEZ, M.; RAHMOUNI, K. The cellular and molecular bases of leptin and ghrelin resistance in obesity. **Nature Reviews. Endocrinology**, v. 13, n. 6, p. 338–351, 2017.
- CUI, M. et al. Association between Adiponectin Gene Polymorphism and Environmental Risk Factors of Type 2 Diabetes Mellitus among the Chinese Population in Hohhot. **Biomed Res Int.**, v. 6383906, 2020.
- 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. 1714–1719, 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. 1623–1630, 2002.
- CUMMINGS, D. E. Ghrelin and the short- and long-term regulation of appetite and body weight. **Physiology & Behavior**, v. 89, n. 1, p. 71–84, 2006.
- DA FONSECA, A. C. P. et al. Adiponectin, Retinoic Acid Receptor Responder 2, and Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- γ Coactivator-1 Genes and the Risk for Obesity. **Dis Markers.**, p.5289120, 2017.
- DA FONSECA, A. C. P. et al. The association of the fat mass and obesity-associated gene (FTO) rs9939609 polymorphism and the severe obesity in a Brazilian population. **Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy**, v. 12, p. 667–684, 2019.

- DARDZIŃSKA, J. A. et al. Fasting and postprandial acyl and desacyl ghrelin levels in obese and non-obese subjects. **Endokrynologia Polska**, v. 65, n. 5, p. 377–381, 2014.
- DAY, K. et al. Comparison of a Bioelectrical Impedance Device against the Reference Method Dual Energy X-Ray Absorptiometry and Anthropometry for the Evaluation of Body Composition in Adults. **Nutrients**, v. 10, n. 10, 2018.
- DE JONGE, L. et al. Effect of diet composition and weight loss on resting energy expenditure in the POUNDS LOST study. **Obesity (Silver Spring, Md.)**, v. 20, n. 12, p. 2384–2389, 2012.
- DE JONGE, L.; BRAY, G. A. The thermic effect of food and obesity: a critical review. **Obesity Research**, v. 5, n. 6, p. 622–631, 1997.
- DE LUIS, D. A. et al. The rs1862513 Variant in Resistin Gene-Modified Insulin Resistance and Insulin Levels after Weight Loss Secondary to Hypocaloric Diet. **Ann Nutr Metab.**, v. 69, n. 3-4, p.256-262, 2016.
- DE LUIS, D. A. et al. Effect of the rs1862513 variant of resistin gene on insulin resistance and resistin levels after two hypocaloric diets with different fat distribution in subjects with obesity. **Eur Rev Med Pharmacol Sci.**, v. 22, n. 12, p. 3865-3872, 2018.
- DE LUIS, D. A. et al. RS9939609 FTO gene variant modified weight loss and insulin resistance after a partial meal-replacement hypocaloric diet. **Eur Rev Med Pharmacol Sci.**, v.24, n. 10, p. 5573-5581, 2020.
- DE MENEZES, E. V. A. et al. Influence of Paleolithic diet on anthropometric markers in chronic diseases: systematic review and meta-analysis. **Nutrition Journal**, v. 18, n. 1, p. 41, 2019.
- DELAIGLE, A. M. et al. Induction of adiponectin in skeletal muscle by inflammatory cytokines: in vivo and in vitro studies. **Endocrinology**, v. 145, n. 12, p. 5589–5597, 2004.
- DELANY, J. P.; LOVEJOY, J. C. Energy expenditure. **Endocrinology and Metabolism Clinics of North America**, v. 25, n. 4, p. 831–846, 1996.
- DELSOGLIO, M. et al. Indirect Calorimetry in Clinical Practice. **Journal of Clinical Medicine**, v. 8, n. 9, 2019.
- DENG, X. et al. Critical Enzymatic Functions of FTO in Obesity and Cancer. **Frontiers in Endocrinology**, v. 9, p. 396, 2018.
- DESHMUKH-TASKAR, P. R. et al. Do breakfast skipping and breakfast type affect energy intake, nutrient intake, nutrient adequacy, and diet quality in young adults? NHANES 1999-2002. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 29, n. 4, p. 407–418, 2010.
- DHANAPAL, A. C. T. A. et al. Implementation of Nutrigenetics and Nutrigenomics Research and Training Activities for Developing Precision Nutrition Strategies in Malaysia. **Nutrients**, v. 14, n. 23, p. 5108, 2022.
- DHURANDHAR, E. J. et al. The effectiveness of breakfast recommendations on weight loss: a randomized controlled trial. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 100, n. 2, p. 507–513, 2014.
- DIETRICH, M. O.; HORVATH, T. L. Hypothalamic control of energy balance: insights into the role of synaptic plasticity. **Trends in Neurosciences**, v. 36, n. 2, p. 65–73, 2013.

- DO NASCIMENTO, G. A. et al. FTO rs9939609 A allele influences anthropometric outcome in response to dietary intervention, but not in response to physical exercise program. **European Journal of Nutrition**, v. 58, n. 1, p. 325–334, 2019.
- DOI, M. et al. Circadian regulator CLOCK is a histone acetyltransferase. **Cell**, v. 125, n. 3, p. 497–508, 2006.
- DOO, M. & YANG-HA, K. “Association between ADIPOQ Gene Polymorphism Rs182052 and Obesity in Korean Women. **Genomics & Informatics**, v. 8, n. 3, p. 116–121, 2010.
- DUAN, D. et al. Eating breakfast is associated with weight loss during an intensive lifestyle intervention for overweight/obesity. **Obesity (Silver Spring, Md.)**, v. 30, n. 2, p. 378–388, 2022.
- DUAN, D. et al. Modification effect of sex and obesity on the correlation of LEP polymorphisms with leptin levels in Taiwanese obese women. **Mol Genet Genomic Med.**, v. 8, n. 3, p. e1113, 2020.
- DURRER SCHUTZ, D. et al. European Practical and Patient-Centred Guidelines for Adult Obesity Management in Primary Care. **Obesity Facts**, v. 12, n. 1, p. 40–66, 2019.
- ECKBURG, P. B. et al. Diversity of the Human Intestinal Microbial Flora. **Science (New York, N.Y.)**, v. 308, n. 5728, p. 1635–1638, 2005.
- ELIAS, C. F. et al. Leptin differentially regulates NPY and POMC neurons projecting to the lateral hypothalamic area. **Neuron**, v. 23, n. 4, p. 775–786, 1999.
- ELKS, C. E. et al. Variability in the Heritability of Body Mass Index: A Systematic Review and Meta-Regression. **Frontiers in Endocrinology**, v. 3, p. 29, 2012.
- ELSAIED, N. A. et al. Obesity and Weight Management for the Prevention and Treatment of Type 2 Diabetes: Standards of Care in Diabetes-2023. **Diabetes care**, v.46, suppl. 1, p. S128–S139, 2023.
- ENGERT, J. C. et al. 5' flanking variants of resistin are associated with obesity. **Diabetes.**, v. 51, n.5, p. 1629-1634, 2002.
- EXPERT CONSULTATION ON DIET, NUTRITION, AND THE PREVENTION OF CHRONIC DISEASES; WELTGESUNDHEITSORGANISATION; FAO (EDS.). **Diet, nutrition, and the prevention of chronic diseases: report of a WHO-FAO Expert Consultation ; [Joint WHO-FAO Expert Consultation on Diet, Nutrition, and the Prevention of Chronic Diseases, 2002, Geneva, Switzerland]**. Geneva: World Health Organization, 2003.
- EYSTER, K. M. Dysfunctional hormonal regulation of metabolism in obesity. **South Dakota Medicine: The Journal of the South Dakota State Medical Association**, v. Spec No, p. 18–21, 2011.
- FABRY, P. et al. THE FREQUENCY OF MEALS. ITS RELATION TO OVERWEIGHT, HYPERCHOLESTEROLAEMIA, AND DECREASED GLUCOSE-TOLERANCE. **Lancet (London, England)**, v. 2, n. 7360, p. 614–615, 1964.
- FAN, W. et al. Role of melanocortineric neurons in feeding and the agouti obesity syndrome. **Nature**, v. 385, n. 6612, p. 165–168, 1997.
- FAO. **Fats and fatty acids in human nutrition. Report of an expert consultation.** - PubMed - NCBI. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21812367>>. Acesso em: 19 nov. 2019.

FAO/WHO/UNU. **FAO/WHO/UNU | Human energy requirements**. Disponível em: <<https://www.who.int/nutrition/publications/nutrientrequirements/9251052123/en/>>. Acesso em: 19 nov. 2019.

FERRANNINI, E. The theoretical bases of indirect calorimetry: a review. **Metabolism: Clinical and Experimental**, v. 37, n. 3, p. 287–301, 1988.

FERRARI, G. et al. The economic burden of overweight and obesity in Brazil: perspectives for the Brazilian Unified Health System. **Public Health**, v. 207, p. 82-87, 2022.

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, 2003.

FISBERG, R. M.; SLATER VILLAR, B. **BDPI USP - Detalhe do registro: Manual de receitas e medidas caseiras para cálculo de inquéritos alimentares: manual elaborado para auxiliar o processamento de dados de inquéritos alimentares**. primeira ed. [s.l: s.n.]. v. 1, 2002.

FRANKENFIELD, D. C. Bias and accuracy of resting metabolic rate equations in non-obese and obese adults. **Clinical Nutrition (Edinburgh, Scotland)**, v. 32, n. 6, p. 976–982, 2013.

FRANKENFIELD, D.; ROTH-YOUSEY, L.; COMPTON, C. Comparison of predictive equations for resting metabolic rate in healthy nonobese and obese adults: a systematic review. **Journal of the American Dietetic Association**, v. 105, n. 5, p. 775–789, 2005.

FRAYLING, T. M. et al. A Common Variant in the FTO Gene Is Associated with Body Mass Index and Predisposes to Childhood and Adult Obesity. **Science (New York, N.Y.)**, v. 316, n. 5826, p. 889–894, 2007.

FREITAS, S. et al. Tradução e adaptação para o português da Escala de Compulsão Alimentar Periódica. **Brazilian Journal of Psychiatry**, v. 23, n. 4, p. 215–220, 2001.

FRIEDWALD, W.; LEVY, R.; FREDRICKSON, D. Estimation of the Concentration of Low-Density Lipoprotein Cholesterol in Plasma, Without Use of the Preparative Ultracentrifuge | **Clinical Chemistry**. v. 18, p. 499–502, 1972.

FRUH, S. M. Obesity: Risk factors, complications, and strategies for sustainable long-term weight management. **Journal of the American Association of Nurse Practitioners**, v. 29, n. S1, p. S3–S14, 2017.

GALINDO MUÑOZ, J. S. et al. Effect of a chronotype-adjusted diet on weight loss effectiveness: A randomized clinical trial. **Clinical Nutrition (Edinburgh, Scotland)**, 2019.

GARAULET, M. et al. CLOCK gene is implicated in weight reduction in obese patients participating in a dietary programme based on the Mediterranean diet. **International journal of obesity**, v. 34, n. 3, p. 516–523, 2010.

GARAULET, M. et al. SIRT1 and CLOCK 3111T> C combined genotype is associated with evening preference and weight loss resistance in a behavioral therapy treatment for obesity. **Int J Obes (Lond)**, v. 36, n.11, p. 1436-1441, 2012.

GARAULET, M. et al. Timing of food intake predicts weight loss effectiveness. **International Journal of Obesity (2005)**, v. 37, n. 4, p. 604–611, 2013.

- GARAULET, M.; GÓMEZ-ABELLÁN, P. Timing of food intake and obesity: a novel association. **Physiology & Behavior**, v. 134, p. 44–50, 2014.
- GARAULET, M.; ORDOVÁS, J. M.; MADRID, J. A. The chronobiology, etiology and pathophysiology of obesity. **International Journal of Obesity (2005)**, v. 34, n. 12, p. 1667–1683, 2010.
- GARCIDUEÑAS-FIMBRES, T. E. et al. Eating Speed, Eating Frequency, and Their Relationships with Diet Quality, Adiposity, and Metabolic Syndrome, or Its Components. **Nutrients**, v. 13, n. 5, p. 1687, 2021.
- GERKEN, T. et al. The Obesity-Associated FTO Gene Encodes a 2-Oxoglutarate–Dependent Nucleic Acid Demethylase. **Science (New York, N.Y.)**, v. 318, n. 5855, p. 1469–1472, 2007.
- GIRARDET, C.; BUTLER, A. A. Neural melanocortin receptors in obesity and related metabolic disorders. **Biochimica et biophysica acta**, v. 1842, n. 3, p. 482–494, 2014.
- GLAUM, S. R. et al. Leptin, the obese gene product, rapidly modulates synaptic transmission in the hypothalamus. **Molecular Pharmacology**, v. 50, n. 2, p. 230–235, 1996.
- GOMES, A. C.; HOFFMANN, C.; MOTA, J. F. The human gut microbiota: Metabolism and perspective in obesity. **Gut Microbes**, v. 9, n. 4, p. 308–325, 2018.
- GONG, D. et al. Involvement of Reduced Microbial Diversity in Inflammatory Bowel Disease. **Gastroenterol Res Pract.**, 2016:6951091, 2016.
- GONG, D.W. et al. Genomic structure and promoter analysis of the human obese gene. *J Biol Chem.*, v.271, n. 8, p. 3971-3974, 1996.
- GONI, L. et al. Future Perspectives of Personalized Weight Loss Interventions Based on Nutrigenetic, Epigenetic, and Metagenomic Data. **The Journal of Nutrition**, v. 146, n. 4, p. 905S-912S, 2016.
- GONZAGA-JAUREGUI, C.; LUPSKI, J. R.; GIBBS, R. A. Human Genome Sequencing in Health and Disease. **Annual review of medicine**, v. 63, p. 35–61, 2012.
- GOODARZI, M. O. Genetics of obesity: what genetic association studies have taught us about the biology of obesity and its complications. **The Lancet. Diabetes & Endocrinology**, v. 6, n. 3, p. 223–236, 2018.
- GOYENECHEA, E. et al. The - 11391 G/A polymorphism of the adiponectin gene promoter is associated with metabolic syndrome traits and the outcome of an energy-restricted diet in obese subjects. **Horm Metab Res.** v. 41, n. 1, p. 55-61, 2009.
- GRAY, D. S. et al. Effect of obesity on bioelectrical impedance. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 50, n. 2, p. 255–260, 1989.
- GRIBBLE, F. M.; REIMANN, F. Function and mechanisms of enteroendocrine cells and gut hormones in metabolism. **Nature Reviews. Endocrinology**, v. 15, n. 4, p. 226–237, 2019.
- GUEORGUIEV, M. et al. Association studies on ghrelin and ghrelin receptor gene polymorphisms with obesity. **Obesity (Silver Spring, Md.)**, v. 17, n. 4, p. 745–754, 2009.
- GUPTA, R. D. et al. Indirect Calorimetry: From Bench to Bedside. **Indian Journal of Endocrinology and Metabolism**, v. 21, n. 4, p. 594–599, 2017.
- GURUNATHAN, U.; MYLES, P. S. Limitations of body mass index as an obesity measure of perioperative risk. **British Journal of Anaesthesia**, v. 116, n. 3, p. 319–321, 2016.

- GUYNNET, D. et al. Fermented milk containing *Bifidobacterium lactis* DN-173 010 improves gastrointestinal well-being and digestive symptoms in women reporting minor digestive symptoms: a randomized, double-blind, parallel, controlled study. **Br J Nutr**, v. 102, n. 11, pp. 1654-1662, 2009.
- 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, 2020.
- HALL, K. D.; GUO, J. Obesity Energetics: Body Weight Regulation and the Effects of Diet Composition. **Gastroenterology**, v. 152, n. 7, p. 1718- 1727.e3, maio 2017.
- HAMMAD, M. M. et al. MC4R Variant rs17782313 Associates With Increased Levels of DNAJC27, Ghrelin, and Visfatin and Correlates With Obesity and Hypertension in a Kuwaiti Cohort. **Frontiers in Endocrinology**, v. 11, p. 437, 2020.
- HARA, K. et al. Measurement of the high-molecular weight form of adiponectin in plasma is useful for the prediction of insulin resistance and metabolic syndrome. **Diabetes Care**, v. 29, n. 6, p. 1357–1362, 2006.
- HATAMI ZARGARAN, Z. et al. The Effects of 6 Isocaloric Meals on Body Weight, Lipid Profiles, Leptin, and Adiponectin in Overweight Subjects (BMI > 25). **International Cardiovascular Research Journal**, v. 8, n. 2, p. 52–56, 2014.
- HEALEY, G. et al. Habitual dietary fibre intake influences gut microbiota response to an inulin-type fructan prebiotic: a randomised, double-blind, placebo-controlled, cross-over, human intervention study. **The British Journal of Nutrition**, v. 119, n. 2, p. 176–189, 2018.
- HEATON, K. W. et al. Defecation frequency and timing, and stool form in the general population: a prospective study. **Gut**, v. 33, n. 6, p. 818–824, 1992.
- HEBE BRAND, J. et al. A Proposal of the European Association for the Study of Obesity to Improve the ICD-11 Diagnostic Criteria for Obesity Based on the Three Dimensions Etiology, Degree of Adiposity and Health Risk. **Obesity Facts**, v. 10, n. 4, p. 284–307, 2017.
- HENNEMAN, P. et al. Genetic architecture of plasma adiponectin overlaps with the genetics of metabolic syndrome-related traits. **Diabetes Care.**, v. 33, n. 4, p. 908-13, 2010.
- HERNÁNDEZ MORANTE, J. J. et al. Moderate Weight Loss Modifies Leptin and Ghrelin Synthesis Rhythms but Not the Subjective Sensations of Appetite in Obesity Patients. **Nutrients**, v. 12, n. 4, p. E916, 2020.
- HERNANDO-REDONDO J. et al. Mid- and long-term changes in satiety-related hormones, lipid and glucose metabolism, and inflammation after a Mediterranean diet intervention with the goal of losing weight: A randomized, clinical trial. **Front Nutr.**, v. 9, p. 950900, 2022.
- HILDEBRANDT, M. A. et al. High-fat diet determines the composition of the murine gut microbiome independently of obesity. **Gastroenterology**, v. 137, n. 5, p. 1716- 1724.e1–2, 2009.
- HILL, B. R. et al. Ghrelin and peptide YY increase with weight loss during a 12-month intervention to reduce dietary energy density in obese women. **Peptides**, v. 49, p. 138–144, 2013.
- HILL, J. O. et al. **Energy Expenditure in Physical Activity**. Disponível em: <<https://www.taylorfrancis.com/>>. Acesso em: 1 nov. 2019.
- HILL, J. O.; COMMERFORD, R. Physical activity, fat balance, and energy balance. **International Journal of Sport Nutrition**, v. 6, n. 2, p. 80–92, 1996.

