



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS**  
**FACULDADE DE CIÊNCIAS APLICADAS**

**SABRINA KAREN REIS**

**“EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO COM L-GLUTAMINA NOS NÍVEIS  
SÉRICOS DE HORMÔNIOS RELACIONADOS AO METABOLISMO  
ENERGÉTICO EM INDIVÍDUOS COM SOBREPESO E OBESIDADE”**

**LIMEIRA  
2014**





**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS**  
**FACULDADE DE CIÊNCIAS APLICADAS**

**SABRINA KAREN REIS**

**“EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO COM L-GLUTAMINA NOS NÍVEIS  
SÉRICOS DE HORMÔNIOS RELACIONADOS AO METABOLISMO  
ENERGÉTICO EM INDIVÍDUOS COM SOBREPESO E OBESIDADE”**

Dissertação apresentada a Faculdade de Ciências Aplicadas da Universidade Estadual de Campinas como parte dos requisitos exigidos para obtenção do Título de Mestra em Ciências da Nutrição e do Esporte e Metabolismo, na área de Nutrição.

*Orientador(a):* PROF(a). DR(a). PATRICIA DE OLIVEIRA PRADA

ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO  
FINAL DA DISSERTAÇÃO DEFENDIDA PELA  
ALUNA SABRINA KAREN REIS, E ORIENTADA  
PELA PROF(a) DR(a) PATRICIA DE OLIVEIRA PRADA

ASSINATURA DO(A) ORIENTADOR(A)

**LIMEIRA**  
**2014**

Ficha catalográfica  
Universidade Estadual de Campinas  
Biblioteca da Faculdade de Ciências Aplicadas  
Sueli Ferreira Júlio de Oliveira - CRB 8/2380

R277e Reis, Sabrina Karen, 1989-  
Efeitos da suplementação com l-glutamina nos níveis séricos de hormônios relacionados ao metabolismo energético em indivíduos com sobrepeso e obesidade / Sabrina Karen Reis. – Campinas, SP : [s.n.], 2014.

Orientador: Patricia de Oliveira Prada.  
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Ciências Aplicadas.

1. Obesidade. 2. Glutamina. 3. Resistência à insulina. 4. Hormônios (metabolismo). I. Prada, Patricia de Oliveira. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Aplicadas. III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

**Título em outro idioma:** Effects of supplementation with l-glutamine in the serum levels of hormones related to energy metabolism overweight and obesity people

**Palavras-chave em inglês:**

Obesity

Glutamine

Insulin Resistance

Hormones (metabolism)

**Área de concentração:** Nutrição

**Titulação:** Mestra em Ciências da Nutrição e do Esporte e Metabolismo

**Banca examinadora:**

Patricia de Oliveira Prada [Orientador]

Alexandre Gabarra de Oliveira

Rosângela Maria Neves Bezerra

**Data de defesa:** 30-07-2014

**Programa de Pós-Graduação:** Ciências da Nutrição e do Esporte e Metabolismo

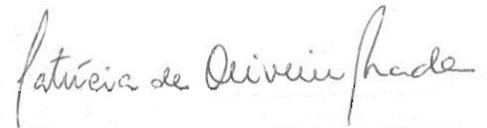
## **BANCA EXAMINADORA**

Discente Sabrina Karen Reis

Orientadora Patrícia de Oliveira Prada

### **Membros:**

Profa. Dra. Patrícia de Oliveira Prada (Orientadora)



Prof. Dr. Alexandre Gabarra de Oliveira



Assinatura

Profa. Dra. Rosângela Maria Neves Bezerra



Assinatura

Curso de Pós – Graduação em Ciências da Nutrição e do Esporte e Metabolismo da  
Faculdade de Ciências Aplicadas da Universidade Estadual de Campinas

**LIMEIRA  
2014**



## RESUMO

Obesidade está associada à inflamação crônica de baixo grau e ao desenvolvimento da resistência à insulina. A suplementação com L-glutamina tem sido utilizada para reduzir a inflamação em pacientes críticos. No entanto, os efeitos da suplementação deste aminoácido em doenças inflamatórias de baixo grau, como a obesidade, ainda não foram investigados. Por tanto o objetivo do presente estudo foi investigar se a suplementação oral com L-glutamina altera a massa corporal, circunferência da cintura, sensibilidade à insulina e os níveis séricos de hormônios relacionados ao metabolismo energético em indivíduos com sobrepeso e obesidade. Foi realizado um estudo clínico randomizado, simples cego com 67 voluntários adultos do Hospital Estadual de Sumaré (HES), classificados com sobrepeso (IMC 25 a 29,9 kg/m<sup>2</sup>) ou obesidade (IMC ≥ 30). Os indivíduos foram suplementados com 30 g/dia de glutamina ou alanina durante 14 dias. Os níveis séricos de insulina, leptina, adiponectina e GLP-1 foram avaliados no período pré e pós-suplementação, pelo método de ELISA. A glicose sérica foi avaliada pelo método da glicose oxidase. O índice de HOMA foi calculado. A massa corporal, o índice de massa corporal (IMC), a circunferência da cintura e o recordatório alimentar de 24 horas, também, foram avaliados pré e pós-suplementação. A suplementação oral com L-glutamina não alterou a massa corpórea e o IMC, no entanto reduziu a circunferência da cintura e os níveis séricos de leptina, sugerindo uma diminuição na massa adiposa. Não houve diferença significativa nos níveis séricos de glicose, adiponectina e GLP-1. Entretanto, houve uma redução nos níveis séricos de insulina e índice de HOMA, sugerindo uma redução na inflamação de baixo grau e uma melhora na sensibilidade à insulina. Os dados obtidos sugerem que a suplementação oral com L-glutamina em um curto período de tempo pode reduzir a massa adiposa de indivíduos com sobrepeso e obesidade. Essa redução refletiu nos níveis séricos de leptina e provavelmente nos níveis séricos de insulina, melhorando a sensibilidade à insulina. Por tanto, a suplementação com L-glutamina pode tornar-se uma abordagem terapêutica interessante para os indivíduos com sobrepeso e obesidade.

