



ASSOCIAÇÕES ENTRE CRONOTIPO E ATIVAÇÃO DO TECIDO ADIPOSEO MARROM EM MULHERES COM DIFERENTES FENÓTIPOS DE SAÚDE CARDIOMETABÓLICA

Palavras-Chave: [CRONONUTRIÇÃO], [OBESIDADE], [GORDURA MARROM].

Autores(as):

LAURA RAMOS GONÇALVES, FCA – UNICAMP

MSc. ISABELA SOLAR, FCA – UNICAMP

MSc. MARIA EDUARDA MARTELLI, FCM – UNICAMP

Prof^a. Dr^a. ANDREA MACULANO ESTEVES, FCA – UNICAMP

Prof. Dr. BRUNO GELONEZE NETO, FCM – UNICAMP

Prof^a. Dr^a. ANA CAROLINA JUNQUEIRA VASQUES (orientadora), FCA – UNICAMP

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

INTRODUÇÃO

Os organismos vivos possuem uma espécie de relógio biológico em suas células, responsável por regular as respostas adaptativas do corpo diante das oscilações do ambiente externo (1). Este relógio manifesta-se nos tecidos periféricos através de regulações neuroendócrinas, e é denominado ciclo circadiano, que se apresenta através do cronotipo - conceito definido como o momento do dia de maior disposição para realizar atividades cotidianas, como acordar/dormir, alimentar-se/jejuar e praticar atividades físicas ou mentais (3,4). Os indivíduos podem ser classificados com cronotipo matutino, intermediário ou vespertino, sendo o grupo dos vespertinos o de maior preocupação quanto à saúde, por apresentarem maior tendência a padrões alimentares prejudiciais à saúde e, conseqüentemente, maior chance de doenças cardiometabólicas (4,5). Este fato pode ser explicado pela sensibilidade dos tecidos periféricos às variações circadianas, tendo como exemplo o fígado e o tecido adiposo, que estão fortemente envolvidos no metabolismo energético (2). De forma que, se os relógios biológicos internos (central e periféricos) estiverem desalinhados entre si, o que caracteriza a cronodisrupção, o organismo estará mais propenso ao desenvolvimento de doenças cardiometabólicas (4).

O tecido adiposo marrom (BAT, do inglês *brown adipose tissue*) participa da regulação da homeostase energética através do aumento da captação de glicose e ácidos graxos para serem consumidos na termogênese, dentro das mitocôndrias dos adipócitos marrons, através da ativação da Proteína Desacopladora-1 (4,6). Evidências sugerem que indivíduos mais jovens e magros possuem maior quantidade de BAT comparados aos indivíduos mais velhos e com obesidade, e que pessoas com obesidade e cronodisrupção estão associadas ao mau funcionamento do metabolismo energético, impactando negativamente na atividade termogênica do tecido adiposo marrom (6,7).

A demonstração do BAT em humanos renovou o interesse da comunidade científica no seu possível papel como alvo antiobesidade e estudos recentes vêm demonstrando a importância da cronobiologia na regulação do metabolismo (4). Por outro lado, a avaliação da atividade do BAT em indivíduos com diferentes cronotipos e fenótipos de saúde cardiometabólica ainda é pouco explorada em humanos, de forma que este trabalho tem como objetivo investigar a associação entre cronotipo e ativação do tecido adiposo marrom em mulheres com os fenótipos: peso normal metabolicamente saudável (do inglês, *normal weight metabolically health* - NWMH), obesidade metabolicamente saudável (do inglês, *metabolically health obesity* - MHO) e obesidade metabolicamente não saudável (do inglês, *metabolically unhealth obesity* - MUO).