- HOFFSTEDT, J. et al. A polymorphism in the leptin promoter region (-2548 G/A) influences gene expression and adipose tissue secretion of leptin. *Horm Metab Res.*, v. 34, n. 7, p. 355-359, 2002.
- HOLLISTER, E. B.; GAO, C.; VERSALOVIC, J. Compositional and Functional Features of the Gastrointestinal Microbiome and Their Effects on Human Health. *Gastroenterology*, v. 146, n. 6, p. 1449–1458, 2014.
- HORIE, L. M. et al. New body fat prediction equations for severely obese patients. *Clinical Nutrition (Edinburgh, Scotland)*, v. 27, n. 3, p. 350–356, 2008.
- HOWARTH, N. C. et al. Eating patterns and dietary composition in relation to BMI in younger and older adults. *International Journal of Obesity (2005)*, v. 31, n. 4, p. 675–684, 2007.
- HUANG, T. et al. FTO genotype, dietary protein, and change in appetite: the Preventing Overweight Using Novel Dietary Strategies trial123. *The American Journal of Clinical Nutrition*, v. 99, n. 5, p. 1126–1130, 2014.
- HUDA, M. S. B.; WILDING, J. P. H.; PINKNEY, J. H. Gut peptides and the regulation of appetite. *Obesity Reviews*, v. 7, n. 2, p. 163–182, 2006.
- HUTCHISON, A. T.; HEILBRONN, L. K. Metabolic impacts of altering meal frequency and timing - Does when we eat matter? *Biochimie*, v. 124, p. 187–197, 2016.
- HWALLA, N.; JAAFAR, Z. Dietary Management of Obesity: A Review of the Evidence. *Diagnostics (Basel, Switzerland)*, v. 11, n. 1, 2020.
- INTERNATIONAL HAPMAP CONSORTIUM. The International HapMap Project. *Nature*, v. 426, n. 6968, p. 789–796, 2003.
- ISHII, S.; OSAKI, N.; SHIMOTOYODOME, A. The Effects of a Hypocaloric Diet on Diet-Induced Thermogenesis and Blood Hormone Response in Healthy Male Adults: A Pilot Study. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, v. 62, n. 1, p. 40–46, 2016.
- IZQUIERDO, A. G. et al. Leptin, Obesity, and Leptin Resistance: Where Are We 25 Years Later? *Nutrients*, v. 11, n. 11, p. 2704, 2019.
- JAKUBOWICZ, D. et al. High-energy breakfast based on whey protein reduces body weight, postprandial glycemia and HbA1C in Type 2 diabetes. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, v. 49, p. 1–7, 2017.
- 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 2, p. S102-138, 2014.
- JOATAR, F. E. et al. Leu72Met and Other Intronic Polymorphisms in the GHRL and GHSR Genes Are Not Associated with Type 2 Diabetes Mellitus, Insulin Resistance, or Serum Ghrelin Levels in a Saudi Population. *Endocrinology and Metabolism (Seoul, Korea)*, v. 32, n. 3, p. 360–369, 2017.
- JOHN, G. K.; MULLIN, G. E. The Gut Microbiome and Obesity. *Current Oncology Reports*, v. 18, n. 7, p. 45, jul. 2016.
- JOHNSON STOKLOSSA, C. A. et al. Practical Considerations for Body Composition Assessment of Adults with Class II/III Obesity Using Bioelectrical Impedance Analysis or Dual-Energy X-Ray Absorptiometry. *Current Obesity Reports*, v. 5, n. 4, p. 389–396, 2016.

- JOHNSON, R. J. et al. Redefining metabolic syndrome as a fat storage condition based on studies of comparative physiology. **Obesity (Silver Spring, Md.)**, v. 21, n. 4, p. 659–664, 2013.
- JUMPERTZ, R. et al. Energy-balance studies reveal associations between gut microbes, caloric load, and nutrient absorption in humans¹²³. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 94, n. 1, p. 58–65, 2011.
- 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, 2017.
- KAHN, S. E.; HULL, R. L.; UTZSCHNEIDER, K. M. Mechanisms linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. **Nature**, v. 444, n. 7121, p. 840–846, 2006.
- KALOGIANNIS, S. Meal-insulin cycle: A visual summary of the biochemical events between meals. **Biochemistry and Molecular Biology Education: A Bimonthly Publication of the International Union of Biochemistry and Molecular Biology**, v. 45, n. 3, p. 279–284, 2017.
- KARRA, E. et al. A link between FTO, ghrelin, and impaired brain food-cue responsivity. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 123, n. 8, p. 3539–3551, 2013.
- KASAI, C. et al. Comparison of the gut microbiota composition between obese and non-obese individuals in a Japanese population, as analyzed by terminal restriction fragment length polymorphism and next-generation sequencing. **BMC Gastroenterology**, v. 15, p. 100, 2015.
- KATZ, A. et al. Quantitative insulin sensitivity check index: a simple, accurate method for assessing insulin sensitivity in humans. **The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 85, n. 7, p. 2402–2410, 2000.
- KENNEDY, A. et al. Antiobesity Mechanisms of Action of Conjugated Linoleic Acid. **The Journal of nutritional biochemistry**, v. 21, n. 3, p. 171–179, 2010.
- KHATIB, M. N. et al. Ghrelin O Acyl Transferase (GOAT) as a Novel Metabolic Regulatory Enzyme. **Journal of Clinical and Diagnostic Research : JCDR**, v. 9, n. 2, p. LE01–LE05, 2015.
- KHORAMIPOUR, K. et al. Adiponectin: Structure, Physiological Functions, Role in Diseases, and Effects of Nutrition. **Nutrients**, v. 13, n. 4, p. 1180, 2021.
- KIM, Y. J. et al. The Gut/Lung Microbiome Axis in Obesity, Asthma and Bariatric Surgery: A literature review. **Obesity (Silver Spring, Md.)**, v. 29, n. 4, p. 636–644, 2021.
- KLOP, B.; ELTE, J. W. F.; CASTRO CABEZAS, M. Dyslipidemia in Obesity: Mechanisms and Potential Targets. **Nutrients**, v. 5, n. 4, p. 1218–1240, 2013.
- KOCEŁAK, P. et al. Resting energy expenditure and gut microbiota in obese and normal weight subjects. **European Review for Medical and Pharmacological Sciences**, v. 17, n. 20, p. 2816–2821, 2013.
- KOJIMA, M. et al. Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. **Nature**, v. 402, n. 6762, p. 656–660, 1999.
- KOJIMA, M.; KANGAWA, K. Ghrelin: structure and function. **Physiological Reviews**, v. 85, n. 2, p. 495–522, 2005.
- KOSTNER, G. M. et al. Determination of high-density lipoproteins: screening methods compared. **Clinical Chemistry**, v. 25, n. 6, p. 939–942, 1979.

- KRASCHNEWSKI, J. L. et al. Long-term weight loss maintenance in the United States. **International Journal of Obesity** (2005), v. 34, n. 11, p. 1644–1654, 2010.
- KRITCHEVSKY, S. B. et al. Intentional weight loss and all-cause mortality: a meta-analysis of randomized clinical trials. **PLoS One**, v. 10, n. 3, p. e0121993, 2015.
- KULOVITZ, M. G. et al. Potential role of meal frequency as a strategy for weight loss and health in overweight or obese adults. **Nutrition (Burbank, Los Angeles County, Calif.)**, v. 30, n. 4, p. 386–392, 2014.
- KUSHNER, R. F. Weight loss strategies for treatment of obesity. **Progress in Cardiovascular Diseases**, v. 56, n. 4, p. 465–472, 2014.
- KYLE, U. G. et al. Bioelectrical impedance analysis-part II: utilization in clinical practice. **Clinical Nutrition (Edinburgh, Scotland)**, v. 23, n. 6, p. 1430–1453, 2004.
- LABAYEN, I. et al. Independent and combined influence of the FTO rs9939609 and MC4Rs17782313 polymorphisms on hypocaloric diet induced changes in body mass and composition and energy metabolism in non-morbid obese premenopausal women. **Nutricion Hospitalaria**, v. 31, n. 5, p. 2025–2032, 2015.
- LAHLOU, N. et al. Soluble leptin receptor in serum of subjects with complete resistance to leptin: relation to fat mass. **Diabetes**, v. 49, n. 8, p. 1347–1352, 2000.
- LAM, Y. Y.; RAVUSSIN, E. Analysis of energy metabolism in humans: A review of methodologies. **Molecular Metabolism**, v. 5, n. 11, p. 1057–1071, 2016.
- LAM, Y. Y.; RAVUSSIN, E. Indirect calorimetry: an indispensable tool to understand and predict obesity. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 71, n. 3, p. 318–322, 2017.
- LARRAUFIE, P. et al. SCFAs strongly stimulate PYY production in human enteroendocrine cells. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 74, 2018.
- LATNER, J. D. & CLYNE, C. The diagnostic validity of the criteria for binge eating disorder. **The International journal of eating disorders**, v. 41, n. 1, p. 1–14, 2008.
- LAY, C. et al. Design and validation of 16S rRNA probes to enumerate members of the Clostridium leptum subgroup in human faecal microbiota. **Environmental Microbiology**, v. 7, n. 7, p. 933–946, 2005.
- LAY, C.; DORÉ, J.; RIGOTTIER-GOIS, L. Separation of bacteria of the Clostridium leptum subgroup from the human colonic microbiota by fluorescence-activated cell sorting or group-specific PCR using 16S rRNA gene oligonucleotides. **FEMS microbiology ecology**, v. 60, n. 3, p. 513–520, 2007.
- LEE, B.; SHAO, J. Adiponectin and Energy Homeostasis. **Reviews in endocrine & metabolic disorders**, v. 15, n. 2, p. 149–156, 2014.
- LEECH, R. M. et al. Characterizing eating patterns: a comparison of eating occasion definitions. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 102, n. 5, p. 1229–1237, 2015.
- LEECH, R. M. et al. Understanding meal patterns: definitions, methodology and impact on nutrient intake and diet quality. **Nutrition Research Reviews**, v. 28, n. 1, p. 1–21, 2015.
- LEEUWENDAAL, N. K.; CRYAN, J. F.; SCHELLEKENS, H. Gut peptides and the microbiome: focus on ghrelin. **Current Opinion in Endocrinology, Diabetes, and Obesity**, v. 28, n. 2, p. 243–252, 2021.

- LEIDY, H. J.; CAMPBELL, W. W. The effect of eating frequency on appetite control and food intake: brief synopsis of controlled feeding studies. **The Journal of Nutrition**, v. 141, n. 1, p. 154–157, 2011.
- LEVY, M. et al. Dysbiosis and the immune system. **Nature Reviews. Immunology**, v. 17, n. 4, p. 219–232, 2017.
- LEY, R. E. et al. Obesity alters gut microbial ecology. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 102, n. 31, p. 11070–11075, 2005.
- LIM, C. T.; KOLA, B.; KORBONITS, M. The ghrelin/GOAT/GHS-R system and energy metabolism. **Reviews in Endocrine & Metabolic Disorders**, v. 12, n. 3, p. 173–186, 2011.
- LIU, B.; GARCIA, E. A.; KORBONITS, M. Genetic studies on the ghrelin, growth hormone secretagogue receptor (GHSR) and ghrelin O-acyl transferase (GOAT) genes. **Peptides**, v. 32, n. 11, p. 2191–2207, 2011.
- LIU, Y. et al. Association of LEPR Gln223Arg polymorphism with T2DM: A meta-analysis. **Diabetes Res Clin Pract.**, v. 109, n. 3, p. e21-e26, 2015.
- LOGSDON, G. A.; VOLLGER, M. R.; EICHLER, E. E. Long-read human genome sequencing and its applications. **Nature reviews. Genetics**, v. 21, n. 10, p. 597–614, 2020.
- LOHMAN, T. et al. **Anthropometric standardization reference manual**. [s.l.] Abridged edition, 1991.
- LOID, P. et al. Rare Variants in Genes Linked to Appetite Control and Hypothalamic Development in Early-Onset Severe Obesity. **Front Endocrinol (Lausanne)**, v.11, p. 81, 2020. LOTT, J. A.; TURNER, K. Evaluation of Trinder's glucose oxidase method for measuring glucose in serum and urine. **Clinical Chemistry**, v. 21, n. 12, p. 1754–1760, 1975.
- LONGO, V. D.; PANDA, S. Fasting, circadian rhythms, and time restricted feeding in healthy lifespan. **Cell metabolism**, v. 23, n. 6, p. 1048–1059, 2016.
- LOOS, R. J. F. et al. Adiponectin and adiponectin receptor gene variants in relation to resting metabolic rate, respiratory quotient, and adiposity-related phenotypes in the Quebec Family Study. **Am J Clin Nutr.**, v. 85, n. 1, p. 26-34, 2007.
- LOOS, R. J. F. et al. Common variants near MC4R are associated with fat mass, weight and risk of obesity. **Nature genetics**, v. 40, n. 6, p. 768–775, 2008.
- LOOS, R.J.F. & YEO, G.S.H. The genetics of obesity: from discovery to biology. **Nat Rev Genet.**, v. 23, n. 2, p.120-133, 2022.
- LOPEZ-MINGUEZ et al. Circadian rhythms, food timing and obesity. **The Proceedings of the Nutrition Society**, v.75, n. 4, p. 501–511, 2016.
- LOUIS, P. et al. Diversity of human colonic butyrate-producing bacteria revealed by analysis of the butyryl-CoA:acetate CoA-transferase gene. **Environmental Microbiology**, v. 12, n. 2, p. 304–314, 2010.
- LU, J. F. et al.. Association of ADIPOQ polymorphisms with obesity risk: a meta-analysis. **Hum Immunol.**, v. 75, n.10, p. 1062-1068, 2014.
- LUKASKI, H. C. et al. Assessment of fat-free mass using bioelectrical impedance measurements of the human body. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 41, n. 4, p. 810–817, 1985.
- LUO, F. et al. Association between the RETN -420C/G polymorphism and type 2 diabetes mellitus susceptibility: A meta-analysis of 23 studies. **Front Endocrinol (Lausanne)**, v. 13, p. 1039919, 2022.

- LV, Y. et al. Ghrelin, a gastrointestinal hormone, regulates energy balance and lipid metabolism. **Bioscience Reports**, v. 38, n. 5, 31 2018.
- MAES, H. H.; NEALE, M. C.; EAVES, L. J. Genetic and environmental factors in relative body weight and human adiposity. **Behavior Genetics**, v. 27, n. 4, p. 325–351, 1997.
- MAGNE, F. et al. The Firmicutes/Bacteroidetes Ratio: A Relevant Marker of Gut Dysbiosis in Obese Patients? **Nutrients**, v. 12, n. 5, p. E1474, 2020.
- MAGNO, F. C. C. M. et al. Association of the MC4R rs17782313 polymorphism with plasma ghrelin, leptin, IL6 and TNF α concentrations, food intake and eating behaviors in morbidly obese women. **Eating and weight disorders: EWD**, v. 26, n. 4, p. 1079–1087, 2021.
- MAKKI, K. et al. The Impact of Dietary Fiber on Gut Microbiota in Host Health and Disease. **Cell Host & Microbe**, v. 23, n. 6, p. 705–715, 2018.
- MANI, B. K.; ZIGMAN, J. M. Ghrelin as a Survival Hormone. **Trends in endocrinology and metabolism: TEM**, v. 28, n. 12, p. 843–854, 2017.
- MANJU, S.K. et al. A Case-Control Study of the Association of Leptin Gene Polymorphisms with Plasma Leptin Levels and Obesity in the Kerala Population. **J Obes.** v.1040650, 2022.
- MANOR, O. et al. Health and disease markers correlate with gut microbiome composition across thousands of people. **Nat Commun**, v. 11,n. 5206, 2020.
- MARANGONI, F. et al. Snacking in nutrition and health. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 70, n. 8, p. 909–923, 2019.
- MARCHESI, J. R. et al. The gut microbiota and host health: a new clinical frontier. **Gut**, v. 65, n. 2, p. 330–339, 2016.
- MARRA, M. et al. Assessment of Body Composition in Health and Disease Using Bioelectrical Impedance Analysis (BIA) and Dual Energy X-Ray Absorptiometry (DXA): A Critical Overview. **Contrast Media & Molecular Imaging**, v. 2019, n. 29, 2019.
- MARTIN, C. K. et al. Challenges in defining successful adherence to calorie restriction goals in humans: Results from CALERIE™ 2. **Exp Gerontol.**, v. 162, p. 111757, 2022.
- MARTIN, G. R.; LOREDO, J. C.; SUN, G. Lack of Association of Ghrelin Precursor Gene Variants and Percentage Body Fat or Serum Lipid Profiles. **Obesity**, v. 16, n. 4, p. 908–912, 2008.
- MARTIN, L. J. et al. The Relationships of Adiponectin with Insulin and Lipids Are Strengthened with Increasing Adiposity. **The Journal of clinical endocrinology and metabolism**, v. 90, n. 7, p. 4255–4259, 2005.
- MARTIN-RODRIGUEZ, E. et al. Comorbidity associated with obesity in a large population: The APNA study. **Obesity Research & Clinical Practice**, v. 9, n. 5, p. 435–447, 2015.
- MARTINEZ, J.A. et al. Genotype-dependent response to energy-restricted diets in obese subjects: towards personalized nutrition. *Asia Pac J Clin Nutr.*, v. 17, Suppl 1, p. 119-122, 2008.
- MARTINS, M. C. et al. Polymorphisms in the leptin (rs7799039) gene are associated with an increased risk of excessive gestational weight gain but not with leptin concentration during pregnancy. **Nutr Res.**, v. 47, p. 53-62, 2017.

MASSARINI, S. et al. Routine resting energy expenditure measurement increases effectiveness of dietary intervention in obesity. **Acta Diabetologica**, v. 55, n. 1, p. 75–85, 2018.

MATARESE, L. E. Indirect calorimetry: technical aspects. **Journal of the American Dietetic Association**, v. 97, n. 10 Suppl 2, p. S154-160, 1997.

MATHERS, J.C. Nutrigenomics in the modern era. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 76, n. 3, p. 265-275, 2017.

MATSUDO, S. et al. QUESTIONÁRIO INTERNACIONAL DE ATIVIDADE FÍSICA (IPAQ): ESTUPO DE VALIDADE E REPRODUTIBILIDADE NO BRASIL. **Revista Brasileira de Atividade Física & Saúde**, v. 6, n. 2, p. 5–18, 2001.

MATTEVI, V. S. et al. A resistin gene polymorphism is associated with body mass index in women. *Hum Genet.*, v. 115, n. 3, p.208-212, 2004.

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

MATTSON, M. P.; WAN, R. Beneficial effects of intermittent fasting and caloric restriction on the cardiovascular and cerebrovascular systems. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 16, n. 3, p. 129–137, 2005.

MAYER, E. A., NANCE, K., & CHEN, S. The Gut-Brain Axis. **Annual review of medicine**, v. 73, p. 439–453, 2022.

MCCRORY, M. A. et al. Eating Frequency and Energy Regulation in Free-Living Adults Consuming Self-Selected Diets. **The Journal of Nutrition**, v. 141, n. 1, p. 148–153, 2011.

MCGOWAN, M. W. et al. A peroxidase-coupled method for the colorimetric determination of serum triglycerides. **Clinical Chemistry**, v. 29, n. 3, p. 538–542, 1983.

MCGRATH, S. A.; GIBNEY, M. J. The effects of altered frequency of eating on plasma lipids in free-living healthy males on normal self-selected diets. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 48, n. 6, p. 402–407, 1994.

MCTERNAN, P., G. et al. Resistin. **Curr Opin Lipidol.**, v. 17, n. 2, p.170-175, 2006.

Mechanisms in endocrinology: Ghrelin: the differences between acyl- and des-acyl ghrelin. - PubMed - NCBI. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22898499>>. Acesso em: 8 mar. 2020.

MEGSON, M.; WING, R.; LEAHEY, T. M. Effects of breakfast eating and eating frequency on body mass index and weight loss outcomes in adults enrolled in an obesity treatment program. **Journal of Behavioral Medicine**, v. 40, n. 4, p. 595–601, 2017.