**Palavras-Chave:** Obesidade, Glutamina, Resistência a Insulina, Hormônios (metabolismo)



## ABSTRACT

Obesity is associated with low-grade inflammation and insulin resistance. Glutamine supplementation has been used to reduce inflammation in critically ill patients. However, the effects of glutamine supplementation were not yet investigated in diseases with low-grade inflammation such as obesity. Previous data showed that glutamine supplementation reduced inflammation, adipose mass and improved insulin sensitivity of obese rats. Thus, the aim of this study was to investigate whether oral glutamine supplementation alters body weight (BW), waist circumference (WC) and hormones levels and insulin sensitivity in overweight and obese humans. A randomized clinical trial, single blind with 67 adult volunteers from the State Hospital of Sumaré (HES), classified as being overweight (IMC 25 a 29,9 kg/m<sup>2</sup>) or obese (IMC  $\geq$  30) was performed. The subjects were supplemented with 30 g / day glutamine or alanine for 14 days. Serum levels of insulin, leptin, adiponectin and GLP-1 were evaluated before and after supplementation, by ELISA. Serum glucose was measured by glucose oxidase method. The HOMA index was calculated. The body weight, body mass index (BMI), waist circumference and 24-hour food record were also evaluated before and after supplementation. Glutamine supplementation did not change BW and BMI, however, reduced WC and serum leptin levels, suggesting a decrease in fat mass. Glutamine supplementation I did not alter serum adiponectin, GLP-1 and glucose levels. However, was reduced insulin levels and HOMA index, suggesting a reduction in low-grade inflammation associated with an improvement of insulin sensitivity. The data suggest that oral supplementation with L-glutamine in a short period of time can reduce fat mass in overweight and obese individuals. This reduction reflected in serum leptin levels and probably in serum insulin levels, improving insulin sensitivity. Thus, glutamine supplementation may become an interesting therapeutic approach for individuals with overweight and obesity.

**Keywords:** Obesity, Glutamine, Insulin Resistance, Metabolism (Hormones)



## SUMÁRIO

<b>LISTA DE ILUSTRAÇÕES</b> .....	xvii
<b>LISTA DE ANEXOS E APÊNDICES</b> .....	xix
<b>LISTA DE ABREVIÇÕES</b> .....	xxi
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	1
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	7
2.1 Objetivos Específicos .....	7
<b>3. CASUÍSTICAS E MÉTODOS</b> .....	8
3.1 – Aspectos Éticos .....	8
3.2 – Amostra .....	8
3.2.1 – Critérios de Inclusão .....	8
3.2.2 – Critérios de Exclusão .....	9
3.3– Desenho Experimental .....	9
3.3.1– Anamnese (Questionário sobre os dados pessoais) .....	9
3.3.2 Antropometria .....	9
3.3.3 Avaliação Dietética.....	10
3.3.4 – Coleta de Sangue .....	10
3.5 – Suplementação oral com L-glutamina.....	11
3.6 – Determinação dos Parâmetros Séricos .....	11
3.6.1 – Glicose Sérica.....	11
3.6.2 – Insulina, leptina, Adiponectina e GLP-1.....	12
3.6.3 – Resistência à Insulina .....	12
3.7 - Análise Estatística dos Dados .....	12
<b>4. RESULTADOS</b> .....	14
4.1 Dados demográficos e antropométricos pré e pós suplementação.....	14
4.2 Dados Bioquímicos .....	15
4.2.1 Níveis Séricos de Jejum de Glicose e Insulina e Índice de Homa .....	15
4.2.2. Níveis Séricos de GLP-1, Adiponectina e Leptina .....	17
4.3 Dados de Ingestão Alimentar.....	18
<b>5. DISCUSSÃO</b> .....	19
<b>6. CONCLUSÃO</b> .....	22
<b>7. REFERÊNCIAS</b> .....	23
<b>8. ARTIGO</b> .....	27



## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente a Deus por toda sua Graça em minha vida. Agradeço por Ele ter me guiado e me fortalecido nos momentos tão difíceis.