METODOLOGIA

Estudo com delineamento transversal, com amostra de conveniência, ainda em fase de captação de participantes, composta por 81 mulheres. Os critérios de inclusão foram: sexo feminino, idade entre 20 e 39 anos, IMC (índice de massa corporal) entre 18,5 e 24,9 kg/m² ou maior que 30kg/m² e menacme. Os critérios de exclusão foram: gestantes e lactantes, participantes de programas para perda de peso, presença de diabetes tipo 1 ou tipo 2 segundo critérios da ADA (8), uso de medicamentos com efeito na glicemia e na sensibilidade à insulina, uso de beta bloqueadores e benzodiazepínicos, evidência clínica ou laboratorial de doença cardíaca, renal, hepática, tireoidiana e de doença sistêmica grave como câncer e AIDS.

A captação de participantes ocorreu por meio da divulgação do estudo no site institucional da universidade, em redes sociais, para a comunidade local e em centros de saúde de atenção secundária, como o ambulatório de Síndrome Metabólica da UNICAMP. A coleta de dados aconteceu no Laboratório de Investigação em Diabetes e Metabolismo (LIMED), localizado no Gastrocentro da Universidade Estadual de Campinas.

Todas as participantes passaram por triagem inicial, respondendo ao Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (CAAE: 39037120.0.0000.5404) e a um breve questionário para classificação dentro dos grupos estudados, conforme os critérios pré-estabelecidos. Em seguida aconteceram as coletas de sangue em jejum, para avaliação dos parâmetros bioquímicos (glicemia, hemoglobina glicada, Insulinemia, LDL, HDL, colesterol total e triglicerídeos), cálculo do HOMA-IR, aferição da pressão arterial e frequência cardíaca, avaliação antropométrica (peso, altura, IMC, circunferência da cintura e quadril, relação cintura-quadril e diâmetro abdominal sagital), avaliação de composição corporal pelo DXA (densitometria por dupla emissão de raios X), considerando o percentual de gordura corporal total, percentual de gordura andróide e ginoide e massa de tecido adiposo visceral (10). Foi realizado o cálculo do IMC para identificação do fenótipo de saúde cardiometabólica (11). Foram consideradas metabolicamente não saudáveis as participantes que apresentaram síndrome metabólica, ou seja, pelo menos duas alterações metabólicas dentre: circunferência da cintura > 88 cm; presença de hipertensão arterial ou pressão arterial sistólica > 130 mmHg e/ou pressão arterial diastólica > 85 mmHg, glicemia de jejum > 110mg/dl ou diagnóstico de pré-diabetes, triglicerídeos > 150 mg/dl e HDL < 50 mg/dl (9). Foram consideradas metabolicamente saudáveis aquelas que não apresentaram síndrome metabólica. Dessa forma, as participantes foram distribuídas entre os fenótipos: NWMH, MHO e MUO.

O cronotipo foi avaliado pela aplicação do questionário *Morningness-Eveningness Questionnaire* (MEQ), validado para a população brasileira (12, 13) e que possibilita classificar os indivíduos nos cronotipos vespertino, intermediário e matutino, e fornece um escore, de forma que quanto maior a pontuação do indivíduo, mais matutino será seu cronotipo. A avaliação da ativação do tecido adiposo marrom foi obtida por câmera termográfica infravermelha (TIV), que avalia a temperatura a partir da radiação infravermelha emitida pelo corpo. As imagens foram obtidas através da câmera termográfica posicionada na região supraclavicular, região de maior representatividade do BAT. As capturas das imagens ocorreram antes da exposição ao frio denominado período de aclimação em sala climatizada a 28°C e após a exposição ao frio por duas horas numa sala a 18°C, pois segundo dados da literatura o frio é o maior ativador do BAT em humanos (14). Para representar a ativação do BAT foi utilizado o cálculo da área sob a curva da temperatura supraclavicular (AUC Temp_{sup}), através do método trapezoidal, bem como a temperatura máxima da região supraclavicular.