MEHRDAD, M. et al. The association between FTO genotype with macronutrients and calorie intake in overweight adults. **Lipids in Health and Disease**, v. 19, p. 197, 2020.

MEKARY, R. A. et al. Eating patterns and type 2 diabetes risk in men: breakfast omission, eating frequency, and snacking. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 95, n. 5, p. 1182–1189, 2012.

MELBY, C. et al. **Effect of acute resistance exercise on postexercise energy expenditure and resting metabolic rate | Journal of Applied Physiology.** Disponível em: <<https://www.physiology.org/doi/abs/10.1152/jappl.1993.75.4.1847>>. Acesso em: 2 nov. 2019.

- MELLO, M. T. DE et al. Avaliação da composição corporal em adolescentes obesos: o uso de dois diferentes métodos. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, 1 out. 2005.
- MENEZES, C. A. et al. Genetic polymorphisms and plasma concentrations of leptin (rs7799039) and adiponectin (rs17300539) are associated with obesity in children and adolescents. **Rev Paul Pediatr.**, v. 40, p. e2021030, 2022.
- MENEZES, C. A. et al. Genetic polymorphisms and plasma concentrations of leptin (rs7799039) and adiponectin (rs17300539) are associated with obesity in children and adolescents. **Rev Paul Pediatr.**, v. 40, p. e2021030, 2022.
- METZNER, H. L. et al. The relationship between frequency of eating and adiposity in adult men and women in the Tecumseh Community Health Study. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 30, n. 5, p. 712–715, 1977.
- MICKLESFIELD, L. K. et al. Dual-energy X-ray performs as well as clinical computed tomography for the measurement of visceral fat. **Obesity (Silver Spring, Md.)**, v. 20, n. 5, p. 1109–1114, 2012.
- MIHALACHE, L. et al. Effects of ghrelin in energy balance and body weight homeostasis. **Hormones (Athens, Greece)**, v. 15, n. 2, p. 186–196, 2016.
- MILLER-KASPRZA, E. et al. The Relation between Resistin (-420C/G) Single Nucleotide Variant, Resistin Serum Concentration, Carbohydrate, and Lipid Parameters and Fried Food Taste Preference in Patients with Hypertriglyceridemia. **Nutrients.**, v. 14, n. 23, p. 5092, 2022.
- MIN, C. et al. Skipping breakfast is associated with diet quality and metabolic syndrome risk factors of adults. **Nutrition Research and Practice**, v. 5, n. 5, p. 455–463, 2011.
- MIZUNO, T. M. Fat Mass and Obesity Associated (FTO) Gene and Hepatic Glucose and Lipid Metabolism. **Nutrients**, v. 10, n. 11, p. 1600, 2018.
- MONDA, K. L. et al. A Meta-Analysis Identifies New Loci Associated with Body Mass index in Individuals of African Ancestry. **Nature genetics**, v. 45, n. 6, p. 690–696, 2013.
- MORAN, L. J. et al. The satiating effect of dietary protein is unrelated to postprandial ghrelin secretion. **The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 90, n. 9, p. 5205–5211, 2005.
- MORENO, B. et al. Obesity treatment by very low-calorie-ketogenic diet at two years: reduction in visceral fat and on the burden of disease. **Endocrine**, v. 54, n. 3, p. 681–690, 2016.
- MORGAN, S. L.; PRATER, G. L. Quality in dual-energy X-ray absorptiometry scans. **Bone**, v. 104, p. 13–28, 2017.
- MUELLER, W. M. et al. Evidence that glucose metabolism regulates leptin secretion from cultured rat adipocytes. **Endocrinology**, v. 139, n. 2, p. 551–558, 1998.
- MUFTUOGLU, S. et al. The relation between meal frequency and obesity in adults. **Progress in Nutrition**, v. 20, n. 3, p. 423–428, 2018.
- MUÑOZ-YÁÑEZ, C. et al. Polymorphisms FTO rs9939609, PPARG rs1801282 and ADIPOQ rs4632532 and rs182052 but not lifestyle are associated with obesity related-traits in Mexican children. **Genet Mol Biol.**, v. 39, n. 4, p. 547-553, 2017.
- MYERS, M. G. et al. Challenges and opportunities of defining clinical leptin resistance. **Cell Metabolism**, v. 15, n. 2, p. 150–156, 2012.

- NAUCK, M. A.; WEFERS, J.; MEIER, J. J. Treatment of type 2 diabetes: challenges, hopes, and anticipated successes. **The Lancet. Diabetes & Endocrinology**, v. 9, n. 8, p. 525–544, 2021.
- NAVIA, B. et al. Breakfast habits and differences regarding abdominal obesity in a cross-sectional study in Spanish adults: The ANIBES study. **PLoS ONE**, v. 12, n. 11, 2017.
- NILSON, E. A. F. et al. Custos atribuíveis a obesidade, hipertensão e diabetes no Sistema Único de Saúde, Brasil, 2018. **Revista Panamericana de Salud Pública**, v. 44, p. e32, 2020.
- NJIKE, V. Y. et al. Snack Food, Satiety, and Weight. **Advances in Nutrition (Bethesda, Md.)**, v. 7, n. 5, p. 866–878, 2016.
- NOGUEIRAS, R. et al. Central nervous system regulation of adipocyte metabolism. **Regulatory Peptides**, v. 149, n. 1–3, p. 26–31, 2008.
- NOGUEIRAS, R. et al. Resistin: regulation of food intake, glucose homeostasis and lipid metabolism. *Endocr Dev.*, v. 17, p.175-184, 2010.
- Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation. **World Health Organization Technical Report Series**, v. 894, p. i–xii, 1–253, 2000.
- OBRADOVIC, M. et al. Leptin and Obesity: Role and Clinical Implication. **Frontiers in Endocrinology**, v. 12, p. 585887, 2021.
- OHKAWARA, K. et al. Effects of increased meal frequency on fat oxidation and perceived hunger. **Obesity (Silver Spring, Md.)**, v. 21, n. 2, p. 336–343, 2013.
- OISHI, K. Genome-wide expression analysis of mouse liver reveals CLOCK-regulated circadian output genes. **The Journal of biological chemistry**, v. 278, n. 42, p. 41519–41527, 2003.
- OKAMOTO, Y. et al. Adiponectin reduces atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice. **Circulation**, v. 106, n. 22, p. 2767–2770, 2002.
- OKPECHI, I. G. et al. Genetic variation at selected SNPs in the leptin gene and association of alleles with markers of kidney disease in a Xhosa population of South Africa. **PLoS One.**, v.5, n.2, p.:e9086, 2010.
- OKUNOGBE, A. et al. Economic impacts of overweight and obesity: current and future estimates for 161 countries. **BMJ global health**, v. 7, n. 9, p. e009773, 2022.
- OLIVEIRA, M. L. DE. Estimativa dos custos da obesidade para o Sistema Único de Saúde do Brasil. 2013.
- OLMEDO, L. et al. Associations Between rs9939609 FTO Polymorphism With Nutrient and Food Intake and Adherence to Dietary Patterns in an Urban Argentinian Population. *J Acad Nutr Diet*, v. S2212-2672, n. 24, p. 00001-72024, 2024.
- ORDOVAS, J. M., & CORELLA, D. Nutritional genomics. **Annual review of genomics and human genetics**, v.5, p. 71–118, 2004.
- ORDOVAS, J. M., & MOOSER, V. Nutrigenomics and nutrigenetics. **Current opinion in lipidology**, v. 15, n. 2, p. 101–108, 2004.
- ÖTÜKEN KÖROĞLU Y, ÖZTÜRK M. Meal Frequency Does Not Affect Weight Loss in Overweight/Obese Women but Affects the Body Composition: A Randomized Controlled Trial. **J Am Nutr Assoc.**, 2024.

- PALMER, M.; CAPRA, S.; BAINES, S. **Association between eating frequency, weight, and health.** - **PubMed - NCBI.** Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19566598>>. Acesso em: 18 out. 2019.
- PANDA, S. et al. Coordinated transcription of key pathways in the mouse by the circadian clock. **Cell**, v. 109, p. 3, n. 307–320, 2002.
- PAOLI, A. et al. Effects of n-3 polyunsaturated fatty acids (ω -3) supplementation on some cardiovascular risk factors with a ketogenic Mediterranean diet. **Marine Drugs**, v. 13, n. 2, p. 996–1009, 2015.
- PAOLI, A. et al. The Influence of Meal Frequency and Timing on Health in Humans: The Role of Fasting. **Nutrients**, v. 11, n. 4, 2019.
- PASTERNAK, J. **An Introduction to Human Molecular Genetics: Mechanisms of Inherited Diseases, 2nd Edition | Wiley.** 2nd Edition. Jack J. Pasternak. ISBN: 978-0-471-71917-5. 2005
- PATEL, J. V. et al. Circulating serum adiponectin levels in patients with coronary artery disease: relationship to atherosclerotic burden and cardiac function. **Journal of Internal Medicine**, v. 264, n. 6, p. 593–598, 2008.
- PATEL, J. V. et al. Resistin is expressed in human macrophages and directly regulated by PPAR gamma activators. **Biochem Biophys Res Commun.**, v. 300, n. 2, p. 472-476, 2003.
- PERAKAKIS, N.; FARR, O. M.; MANTZOROS, C. S. Leptin in Leanness and Obesity. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 77, n. 6, p. 745–760, 2021.
- PERRIGUE, M. M. et al. Randomized Trial Testing the Effects of Eating Frequency on Two Hormonal Biomarkers of Metabolism and Energy Balance. **Nutrition and Cancer**, v. 69, n. 1, p. 56–63, 2017.
- PETRY, N. M. et al. Overweight and obesity are associated with psychiatric disorders: results from the National Epidemiologic Survey on Alcohol and Related Conditions. **Psychosomatic Medicine**, v. 70, n. 3, p. 288–297, 2008.
- PETTERSEN, A. K.; MARSHALL, D. J.; WHITE, C. R. Understanding variation in metabolic rate. **The Journal of Experimental Biology**, v. 221, 2018.
- PHELAN, J. C.; LINK, B. G. Controlling disease and creating disparities: a fundamental cause perspective. **The Journals of Gerontology. Series B, Psychological Sciences and Social Sciences**, v. 60 Spec No 2, p. 27–33, 2005.
- PI-SUNYER, F. X. The obesity epidemic: pathophysiology and consequences of obesity. **Obesity Research**, v. 10 Suppl 2, p. 97S-104S, 2002.
- PI-SUNYER, X. The medical risks of obesity. **Postgraduate Medicine**, v. 121, n. 6, p. 21–33, 2009.
- PIAGGI, P. et al. A Genome-Wide Association Study Using a Custom Genotyping Array Identifies Variants in GPR158 Associated With Reduced Energy Expenditure in American Indians. **Diabetes**, v. 66, n. 8, p. 2284–2295, 2017.
- PIAGGI, P. et al. Energy expenditure in the etiology of human obesity: spendthrift and thrifty metabolic phenotypes and energy-sensing mechanisms. **Journal of endocrinological investigation**, v. 41, n. 1, p. 83–89, 2018.
- PIAGGI, P. Metabolic Determinants of Weight Gain in Humans. **Obesity (Silver Spring, Md.)**, v. 27, n. 5, p. 691–699, 2019.

- PICKARD, J. M. et al. Gut microbiota: Role in pathogen colonization, immune responses, and inflammatory disease. **Immunological reviews**, v. 279, n. 1, p. 70–89, 2017.
- PIEPER C. et al. Development of adherence metrics for caloric restriction interventions. **Clin Trials.**, v. 8, n. 2, p. 155-164, 2011.
- PINART M. et al. Gut Microbiome Composition in Obese and Non-Obese Persons: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Nutrients**, v.14, n. 1, p.2, 2021.
- PINHEIRO VOLP, A. C. et al. Energy expenditure: components and evaluation methods. **Nutricion Hospitalaria**, v. 26, n. 3, p. 430–440, 2011.
- PIQUERAS, P. et al. Anthropometric Indicators as a Tool for Diagnosis of Obesity and Other Health Risk Factors: A Literature Review. **Frontiers in Psychology**, v. 12, p. 631179, 2021.
- POGGIOGALLE, E.; JAMSHED, H.; PETERSON, C. M. Circadian regulation of glucose, lipid, and energy metabolism in humans. **Metabolism: Clinical and Experimental**, v. 84, p. 11–27, 2018.
- PONTI, F. et al. Body composition, dual-energy X-ray absorptiometry and obesity: the paradigm of fat (re)distribution. **BJR case reports**, v. 5, n. 3, p. 20170078, 2019.
- PONTZER, H. Constrained Total Energy Expenditure and the Evolutionary Biology of Energy Balance. **Exercise and Sport Sciences Reviews**, v. 43, n. 3, p. 110–116, 2015.
- PONZO, V. et al. Predictors of attrition from a weight loss program. A study of adult patients with obesity in a community setting. **Eat Weight Disord.**, n. 26, v. 6, p. 1729-1736, 2021.
- PORRINI, M. et al. Weight, protein, fat, and timing of preloads affect food intake. **Physiology & Behavior**, v. 62, n. 3, p. 563–570, 1997.
- POURHASSAN, M. et al. Impact of body composition during weight change on resting energy expenditure and homeostasis model assessment index in overweight nonsmoking adults. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 99, n. 4, p. 779–791, 2014.
- PÖYKKÖ, S. M. et al. Low plasma ghrelin is associated with insulin resistance, hypertension, and the prevalence of type 2 diabetes. **Diabetes**, v. 52, n. 10, p. 2546–2553, 2003.
- PRENTICE, A. M. et al. High levels of energy expenditure in obese women. **British Medical Journal (Clinical Research Ed.)**, v. 292, n. 6526, p. 983–987, 1986.
- PRIMO, D. et al. Leptin gene polymorphism (rs 7799039;G2548A) is associated with changes in lipid profile during a partial meal-replacement hypocaloric diet. **J Hum Nutr Diet.**, v. 34, n. 2, p. 456-463, 2021.
- PRODAN, A. et al. GHRL, LEP, LEPR genes polymorphism and their association with the metabolic syndrome in the Ukrainian population. **Endocr Regul.**, v. 57, n. 1, p.:269-278, 2023.
- QI, Q. et al. FTO genetic variants, dietary intake and body mass index: insights from 177 330 individuals. **Human Molecular Genetics**, v. 23, n. 25, p. 6961–6972, 2014.
- QIN, J. et al. A human gut microbial gene catalog established by metagenomic sequencing. **Nature**, v. 464, n. 7285, p. 59–65, 2010.
- QUEIPO-ORTUÑO, M. I. et al. Gut Microbiota Composition in Male Rat Models under Different Nutritional Status and Physical Activity and Its Association with Serum Leptin and Ghrelin Levels. **PLoS ONE**, v. 8, n. 5, p. e65465, 2013.

- RACETTE, S. B. et al. Approaches for quantifying energy intake and %calorie restriction during calorie restriction interventions in humans: the multicenter CALERIE study. **Am J Physiol Endocrinol Metab.**, v. 302 n. 4, p. E441-E448, 2012.
- RAHATI, S. et al. Association between CLOCK 3111 T/C polymorphism with ghrelin, GLP-1, food timing, sleep and chronotype in overweight and obese Iranian adults. **BMC Endocr Disord**, v.22, n. 1, p. 147, 2022.
- RAJAGOPAL, S.; SHENOY, S. K. GPCR Desensitization: Acute and Prolonged Phases. **Cellular signalling**, v. 41, p. 9–16, 2018.
- RAMOS, R. B. et al. Variations in the fat mass and obesity-associated (FTO) gene are related to glucose levels and higher lipid accumulation product in postmenopausal women from southern Brazil. **Fertility and Sterility**, v. 96, n. 4, p. 974–979, 2011.
- RAMOS-LOPEZ, O. et al. Modeling of an integrative prototype based on genetic, phenotypic, and environmental information for personalized prescription of energy-restricted diets in overweight/obese subjects. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 111, n. 2, p. 459–470, 2020.
- RANADIVE, S. A. & VAISSE, C. Lessons from extreme human obesity: monogenic disorders. **Endocrinol Metab Clin North Am.**, v. 37, n.3, p.:733-51, 2008.
- RANKINEN, T. et al. The human obesity gene map: the 2005 update. **Obesity (Silver Spring)**, v. 14, p.529-644, 2006.
- RAYNOR, H. A.; CHAMPAGNE, C. M. Position of the Academy of Nutrition and Dietetics: Interventions for the Treatment of Overweight and Obesity in Adults. **Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics**, v. 116, n. 1, p. 129–147, 2016.
- REDDY, S., REDDY, V., & SHARMA, S. Physiology, Circadian Rhythm. In StatPearls. **StatPearls Publishing**, 2023.
- RICHMOND, W. Preparation and properties of a cholesterol oxidase from *Nocardia* sp. and its application to the enzymatic assay of total cholesterol in serum. **Clinical Chemistry**, v. 19, n. 12, p. 1350–1356, 1973.
- ROBINSON, J. G. et al. Meta-analysis of the relationship between non-high-density lipoprotein cholesterol reduction and coronary heart disease risk. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 53, n. 4, p. 316–322, 2009.
- RODRÍGUEZ, A. et al. Acylated and desacyl ghrelin stimulate lipid accumulation in human visceral adipocytes. **International Journal of Obesity**, v. 33, n. 5, p. 541–552, 2009.
- ROTHSCHILD, J. et al. Time-restricted feeding and risk of metabolic disease: a review of human and animal studies. **Nutrition Reviews**, v. 72, n. 5, p. 308–318, 2014.
- RUBIO, M. et al. Documento de consenso sobre cirugía bariátrica. **Rev Esp Obes**, v. 4, 2004.
- RUDDICK-COLLINS, L. C. et al. The Big Breakfast Study: Chrono-nutrition influence on energy expenditure and bodyweight. **Nutrition Bulletin**, v. 43, n. 2, p. 174–183, 2018.
- RYAN, D.; HEANER, M. Guidelines (2013) for managing overweight and obesity in adults. Preface to the full report. **Obesity (Silver Spring, Md.)**, v. 22 Suppl 2, p. S1-3, 2014.

SABI, E. M. et al. -2548G>A LEP Polymorphism Is Positively Associated with Increased Leptin and Glucose Levels in Obese Saudi Patients Irrespective of Blood Pressure Status. **Medicina (Kaunas)**, v. 58, n. 3, p.346, 2022.

SACKNER-BERNSTEIN, J.; KANTER, D.; KAUL, S. Dietary Intervention for Overweight and Obese Adults: Comparison of Low-Carbohydrate and Low-Fat Diets. A Meta-Analysis. **PLoS One**, v. 10, n. 10, p. e0139817, 2015.

SALIBA, L. F. et al. Obesity-related gene ADRB2, ADRB3 and GHRL polymorphisms and the response to a weight loss diet intervention in adult women. **Genetics and Molecular Biology**, v. 37, n. 1, p. 15–22, 2014.

SAMPAIO, H. A. DE C. Aspectos nutricionais relacionados ao ciclo menstrual. **Revista de Nutrição**, v. 15, n. 3, p. 309–317, 2002.

SATO, T. & SASSONE-CORSI, P. Nutrition, metabolism, and epigenetics: pathways of circadian reprogramming. **EMBO reports**, v. 23, n. 5, p. e52412, 2022.