Agradeço aos meus pais, César e Sônia, e meu irmão, Caio, pelo amor, incentivo e perseverança em todos esses anos.

Ao meu namorado, Victor Petri pela paciência, carinho, compreensão, incentivos, auxílios e aconchego nos períodos conturbados do mestrado. Agradeço principalmente por seu amor e seu exemplo de dedicação, motivação, fé e perseverança. Muito obrigada!

À minha querida amiga Carla Bueno com quem aprendi muito nesses anos. Pela sua colaboração fiel durante o desenvolvimento de todo o trabalho. Pelos momentos de dificuldades e desânimo. Pelas discussões científicas, filosóficas, sobrenaturais, e conversas aleatórias que tornaram o dia-dia mais alegre no ambiente de trabalho.

À casa das meninas: Naara, Gabriela Souza, Gabriela Silva, Beatriz, Flávia, Maíra, Gizele, Esther, Bárbara, Bruna, Karol, Ana, Rot, Ruth, Priscila, Aline e Ellie por todo apoio, paciência e compreensão nos momentos difíceis, momentos de tristeza e nervoso. Pela amizade e por toda alegria que trouxeram em minha vida nesses últimos anos.

À Rebeca e Larissa pela amizade, apoio, incentivo e conversas confortantes.

Ao pessoal da casa Céu, em especial, Grande Jesus, Thomas e Bruninha pelo apoio incondicional nos últimos dias e conversas aleatórias sobre a vida.

À Aline Caris e Marília, que mesmo distantes sempre estiveram me apoiando, auxiliando, orientando e aconselhando.

À Suely pelo apoio psicológico reforçado e conversas profundas. Por agüentar minhas queixas e dificuldades.

À Kahlile e Fabiana, amigas e companheiras de trabalho, as quais foram fundamentais para a realização do mesmo. Pela luta, apoio e perseverança frente aos obstáculos encontrados.

À professora Patrícia Prada por aceitar a me orientar

À Sandrinha, técnica do laboratório, a qual se disponibilizou a ajudar nos experimentos. Pela sua paciência, disposição, amizade e dedicação ao trabalho.

Aos colegas do laboratório: Gisele, Giovanna, Nathalia, Thayana, Wagner, Carlos, Luciana e Alessandra pelas conversas, discussões científicas e aprendizado técnico.

Aos funcionários do laboratório de investigação clínica em resistência á insulina (LICRI) Dioze, Luís, Jósimo, pela atenção e o apoio técnico.

Ao CNPq e FAPESP, pelo apoio financeiro para a execução desse projeto.

*“Ponha Deus no início e ele cuidará do fim”*

*“Seja forte e corajoso! Não se apavore, nem desanime, pois o Senhor, o seu Deus, estará com você por onde você andar.”*

*(Josué 1:9)*

*“Talvez não tenhamos feito o melhor, mas lutamos para que o melhor fosse feito. Não somos o que queremos ser, nem somos o que iremos ser, mas Graças a Deus, não somos o que éramos.”*

*(Martin L. King)*



## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1.</b> Dados antropométricos .....	14
<b>Tabela 1.</b> Dados demográficos e antropométricos .....	15
<b>Figura 2.</b> Glicemia, insulinemia e avaliação da sensibilidade à insulina.....	16
<b>Figura 3.</b> Hormônios Metabólicos .....	17
<b>Tabela 2.</b> Ingestão de Macronutrientes.....	18



## LISTA DE APÊNDICES E ANEXOS

<b>APÊNDICE I.</b> Anamnese .....	51
<b>APÊNDICE II.</b> Medidas Antropométricas .....	53
<b>ANEXO 1.</b> Comitê de Ética em Pesquisa.....	54
<b>ANEXO 2.</b> Comitê de Ética do Hospital Estadual de Sumaré (HES).....	57
<b>ANEXO 3.</b> Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) .....	59



## LISTA DE ABREVIações

**AA** - Aminoácido

**GLP-1** – Glucagon – Like Peptide 1

**GLP-1R** – Receptores de GLP-1

**G-6-Pase** – Glucose - 6 - Phosphatase

**GFAT** - Glutamina:frutose-6-fosfato amidotransferase

**HES** - Hospital Estadual de Sumaré

**IMC** - Índice de Massa Corporal

**IR** – Receptor de Insulina

**IRS** – Substrato do Receptor de Insulina

**IRS1** – Substrato do Receptor de Insulina 1

**IRS2** - Substrato do Receptor de Insulina 2

**ObRb** - Ob Receptor b (Receptor de leptina)

**O-Glut** - Grupo Obeso Suplementado com Glutamina

**O-Ala** - Grupo Obeso Suplementado com Alanina

**NTS** - Núcleo do Trato Solitário

**PEPCK** – Fosfoenolpiruvato Carboxiquinase

**S-Ala** - Grupo Sobrepeso Suplementado com Alanina

**S-Glut** - Grupo Sobrepeso Suplementado com Glutamina

**SNC** - Sistema Nervoso Central

**TCLE** - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

**VBH** - Via de biosíntese de hexosamina



# 1. INTRODUÇÃO

## **Obesidade e Resistência à insulina**

A obesidade é caracterizada pelo acúmulo excessivo de lipídios no tecido adiposo e outros órgãos e está associada com o aumento da mortalidade devido a suas comorbidades, como diabetes mellitus tipo 2, doenças cardiovasculares, e alguns tipos de câncer (Kopelman, 2000).