A análise dos dados foi realizada no *software* IBM SPSS versão 24.0, pelos testes de Kolmogorov Smirnov para verificar a distribuição das variáveis na curva de Gauss. Para variáveis com distribuição normal foi utilizada média e desvio padrão e para aquelas sem distribuição normal, foi utilizada mediana e valores mínimos e máximos. Além disso, foram utilizados testes paramétricos (ANOVA e correlação de Pearson) e não paramétricos (Kruskal Wallis e correlação de Spearman). Ainda, para investigar as associações entre variáveis categóricas foi realizado o teste exato de Fisher. O valor de p foi fixado em 5%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para as 81 mulheres avaliadas, a mediana de idade foi de 29 anos (20 – 39) e de IMC de 30,2 kg/m² (18,9 – 52,3). Quanto à caracterização do cronotipo, 12 participantes foram classificadas no grupo vespertino (14,8%), 49 no grupo cronotipo intermediário (60,5%) e 20 no matutino (24,7%). Em relação à classificação do fenótipo de saúde cardiometabólica, 38 participantes foram classificadas com peso normal metabolicamente saudável (47%), 28 com obesidade metabolicamente saudável (34,5%) e 15 com obesidade metabolicamente não saudável (18,5%).

A ativação do BAT não diferiu entre os três cronotipos, tampouco com os parâmetros antropométricos, bioquímicos e clínicos. No entanto, o grupo cronotipo intermediário apresentou maiores valores de triglicerídeos de jejum quando comparados ao grupo matutino (p=0,01), conforme demonstrado na Tabela 1. A literatura sugere que o cronotipo vespertino tem pior perfil de saúde cardiometabólica, bem como, apresenta padrões alimentares prejudiciais à saúde, como baixo consumo de proteínas vegetais, fibras, frutas e vegetais (15), um dos fatores que justificam tais relações. Estes resultados confirmam a hipótese proposta no início deste estudo, de que indivíduos classificados com cronotipos mais tardios (mais vespertinos) apresentariam piores resultados clínicos e bioquímicos, em comparação aos mais matutinos. No entanto, o fato de que apenas uma das variáveis analisadas apresentou diferença estatisticamente significativa pode ser melhor compreendido

considerando o pequeno tamanho da amostra, uma vez que a literatura sobre o tema geralmente apresenta trabalhos com amostras populacionais maiores.

Em relação à ativação do tecido adiposo marrom, as evidências sugerem que os indivíduos mais magros e jovens possuem maior quantidade e atividade de BAT, se comparados aos indivíduos com obesidade e mais velhos (16). Neste sentido, esperava-se que o cronotipo vespertino fosse mais prevalente entre indivíduos com obesidade metabolicamente não saudável e obesidade metabolicamente saudável, do que entre os indivíduos com peso normal metabolicamente saudável. No entanto, os resultados do presente estudo não confirmaram estatisticamente tal hipótese, uma vez que os valores foram semelhantes nos três grupos de fenótipos cardiometabólicos ($p=0,81$), conforme demonstrado na tabela 1.

Tabela 1 - Caracterização da amostra e associação do cronotipo com variáveis de adiposidade corporal, parâmetros bioquímicos e ativação do tecido adiposo marrom.