SATO, T. et al. Physiological roles of ghrelin on obesity. **Obesity Research & Clinical Practice**, v. 8, n. 5, p. e405-413, 2014.

SCHERER, P. E. et al. A novel serum protein similar to C1q, produced exclusively in adipocytes. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 270, n. 45, p. 26746–26749, 1995.

SCHNOR, N. P. P. et al. Association of 5-HT2C (rs3813929) and UCP3 (rs1800849) gene polymorphisms with type 2 diabetes in obese women candidates for bariatric surgery. **Archives of Endocrinology and Metabolism**, v. 61, n. 4, p. 326–331, 2017.

SCHOENFELD, B.; ARAGON, A.; KRIEGER, J. **Effects of meal frequency on weight loss and body composition: a meta-analysis.** - PubMed - NCBI. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26024494>>. Acesso em: 18 out. 2019.

SCHWARTZ, M. W. et al. Central nervous system control of food intake. **Nature**, v. 6, n. 4046778, p. 661-71, 2000.

SCHWINGSHACKL, L. et al. Impact of Meal Frequency on Anthropometric Outcomes: A Systematic Review and Network Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. **Advances in Nutrition (Bethesda, Md.)**, v. 11, n. 5, p. 1108–1122, 2020.

SCUTERI, A. et al. Genome-Wide Association Scan Shows Genetic Variants in the FTO Gene Are Associated with Obesity-Related Traits. **PLoS Genetics**, v. 3, n. 7, p. e115, 2007.

SEGAL, K. R. et al. Lean body mass estimation by bioelectrical impedance analysis: a four-site cross-validation study. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 47, n. 1, p. 7–14, 1988.

SEIMON, R. V. et al. Less Waste on Waist Measurements: Determination of Optimal Waist Circumference Measurement Site to Predict Visceral Adipose Tissue in Postmenopausal Women with Obesity. **Nutrients**, v. 10, n. 2, 2018.

SEO, D.-C.; CHOE, S.; TORABI, M. R. Is waist circumference $\geq 102/88$ cm better than body mass index ≥ 30 to predict hypertension and diabetes development regardless of gender, age group, and race/ethnicity? Meta-analysis. **Preventive Medicine**, v. 97, p. 100–108, 2017.

SERGI, G. et al. Measurement of lean body mass using bioelectrical impedance analysis: a consideration of the pros and cons. **Ageing Clinical and Experimental Research**, v. 29, n. 4, p. 591–597, 2017.

- SHABANA, S. & SHAHID, H. Leptin promoter variant G2548A is associated with serum leptin and HDL-C levels in a case control observational study in association with obesity in a Pakistani cohort. *J Biosci*, v. 41, p. 251–255, 2016.
- SHAHI, S. K. et al. Microbiota Analysis Using Two-step PCR and Next-generation 16S rRNA Gene Sequencing. *Journal of Visualized Experiments: JoVE*, n. 152, 2019.
- SHIYYA, T. et al. Plasma ghrelin levels in lean and obese humans and the effect of glucose on ghrelin secretion. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, v. 87, n. 1, p. 240–244, 2002.
- SHRAMKO, I. I. et al. Association between Adiponectin and Leptin Receptor Genetic Polymorphisms and Clinical Manifestations of Metabolic Syndrome. *J Diabetes Res.*, p. 9881422, 2022.
- SILSWAL, N. et al.. Human resistin stimulates the pro-inflammatory cytokines TNF-alpha and IL-12 in macrophages by NF-kappaB-dependent pathway. *Biochem Biophys Res Commun.*, v. 334, n.4, p. 1092-1101, 2005.
- SIMPSON, K. et al. CCK, PYY and PP: the control of energy balance. *Handbook of Experimental Pharmacology*, n. 209, p. 209–230, 2012.
- SMEETS, A. J.; WESTERTERP-PLANTENGA, M. S. Acute effects on metabolism and appetite profile of one meal difference in the lower range of meal frequency. *The British Journal of Nutrition*, v. 99, n. 6, p. 1316–1321, 2008.
- SMITH, K. J. et al. Daily eating frequency and cardiometabolic risk factors in young Australian adults: cross-sectional analyses. *The British Journal of Nutrition*, v. 108, n. 6, p. 1086–1094, 2012.
- SOLOMON, T. P. J. et al. The effect of feeding frequency on insulin and ghrelin responses in human subjects. *The British Journal of Nutrition*, v. 100, n. 4, p. 810–819, 2008.
- SPEAKMAN, J. R. Functional analysis of seven genes linked to body mass index and adiposity by genome-wide association studies: a review. *Human Heredity*, v. 75, n. 2–4, p. 57–79, 2013.
- SPEAKMAN, J. R. The “Fat Mass and Obesity Related” (FTO) gene: Mechanisms of Impact on Obesity and Energy Balance. *Current Obesity Reports*, v. 4, n. 1, p. 73–91, 2015.
- SPEECHLY, D. P.; BUFFENSTEIN, R. Greater appetite control associated with an increased frequency of eating in lean males. *Appetite*, v. 33, n. 3, p. 285–297, 1999.
- SPELIOTES, E. K. et al. Association analyses of 249,796 individuals reveal eighteen new loci associated with body mass index. *Nature genetics*, v. 42, n. 11, p. 937–948, 2010.
- ST-ONGE, M.-P. et al. Meal Timing and Frequency: Implications for Cardiovascular Disease Prevention: A Scientific Statement From the American Heart Association. *Circulation*, v. 135, n. 9, p. e96–e121, 2017.
- STALIN, A. et al. Computational analysis of single nucleotide polymorphisms (SNPs) in PPAR gamma associated with obesity, diabetes and cancer. *Journal of Biomolecular Structure & Dynamics*, v. 40, n. 4, p. 1843–1857, 2022.
- STEINBERG, D. et al. The Effect of a Digital Behavioral Weight Loss Intervention on Adherence to the Dietary Approaches to Stop Hypertension (DASH) Dietary Pattern in Medically Vulnerable Primary Care Patients: Results from a Randomized Controlled Trial. *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics*, v. 119, n. 4, p. 574–584, 2019.

- STERN, S. E. et al. Identification of individuals with insulin resistance using routine clinical measurements. **Diabetes**, v. 54, n. 2, p. 333–339, 2005.
- STEVENSON, J. L.; PATON, C. M.; COOPER, J. A. Hunger and satiety responses to high-fat meals after a high-polyunsaturated fat diet: A randomized trial. **Nutrition (Burbank, Los Angeles County, Calif.)**, v. 41, p. 14–23, 2017.
- STIEGLER, P.; CUNLIFFE, A. The role of diet and exercise for the maintenance of fat-free mass and resting metabolic rate during weight loss. **Sports Medicine (Auckland, N.Z.)**, v. 36, n. 3, p. 239–262, 2006.
- SULLIVAN, P. A. et al. Evaluation of multi-frequency bioelectrical impedance analysis for the assessment of body composition in individuals with obesity. **Obesity Science & Practice**, v. 5, n. 2, p. 141–147, 2019.
- SUPTI, D. A. et al. Meta-analysis investigating the impact of the LEPR rs1137101 (A>G) polymorphism on obesity risk in Asian and Caucasian ethnicities. **Heliyon**, n. 10, v. 6, p. e27213, 2024.
- SUTHERLAND, W. H. F.; DE JONG, S. A.; WALKER, R. J. Effect of dietary cholesterol and fat on cell cholesterol transfer to postprandial plasma in hyperlipidemic men. **Lipids**, v. 42, n. 10, p. 901–911, 2007.
- SWANSON, K. S. et al. Effect of fructans, prebiotics and fibres on the human gut microbiome assessed by 16S rRNA-based approaches: a review. **Beneficial Microbes**, v. 11, n. 2, p. 101–129, 2020.
- SZENDREI, B. et al. Influence of ADRB2 Gln27Glu and ADRB3 Trp64Arg polymorphisms on body weight and body composition changes after a controlled weight-loss intervention. **Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism = Physiologie Appliquee, Nutrition Et Metabolisme**, v. 41, n. 3, p. 307–314, 2016.
- TAKAO, N. et al. The relationship between changes in serum myostatin and adiponectin levels in patients with obesity undergoing a weight loss program. **BMC Endocrine Disorders**, v. 21, p. 147, 2021.
- TAMBOLI, R. A. et al. Metabolic responses to exogenous ghrelin in obesity and early after Roux-en-Y gastric bypass in humans. **Diabetes, Obesity & Metabolism**, v. 19, n. 9, p. 1267–1275, 2017.
- TASNIM, N. et al. Exploring the effects of adiponectin and leptin in correlating obesity with cognitive decline: a systematic review. **Ann Med Surg (Lond)**, v. 4, n. 85, p. 6, p. 2906–2915, 2023.
- TCHERNOF, A.; DESPRÉS, J.-P. Pathophysiology of human visceral obesity: an update. **Physiological Reviews**, v. 93, n. 1, p. 359–404, 2013.
- THOM, G.; LEAN, M. Is There an Optimal Diet for Weight Management and Metabolic Health? **Gastroenterology**, v. 152, n. 7, p. 1739–1751, 2017.
- THORLEIFSSON, G. et al. Genome-wide association yields new sequence variants at seven loci that associate with measures of obesity. **Nature Genetics**, v. 41, n. 1, p. 18–24, 2009.
- TIMLIN, M. T.; PEREIRA, M. A. Breakfast frequency and quality in the etiology of adult obesity and chronic diseases. **Nutrition Reviews**, v. 65, n. 6 Pt 1, p. 268–281, 2007.
- TITAN, S. M. et al. Frequency of eating and concentrations of serum cholesterol in the Norfolk population of the European prospective investigation into cancer (EPIC-Norfolk): cross sectional study. **BMJ (Clinical research ed.)**, v. 323, n. 7324, p. 1286–1288, 2001.

- TREPANOWSKI, J. F. et al. Effect of Alternate-Day Fasting on Weight Loss, Weight Maintenance, and Cardioprotection Among Metabolically Healthy Obese Adults: A Randomized Clinical Trial. **JAMA internal medicine**, v. 177, n. 7, p. 930–938, 2017.
- TRIVEDI, A. et al. Ghrelin, Ghrelin O-Acyltransferase, and Carbohydrate Metabolism During Pregnancy in Calorie-Restricted Mice. **Hormone and Metabolic Research = Hormon- Und Stoffwechselforschung = Hormones Et Metabolisme**, v. 49, n. 1, p. 64–72, 2017.
- TRUMBO, P. et al. Dietary reference intakes for energy, carbohydrate, fiber, fat, fatty acids, cholesterol, protein and amino acids.” **Journal of the American Dietetic Association**, v. 102, n. 11, p. 1621-30, 2002.
- TSCHÖP, M. et al. Circulating ghrelin levels are decreased in human obesity. **Diabetes**, v. 50, n. 4, p. 707–709, 2001.
- TSENG, C.-H.; WU, C.-Y. The gut microbiome in obesity. **Journal of the Formosan Medical Association**, Gut microbiome in human health and diseases. v. 118, p. S3–S9, 2019.
- TUREK, F. W. et al. Obesity and metabolic syndrome in circadian Clock mutant mice. **Science**, v. 308, n. 5724, p. 1043-1045, 2005.
- TURNBAUGH, P. J. et al. A core gut microbiome in obese and lean twins. **Nature**, v. 457, n. 7228, p. 480–484, 2009.
- UNICK, J. L. et al. Initial Weight Loss Response as an Indicator for Providing Early Rescue Efforts to Improve Long-term Treatment Outcomes. **Curr Diab Rep.**, v. 17, n. 9, p. 69, 2017.
- UNICK, J. L. et al. Weight change in the first 2 months of a lifestyle intervention predicts weight changes 8 years later. **Obesity (Silver Spring)**. v. 23, n. 7, p. 1353-1356, 2015.
- URSELL, L. K. et al. The Intestinal Metabolome—an Intersection Between Microbiota and Host. **Gastroenterology**, v. 146, n. 6, p. 1470–1476, 2014.
- VALLADARES, M. et al. Association between genetic variants of the clock gene and obesity and sleep duration. **J Physiol Biochem**, v. 71, n.4, p. 855-860, 2015.
- VAN AGGEL-LEIJSSSEN, D. P. et al. Long-term effects of low-intensity exercise training on fat metabolism in weight-reduced obese men. **Metabolism: Clinical and Experimental**, v. 51, n. 8, p. 1003–1010, 2002.
- VARADY, K. A. Meal frequency and timing: impact on metabolic disease risk. **Current Opinion in Endocrinology, Diabetes, and Obesity**, v. 23, n. 5, p. 379–383, 2016.
- VARADY, K. A.; HELLERSTEIN, M. K. Do calorie restriction or alternate-day fasting regimens modulate adipose tissue physiology in a way that reduces chronic disease risk? **Nutrition Reviews**, v. 66, n. 6, p. 333–342, 2008.
- VERBAEYS, I. et al. Scheduled feeding results in adipogenesis and increased acylated ghrelin. **American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism**, v. 300, n. 6, p. E1103-1111, 2011.
- VERBOEKET-VAN DE VENNE, W. P.; WESTERTERP, K. R. Frequency of feeding, weight reduction and energy metabolism. **International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders: Journal of the International Association for the Study of Obesity**, v. 17, n. 1, p. 31–36, 1993.
- VERNEY, J. et al. Bioelectrical impedance is an accurate method to assess body composition in obese but not severely obese adolescents. **Nutrition Research (New York, N.Y.)**, v. 36, n. 7, p. 663–670, 2016.

- VISSEREN, F. L. J. et al. "Diretrizes ESC 2021 sobre prevenção de doenças cardiovasculares na prática clínica". **Eur Coração J.**, v. 42, p. 3227-3337, 2021.
- VITALE, M. et al. Impact of a Mediterranean Dietary Pattern and Its Components on Cardiovascular Risk Factors, Glucose Control, and Body Weight in People with Type 2 Diabetes: A Real-Life Study. **Nutrients**, v. 10, n. 8, 2018.
- VOIGT, R. M. et al. Circadian Disorganization Alters Intestinal Microbiota. **PLoS ONE**, v. 9, n. 5, p. e97500, 2014.
- VOLLMERS, C. et al. Time of feeding and the intrinsic circadian clock drive rhythms in hepatic gene expression. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 106, n. 50, p. 21453–21458, 2009.
- WAHRLICH, V.; ANJOS, L. A. DOS. Aspectos históricos e metodológicos da medição e estimativa da taxa metabólica basal: uma revisão da literatura. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 17, n. 4, p. 801–817, 2001.
- WAN, R.; CAMANDOLA, S.; MATTSON, M. P. Intermittent food deprivation improves cardiovascular and neuroendocrine responses to stress in rats. **The Journal of Nutrition**, v. 133, n. 6, p. 1921–1929, 2003.
- WEINSIER, R. L. et al. Energy expenditure and free-living physical activity in black and white women: comparison before and after weight loss. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 71, n. 5, p. 1138–1146, 2000.
- WEIR, J. B. D. B. New methods for calculating metabolic rate with special reference to protein metabolism. **The Journal of Physiology**, v. 109, n. 1–2, p. 1–9, 1949.
- WEISS, E. P. et al. Improvements in glucose tolerance and insulin action induced by increasing energy expenditure or decreasing energy intake: a randomized controlled trial. **The American journal of clinical nutrition**, v. 84, n. 5, p. 1033–1042, nov. 2006.
- WELLMAN, M.; ABIZAID, A. Knockdown of central ghrelin O-acyltransferase by vivo-morpholino reduces body mass of rats fed a high-fat diet. **Peptides**, v. 70, p. 17–22, 2015.
- WESTERTERP, K. R. Control of energy expenditure in humans. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 71, n. 3, p. 340–344, 2017.
- WESTERTERP, K. R. Food quotient, respiratory quotient, and energy balance. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 57, n. 5 Suppl, p. 759S-764S; discussion 764S-765S, 1993.
- WESTERTERP, K. R. Physical activity as determinant of daily energy expenditure. **Physiology & Behavior**, v. 93, n. 4, p. 1039–1043, 2008.
- WESTERTERP-PLANTENGA, M. S.; LEMMENS, S. G.; WESTERTERP, K. R. Dietary protein - its role in satiety, energetics, weight loss and health. **The British Journal of Nutrition**, v. 108 Suppl 2, p. S105-112, 2012.
- WEYER, C. et al. Changes in energy metabolism in response to 48 h of overfeeding and fasting in Caucasians and Pima Indians. **International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders: Journal of the International Association for the Study of Obesity**, v. 25, n. 5, p. 593–600, 2001.
- WEYER, C. et al. Determinants of energy expenditure and fuel utilization in man: effects of body composition, age, sex, ethnicity and glucose tolerance in 916 subjects. **International Journal of Obesity**

and Related Metabolic Disorders: Journal of the International Association for the Study of Obesity, v. 23, n. 7, p. 715–722, 1999.

WHO. **Obesity and overweight**. Disponível em:

<<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>>. Acesso em: 25 ago. 2018.
Acesso em: 19 nov. 201.

WHO. **WHO | Obesity and overweight**. Disponível em:

<<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>> Acesso em: 13 mar. 2024.

WHO. **WHO | Obesity: preventing and managing the global epidemic**. Disponível em:

<http://www.who.int/entity/nutrition/publications/obesity/WHO_TRS_894/en/index.html>. Acesso em: 19 out. 2019.

WHO. **WHO | Obesity: preventing and managing the global epidemic**. Disponível em:

<http://www.who.int/entity/nutrition/publications/obesity/WHO_TRS_894/en/index.html>. Acesso em: 21 out. 2019.

WHO. **WHO | Obesity: preventing and managing the global epidemic**. Disponível em:

<http://www.who.int/entity/nutrition/publications/obesity/WHO_TRS_894/en/index.html>. Acesso em: 25 ago. 2018.

WHO. **WHO | Physical status: the use and interpretation of anthropometry**. Disponível em:

<https://www.who.int/childgrowth/publications/physical_status/en/>. Acesso em: 19 nov. 2019.

WISHNOFSKY, M. Caloric equivalents of gained or lost weight. **Am J Clin Nutr.**, v. 6, n. 5, p.542-546, 1958.

WOF. WORLD OBESITY FEDERATION. **Atlas Mundial da Obesidade 2024**. Londres: Federação

Mundial de Obesidade, 2024. Disponível em: <<https://data.worldobesity.org/publications/?cat=22>>.
Acesso em: 13 mar. 2024.

WOF. WORLD OBESITY FEDERATION. **World Obesity Atlas 2023**. Disponível em:

<<https://data.worldobesity.org/publications/?cat=19>>. Acesso em: 26 mar. 2024.

WOODS, S. C. et al. Signals That Regulate Food Intake and Energy Homeostasis. **Science**, v. 280, n. 5368, p. 1378–1383, 1998.

XIANG, L. et al. FTO genotype and weight loss in diet and lifestyle interventions: a systematic review and meta-analysis. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 103, n. 4, p. 1162–1170, 2016.

XU, X. et al. Association study between a polymorphism at the 3'-untranslated region of CLOCK gene and attention deficit hyperactivity disorder. **Behav Brain Funct.**, v. 6, n.48, 2010.

XYDAKIS, A. M. et al. Adiponectin, inflammation, and the expression of the metabolic syndrome in obese individuals: the impact of rapid weight loss through caloric restriction. **The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 89, n. 6, p. 2697–2703, 2004.