Evidências sugerem que a prevalência da obesidade tem evoluído em dados alarmantes nas últimas três décadas (Pereira et al., 2003; IASO, 2010). Esse aumento drástico em um curto período de tempo é característico de uma epidemia de grandes proporções, sendo tal enfermidade reconhecida como um dos maiores problemas de saúde pública da atualidade (Hill et al., 2003) devido ao alto custo despendido em seu tratamento (Ktveladze et al., 2013 ; Malik et al., 2013). O excesso de peso é a quinta principal doença causadora de morte no mundo. Aproximadamente 2,8 milhões de adultos morrem a cada ano em decorrência desta doença e suas comorbidades (Popkin et al., 2012).

Estatísticas atuais revelam que a incidência da obesidade no mundo dobrou entre 1990 (homens: 4,8% e mulheres: 7,9%) e 2008 (homens: 9,8% e mulheres: 13,8%). Aproximadamente 1,5 bilhões de pessoas estão com sobrepeso e cerca de 500 milhões são obesas. Esse problema não só afeta os adultos, pois estima-se que 200 milhões de crianças e adolescentes apresentam excesso de peso, dos quais cerca de 40 a 50 milhões são classificados como obesos (WHO, 2013). Projeções futuras para o ano de 2025 indicam que o aumento mundial do número de pessoas adultas com excesso de peso e obesidade aumentará para 3 bilhões e 700 milhões respectivamente (James, 2008).

Especula-se que o excesso de peso tem aumentado em decorrência de alterações profundas no estilo de vida, no padrão alimentar e na atividade física. A maior disponibilidade de alimentos a baixo custo, o aumento em recreação sedentária (TV, vídeo games, computadores), o trabalho moderno menos árduo e o aumento da importação de alimentos processados são fatores que promoveram a diminuição da

atividade física e a substituição das dietas tradicionais, compostas por grãos e vegetais, por refeições ricas em gordura (principalmente de gorduras saturadas) e açúcar (Kearney, 2010, Popkin et al., 2012; Malik et al., 2013).

O impacto negativo do aumento da quantidade de gordura corporal sobre a sensibilidade à insulina pode ser claramente demonstrado na maioria dos indivíduos, assim como a redução da resistência à insulina observada com a perda de peso e o exercício físico (Hill, 2005). Vários tecidos sensíveis à insulina, particularmente o tecido adiposo, tem infiltração de células inflamatórias e exibem um estado de inflamação crônica de baixo grau (Gregor, 2011). Muitos mediadores inflamatórios ativados na obesidade podem desencadear inibição do sinal de insulina em tecidos, levando à resistência à insulina (Hotamisligil, 2003).

Na resistência à insulina em tecidos periféricos há redução da captação de glicose e aumento da gliconeogênese hepática com maior produção hepática de glicose, por conseguinte elevados níveis de glicemia (Hotamisligil, 2006).

## **Leptina**

Além de servir como estoque de lipídios, a célula adiposa produz e secreta diversos hormônios, chamados coletivamente de adipocinas, as quais podem influenciar profundamente o metabolismo e o gasto energético (Mark, 2013). Um destes hormônios é a leptina.

A leptina, um polipeptídeo produzido predominantemente pelo tecido adiposo branco, é secretada na circulação sangüínea em relação proporcional e direta à massa corporal. O seu armazenamento nestas células é considerado insignificante, visto que é, praticamente, toda secretada para o sangue (Huang e Li 2000). Uma vez na circulação, ela se liga a receptores específicos (Ob-Rb), no cérebro e é capaz de exercer sua função biológica na manutenção do balanço energético (Mark, 2013).

Considerada como o principal hormônio adipostático, a leptina desempenha a função de informar o sistema nervoso central a respeito da quantidade de energia estocada e, assim, suprimir a ingestão alimentar e induzir o gasto energético através da termogênese. A modulação da homeostase energética promovida pela leptina se dá por

meio do mecanismo de *feedback* negativo (Mark, 2013).

Os efeitos metabólicos da leptina observados em camundongos sugerem que ela atue como um hormônio anti-obesidade promotor de saciedade. Entretanto, a obesidade, tanto em humanos quanto em roedores, é caracterizada por níveis elevados de leptina circulante. A hiperleptinemia associada à obesidade seja consequência de um estado de resistência à leptina (Flier, 2004).