Variáveis	Vespertino (n=12) a	Intermediário (n=49) b	Matutino (n=20) c	p
Idade (anos)	30 (21 - 38)	29 (20 - 39)	29 (23 - 39)	0,83
Índice de massa corporal (kg/m ²)	30 (19 - 42)	30 (19 - 52)	28 (19 - 48)	0,74
Frequência cardíaca (bpm)	72 ± 10	76 ± 15	72 ± 9	0,37
Pressão arterial sistólica (mmHg)	95 (80 - 127)	97 (82 - 141)	96 (79 - 120)	0,62
Pressão arterial diastólica (mmHg)	72 ± 10	71 ± 11	71 ± 9	0,96
Adiposidade corporal				
Circunferência da cintura (cm)	84 (11 - 108)	93 (60 - 143)	88 (56 - 134)	0,21
Razão cintura-quadril	0,82 ± 0,08	0,82 ± 0,07	0,80 ± 0,09	0,69
Diâmetro abdominal sagital (cm)	21 (16 - 29)	21 (14 - 33)	20 (15 - 30)	0,93
Gordura corporal total (%)	42 (16 - 55)	43 (23 - 60)	40 (27 - 58)	0,74
Gordura ginoide (%)	45 (18 - 57)	49 (29 - 63)	48 (32 - 59)	0,8
Gordura androide (%)	46 (8 - 62)	45 (13 - 68)	42 (19 - 63)	0,76
Massa de tecido adiposo visceral (kg)	508 (5 - 2056)	494 (0 - 4119)	462 (12 - 2556)	0,89
Parâmetros bioquímicos				
Glicemia (mg/dl)	87 (75 - 104)	88 (70 - 109)	88 (79 - 103)	0,62
Hemoglobina glicada (mg/dl)	5,2 (4,9 - 5,6)	5,2 (4,5 - 6,3)	5,0 (4,6 - 58,0)	0,32
Insulinemia (mg/dl)	9,9 (1,2 - 33,0)	12,2 (3,7 - 56,2)	10,6 (4,0 - 108,8)	0,57
HOMA-IR	2,27 (0,24 - 7,24)	2,59 (0,82 - 15,10)	2,22 (0,84 - 27,66)	0,52
LDL (mg/dl)	98 ± 17	102 ± 30	99 ± 35	0,88
HDL (mg/dl)	55,7 ± 13,6	55,3 ± 13,6	51,8 ± 12,7	0,57
Colesterol (mg/dl)	171,1 ± 19,5	174,7 ± 28,7	164,9 ± 37,2	0,47
Triglicerídeos (mg/dl)	75 (41 - 226)	93 (30 - 310)	69 (38 - 112) ^b	0,01
Avaliação da ativação do BAT				
AUC Tempsup (°C)	4089 ± 97	4091 ± 79	4077 ± 72	0,81
Tempmáx (°C)	35,2 (32,2 - 35,4)	34,8 (33,0 - 36,0)	34,7 (32,9 - 35,4)	0,39
Distribuição dos fenótipos cardiometabólicos				
Peso normal metabolicamente saudável	5 (13,2%)	23 (60,5%)	10 (26,3%)	
Obesidade metabolicamente saudável	4 (14,3%)	18 (64,3%)	6 (21,4%)	0,99
Obesidade metabolicamente não saudável	3 (20,0%)	8 (53,3%)	4 (26,7%)	

**Teste de Kruskal Wallis, ANOVA e Teste exato de Fisher. Variáveis com distribuição normal estão apresentadas por média e desvio padrão (DP) e sem distribuição normal por mediana e valores mínimos e máximos. HDL: lipoproteínas de alta densidade, do inglês "high density lipoproteins". BAT: Tecido adiposo marrom, do inglês "brown adipose tissue". AUC: área abaixo da curva; Temp: temperatura; b: diferença estatisticamente significativa entre os grupos c e b (matutino e intermediário, respectivamente).*

Ao realizar as análises de correlação entre o escore do cronotipo com as variáveis antropométricas, bioquímicas e de ativação do tecido adiposo marrom, observou-se que os níveis de triglicerídeos ($p= 0,05$; $r= -0,216$) e colesterol total ($p= 0,02$; $r= -0,251$) se correlacionaram negativamente com o escore de cronotipo, conforme apresentado na Tabela 2. Assim sendo, quanto menor o escore do cronotipo (quanto mais vespertino), maior é o valor dos triglicerídeos e do colesterol. Os resultados apresentados são corroborados pela literatura, que vem afirmando que escores mais baixos de cronotipo (mais

vespertinos) apresentam maiores riscos de desenvolverem doenças cardiometabólicas, sendo evidenciado por alterações na glicemia, hemoglobina glicada, colesterol-LDL e triglicerídeos (17).

Tabela 2 - Correlação entre escore do cronotipo com variáveis de adiposidade corporal, parâmetros bioquímicos e ativação do tecido adiposo marrom.