YADEGARI, M. et al. Interaction between the genetic variant of rs696217-ghrelin and food intake and obesity and dyslipidemia. **Annals of Human Genetics**, v. 86, n. 1, p. 14–23, 2022.

YAMAUCHI, T. et al. The fat-derived hormone adiponectin reverses insulin resistance associated with both lipodystrophy and obesity. **Nature Medicine**, v. 7, n. 8, p. 941–946, 2001.

YAN, H. et al. Reduced Feeding Frequency Improves Feed Efficiency Associated With Altered Fecal Microbiota and Bile Acid Composition in Pigs. **Frontiers in Microbiology**, v. 12, p. 761210, 2021.

- YANG, X. et al. Nuclear receptor expression links the circadian clock to metabolism. **Cell**, v. 126, n. 4, p. 801–810, 2006.
- YAZDI, F.T. et al. Obesity genetics in mouse and human: back and forth, and back again. **PeerJ.**, v.24, n.3, p.e856, 2015.
- YAZICI, D.; SEZER, H. Insulin Resistance, Obesity and Lipotoxicity. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, v. 960, p. 277–304, 2017.
- YIANNAKOURIS, N. et al. The Q223R polymorphism of the leptin receptor gene is significantly associated with obesity and predicts a small percentage of body weight and body composition variability. **J Clin Endocrinol Metab.**, v. 86, n. 9, p. 4434-4439, 2001.
- YODA-MURAKAMI, M. et al. Change in expression of GBP28/adiponectin in carbon tetrachloride-administrated mouse liver. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 285, n. 2, p. 372–377, 2001.
- YOKOO, E. M. et al. Proposta metodológica para o módulo de consumo alimentar pessoal na pesquisa brasileira de orçamentos familiares. **Revista de Nutrição**, v. 21, n. 6, p. 767–776, 2008.
- YOSHIKAWA, T. et al. Effects of feeding schedule changes on the circadian phase of the cardiac autonomic nervous system and serum lipid levels. **European Journal of Applied Physiology**, v. 113, n. 10, p. 2603–2611, 2013.
- YOSIPOVITCH, G.; DEVORE, A.; DAWN, A. Obesity and the skin: skin physiology and skin manifestations of obesity. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 56, n. 6, p. 901–916; quiz 917–920, 2007.
- YU, K. et al. Association between MC4R rs17782313 genotype and obesity: A meta-analysis. **Gene**, v. 733, p. 144372, 2020.
- YUMUK, V. et al. European Guidelines for Obesity Management in Adults. **Obesity Facts**, v. 8, n. 6, p. 402–424, 2015.
- YURISTA, S. et al. A Closer Look at ACC/AHA and ESC Guidelines for Managing Obesity and Overweight in Adults. **JACC Advances**, v. 2, n.7, 2023.
- ZAYANI, N. et al. Association of ADIPOQ, leptin, LEPR, and resistin polymorphisms with obesity parameters in Hammam Sousse Sahloul Heart Study. **J Clin Lab Anal.**, v. 31, n. 6, p. e22148, 2017.
- ZAYANI, N. et al. Resistin polymorphisms, plasma resistin levels and obesity in Tunisian volunteers. **J Clin Lab Anal.**, v. 32, n. 2, p. e22227, 2018.
- ZHANG, H. et al. Feeding Frequency Modulates the Intestinal Transcriptome Without Affecting the Gut Microbiota in Pigs With the Same Daily Feed Intake. **Frontiers in Nutrition**, v. 8, p. 743343, 2021.
- ZHANG, H. et al. Resistin induces expression of proinflammatory cytokines and chemokines in human articular chondrocytes via transcription and messenger RNA stabilization. **Arthritis Rheum.**, v. 62, n.7, p. 1993-2003, 2010.
- ZHANG, J. V. et al. Obestatin, a peptide encoded by the ghrelin gene, opposes ghrelin's effects on food intake. **Science (New York, N.Y.)**, v. 310, n. 5750, p. 996–999, 2005.
- ZHANG, Y. et al. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. **Nature**, v. 372, n. 6505, p. 425–432, 1994.

ZHAO, L. The gut microbiota and obesity: from correlation to causality. **Nature Reviews. Microbiology**, v. 11, n. 9, p. 639–647, 2013.

ZHAO, S. et al. Partial Leptin Reduction as an Insulin Sensitization and Weight Loss Strategy. **Cell metabolism**, v. 30, n. 4, p. 706- 719.e6, 2019.

ZHAO, X. et al. The Role of Gut Hormones in Diet-Induced Weight Change: A Systematic Review. **Hormone and Metabolic Research = Hormon- Und Stoffwechselforschung = Hormones Et Metabolisme**, v. 49, n. 11, p. 816–825, 2017.

ZIGMAN, J. M.; BOURET, S. G.; ANDREWS, Z. B. Obesity Impairs the Action of the Neuroendocrine Ghrelin System. **Trends in endocrinology and metabolism: TEM**, v. 27, n. 1, p. 54–63, 2016.

ZWIRSKA-KORCZALA, K. et al. Basal and postprandial plasma levels of PYY, ghrelin, cholecystokinin, gastrin and insulin in women with moderate and morbid obesity and metabolic syndrome. **Journal of Physiology and Pharmacology: An Official Journal of the Polish Physiological Society**, v. 58 Suppl 1, p. 13–35, 2007.

ANEXO 1

UFRJ - HOSPITAL
UNIVERSITÁRIO CLEMENTINO
FRAGA FILHO DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO
RIO DE JANEIRO / HUCFF-
UFRJ



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: INFLUÊNCIA DO POLIMORFISMO DO GENE DA GRELINA E DA FREQUÊNCIA ALIMENTAR NA PERDA DE PESO CORPORAL, GRELINA PLASMÁTICA, MICROBIOTA INTESTINAL E INDICADORES METABÓLICOS EM MULHERES COM

Pesquisador: ERIKA DUARTE GRANGEIRO

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 37984720.2.0000.5257

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO

Patrocinador Principal: UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.488.216

Apresentação do Projeto:

Protocolo 294-20. Respostas recebidas em 26.11.2020

As informações colocadas nos campos denominados "Apresentação do Projeto", "Objetivo da Pesquisa" e "Avaliação dos Riscos e Benefícios" foram retiradas do arquivo intitulado "PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1606227.pdf", postado em 26/11/2020

Introdução

A obesidade permanece em ascensão no mundo, mais de 1,9 bilhões das pessoas adultas apresentaram elevado peso corporal e, destes, mais de 850 milhões são obesos (WHO, 2016). No Brasil, a pesquisa de "Vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico", mostra a prevalência de 19,8% de obesidade em adultos, atingindo 20,7% das mulheres e 18,7% dos homens (BRASIL, 2018). Trata-se

RBR-3p8346g Influence of changes in the genetics of the hunger hormone called ghrelin and the number of meals per day on weight loss...

Date of registration: 06/01/2021 16h44vymf

Last approval date: 06/01/2021 16h44vymf

Study type:

Interventional

Scientific title:

en
Influence of the Ghrelin Gene Polymorphism and meal frequency on body weight loss, ghrelin levels, gut microbiota and metabolic indicators in women with Obesity

pt-br
Influência do polimorfismo do gene da grelina e da frequência alimentar na perda de peso corporal, grelina plasmática, microbiota intestinal e indicadores metabólicos em mulheres com Obesidade

es
Influence of the Ghrelin Gene Polymorphism and meal frequency on body weight loss, ghrelin levels, gut microbiota and metabolic indicators in women with Obesity

Trial identification

- UTN code:
- Public title:

en
Influence of changes in the genetics of the hunger hormone called ghrelin and the number of meals per day on weight loss, ghrelin in the blood, intestinal flora and body health indicators in women with obesity

pt-br
Influência de alteração na genética do hormônio da fome chamado grelina e do número de refeições por dia na perda de peso, na grelina no sangue, na flora intestinal e nos indicadores de saúde do corpo em mulheres com obesidade

- Scientific acronym:
- Public acronym:

• Secondary identifiers:

- U1111-1264-7613
Issuing authority: UTN - WHO
- Número do CAAE: 37984720.2.0000.5257
Issuing authority: Orgão emissor: Plataforma Brasil
- Número do Parecer do CEP: 4.488.216
Issuing authority: Orgão emissor: Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Federal do Rio de Janeiro

ANEXO 2



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE NUTRIÇÃO JOSUÉ DE CASTRO
DEPARTAMENTO DE NUTRIÇÃO E DIETÉTICA

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Prezada,

A Sra. está sendo convidada a participar do projeto de pesquisa “Influência dos polimorfismos dos genes (alteração no material genético) relacionados a obesidade e da frequência alimentar na perda de peso corporal, grelina plasmática, microbiota intestinal e indicadores metabólicos em mulheres com obesidade”, de responsabilidade dos pesquisadores Erika Duarte Grangeiro e Eliane Lopes Rosado. O estudo tem como objetivo avaliar a interação de um gene (análise da sua genética) relacionado com a obesidade na realização de dieta com diferentes fracionamentos (número de refeições por dia) dentro de um plano alimentar com baixa caloria na perda de peso, composição corporal, glicemia, lipemia, hormônio relacionado a fome (grelina), gasto de energia do seu corpo e os microrganismos intestinais.

Os resultados obtidos nesta pesquisa contribuirão no tratamento da obesidade por meio da dieta, apontando uma possível estratégia para auxiliar na perda e manutenção do peso perdido.

A Sra. deverá inicialmente comparecer ao Instituto de Nutrição Josué de Castro (INJC) na UFRJ para a coleta de dados referente a este estudo. Será necessário responder a um questionário de informações gerais e dietéticas.

Na segunda consulta, a Sra. deverá chegar ao INJC em jejum de doze horas, trazendo os registros dietéticos preenchidos e a amostra de fezes em recipiente térmico que será oferecido pelas pesquisadoras. Iremos para o Laboratório de Análises Clínicas (LACFAR), onde será feita coleta de sangue (22 mL – cerca de 3 colheres de sopa) para avaliação da sua genética, da glicose, insulina, gordura no sangue, e o hormônio chamado grelina que está associado com seu apetite. O sangue será utilizado apenas para esta pesquisa e será coletado na sua veia do antebraço, por pessoal devidamente treinado com assepsia e higiene, seguindo todas as normas de segurança, utilizando material descartável. Nesse momento, também serão recolhidas as amostras de fezes (aproximadamente ½ pote de coleta de fezes, cerca de 2 colheres de sopa (cheias)). Em seguida, iremos para o INJC para avaliar o seu peso e sua altura, e as circunferências da cintura utilizando fita métrica. Também iremos avaliar a sua composição corporal pela bioimpedância elétrica (BIA) e pelo DEXA. A BIA está no LANUTRI, mas o DEXA no Laboratório de Desenvolvimento de Alimentos para Fins Especiais e Educacionais (DAFEE). Logo após, faremos a avaliação do gasto de energia do seu corpo por meio de um aparelho de calorimetria indireta. Ao final, a Sra. receberá um plano alimentar reduzido em calorias, equilibrado e individualizado. Será feito acompanhamento quinzenal para avaliar seu peso e esclarecer dúvidas em relação ao plano alimentar. Ao final do período a Sra. será avaliada novamente, igualmente feito no primeiro encontro.

A Sra. sofrerá risco mínimo com a participação no estudo. Os desconfortos são aqueles associados com a coleta de sangue. Eventualmente, a coleta de sangue poderá provocar hematoma (manchas arroxeadas). Salientamos que os equipamentos e materiais usados para a coleta de sangue serão descartáveis. Todo material coletado será utilizado apenas para esta pesquisa. A coleta de dados socioeconômicos, antropométricos (peso, circunferência da cintura e altura) e de consumo alimentar será conduzida individualmente e em ambiente tranquilo, para evitar constrangimentos e cansaço. Todo material coletado será utilizado apenas para esta

pesquisa. Caso ocorra algum dano pessoal resultante do estudo a Sra. terá direito ao atendimento pelos pesquisadores ou encaminhamento na Instituição.

Os resultados da pesquisa serão fornecidos somente no final do estudo, quando a Sra. será orientada nutricionalmente para ajudar no seu tratamento, baseando-se nos resultados obtidos no estudo e em recomendações nutricionais já estabelecidas.

Em qualquer etapa do estudo, a Sra. terá acesso ao profissional responsável que poderá ser encontrado nos telefones: (21) 3938 -6601 (Instituto de Nutrição Josué de Castro/UFRJ), (21) 98105-4499 (Dra. Eliane) ou (21) 97216-0611 (Nutricionista Erika, pesquisador responsável). Se a Sra. tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do Hospital Universitário Clementino Fraga Filho/HUCFF/UFRJ – R. Prof. Rodolpho Paulo Rocco, nº 255, Cidade Universitária/Ilha do Fundão, 7º andar, Ala E - pelo telefone 3938-2480, de segunda a sexta-feira, das 8 às 16 horas, ou por meio do e-mail: cep@hucff.ufrj.br.

É garantida a liberdade de querer não participar do projeto de pesquisa ou de retirar o consentimento a qualquer momento, no caso da aceitação, sem qualquer prejuízo à continuidade de seu tratamento na instituição.

Os resultados serão analisados em conjunto com os resultados das outras participantes da pesquisa, não sendo divulgada a identificação de nenhuma participante da pesquisa. Os resultados serão apresentados em revistas e congressos científicos.

Tanto os resultados de seus exames, quanto a avaliação do prontuário somente será realizada pelos pesquisadores deste estudo e pelos profissionais que estarão relacionados com seu atendimento e que estarão cuidando da Sra., e não será permitido que outras pessoas vejam seus resultados, garantindo proteção contra qualquer tipo de discriminação.

A Sra. poderá, em qualquer momento do estudo, pedir informações e até se atualizar quanto aos resultados parciais da pesquisa. A Sra. receberá uma via do documento, assinada pela participante de pesquisa e pelo pesquisador, e rubricada em todas as páginas por ambos.

Esta pesquisa não lhe trará despesas, ou seja, a Sra. não pagará pelos exames, nem pelo transporte e alimentação e pelas demais avaliações. Também não terá compensações financeiras relacionadas à sua participação durante e ao final do estudo.

A Sra. tem direito a assistência gratuita dos pesquisadores, caso haja danos diretos/indiretos e imediatos/tardios associados à pesquisa. A Sra. terá garantido o seu direito a buscar indenização por danos decorrentes da pesquisa. Caso concorde em participar desta pesquisa, assine ao final deste documento, que possui duas vias, sendo uma sua e a outra do pesquisador responsável. Todas as páginas desse documento serão rubricadas.

Concordo com a minha participação no estudo.

Nome da participante da pesquisa

(Assinatura da participante da pesquisa)

Data: ___/___/___

Nutricionista Erika Duarte Grangeiro
(Pesquisador responsável)

Data: ___/___/___

Profa. Dra. Eliane Lopes Rosado
(Pesquisador)

Data: ___/___/___

ANEXO 3



Universidade Federal do Rio de Janeiro
Instituto de Nutrição Josué de Castro
Projeto: Influência de polimorfismos genéticos e do fracionamento da dieta no peso corporal, grelina, leptina e adiponectina plasmáticas, microbiota intestinal e indicadores metabólicos na obesidade
Coordenação: Prof. Dra. Eliane Lopes Rosado

Questionário de elegibilidade

Nome: _____ Data: _____

1. Avaliação clínica e nutricional

Você apresenta algum problema de saúde, por exemplo:

- Diabetes (açúcar alto no sangue)
- Esteatose (gordura no fígado) Hepatite Cirrose
- Queixas urinárias (ardência ou queimação quando urina)
- Problema de estômago (azia, queimação, indigestão) Úlcera Gastrite
- Doença cardíaca (angina, infarto do miocárdio, insuficiência)
- Hipertensão arterial sistêmica (Pressão alta)
- Sinusite Asma
- Hipertireoidismo Hipotireoidismo
- Anemia
- Dor de cabeça ou enxaqueca
- Doença neurológica (Parkinson, esclerose, etc...)
- Doença inflamatória intestinal
- Dores Costas Pernas Articulações Artrite
- Outro, especifique _____

Você utiliza algum destes medicamentos?

- Aspirina
- Outras drogas anti-inflamatórias, analgésicas ou derivados de cortisona (celestone, decadron, meticorten, etc...)
- Calmantes, ou drogas para diminuir a tensão ou nervosismo, ou para dormir (diazepam, valium, lexotan, lorax, etc...)
- Medicação para depressão (trofanil, anafranil, tryptanol, etc...)
- Anticonvulsivante (para ataque epiléptico)
- Anticoncepcional (“pílula”)
- Medicação para baixar a pressão arterial
- Medicação para asma ou bronquite
- Diuréticos (lasix, higraton, etc...)
- Hormônios (puran, cynomel, levoid, etc...)
- Medicação para diabetes
- Medicação do tipo haldol, equilid, ampticil, neozine (antipsicótico)
- Antibióticos
- Pílulas para emagrecer ou diminuir o apetite
- Outras

Uso de medicamentos, suplementos, fitoterápicos e outros para perda de peso (atual e nos últimos 3 meses) sim não _____

Você ainda menstrua?

sim não

Atualmente você fuma?

sim não. Já fumou antes? sim não

Por quanto tempo fumou? _____ Há quanto tempo parou? _____

Faz algum tipo de dieta atualmente?

sim não Qual? _____

2. Avaliação antropométrica

Estatura 1: _____ m Estatura 2: _____ m Estatura média: _____ m

Peso atual: _____ kg

IMC atual: _____ Kg/m²

ANEXO 4



Universidade Federal do Rio de Janeiro
Instituto de Nutrição Josué de Castro

Projeto: Influência de polimorfismos genéticos e do fracionamento da dieta no peso corporal, grelina, leptina e adiponectina plasmáticas, microbiota intestinal e indicadores metabólicos na obesidade
Coordenação: Prof. Dra. Eliane Lopes Rosado

Questionário geral

Data: ____ / ____ / 2021

código: _____

1. Identificação

Nome: _____

e-mail: _____

Telefones: _____ possui whatsapp? Sim () não ()

Endereço: _____

Número: _____ Complemento: _____ Bairro: _____

Data de nascimento: ____ / ____ / ____ Idade: _____ anos.

Naturalidade: _____ Nacionalidade: _____

2. Dados sociais

Qual a sua escolaridade?

() 1º grau incompleto () 1º grau completo () 2º grau incompleto () 2º grau completo () Superior incompleto () Superior completo () Pós-graduando

Qual é a sua ocupação (profissão) atualmente?

Está trabalhando no momento?

() Sim, período integral () Sim, período parcial () Sim, mas em “bicos” () Não

Suas atividades profissionais (trabalho ou escola) são: () diurnas () noturnas

Qual é a sua renda familiar? (em salários mínimos)

() ½ - 1 () 1 - 2 () 2 - 5 () 5 - 10 () 10 - 20 () Mais que 20 () Não sabe

Qual é seu estado civil ou situação conjugal atual?

() casada ou vive com companheiro () solteira; () separada, desquitada ou divorciada () viúva

Você mora sozinha?

() sim; () não Com quem mora? _____

Incluindo você, quantas pessoas moram na sua casa? _____

A sua casa é: () própria () alugada () outros _____

Quantos cômodos sua casa possui? _____ cômodos.

O abastecimento de água da sua residência é feito através de: () rede pública () poço ou nascente; () carro-pipa; () outro(s). Qual (is)? _____

3. Avaliação Clínica e Nutricional

Você tem história familiar de alguma das doenças que foram citadas acima?