A resistência à insulina caracteriza estados de deficiência ou resistência graves à leptina, como os camundongos ob/ob (que não expressam leptina) ou db/db (com mutação inativadora do receptor longo da leptina), ou modelos genéticos de diabetes lipoatrófico. Em alguns desses, a administração de leptina exógena melhora a tolerância à glicose e a sensibilidade à insulina independentemente dos efeitos na ingestão alimentar (Hotamisligil, 2006).

Em humanos, a deficiência congênita de leptina ou mutações no seu receptor ocorrem em casos extremamente raros. Além disso, a eficácia do tratamento da obesidade humana com leptina é limitada (Morris, et al., 2009).

### **Adiponectina**

Ao contrário da leptina, a produção de adiponectina, ocorre inversamente proporcional à massa corporal. Ela é produzida pelo tecido adiposo branco e marrom, e tem efeitos que estimulam a  $\beta$ -oxidação em hepatócitos e diminuem a expressão de fatores de transcrição que regulam a expressão de genes codificantes de síntese lipídica. Além disso, contribui para a diminuição da produção de glicose hepática, reduzindo a expressão RNAm de duas enzimas essenciais para a gliconeogênese: fosfoenolpiruvato carboxiquinase (PEPCK) e a glicose-6-fosfatase (G-6Pase) (Maury, 2010). Desse modo, atua no aumento da sensibilidade à insulina e redução dos níveis séricos de ácidos graxos livres no plasma.

A concentração plasmática de adiponectina está reduzida em humanos obesos e/ou diabéticos, em camundongos ob/ob, em camundongos db/db alimentados com dieta hiperlipídica, em primatas durante as fases iniciais de desenvolvimento da resistência à insulina e em modelos de diabetes lipoatrófico.

## **GLP-1**

O hormônio GLP-1 é sintetizado e secretado principalmente pelas células L do intestino delgado distal, mas também por neurônios do núcleo do trato solitário (NTS).

Sua liberação ocorre em resposta à presença de nutrientes no trato gastrointestinal.

Receptores de GLP-1 (GLP-1R) são expressos em aferentes do nervo vago, células beta-pancreáticas e em neurônios promovem as respostas fisiológicas ao hormônio, incluindo: secreção de insulina estimulada por glicose e inibição do esvaziamento gástrico (Kanoski et al., 2011). Estudos clínicos demonstraram que o tratamento com liraglutide, que é um análogo potente de GLP-1, além de normalizar a glicemia e pressão sistólica reduziu o peso corpóreo em humanos, sugerindo que esta droga pode ser vantajosa no tratamento do paciente diabético e obeso (Knop e Visboll, 2007). Acredita-se que os efeitos do liraglutide na redução de peso sejam decorrentes de sua ação em receptores de GLP-1 (GLP-1R) expressos no sistema nervoso central (SNC), uma vez que a droga pode atravessar a barreira hemato-encefálica por difusão passiva (Irwin et., 2009). Estudo recente utilizando RNA de interferência para diminuir a expressão de GLP-1 no núcleo trato solitário provocou hiperfagia e acúmulo de gordura induzida por dieta rica em gordura, além de provocar intolerância à glicose (Barrera et al, 2011). Em outro estudo, glucagon associado com GLP-1 reduziu o peso corpóreo devido à menor ingestão alimentar em camundongos (Parker et al., 2013).

## **Glutamina**

Diante deste contexto, inúmeros estudos estão surgindo com o objetivo de investigar nutrientes que possuam a capacidade de modular o metabolismo energético e assim atenuar ou prevenir as conseqüências da obesidade. Dentre tais nutrientes, a glutamina tem despertado interesse devido as suas funções benéficas ao organismo.

A homeostase da glutamina depende do balanço entre sua produção e sua utilização pelos diferentes tecidos e órgãos do corpo. Em condições fisiológicas normais, sua concentração plasmática é mantida em um nível constante, no entanto,

quando a demanda é maior que a produção, como, por exemplo, em condições de traumas, estresse, septicemia, câncer e esforço físico intenso (estados catabólicos) é necessária sua suplementação.

Dentre os órgãos envolvidos na sua síntese estão o músculo esquelético, pulmões, fígado, cérebro e possivelmente o tecido adiposo, que apresentam atividade da enzima glutamina-sintetase. Trata-se do AA livre mais abundante no plasma e no tecido muscular, que desempenha função no sistema imune, balanço ácido- básico, transporte de amônia entre os tecidos, doação de esqueleto de carbono para gliconeogênese, síntese de nucleotídeos e indução da expressão gênica de uma ampla variedade de proteínas (Parry-Billings et al., 1992). A glutamina é rapidamente consumida pelo organismo, principalmente por células de divisão rápida, tais como enterócitos, macrófagos, linfócitos e leucócitos, para fornecer energia (Newsholme et al., 2003).