Variáveis	Escore do cronotipo (n=81)	
	r	p
Idade (anos)	0,032	0,77
Índice de massa corporal (kg/m ²)	0,620	0,58
Frequência cardíaca (bpm)	-0,015	0,89
Pressão arterial sistólica (mmHg)	-0,047	0,67
Pressão arterial diastólica (mmHg)	-0,078	0,49
Adiposidade corporal		
Circunferência da cintura (cm)	0,095	0,40
Razão cintura-quadril	-0,045	0,69
Diâmetro abdominal sagital (cm)	0,025	0,83
Gordura corporal total (%)	0,077	0,49
Gordura ginoide (%)	0,069	0,53
Gordura androide (%)	0,061	0,58
Massa de tecido adiposo visceral (kg)	0,057	0,61
Parâmetros bioquímicos		
Glicemia (mg/dl)	0,073	0,51
Hemoglobina (mg/dl)	-0,132	0,24
Insulinemia (mg/dl)	0,060	0,59
HOMA-IR	0,062	0,58
LDL (mg/dl)	-0,111	0,32
HDL (mg/dl)	-0,090	0,37
Colesterol total (mg/dl)	-0,251	0,02
Triglicerídeos (mg/dl)	-0,216	0,05
Avaliação da ativação do BAT		
AUC Tempsup (°C)	-0,004	0,97
Tempmáx (°C)	-0,085	0,46

*Teste de correlação de Spearman. HDL: lipoproteínas de alta densidade, do inglês "high density lipoproteins". BAT: Tecido adiposo marrom, do inglês "brown adipose tissue". AUC: área abaixo da curva; Temp: temperatura.

Não houve diferença significativa entre os fenótipos cardiometabólicos e o escore do cronotipo, conforme apresentado na Tabela 3. A literatura sugere que baixas pontuações de cronotipos (mais vespertinos) estão mais associados a componentes da síndrome metabólica, como maior circunferência da cintura devido à adiposidade visceral e marcadores bioquímicos de inflamação subclínica (18, 19), sendo esta a hipótese inicial do presente estudo. No entanto, tal hipótese não foi confirmada estatisticamente. É importante ressaltar que o presente estudo apresenta limitações como a amostra não ser heterogênea, em que voluntárias classificadas no fenótipo de obesidade metabolicamente não saudável não apresentam grandes alterações metabólicas, ou seja, podendo ambos os grupos com obesidade não serem heterogêneos e apresentarem características semelhantes quanto aos parâmetros metabólicos. Além disso, a avaliação de apenas mulheres na menacme dificulta que os dados obtidos no estudo sejam extrapolados para a população geral.

Tabela 3 - Associação entre escore do cronotipo com os fenótipos cardiometabólicos.

Variáveis	Escore do cronotipo (n=81)	p
Peso normal metabolicamente saudável (n=38)	52,5 (29,0 – 66,0)	
Obesidade metabolicamente saudável (n=28)	53,0 (32,0 – 67,0)	0,585
Obesidade metabolicamente não saudável (n=15)	50,0 (28,0 – 61,0)	

*Teste de Kruskal-Wallis.

CONCLUSÃO

O cronotipo não se associou com a ativação do tecido adiposo marrom e com os diferentes fenótipos de saúde cardiometabólica. No entanto, foi demonstrado que indivíduos com cronotipo intermediário apresentaram maiores níveis de triglicerídeos que os matutinos. Estudos com amostras populacionais maiores e mais heterogêneas podem trazer evidências científicas capazes contribuir para a melhor compreensão da fisiopatologia da obesidade, considerando a atuação do tecido adiposo marrom conforme a atividade do ciclo circadiano de cada indivíduo, manifestado pelo perfil de cronotipo e pela saúde cardiometabólica, de acordo com o fenótipo apresentado.