() não () sim Quais? _____

Você já esteve internado em hospital?

() Não () Sim Qual motivo? _____

Você já engravidou?

sim não

Quantas vezes você engravidou, incluindo abortos e nascimentos mortos? _____

Quantos filhos você teve? _____

Quantos quilos você ganhou em cada gestação?

Gestação 1 Gestação 2 Gestação 3 Gestação 4

Sua menstruação é regular?

sim não.

Qual foi o 1º dia da sua última menstruação? _____

Ingere bebidas alcoólicas atualmente?

sim não Tipo de bebida? _____ Frequência? _____ Quantidade? _____

Você costuma ter diarreia regularmente?

sim não

Você tem o intestino “preso” (constipação)?

sim não

Você costuma ter algum outro sinal / sintoma gastrointestinal (azia, refluxo, náuseas, etc)?

Qual (is)? _____

Você tem intolerância ou alergia de origem alimentar?

sim não Qual(is) alimento? _____

Quando começou a ganhar peso (engordar)?

infância adolescência idade adulta gestação

História familiar de excesso de peso ou obesidade?

sim não pai mãe irmãos

Não consegue emagrecer há quanto tempo? _____

Seu peso mudou nos últimos 6 meses? _____

Quais motivos você acha que fizeram ou fazem você ganhar peso?

Maus hábitos alimentares Vida profissional gravidez

Desequilíbrio emocional Uso de medicamentos Sedentarismo

Desequilíbrio hormonal Fazer menos atividade física

Outros motivos _____

Quem cozinha regularmente na sua casa? _____

Você gosta de cozinhar?

sim não

Quantas refeições/semana você cozinha? _____

Como você classifica sua mastigação?

normal lenta rápida

Quantas vezes você come por dia?

1 2 3 4 5 6 7 8

Quais as refeições você faz no dia?

Café da Manhã Colação Almoço Lanche da Tarde Jantar Ceia Lanches Extras

Que tipo de alimento você prefere?

doce salgado tudo

Qual o horário que você sente mais fome?

manhã tarde noite madrugada dia todo

Você acorda de madrugada para comer?

não às vezes sempre

Onde você costuma fazer suas refeições?

casa rua metade em casa e metade na rua nacasa de parente ou amigo

Você tem hábito de “beliscar”?

não às vezes tempo todo

Você tem fome quanto tempo após ter ingerido uma refeição tipo almoço?

meia hora após 1 hora após 2 horas após 3 horas após 4 horas após 5 horas após 6 horas após 7 horas após 8 a 10 horas após não como nada até o dia seguinte

Quantos copos de água você estima beber por dia?

1 a 2 3 a 5 5 a 10 + de 10

4. Atividade física:

Nos últimos 3 meses você praticou alguma atividade física regularmente (média de 30 a 40 minutos, pelo menos 3x/semana)?

sim não

Qual atividade física, quantas vezes por semana e qual duração?

Há quanto tempo pratica esta atividade física? _____

Em que período do dia você costuma dormir? Manhã Tarde Noite

Quantas horas por dia você costuma dormir? _____ horas.

5. Avaliação antropométrica, composição corporal, laboratorial e do gasto energético

Avaliação antropométrica

Parâmetros	Datas de realização da avaliação					
Peso (kg)						
IMC (kg/m ²)						
Perímetro da cintura 1 (cm)						
Perímetro da cintura 2 (cm)						
Perímetro da cintura (média)						

Estatura 1 (cm): _____ Estatura 2 (cm): _____ Média da estatura (cm): _____

Avaliação da composição corporal por BIA

Parâmetros	Data/Hora de realização da avaliação	
Ângulo de fase (°)		
Capacitância do corpo (pF)		
Resistência (ohms)		
Reactância (ohms)		
Massa celular corporal (kg)		
Massa celular corporal (%)		
Massa magra (kg)		
Massa magra (%)		
Massa gorda (kg)		
Massa gorda (%)		

ME/MCC		
TMB (segundo BIA)		
Água intracelular (L)		
Água intracelular (%)		
Água extracelular (L)		
Água extracelular (%)		
Água corporal total (L)		
ACT/Massa magra		
ACT/Peso total		

Avaliação laboratorial

Parâmetros	Data/Hora de realização da avaliação	
Glicose jejum (mg/dL)		
Insulina jejum (μ U/mL)		
HOMA-IR		
QUICKI		
Colesterol total (mg/dL)		
HDL-c (mg/dL)		
LDL-c (mg/dL)		
VLDL-c (mg/dL)		
Triglicerídios jejum (mg/dL)		
Grelina Ativa		
Leptina		
Adiponectina		

Avaliação do gasto energético

Parâmetros	Data/Hora de realização da avaliação	
Hora de início:		
Hora de término:		
VO ₂		
VCO ₂		
Taxa metabólica de repouso (24h)		
Observações		

ANEXO 5



Universidade Federal do Rio de Janeiro
Instituto de Nutrição Josué de Castro
Projeto: Influência de polimorfismos genéticos e do fracionamento da dieta no peso corporal, grelina, leptina e adiponectina plasmáticas, microbiota intestinal e indicadores metabólicos na obesidade
Coordenação: Prof. Dra. Eliane Lopes Rosado

Avaliação nas reconsultas

Código: _____ Data: _____

Perguntas a serem realizadas no dia do ensaio clínico

1º Ensaio clínico (0 dia) - Data: ___/___/___

Você cumpriu o período de jejum para hoje?

sim não Início do jejum: _____

Você cumpriu o preparo para a calorimetria indireta?

sim não Início: _____

Usou medicamento nos últimos 15 dias?

sim não Quais? _____

Esteve em período menstrual nos últimos 7 dias?

sim não

Está menstruada hoje?

sim não

Qual foi a data do 1º dia de sua última menstruação? _____

Sua menstruação está prevista para os próximos 7 dias (1 semana)?

sim não

Você preencheu o Registro dietético de 3 dias?

sim não

Você realizou algum tipo de atividades física nas últimas 24 horas?

sim não Quais? _____

Aplicação do questionário internacional de atividade física ()

Entrega do registro dietético periódico ()

Entrega da dieta hipocalórica ()

2º Reconsulta (15 dia) - Data: ___/___/___

Uso de medicamento nos últimos 15 dias?

sim não

Quais? _____

Você preencheu o Registro dietético periódico?

sim não

Você está conseguindo seguir com a dieta proposta?

sim não

De 0-100% qual o percentual você classifica a sua realização a dieta proposta?

3º Reconsulta (45 dia) - Data: ___/___/___

Uso de medicamento nos últimos 15 dias?

sim não

Quais? _____

Você preencheu o Registro dietético periódico?

sim não

Você esta conseguindo seguir com a dieta proposta?

sim não

De 0-100% qual o percentual você classifica a sua realização a dieta proposta?

4º Reconsulta (65 dia) - Data: ___/___/___

Uso de medicamento nos últimos 15 dias?

sim não

Quais? _____

Você preencheu o registro dietético periódico?

sim não

Você esta conseguindo seguir com a dieta proposta?

sim não

De 0-100% qual o percentual você classifica a sua realização a dieta proposta?

5º Ensaio clínico (90 dia) - Data: ___/___/___

Você cumpriu o período de jejum para hoje?

sim não Início do jejum: _____

Você cumpriu o preparo para a calorimetria indireta?

sim não Início: _____

Usou medicamento nos últimos 15 dias?

sim não Quais? _____

Esteve em período menstrual nos últimos 7 dias?

sim não

Está menstruada hoje?

sim não

Qual foi a data do 1º dia de sua última menstruação? _____

Sua menstruação está prevista para os próximos 7 dias (1 semana)?

sim não

Você preencheu o Registro dietético periódico?

sim não

Você realizou algum tipo de atividades física nas últimas 24 horas?

sim não Quais? _____

Aplicação do questionário internacional de atividade física ()

Aplicação do ECAP ()

6º Reconsulta (15 dias após término de tratamento) – Data: ___/___/___

Observações gerais (intercorrências, dificuldades em seguir o plano alimentar, uso de suplementos, medicamentos ou fitoterápicos desde a última consulta)

1ª reconsulta (15 dias): Data ___/___/___

2ª reconsulta (45 dias): Data ___/___/___

3ª reconsulta (65 dias): Data ___/___/___

ANEXO 6



Universidade Federal do Rio de Janeiro
Instituto de Nutrição Josué de Castro
Projeto: Influência de polimorfismos genéticos e do fracionamento da dieta no peso corporal, grelina, leptina e adiponectina plasmáticas, microbiota intestinal e indicadores metabólicos na obesidade
Coordenação: Prof. Dra. Eliane Lopes Rosado

LISTA DE SUBSTITUIÇÕES

Atenção: as quantidades descritas ao lado de todos os alimentos equivalem “1 porção”. Caso esteja prescrito “2 porções” basta dobrar a quantidade indicada ao lado e assim por diante.

Grupo 1A: Vegetais A

Vegetais A – Crus ou cozidos - à vontade.

Abobrinha, Acelga, Agrião, Aipo, Alface, Alfafa, Almeirão, Azedinha (ou vinagreira), Berinjela, Bertalha, Brócolis, Brotos (alfafa, trevo, brócolis, lentilha, feijão, etc), Caruru, Cebola, Cebolinha, Coentro, Cogumelos, Couve, Couve-de-Bruxelas, Couve-flor, Escarola, Espinafre, Folhas (abóbora, batata, cenoura, couve-flor, inhame, mandioca, quiabo, uva), Jiló, Maxixe, Mostarda, Nabiça, Nabo, Nirá, Ora-pro-nobis, Palmito, Pepino, Pimentões (verde, vermelho e amarelo), Rabanete, Repolho, Rúcula, Salsa, Serralha, Taioba, Tomates (comum e cereja).

Grupo 1B: Vegetais B (1 Porção)

Abóbora cozida – 2 colheres (sopa) cheias (72g)	Chuchu cozido – 6 colheres (sopa) cheias (120g)
Abóbora refogada – 1 colher (sopa) cheia e ½ (45g)	Chuchu refogado – 2 colheres (sopa) cheias (50g)
Beterraba cozida - 5 colheres (sopa) cheias (100g)	Ervilha em vagem cozida – 2 colheres (sopa) cheias (60g)
Beterraba crua ralada – 6 colheres (sopa) cheias (96g)	Ervilha em vagem refogada – 1 colher (sopa) cheia (30g)
Cenoura cozida – 4 colheres (sopa) cheias (100g)	Quiabo refogado – 3 colheres (sopa) rasas (60g)
Cenoura crua ralada – 8 colheres (sopa) cheias (96g)	Vagem cozida - 5 colheres (sopa) cheias (100g)
Cenoura refogada – 2 colheres (sopa) cheias (50g)	Vagem refogada – 3 colheres (sopa) rasas (45g)

Grupo 2: Frutas (1 Porção)

Abacaxi – 1 fatia média (80g)	Laranja – 1 unidade pequena (90g)
Acerola – 10 unidades (120g)	Maçã – 1 unidade pequena (90g)
Ameixa preta fresca – 2 unidades médias (84g)	Mamão formosa – 1 fatia pequena (100g)
Ameixa seca – 5 unidades médias (25g)	Mamão papaya – ½ unidade pequena (135g)
Ameixa vermelha fresca – 5 unidades médias (80g)	Manga espada – 1 unidade pequena (80g)
Amora – 20 unidades (80g)	Manga adem / tommy – ¼ unidade média (80g)
Banana-prata – 1 unidade média (40g)	Maracujá – 1 unidade média (50g)
Cajá-manga – 2 unidades médias (110g)	Melancia – 1 fatia média (200g)
Caju – 1 unidade grande (90g)	Melão – 2 fatias médias (180g)

Caqui – ½ unidade média (55g)	Morango – 10 unidades médias (120g)
Carambola – 2 unidades pequenas (100g)	Nêspera – 4 unidades médias (108g)
Damasco seco – 6 unidades (42g)	Pêra – 1 unidade pequena (90g)
Figo – 2 unidades médias (110g)	Pêssego – 2 unidades médias (120g) ou 1 unidade grande (110g)
Fruta do conde – 1 unidade pequena (50g)	Pitanga – 25 unidades médias (125g)
Goiaba – ½ unidade média (85g)	Romã – 1 unidade média (90g)
Jabuticaba – 16 unidades (80g)	Tangerina – 1 unidade pequena (100g)
Jaca – 4 bagos (48g)	Tâmara seca – 3 unidades (20g)
Jambo – 4 unidades médias (160g)	Uva - 12 unidades médias ou 25 pequenas ou 8 grandes (100g)
Kiwi – 1 unidade média (80g)	Uva passa – 1 colher (sopa) cheia (18g)

Grupo 3: Leite e Derivados (1 Porção)

Cream cheese Danúbio® light – 1 colher (sopa) cheia e ½ (45g)	Leite desnatado – 1 xícara (chá) cheia (200mL)
Iogurte Activia® Polpa tradicional – 1 pote (100g)	Leite desnatado em pó – 2 colheres (sopa) cheias (20g)
Iogurte Activia® Polpa 0% – 2 potes (200g)	Leite semi-desnatado – 1 xícara (chá) cheia (200mL)
Iogurte Activia® líquido – ½ unidade (90g) ou ½ xícara (chá)	Leite semi-desnatado em pó – 1 colher (sopa) cheia e ½
Iogurte Activia® líquido 0% – 1 copo (duplo) cheio (240mL)	Polenguinho® - 1 unidade e ½ (30g)
Iogurte light Corpus® bandeja – 2 potes (90 a 100g cada)	Polenguinho® light - 2 unidades (40g)
Iogurte light Corpus® frasco – 2 unidades (170g cada)	Queijo cottage – 5 colheres (sopa) cheias (100g)
Iogurte light Corpus® garrafa – 1 xícara cheia e ½ (300g)	Queijo minas/frescal – 1 fatia média (30g)
Iogurte natural desnatado – 1 unidade (200g)	Requeijão – 2 colheres (sopa) rasas (30g)
Iogurte polpa frutas tradicional – 1 unidade (90)	Ricota – 2 fatias médias (70g)

Grupo 4: Pães, Biscoitos e Cereais (1 Porção)

Aveia em flocos – 2 colheres (sopa) cheias (30g)	Biscoito maisena / maria – 5 unidades (25g)
Biscoito água e gergelim Piraquê® – 4 unidades (30g)	Granola – 2 colheres (sopa) cheias (22g)
Biscoito água e sal Levíssimo Bauducco® / Triunfo® – 5 unidades (30g)	Pão árabe / sírio tradicional ou integral – 1 unidade média (50g)
Biscoito água light Piraquê® – 10 unidades (25g)	Pão forma integral – 2 fatias (50g)
Biscoito Club Social® / Toda Hora® – 1 embalagem (26g)	Pão forma tradicional – 2 fatias (50g)
Biscoito cream cracker ou água – 4 unidades (25g)	Pão francês – 1 unidade média (50g)
Biscoito cream cracker integral Levíssimo / Nestlé® – 5 unidades (30g)	Torrada Wickbold® / Bauducco® - 5 unidades (40g)

Grupo 5: Arroz, cereais, massas e vegetais C (1 Porção)

Aipim cozido – 1 pedaço médio (100g)	Milho enlatado – 5 colheres (sopa) cheias (120g)
Angu – 3 colheres (sopa) cheias (105g)	Milho espiga – 1 unidade grande (100g)
Arroz branco / integral – 3 colheres (sopa) cheias (75g)	Nhoque ao molho de tomate – 3 colheres (sopa) cheias (90g)
Batata baroa cozida – 3 colheres (sopa) cheias (105g)	Pão forma integral ou tradicional – 2 fatias (50g)
Batata doce cozida – 3 colheres (sopa) cheias (126g)	Pão francês – 1 unidade média (50g)
Batata-inglesa cozida picada – 6 colheres (sopa) cheias (180g)	Pirão – 3 colheres (sopa) cheias (90g)
Inhame cozido picado – 3 colheres (sopa) cheias (105g)	Purê de batata – 2 colheres (sopa) cheias (90g)
Macarrão ao molho de tomate – 1 pegador (110g) ou 5 colheres (sopa) cheias (125g)	

Grupo 6: Leguminosas (1 Porção)

Ervilha – 5 colheres (sopa) cheias (135g)	Grão de bico cozido – 3 colheres (sopa) cheias (66g)
Feijão cozido – 1 concha (média) cheia (140g)	Lentilha cozida – 5 colheres (sopa) cheias (90g)

Grupo 7: Carnes, aves, peixes e outros pratos principais (1 Porção)

Almôndega caseira de carne (assada ou cozida) – 2 unidades médias (100g) ou 3 pequenas (90g)	Peixe grelhado – 1 filé grande ou 1 posta média (180g)
Bife magro grelhado – 1 bife pequeno (83g)	Peito frango assado/ensopado s/ pele – 1 peito pequeno (130g)
Bife rolê – 1 unidade grande (130g)	Peru assado s/ pele – 3 fatias grandes (150g)
Carne assada – 1 fatia pequena (80g)	Sobrecoxa frango assada/ensopada s/ pele – 1 unidade grande (95g)
Carne magra picada ensopada – 4 colheres (sopa) cheias (120g)	Caso substitua o jantar por lanche, substituir a proteína por:
Carne moída – 4 colheres (sopa) cheias (100g)	1) Atum light com requeijão light – 1 lata atum sem óleo (light) (110g) + 2 colheres (sopa) rasas de requeijão (30g) OU
Coxa de frango assada/ensopada s/ pele – 2 unidades grandes (110g)	2) Blanquet peru light – 24 fatias (170g)OU
Filé peito frango grelhado – 1 filé médio (130g)	3) Peito peru light – 12 fatias (160g) OU
Ovo de galinha inteiro cozido – 3 unidades (135g)	4) Presunto peru light – 12 fatias (160g) OU
Ovo mexido – 7 colheres (sopa) cheias (105g)	5) 1 Porção Grupo 3 (Leite e Derivados) + ½ Porção Grupo 7 Carnes, aves, peixes e outros).
Peixe ensopado – 1 filé grande ou 1 posta média (180g)	

ANEXO 7



Universidade Federal do Rio de Janeiro

Instituto de Nutrição Josué de Castro

Projeto: Influência de polimorfismos genéticos e do fracionamento da dieta no peso corporal, grelina, leptina e adiponectina plasmáticas, microbiota intestinal e indicadores metabólicos na obesidade

Coordenação: Prof. Dra. Eliane Lopes Rosado

ORIENTAÇÕES NUTRICIONAIS

RESPEITE O HORÁRIO DAS REFEIÇÕES e CONSUMA A ALIMENTAÇÃO RECOMENDADA.