Estudos demonstraram que durante condições de estresse ou doença crítica, a glutamina é considerada como um aminoácido “condicionalmente essencial”, com aumento da sua metabolização pelos rins, pelas células do sistema imune e da mucosa intestinal (Andrews e Griffiths, 2002). A glutamina previne a translocação bacteriana, contribuindo assim para a imunidade intestinal e quando administrada por via oral a elevadas doses protege o intestino durante a radioterapia e quimioterapia (Beutheu et al., 2013). Nestas condições sua adição à nutrição enteral e parenteral é benéfica para a manutenção da integridade intestinal. Por ter um efeito na inflamação sistêmica e na transdução de sinais, a glutamina tem sido aplicada de forma terapêutica para o tratamento de sepse e de doenças ligadas à inflamação (Andrews e Griffiths, 2002).

Um estudo conduzido por nosso grupo demonstrou que roedores em dieta hiperlipídica que receberam suplementação de glutamina por dois meses tiveram uma redução de 50% da massa adiposa que foi acompanhada pela melhora da sensibilidade à insulina em tecidos periféricos como fígado e músculo (Prada et al., 2007).

Em conjunto, estes estudos sugerem que a glutamina, quando suplementada oralmente, pode ter um efeito benéfico no metabolismo energético de animais com quadro de obesidade. Entretanto, ainda não foi estudado se a suplementação oral de glutamina pode alterar o peso corpóreo e massa adiposa, sensibilidade à insulina e

níveis de hormônios ligados ao metabolismo energético de indivíduos obesos e com sobrepeso.

## 2. OBJETIVOS

Investigar se a suplementação oral com L-glutamina pode alterar a massa corporal, circunferência da cintura, sensibilidade à insulina e os níveis séricos de hormônios ligados ao metabolismo energético de indivíduos com sobrepeso e obesidade

### 2.1 Objetivos Específicos

- ✓ Caracterizar antropometricamente (peso, índice de massa corpórea e circunferência de cintura) os funcionários do Hospital Estadual de Sumaré-SP classificados como obesos ( $IMC \geq 30$ ) ou com sobrepeso ( $IMC$  entre 25 e 29,9) pré e pós-suplementação oral com L-glutamina no período de 14 dias.
- ✓ Avaliar o consumo de macronutrientes (proteínas, carboidratos e lipídeos) dos indivíduos com sobrepeso e obesidade pré e pós-suplementação oral com glutamina.
- ✓ Analisar os níveis plasmáticos de leptina, insulina, adiponectina e GLP-1 em indivíduos com sobrepeso e obesidade pré e pós-suplementação oral com L-glutamina.
- ✓ Investigar a sensibilidade à insulina por meio do índice de HOMA em indivíduos com sobrepeso e obesidade pré e pós-suplementação oral com L-glutamina.

### **3. CASUÍSTICAS E MÉTODOS**

#### **3.1 – Aspectos Éticos**

Este estudo foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UNICAMP (anexo 1) e pelo Comitê de Ética do Hospital Estadual de Sumaré (HES) (anexo 2). Para participar do estudo os voluntários obtiveram todas as informações necessárias, inclusive a respeito das avaliações, assinando posteriormente um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (anexo 3).

#### **3.2 – Amostra**

Fizeram parte do estudo 67 funcionários voluntários do Hospital Estadual de Sumaré (Sumaré – São Paulo), tanto do sexo feminino como masculino. Os voluntários, de modo, randomizado, foram divididos em dois grupos; grupo dos obesos (com IMC  $\geq$  30) e o grupo dos sobrepesos (com IMC entre 25 e 29,9). Posteriormente, foram, ainda, divididos em dois subgrupos, grupo dos obesos suplementados com alanina ou glutamina e grupo sobrepeso suplementado com alanina ou glutamina.

##### **3.2.1 – Critérios de Inclusão**

- ✓ Idade entre 20 e 60 anos;
- ✓ Diagnóstico nutricional de sobrepeso ou obesidade (IMC entre 25 e 29,9 e IMC  $\geq$  30 Kg/m<sup>2</sup>, respectivamente);
- ✓ Não ser fisicamente ativo (fisicamente ativo = realizar exercício físico aeróbio no mínimo três vezes por semana, por pelo menos um ano);

### **3.2.2 – Critérios de Exclusão**

- ✓ Apresentar problemas de saúde (insuficiência renal) ou outros que pudessem influenciar nos resultados do estudo;
- ✓ Fazer uso de qualquer medicamento anorexigênicos, laxativos ou outros que pudessem interferir nos resultados do estudo;

### **3.3– Desenho Experimental**

No primeiro encontro com os voluntários, todas as informações relacionadas ao projeto foram apresentadas, tais como objetivos do estudo e procedimentos a que seriam submetidos nos dias subsequentes. Ao final das explicações, os voluntários tomaram ciência do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e o assinaram. Em seguida, foram submetidos aos procedimentos descritos a seguir.

#### **3.3.1– Anamnese (Questionário sobre os dados pessoais)**

Para identificação dos participantes, foi aplicado um questionário sobre dados pessoais: como características de saúde, padrão alimentar e atividade física. (Apêndice I).