BIBLIOGRAFIA

1. Kuhlman SJ, Craig LM, Duffy JF. *Introduction to Chronobiology*. Cold Spring Harb Perspect Biol. 2018.
2. Poggiogalle E, Jamshed H, Peterson CM. *Circadian regulation of glucose, lipid, and energy metabolism in humans*. **Metabolism**. 2018.
3. Bauducco S, Richardson C, Gradisar M. *Chronotype, circadian rhythms and mood*. **Curr Opin Psychol**. 2020.
4. Almoosawi S, Vingeliene S, Gachon F, et al. *Chronotype: Implications for Epidemiologic Studies on ChronoNutrition and Cardiometabolic Health*. **Adv Nutr**. 2019
5. Lucassen EA, Zhao X, Rother KI, et al. *Evening chronotype is associated with changes in eating behavior, more sleep apnea, and increased stress hormones in short sleeping obese individuals*. **PLoS One**. 2013
6. Brondani L de A, Assmann TS, Duarte GCK, Gross JL, Canani LH, Crispim D. *The role of the uncoupling protein 1 (UCP1) on the development of obesity and type 2 diabetes mellitus*. **Arq Bras Endocrinol Metab**. 2012.
7. Straat ME, Hogenboom R, Boon MR, Rensen PCN, Kooijman S. *Circadian control of brown adipose tissue*. **Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids**. 2021.
8. Standards of Medical Care in Diabetes—2016 Abridged for Primary Care Providers. In: (Ed.). *Clin Diabetes*, v.34, 2016. p.3-21. ISBN 0891-8929 (Print)1945-4953 (Electronic)
9. BRASIL. Mônica de Oliveira. **Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia** (comp.). Síndrome Metabólica. 2021. Disponível em: <https://www.endocrino.org.br/sindrome-metabolica/>. Acesso em: 10 jul. 2023.
10. Cypess AM, Lehman S, Williams G, et al. Identification and importance of brown adipose tissue in adult humans. **N Engl J Med**. 2009;360(15):1509-1517. doi:10.1056/NEJMoa0810780
11. Mayoral LP, Andrade GM, Mayoral EP, et al. Obesity subtypes, related biomarkers & heterogeneity. **Indian J Med Res**. 2020.
12. Benedito-Silva AA, Menna-Barreto L, Marques N, Tenreiro S. A self-assessment questionnaire for the determination of morningness-eveningness types in Brazil. **Prog Clin Biol Res**, 1990.
13. Horne JA, Ostberg O. *A self-assessment questionnaire to determine morningness-eveningness in human circadian rhythms*. **Int J Chronobiol**. 1976.
14. Marlatt KL, Ravussin E. Brown Adipose Tissue: an Update on Recent Findings. **Curr Obes Rep**. 2017.
15. Zuraikat FM, St-Onge MP, Makarem N, Boege HL, Xi H, Aggarwal B. *Evening Chronotype Is Associated with Poorer Habitual Diet in US Women, with Dietary Energy Density Mediating a Relation of Chronotype with Cardiovascular Health*. **J Nutr**. 2021.
16. Van Marken Lichtenbelt, W. D., Vanhommerig, J. W., Smulders, N. M., Drossaerts, J. M., Kemerink, G. J., Bouvy, N. D., Schrauwen, P., & Teule, G. J. *Cold-activated brown adipose tissue in healthy men*. **The New England journal of medicine**, 2009.
17. Lotti S, Pagliai G, Colombini B, Sofi F, Dinu M. *Chronotype Differences in Energy Intake, Cardiometabolic Risk Parameters, Cancer, and Depression: A Systematic Review with Meta-Analysis of Observational Studies*. **Adv Nutr**. 2022.
18. Torres-Castillo N, Martinez-Lopez E, Vizmanos-Lamotte B, Garaulet M. *Healthy Obese Subjects Differ in Chronotype, Sleep Habits, and Adipose Tissue Fatty Acid Composition from Their Non-Healthy Counterparts*. **Nutrients**. 2021.
19. Moein Askarpour; yarizadeh yarizadeh; Niloofar Rasaei; Negin Badrooj; Kurosh Djafarian; Khadijeh Mirzaei. "The Possible Association Between Circadian Rhythm Chronotypes and Unhealthy Metabolic Phenotypes in Overweight/ Obese Women". **Journal of Iranian Medical Council**, 2019.