- Beba, aproximadamente, 10 copos de água por dia.
- Prefira os alimentos cozidos, assados e grelhados.
- Não utilize temperos prontos (industrializados).
- Não mantenha o saleiro na mesa durante as refeições.
- Evite o consumo de refrigerantes, açúcar, bolos confeitados, biscoitos recheados, chocolate e doces em geral.
- Sempre que na preparação dos alimentos for utilizada farinha de trigo ou farinha de rosca, reduzir 1 colher de sopa de arroz da quantidade prescrita.
- Condimentos como: alho, salsa, cebolinha, pimentão, limão, canela, cravo, orégano, louro, erva-doce, açafraão, baunilha, coentro, colorau, gengibre e hortelã poderão ser utilizados à vontade. Utilizar limão e 1 colher de chá óleo de oliva (azeite) para tempero de saladas.
- Os alimentos devem ser preparados com quantidades moderadas de sal e óleo vegetal. Evitar preparações fritas e empanadas. Para cada xícara de arroz cru – utilizar 1 colher de sobremesa de óleo e para cada xícara de feijão cru – utilizar 2 colheres de sobremesa
- Preferir peixe ou frango sem pele e a carne bovina com o mínimo de gordura possível. Os cortes mais magros de carne bovina são: patinho, chã, lagarto, músculo e alcatra. O peixe deve ser consumido pelo menos duas vezes na semana (corvina, cação, galo, anchova, merluza, pescada, sardinha e namorado).
- Evitar os alimentos: enlatados, embutidos (lingüiça, salsicha, salame, mortadela, hambúrguer e presunto), conservas, caldos concentrados, queijos amarelos (mussarela, prato, provolone, etc) e temperos prontos.
- Preferir adoçantes – Não exagerar na quantidade – Recomendados: Finn (aspartame), Gold (aspartame + acessulfame K), Línea (sucralose + acessulfame K) ou stevita.
- Consumir até 200 mL de suco durante as refeições. Dar preferência à ingestão de líquidos entre as refeições.

ANEXO 8



Universidade Federal do Rio de Janeiro

Instituto de Nutrição Josué de Castro

Projeto: Influência de polimorfismos genéticos e do fracionamento da dieta no peso corporal, grelina, leptina e adiponectina plasmáticas, microbiota intestinal e indicadores metabólicos na obesidade

Coordenação: Prof. Dra. Eliane Lopes Rosado

Registro Dietético de três dias

Nome: _____ Data: ____/____/____

Olá! Obrigada por participar da nossa pesquisa. A sua participação é muito importante para nós!

Por favor, LEIA COM ATENÇÃO as instruções abaixo para fazer o seu Registro Alimentar corretamente. Se você tiver qualquer dúvida na hora de preencher, releia as instruções ou ligue para uma das pesquisadoras para tirar a sua dúvida:

Erika: 9 7216 0611

Eliane: 9 8105 4499

1. Anote tudo **na hora** que você tiver comendo: o **tipo** de comida ou bebida, as **quantidades** e até as **marcas**, se você souber. Não deixe para anotar depois que tiver acabado de comer para que você não se esqueça de anotar nada.
2. Escreva **TODAS** as comidas ou bebidas que você comer ou beber durante o dia inteiro, até mesmo uma bala, chicletes, “beliscadas” etc.
3. Anote o **máximo de informações**, como por exemplo, se você comeu feijão ou feijoada, se o bife era empanado, etc. Se você mesmo (a) preparar a sua refeição, escreva se refogou, quais os **ingredientes** você usou e o quanto de cada. Também escreva se colocou algum **molho** ou **tempero**.
4. Escreva a **colher** utilizada nas medidas (café, chá, sobremesa, sopa ou de arroz). Se estava cheia (fazendo um “morro alto”) ou rasa (fazendo um “morro baixinho”); o tamanho da **concha** ou da **escumadeira** utilizada.
Tente descrever bem as porções de acordo com os exemplos a seguir: 1 coxa média de frango frita com pele / 4 colheres de sopa de cenoura crua ralada.
5. Coloque o **tamanho dos alimentos** (pequeno, médio e grande). Por exemplo: uma maçã pequena, uma pera grande, 1 fatia média de abacaxi.
6. Diga no seu registro o **tipo** de pão que você costuma comer: pão de forma, branco, francês, integral, etc. Anote **tudo que você colocou no pão** (manteiga, margarina, geleia, requeijão, queijo, etc e diga **qual foi o tipo**: se era comum ou *light* ou *diet* ou 0% de gordura, etc). Anote todos os **ingredientes** utilizados nas saladas e sanduíches (exemplo: alface, tomate, vinagrete, cenoura crua ralada e etc.)
7. Você só precisa preencher a tabela com o que você comeu ou bebeu, não precisa escrever em todos os “quadrinhos”. Mas se precisar use mais folhas para escrever o seu registro alimentar. É muito importante que não falte nenhuma informação.

Atenção: para escrever o DIA 3 você deve escolher um dia atípico, ou seja, um dia que não seja comum. Pode ser sábado ou domingo ou feriado ou dia de folga.

Data: _____ / _____ / _____

Dia 1

Dia da semana: () 2ª feira () 3ª feira () 4ª feira () 5ª feira () 6ª feira

Refeição	Alimentos	Quantidade
Desjejum Hora: Local:		
Colação Hora: Local:		
Almoço Hora: Local:		
Lanche Hora: Local:		
Jantar Hora: Local:		
Ceia Hora: Local:		

Dia 2

Data: ____ / ____ / ____

Dia da semana: () 2ª feira () 3ª feira () 4ª feira () 5ª feira () 6ª feira

Refeição	Alimentos	Quantidade
Desjejum Hora: Local:		
Colação Hora: Local:		
Almoço Hora: Local:		
Lanche Hora: Local:		
Jantar Hora: Local:		
Ceia Hora: Local:		

Data: _____/_____/_____

Dia 3

(Final de semana
ou feriado)

Dia da semana: () 2ª feira () 3ª feira () 4ª feira () 5ª feira () 6ª feira

Refeição	Alimentos	Quantidade
Desjejum Hora: Local:		
Colação Hora: Local:		
Almoço Hora: Local:		
Lanche Hora: Local:		
Jantar Hora: Local:		
Ceia Hora: Local:		

ANEXO 9



Universidade Federal do Rio de Janeiro
Instituto de Nutrição Josué de Castro

Projeto: Influência de polimorfismos genéticos e do fracionamento da dieta no peso corporal, grelina, leptina e adiponectina plasmáticas, microbiota intestinal e indicadores metabólicos na obesidade
Coordenação: Prof. Dra. Eliane Lopes Rosado

Registro Dietético Periódico

Nome: _____ Data: ____/____/____

Por favor, LEIA COM ATENÇÃO as instruções abaixo para fazer o seu Registro Alimentar corretamente. Se você tiver qualquer dúvida na hora de preencher, releia as instruções ou ligue para uma das pesquisadoras para tirar a sua dúvida:

☎ **Erika: 9 7216 0611**

☎ **Eliane: 9 8105 4499**

1. Anote tudo **na hora** que você tiver comendo: o **tipo** de comida ou bebida, as **quantidades** e até as **marcas**, se você souber. Não deixe para anotar depois que tiver acabado de comer para que você não se esqueça de anotar nada.
2. Escreva **TODAS** as comidas ou bebidas que você comer ou beber durante o dia inteiro, até mesmo uma bala, chicletes, “beliscadas” etc.
3. Anote o **máximo de informações**, como por exemplo, se você comeu feijão ou feijoada, se o bife era empanado, etc. Se você mesmo (a) preparar a sua refeição, escreva se refogou, quais os **ingredientes** você usou e o quanto de cada. Também escreva se colocou algum **molho** ou **tempero**.
4. Escreva a **colher** utilizada nas medidas (café, chá, sobremesa, sopa ou de arroz). Se estava cheia (fazendo um “morro alto”) ou rasa (fazendo um “morro baixinho”); o tamanho da **concha** ou da **escumadeira** utilizada.
Tente descrever bem as porções de acordo com os exemplos a seguir: 1 coxa média de frango frita com pele / 4 colheres de sopa de cenoura crua ralada.
5. Coloque o **tamanho dos alimentos** (pequeno, médio e grande). Por exemplo: uma maçã pequena, uma pera grande, 1 fatia média de abacaxi.
6. Diga no seu registro o **tipo** de pão que você costuma comer: pão de forma, branco, francês, integral, etc. Anote **tudo que você colocou no pão** (manteiga, margarina, geleia, requeijão, queijo, etc e diga **qual foi o tipo**: se era comum ou *light* ou *diet* ou 0% de gordura, etc). Anote todos os **ingredientes** utilizados nas saladas e sanduíches (exemplo: alface, tomate, vinagrete, cenoura crua ralada e etc.)
7. Você só precisa preencher a tabela com o que você comeu ou bebeu, não precisa escrever em todos os “quadrinhos”. Mas se precisar use mais folhas para escrever o seu registro alimentar. É muito importante que não falte nenhuma informação.

Data: _____ / _____ / _____

Dia da semana: () 2ª feira () 3ª feira () 4ª feira () 5ª feira () 6ª feira

Refeição	Alimentos	Quantidade
Desjejum Hora: Local:		
Colação Hora: Local:		
Almoço Hora: Local:		
Lanche Hora: Local:		
Jantar Hora: Local:		
Ceia Hora: Local:		



Universidade Federal do Rio de Janeiro

Instituto de Nutrição Josué de Castro

Projeto: Influência de polimorfismos genéticos e do fracionamento da dieta no peso corporal, grelina, leptina e adiponectina plasmáticas, microbiota intestinal e indicadores metabólicos na obesidade

Coordenação: Prof. Dra. Eliane Lopes Rosado

Check list do Registro Alimentar de 3 dias e dos periódicos

1. Conferir se a voluntária colocou o nome, o dia e o dia da semana em todas as folhas dos registros.
2. Verificar se o preenchimento foi realizado em 1 dia do final de semana ou feriado e 2 dias durante a semana.
3. Verificar se há pelo menos 1 dia de intervalo entre os dias registrados.
4. Verificar e confirmar o número de refeições realizadas por dia.
5. Verificar se os alimentos foram registrados separadamente (exemplo: pão separado da manteiga). Caso não, verificar se há a medida caseira separadamente dos alimentos registrados juntos.
6. Verificar se todos os alimentos têm suas medidas caseiras correspondentes (exemplo: colher de arroz, colher de sopa).
7. Verificar se há a informação de cheio, raso, metade, pequeno, médio ou grande.
8. Verificar se foram registrados o uso de açúcar ou adoçante das bebidas.
9. Verificar, em caso de produtos industrializados, se é light ou diet ou zero; integral, semi-desnatado ou desnatado.
10. Verificar se foi informada a forma de preparo dos alimentos.
11. Se for encontrado um longo período de tempo sem registro, confirmar com o voluntário se não houve ingestão de nenhum alimento ou bebida neste período.
12. Verificar no caso de preparações elaboradas se tem a receita anotada no registro com as medidas caseiras, seu rendimento e a medida caseira do que foi consumido pelo voluntário.
13. Verificar se as medidas caseiras da receita é referente ao alimento cru ou cozido.
14. Questionar sobre alimentos comumente esquecidos, tais como: balas, chicletes, chás e cafezinhos adoçados com açúcar.

ANEXO 11



Universidade Federal do Rio de Janeiro

Instituto de Nutrição Josué de Castro

Projeto: Influência de polimorfismos genéticos e do fracionamento da dieta no peso corporal, grelina, leptina e adiponectina plasmáticas, microbiota intestinal e indicadores metabólicos na obesidade

Coordenação: Prof. Dra. Eliane Lopes Rosado

Questionário internacional de atividade física (International Physical Activity Questionnaire - IPAQ) - versão curta

Nome: _____ Data: ____/____/____

As perguntas estão relacionadas ao tempo que você gasta fazendo atividade física na ÚLTIMA semana. As perguntas incluem as atividades que você faz no trabalho, para ir de um lugar a outro, por lazer, por esporte, por exercício ou como parte das suas atividades em casa ou no jardim. Suas respostas são MUITO importantes. Por favor, responda cada questão mesmo que considere que não seja ativo.

Obrigado pela sua participação!

Para responder as questões LEMBRE que:

Atividades físicas VIGOROSAS são aquelas que precisam de um grande esforço físico e que fazem respirar MUITO mais forte que o normal. Atividades físicas MODERADAS são aquelas que precisam de algum esforço físico e que fazem respirar UM POUCO mais forte que o normal. Para responder as perguntas pense somente nas atividades que você realiza por pelo menos 10 minutos contínuos de cada vez.

1a Em quantos dias da última semana você CAMINHOU por pelo menos 10 minutos contínuos em casa ou no trabalho, como forma de transporte para ir de um lugar para outro, por lazer, por prazer ou como forma de exercício? dias por SEMANA () Nenhum

1b Nos dias em que você caminhou por pelo menos 10 minutos contínuos quanto tempo no total você gastou caminhando por dia? horas: Minutos:

2a. Em quantos dias da última semana, você realizou atividades MODERADAS por pelo menos 10 minutos contínuos, como por exemplo, pedalar leve na bicicleta, nadar, dançar, fazer ginástica aeróbica leve, jogar vôlei recreativo, carregar pesos leves, fazer serviços domésticos na casa, no quintal ou no jardim como varrer, aspirar, cuidar do jardim, ou qualquer atividade que fez aumentar moderadamente sua respiração ou batimentos do coração (POR FAVOR, NÃO INCLUA CAMINHADA) dias por SEMANA () Nenhum

2b. Nos dias em que você fez essas atividades moderadas por pelo menos 10 minutos contínuos, quanto tempo no total você gastou fazendo essas atividades por dia? horas: Minutos:

3a. Em quantos dias da última semana, você realizou atividades VIGOROSAS por pelo menos 10 minutos contínuos, como por exemplo, correr, fazer ginástica aeróbica, jogar futebol, pedalar rápido na bicicleta, jogar basquete, fazer serviços domésticos pesados em casa, no quintal ou

cavoucar no jardim, carregar pesos elevados ou qualquer atividade que fez aumentar MUITO sua respiração ou batimentos do coração. Dias por SEMANA () Nenhum

3b. Nos dias em que você fez essas atividades vigorosas por pelo menos 10 minutos contínuos quanto tempo no total você gastou fazendo essas atividades por dia? horas: Minutos:

Estas últimas questões são sobre o tempo que você permanece sentado todo dia, no trabalho, na escola ou faculdade, em casa e durante seu tempo livre. Isto inclui o tempo sentado estudando, sentado enquanto descansa, fazendo lição de casa visitando um amigo, lendo, sentado ou deitado assistindo TV. Não inclua o tempo gasto sentado durante o transporte em ônibus, trem, metrô ou carro.

4a. Quanto tempo no total você gasta sentado durante um dia de semana? horas minutos

4b. Quanto tempo no total você gasta sentado durante em um dia de final de semana? horas minutos

ANEXO 12



Universidade Federal do Rio de Janeiro

Instituto de Nutrição Josué de Castro

Projeto: Projeto: Influência de polimorfismos genéticos e do fracionamento da dieta no peso corporal, grelina, leptina e adiponectina plasmáticas, microbiota intestinal e indicadores metabólicos na obesidade

Coordenação: Prof. Dra. Eliane Lopes Rosado

Escala de Compulsão Alimentar Periódica (ECAP)

Nome: _____ Data: ___/___/___

Cada afirmativa corresponde um número de pontos de 0 a 3, abrangendo desde a ausência (“0”) até a gravidade máxima (“3”) da compulsão alimentar periódica (CAP).

Instruções

Você encontrará abaixo grupos de afirmações numeradas. Leia todas as afirmações em cada grupo e marque, nesta folha, aquela que melhor descreve o modo como você se sente em relação aos problemas que tem para controlar seu comportamento alimentar.

#1

- 1. Eu não me sinto constrangido (a) com o meu peso ou o tamanho do meu corpo quando estou com outras pessoas.
- 2. Eu me sinto preocupado (a) em como pareço para os outros, mas isto, normalmente, não me faz sentir desapontado (a) comigo mesmo (a).
- 3. Eu fico mesmo constrangido (a) com a minha aparência e o meu peso, o que me faz sentir desapontado (a) comigo mesmo (a).
- 4. Eu me sinto muito constrangido (a) com o meu peso e, frequentemente, sinto muita vergonha e desprezo por mim mesmo (a). Tento evitar contatos sociais por causa desse constrangimento.

#2

- 1. Eu não tenho nenhuma dificuldade para comer devagar, de maneira apropriada.
- 2. Embora pareça que eu devore os alimentos, não acabo me sentindo empanturrado (a) por comer demais.
- 3. Às vezes tendo a comer rapidamente, sentindo-me então desconfortavelmente cheio (a) depois.
- 4. Eu tenho o hábito de engolir minha comida sem realmente mastiga-la. Quando isto acontece, em geral me sinto desconfortavelmente empanturrado(a) por ter comido demais.

#3

- 1. Eu me sinto capaz de controlar meus impulsos para comer, quando eu quero.
- 2. Eu sinto que tenho falhado em controlar meu comportamento alimentar mais do que a média das pessoas.
- 3. Eu me sinto totalmente incapaz de controlar meus impulsos para comer.
- 4. Por me sentir tão incapaz de controlar meu comportamento alimentar, entro em desespero tentando manter o controle.

#4

- 1. Eu não tenho o hábito de comer quando estou chateado (a).
- 2. Às vezes eu como quando estou chateado (a), mas, frequentemente, sou capaz de me ocupar e afastar minha mente da comida.
- 3. Eu tenho o hábito regular de comer quando estou chateado (a), mas, de vez em quando, posso usar alguma outra atividade para afastar minha mente da comida.
- 4. Eu tenho o forte hábito de comer quando estou chateado (a). Nada parece me ajudar a parar com esse hábito.

#5

- 1. Normalmente quando como alguma coisa é porque estou fisicamente com fome.
- 2. De vez em quando como alguma coisa por impulso, mesmo quando não estou realmente com fome.
- 3. Eu tenho o hábito regular de comer alimentos que realmente não aprecio para satisfazer uma sensação de fome, mesmo que fisicamente eu não necessite de comida.
- 4. Mesmo que não esteja fisicamente com fome, tenho uma sensação de fome em minha boca que somente parece ser satisfeita quando eu como um alimento, tipo um sanduíche, que enche a minha boca. Às vezes, quando eu como o alimento para satisfazer minha “fome na boca”, em seguida eu cuspo, assim não ganharei peso.

#6

- 1. Eu não sinto qualquer culpa ou ódio de mim mesmo (a) depois de comer demais.
- 2. De vez em quando sinto culpa ou ódio de mim mesmo (a) depois de comer demais.
- 3. Quase o tempo todo sinto muita culpa ou ódio de mim mesmo (a) depois de comer demais.

#7

- 1. Eu não perco o controle total da minha alimentação quando estou em dieta, mesmo após períodos em que como demais.
- 2. Às vezes, quando estou em dieta e como um alimento proibido, sinto como se tivesse estragado tudo e como ainda mais.
- 3. Frequentemente, quando como demais durante uma dieta, tenho o hábito de dizer para mim mesmo (a): “agora que estraguei tudo, porque não irei até o fim”. Quando isto acontece, eu como ainda mais.
- 4. Eu tenho o hábito regular de começar dietas rigorosas por mim mesmo (a), mas quebro as dietas entrando numa compulsão alimentar. Minha vida parece ser “uma festa” ou “um morrer de fome”.

#8

- 1. Eu raramente como tanta comida a ponto de me sentir desconfortavelmente empanturrado (a) depois.
- 2. Normalmente, cerca de uma vez por mês, como uma determinada quantidade de comida que acabo me sentindo muito empanturrado (a).
- 3. Eu tenho períodos regulares durante o mês, quando como grandes quantidades de comida, seja na hora das refeições, seja nos lanches.
- 4. Eu como tanta comida que, regularmente, me sinto bastante desconfortável depois de comer e, algumas vezes, um pouco enjoado (a).

#9

- 1. Em geral, minha ingestão calórica não sobe a níveis muito altos, nem desce a níveis muito baixos.