#### **3.3.2 Antropometria**

Foram realizadas medidas de peso, estatura e de circunferência da cintura. A massa corporal foi obtida utilizando-se uma balança *Tanita UM – 080 ®* com capacidade de 150 kg e com precisão de 100g. Para a obtenção do valor da massa corporal os voluntários ficaram posicionados de forma ereta, no centro da balança, com peso igualmente distribuído entre os pés descalços, calcanhares juntos, com o mínimo de roupas possíveis, braços ao longo do corpo e olhar fixo no horizonte. Os dados de

estatura foram aferidos por meio do estadiômetro portátil da marca *Sanny*® com extensão até 2 metros e graduação em milímetros. O cursor horizontal do estadiômetro foi abaixado até o vértex da cabeça, comprimindo levemente o cabelo, com o indivíduo em expiração (Ministério da Saúde, 2004).

O Índice de Massa Corporal (IMC), obtido pela razão entre o valor do peso e da altura ao quadrado, foi utilizado para avaliar o estado nutricional dos indivíduos, conforme classificação da Organização Mundial de Saúde.

Também se realizou a aferição da medida da circunferência da cintura, já que esta tem forte associação com a quantidade de gordura visceral, diretamente relacionada com o desenvolvimento de resistência à insulina e de comorbidades associadas. Essa medida foi obtida por meio do posicionamento de uma fita métrica no ponto médio entre a última costela e a crista ilíaca, ao nível das vértebras L4 e L5. A classificação foi realizada de acordo com a Organização Mundial de Saúde (1997). (Apêndice II).

### **3.3.3 Avaliação Dietética**

Com objetivo de avaliar a alimentação dos voluntários, realizou-se uma coleta de dados dietéticos. Foi utilizado o método de inquérito alimentar (Apêndice III), a saber:

1) Recordatório 24 horas: realizado duas vezes durante o estudo (antes de iniciar a suplementação e ao término da mesma), com o propósito de definir e quantificar todos os alimentos e bebidas ingeridas nas 24 horas que antecederam a entrevista.

### **3.3.4 – Coleta de Sangue**

Para as coletas de sangue os voluntários tiveram que ficar em jejum por 8 horas. As coletas foram realizadas em dois momentos:

1. Antes de iniciar a suplementação
2. Após os 14 dias de suplementação

Tanto na primeira, como na segunda coleta foram coletados 24 ml de sangue

venoso. Após a coleta, o sangue foi imediatamente centrifugado a 1500 rpm, por 15 minutos a 4°C. Em seguida, o soro foi extraído, aliquotado e armazenado em *freezer* a -80°C para posteriores dosagens.

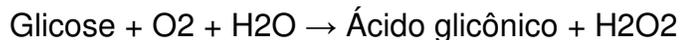
### **3.5 – Suplementação oral com L-glutamina**

Após a primeira coleta de sangue, os voluntários, de modo randomizado, receberam L- glutamina (30 g) para realização da suplementação por um período de 14 dias. O grupo controle recebeu suplementação de alanina na mesma proporção e no mesmo período. Além disso, os grupos foram orientados a manterem suas dietas e atividades habituais.

### **3.6 – Determinação dos Parâmetros Séricos**

#### **3.6.1 – Glicose Sérica**

A concentração de glicose foi determinada segundo o método enzimático-colorimétrico, utilizando-se *kits da BioSystems S.A.<sup>®</sup> (Costa Brava 30, Barcelona, Espanha)*, cujo princípio consiste na oxidação da glicose à ácido glicônico e peróxido de hidrogênio, reação catalisada pela glicose oxidase (GOD). Em seguida, o peróxido de hidrogênio formado reage com 4-aminoantipirina e fenol em um processo catalizado pela enzima peroxidase (POD) formando um complexo de cor vermelha (quinoneimina) cuja absorbância medida em 500 nm, em um espectrofotômetro, é diretamente proporcional à concentração de glicose na amostra.



A concentração de glicose na amostra foi calculada a partir da seguinte fórmula geral:

$$(\text{A Amostra} / \text{A Padrão}) \times \text{C Padrão} = \text{C Amostra}$$

### **3.6.2 – Insulina, leptina, Adiponectina e GLP-1**

A concentração de insulina, leptina e adiponectina sérica foi quantificada utilizando -se kits da Millipore® *Human Insulin Elisa Kit, Human Leptin Elisa Kit and Human Adiponectin Elisa Kit, Glucagon-Like Peptide 1 Active Elisa Kit (St. Charles, Missouri, Estados Unidos)*.

As análises foram realizadas seguindo as instruções específicas de cada Kit. No entanto, todos baseados no princípio da técnica de sanduíche direta, a qual consiste na captura de antígenos por anticorpos específicos impregnados na micro placa. O conjugado (anticorpo anti-antígeno marcado por uma enzima) interage com o antígeno capturado para proporcionar especificidade a reação (mudança de cor) . Em seguida, utilizando-se de um espectrofotômetro é realizada a leitura de intensidade da cor da superfície através do comprimento de onda (absorbância ou fluorescência), podendo assim detectar e quantificar a presença da substância de interesse.