2. Às vezes, depois de comer demais, tento reduzir minha ingestão calórica para quase nada, para compensar o excesso de calorias que ingeri.

3. Eu tenho o hábito de regular de comer demais durante a noite. Parece que a minha rotina não é estar com fome de manhã, mas comer demais à noite.

4. Na minha vida adulta tenho tido períodos, que duram semanas, nos quais praticamente me mato de fome. Isto se segue a períodos em que como demais. Parece que vivo uma vida de “festa” ou “morrer de fome”.

#10

1. Normalmente eu sou capaz de parar de comer quando quero. Eu sei quando “já chega”.

2. De vez em quando, eu tenho uma compulsão para comer que parece que não posso controlar.

3. Frequentemente tenho fortes impulsos para comer que parece que não sou capaz de controlar, mas, em outras ocasiões, posso controlar meus impulsos para comer.

4. Eu me sinto incapaz de controlar impulsos para comer. Eu tenho medo de não ser capaz de parar de comer por vontade própria.

#11

1. Eu não tenho problema algum para parar de comer quando me sinto cheio (a).

2. Eu, normalmente, posso parar de comer quando me sinto cheio (a) mas, de vez em quando, comer demais me deixa desconfortavelmente empanturrado (a).

3. Eu tenho um problema para parar de comer uma vez que eu tenha começado e, normalmente, sinto-me desconfortavelmente empanturrado (a) depois que faço uma refeição.

4. Por eu ter o problema de não ser capaz de parar de comer quando quero, às vezes tenho que provocar o vômito, usar laxativos e/ou diuréticos para aliviar minha sensação de empanturramento.

#12

1. Parece que eu como tanto quando estou com os outros (reuniões familiares, sócias), como quando estou sozinho (a).

2. Às vezes, quando eu estou com outras pessoas, não como tanto quanto eu quero comer porque me sinto constrangido (a) com o meu comportamento alimentar.

3. Frequentemente eu como só uma pequena quantidade de comida quando outros estão presentes, pois me sinto muito embaraçado (a) com o meu comportamento alimentar.

4. Eu me sinto tão envergonhado (a) por comer demais que escolho horas para comer demais quando sei que ninguém me verá. Eu me sinto como uma pessoa que se esconde para comer.

#13

1. Eu faço três refeições ao dia com apenas um lanche ocasional entre as refeições.

2. Eu faço três refeições ao dia mas, normalmente, também lancho entre as refeições.

3. Quando eu faço lanches pesados, tenho o hábito de pular as refeições regulares.

4. Há períodos regulares em que parece que eu estou continuamente comendo, sem refeições planejadas.

#14

1. Eu não penso muito em tentar controlar impulsos indesejáveis para comer.

2. Pelo menos, em algum momento, sinto que meus pensamentos estão “préocupados” com tentar controlar meus impulsos para comer.

3. Frequentemente, sinto que gasto muito tempo pensando no quanto comi ou tentando não comer mais.

4. Parece, para mim, que a maior parte das horas que passo acordado(a) estão “préocupadas” por pensamentos sobre comer ou não comer. Sinto como se eu estivesse constantemente lutando para não comer.

#15

1. Eu não penso muito sobre comida.

2. Eu tenho fortes desejos por comida, mas eles só duram curtos períodos de tempo.

3. Há dias em que parece que eu não posso pensar em mais nada a não ser comida.

4. Na maioria dos dias, meus pensamentos parecem estar “pré-ocupados” com comida. Sinto como se eu vivesse para comer.

#16

1. Eu normalmente sei se estou ou não fisicamente com fome. Eu como a porção certa de comida para me satisfazer.

2. De vez em quando eu me sinto em dúvida para saber se estou ou não fisicamente com fome. Nessas ocasiões é difícil saber quanto eu deveria comer para me satisfazer.

3. Mesmo que se eu pudesse saber quantas calorias eu deveria ingerir, não teria ideia alguma de qual seria a quantidade “normal” de comida para mim.

ANEXO 13



Universidade Federal do Rio de Janeiro
Instituto de Nutrição Josué de Castro

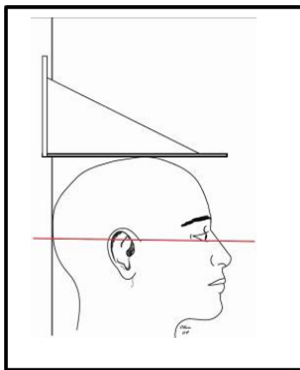
Projeto: Influência de polimorfismos genéticos e do fracionamento da dieta no peso corporal, grelina, leptina e adiponectina plasmáticas, microbiota intestinal e indicadores metabólicos na obesidade
Coordenação: Prof. Dra. Eliane Lopes Rosado

Protocolo para avaliação antropométrica

Medida da estatura

Esta medida deve ser realizada duas vezes, e média será utilizada nas análises. É admitido uma diferença entre as duas medidas de até 0,5 cm, no caso de a diferença ser superior a 0,5 cm, devem ser realizadas duas novas aferições da estatura.

1. Posicionar a voluntária descalço, em cima e no centro do equipamento, com os pés juntos, ereto, braços estendidos ao longo do tronco e cabeça erguida.
2. A voluntária deve manter calcanhares, panturrilha, nádegas, ombros e parte posterior da cabeça em contato com o antropômetro.
3. Posicionar a cabeça da voluntária de forma que esta fique no Plano de Frankfort (uma linha imaginária que passa pela borda superior do trágus e no ponto mais baixo na margem da órbita, na altura do forame intraorbitário).



4. Abaixar a haste móvel do equipamento até que se aproxime da cabeça do voluntário.
5. Solicitar que a voluntária inspire profundamente, sem sair da posição. Abaixar a haste do equipamento até tocar a parte superior da cabeça do voluntário.
6. Realizar a leitura da estatura ao nível dos olhos, e anotar o resultado na ficha.

Medida do peso corporal

1. Solicitar que a voluntária fique descalço e retire casacos, relógio, celular, carteira, entre outros.
2. Solicitar que a voluntária suba na balança, posicionando-o de costas para o visor da balança, no centro da balança, ereto, com braços estendidos ao longo do tronco e distribuindo o peso entre as duas pernas.
3. Solicitar que permaneça imóvel, realizar a leitura do peso e registrar o mesmo na ficha da voluntária.

Medida do perímetro de cintura

Esta medida deve ser realizada duas vezes e a média destas será utilizada para as análises. É admitido uma diferença entre as duas medidas de até 1 cm, no caso de a diferença ser superior a 1 cm, deve ser realizada duas novas medidas da cintura.

1. Posicionar a voluntária de pé, com os pés juntos, ereto, com o abdômen relaxado e os braços cruzados sobre o peito.
2. Afastar a roupa de tal forma que a cintura fique a mostra. Nunca realizar a medida sobre a roupa.
3. Localizar a margem da última costela por meio de palpação e marcá-la com caneta. Transferir o ponto para a linha axilar média.
4. Localizar a crista ilíaca, por meio de palpação, na linha axilar média e marcá-la com caneta.
5. Medir a distância entre os dois pontos marcados na linha axilar média e marcar o ponto médio entre eles com a caneta.



6. Manter-se de frente para a voluntária, colocar a fita sobre o ponto médio e passar a fita ao redor da cintura.
7. Verificar se a fita se encontra no mesmo nível em todo o perímetro da cintura. A fita não deve estar frouxa e nem apertada.



8. Solicitar que a voluntária inspire e expire, e realizar a leitura após o término da expiração.
 9. Registrar a medida encontrada na ficha da voluntária.
- Repetir novamente a medida.

ANEXO 14



Universidade Federal do Rio de Janeiro
Instituto de Nutrição Josué de Castro

Projeto: Influência de polimorfismos genéticos e do fracionamento da dieta no peso corporal, grelina, leptina e adiponectina plasmáticas, microbiota intestinal e indicadores metabólicos na obesidade
Coordenação: Prof. Dra. Eliane Lopes Rosado

Protocolo para avaliação da composição corporal

Recomendações

- O exame deve ser agendado para a fase folicular do ciclo menstrual, ou seja, entre 10 a 12 dias após o primeiro dia da última menstruação.
- Procurar realizá-lo sempre no mesmo horário.
- A voluntária deve utilizar roupas leves, e estar sem meias ou sapatos durante o exame.
- Solicitar que a voluntária retire relógio, bijuterias e demais objetos de metal.
- Medir sempre do lado direito do corpo. Em caso de impossibilidade de realizar do lado direito, realizar do lado esquerdo em todas as avaliações.
- Não permitir contato de nenhuma parte do corpo com objetos ou estruturas de metal.
- Registrar na ficha caso o voluntário apresente edema.

Passo a passo para realização da BIA

1. Solicitar que a voluntária urine antes da realização do exame.
2. Limpar a maca com álcool 70% e forrá-la.
3. Solicitar que a voluntária retire relógio, bijuterias e demais objetos de metal que esteja usando.
4. Colocar a voluntária em posição supina, e mantê-la nesta posição de 5-10 minutos antes do início do exame.
5. Manter o braço direito do voluntário afastado do tronco cerca de 30° e as pernas afastadas cerca de 45°.
6. Fazer assepsia com álcool 70% da mão e pé onde serão fixados os eletrodos.
7. Fixar os eletrodos na mão e pé do voluntário, preferencialmente no lado direito.
8. Digitar as informações solicitadas no aparelho (sexo, idade, peso (kg) e estatura (cm)), e iniciar o exame.
9. Imprimir os resultados e anotá-los na ficha da voluntária.

Atenção! O fio vermelho do cabo deve sempre estar mais próximo ao coração



ANEXO 15



Universidade Federal do Rio de Janeiro

Instituto de Nutrição Josué de Castro

Projeto: Influência de polimorfismos genéticos e do fracionamento da dieta no peso corporal, grelina, leptina e adiponectina plasmáticas, microbiota intestinal e indicadores metabólicos na obesidade

Coordenação: Prof. Dra. Eliane Lopes Rosado

Protocolo para avaliação do gasto energético

Recomendações

- Evitar agendar o exame no período menstrual (1 semana antes ou na semana da menstruação). Caso ocorra, registrar observação na ficha;
- Não se esquecer de **anotar a hora de início e de término da realização da CI** e, no caso do jejum, procurar realizar a avaliação sempre no mesmo horário;
- Manter a voluntária em repouso, porém, não permitir que a mesma durma ou se movimente durante o exame. Nem mesmo as extremidades (braços e pernas) devem ser movimentadas (Feurer & Mullen, 1986 *apud* Matarese, 1997).
- Durante todo o procedimento monitorar possíveis vazamentos de ar do sistema.

Passo a passo para realização da CI:

Antes de iniciar o exame em jejum:

1. O ambiente deve ser confortável. Manter a temperatura ambiente entre 20° e 25°, com umidade relativa do ar controlada em níveis típicos, luminosidade suave e sem ruídos. Um cobertor leve pode ser disponibilizado para as voluntárias que o solicitar, pois elas não devem sentir frio durante a avaliação (Compher *et al.*, 2006);
2. Calibrar o calorímetro com gás padrão;
3. Explicar rapidamente como será realizado o exame: *com a máscara iremos medir a quantidade de oxigênio consumida e de gás carbônico produzido, que serão utilizados para avaliar o seu metabolismo energético. O exame terá duração de 30 minutos, durante os quais você não poderá dormir nem se movimentar.* Caso a voluntária queira ir ao banheiro, solicitar que o faça antes de iniciar a avaliação;
4. Forrar ou limpar a maca (álcool 70%) e colocar a paciente em posição supina ou com a postura corporal ligeiramente elevada para garantir mais conforto a paciente, caso seja necessário (Compher *et al.*, 2006);
5. Higienizar a campânula com álcool 70% e colocar sobre a cabeça da paciente. Registrar aqui os procedimentos necessários para que não fique com nenhuma abertura.
6. Deixá-la nesta posição em repouso por 20 minutos

Avaliação em jejum:

- 1) Anotar o horário de início do exame;
- 2) Avaliar o metabolismo durante 30 minutos: os resultados dos primeiros 5 minutos devem ser descartados e o tempo restante deve ter um coeficiente de variação de até 10% (desvio padrão x [média de medidas individuais] x 100) para VO₂ e VCO₂ a fim de garantir valores precisos da TMR.
- 3) Registrar o horário de término do exame;
- 4) Anotar na ficha de coleta todos os resultados da avaliação.

ANEXO 16



Universidade Federal do Rio de Janeiro
Instituto de Nutrição Josué de Castro

Projeto: Influência de polimorfismos genéticos e do fracionamento da dieta no peso corporal, grelina, leptina e adiponectina plasmáticas, microbiota intestinal e indicadores metabólicos na obesidade

Coordenação: Prof. Dra. Eliane Lopes Rosado

Protocolo de preparo do Pefabloc

PREPARO DO INIBIDOR DE PROTEASE PEFABLOC

Dissolução do Pefabloc:

1. Manter o recipiente com 100mg de Pefabloc em temperatura de 2 a 4 graus *celsius*, para evitar contaminação de microrganismos;
2. Para o preparo da solução deve-se diluir 200mg de Pefabloc em 1mL de água;
3. Para o preparo de 100mg de Pefabloc, este será diluído em 0,5mL, ou seja, 500 microlitros de água;
4. Programar a pipeta para retirada de 500 microlitros de água;
5. Abrir o frasco contendo o Pefabloc em pó e pipetar 500 microlitros de água dentro do recipiente contendo 100 mg do produto e fechar a tampa;
6. Homogeneizar a solução manualmente ou no vortex;
7. Armazenar em temperatura de 2 a 4 graus celsius, para evitar contaminação de microrganismos.

Uso do Pefabloc:

1. Abrir o frasco do Pefabloc, já diluído;
2. Programar a pipeta para retirada de 20 microlitros de Pefabloc;
3. Retirar alíquota de 20 microlitros com a pipeta;
4. Adicionar os 20 microlitros em Tubo com EDTA de 4mL com a amostra;
5. Fechar o frasco do Pefabloc e armazenar em temperatura de 2 a 4 graus celsius, para evitar contaminação de microrganismos.

DILUIÇÃO DO PEFABLOC

Pefabloc Pó	Água	Aliquota Pefabloc por amostra de sangue	Quantidade de Pefabloc por Tubo EDTA 4mL
100mg	<u>0,500mL</u>	1mg (0,100mL) / 1mL de sangue	0,020mL (4mg)
200mg	<u>1 mL</u>	1mg (0,100mL) / 1mL de sangue	0,020mL (4mg)
500mg	<u>2,5 mL</u>	1mg (0,100mL) / 1mL de sangue	0,020mL (4mg)
1g	<u>5mL</u>	1mg (0,100mL) / 1mL de sangue	0,020mL (4mg)

ANEXO 17



Universidade Federal do Rio de Janeiro
Instituto de Nutrição Josué de Castro

Projeto: Influência de polimorfismos genéticos e do fracionamento da dieta no peso corporal, grelina, leptina e adiponectina plasmáticas, microbiota intestinal e indicadores metabólicos na obesidade

Coordenação: Prof. Dra. Eliane Lopes Rosado

Esse vídeo explicativo pode ajudá-lo!

Vídeo: <https://www.youtube.com/watch?v=BYGUhrKKyVM&feature=youtu.be>

Quer saber mais detalhes? Tem alguma dúvida?

Entre em contato conosco pelo whatsapp, será um prazer

atendê-lo: Érika Duarte: 021 972160611

Também preparamos um passo a passo para você!

1º PASSO- Antes de iniciar a coleta:

Lavar e secar as mãos;

Esvaziar bem a bexiga.

2º PASSO- Utilize o acessório para assento sanitário, conforme indicado abaixo:



3º PASSO- - Evacue normalmente

Se cair uma pequena quantidade de urina, não tem problema;

Lavar bem e secar as mãos.

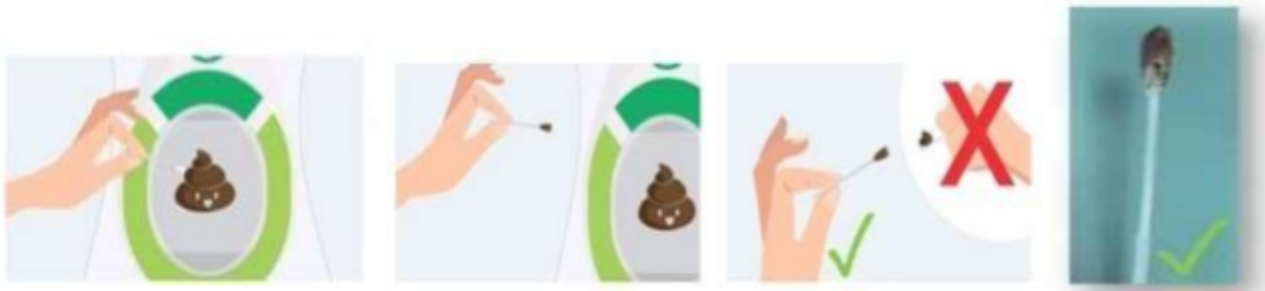
4º PASSO- Abra a embalagem do swab pela haste e deixe reservado



5º PASSO- Abra o tubo. **CUIDADO PARA NÃO DEIXAR A SOLUÇÃO CAIR.**



6º PASSO- Retire o swab da embalagem e introduza nas fezes, coletando uma **PEQUENA QUANTIDADE**, apenas o suficiente para deixá-lo levemente sujo.

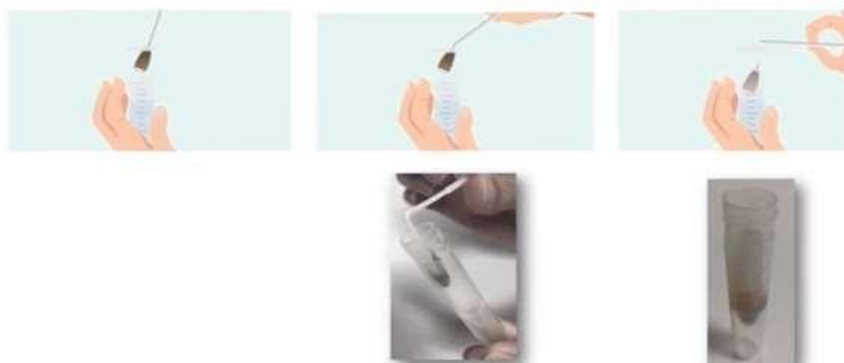


ATENÇÃO:

**NÃO COLETE GRANDE QUANTIDADE
OU FRAGMENTOS DE FEZES;**

**O SWAB NÃO DEVE SER UTILIZADO COMO UMA
ESPÁTULA.**

7º PASSO- Coloque o swab no tubo e quebre a haste no ponto de quebra **COM CUIDADO.**



8º PASSO- FECHE BEM O TUBO e faça movimentos repetidos de inversão por 1 minuto.



9º PASSO- Coloque o tubo contendo a amostra dentro da embalagem plástica de cor branca. Enrole a embalagem, SEM LACRAR.



totalmente e prenda com o prendedor fornecido.



ATENÇÃO:

**A AMOSTRA DEVE SER ARMAZENADA E TRANSPORTADA EM
TEMPERATURA AMBIENTE!**

NÃO ARMAZENE SUA AMOSTRA NA GELADEIRA!

NÃO EXPONHA AO SOL!

11º PASSO- Após a coleta, descarte o restante das fezes no vaso sanitário. Lavar e secar bem as mãos.

Agradecemos muito a sua colaboração!