### **3.6.3 – Resistência à Insulina**

A partir das medidas de glicemia e insulinemia de jejum foi realizado o teste de HOMA-IR (Homeostasis Model Assessment) descrito por Matthews e colaboradores (1995) para determinação da resistência à insulina (RI), de acordo com a equação:

$$RI = \text{insulina (mU/l)} \times \text{glicose (mmol/l)} / 22.5$$

### **3.7 - Análise Estatística dos Dados**

A análise do consumo de energia e nutrientes (carboidratos, proteínas e lipídeos) foi realizada por meio do software DIETPRO. Os valores foram apresentados em média e desvio padrão.

Foi realizada análise exploratória de dados, através das medidas da estatística descritiva. Para comparação da variação dos parâmetros avaliados foi utilizada ANOVA para fatores repetidos (ANOVA for repeated measures). As variáveis foram

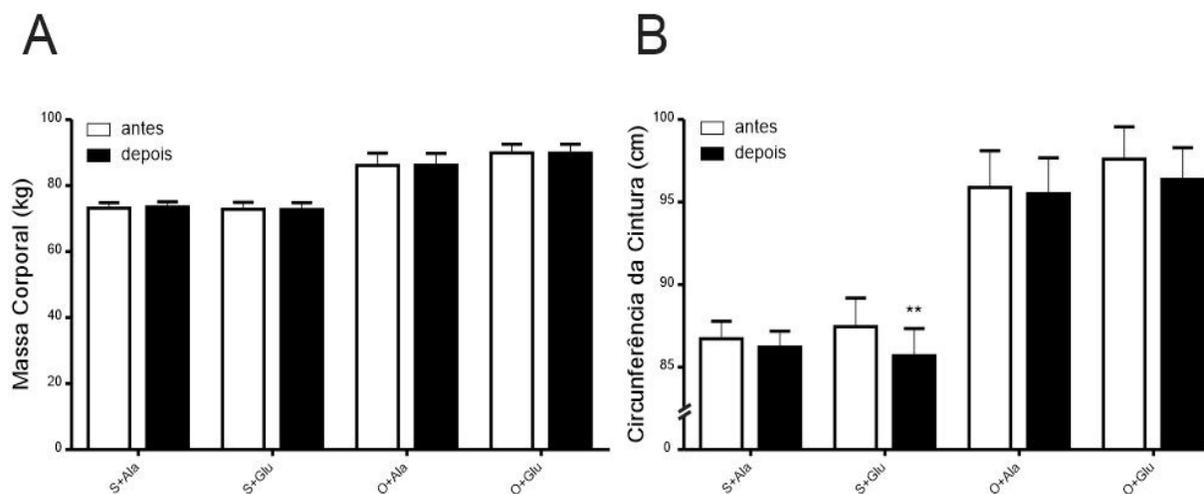
transformadas em postos (ranks) devido a ausência de distribuição normal. Para correlação entre peso e circunferência da cintura abdominal foi utilizado o coeficiente de correção Spearman. Para análise comparativa dos dados pré tratamento foi utilizado o teste de Mann – Whitney. O nível de significância adotado para o estudo foi  $p < 0,05$ .

## 4. RESULTADOS

### 4.1 Dados demográficos e antropométricos pré e pós suplementação

As características demográficas e antropométricas dos grupos controles (alanina) e dos grupos com glutamina estão resumidas na Tabela 1.

Não houve redução significativa na massa corporal dos indivíduos suplementados com glutamina ou alanina (figura 1-a). Conseqüentemente não houve alteração no índice de massa corpórea. Houve redução da circunferência da cintura em todos os grupos ( $p < 0, 05$ ), porém, essa redução foi maior nos grupos suplementados com glutamina (figura 1-b).



#### Figura 1. Dados Antropométricos

(A) Massa Corporal; (B) Circunferência da Cintura. Dados aferidos (pré) e (pós) suplementação com Glutamina (Glu) ou Alanina (Ala) em indivíduos com sobrepeso (S) ou obesidade (O) por 14 dias. Grupo S-Ala (N=14) e grupo S-Glu (N = 13). Grupo Obeso Glut (N= 28) e grupo O-Ala (N= 13). Barras expressas em média + desvio padrão. \*\*  $p < 0, 05$ .

	SOBREPESO				OBESIDADE			
	ALANINA		GLUTAMINA		ALANINA		GLUTAMINA	
	PRÉ	PÓS	PRÉ	PÓS	PRÉ	PÓS	PRÉ	PÓS
Idade	37.58 ± 9.05	-	39.14 ± 9.24	-	37.23 ± 7.42	-	39.46 ± 10.25	-
Sexo F/M	11 / 1	-	13 / 1	-	12 / 1	-	27 / 1	-
Massa Corporal	73.15 ± 5.62	73.47 ± 5.50	72.81 ± 7.73	72.68 ± 7.84	86.10 ± 13.27	86.12 ± 13.09	89.85 ± 14.21	89.81 ± 14.45
IMC	27.65 ± 1.66	27.72 ± 1.62	28.17 ± 1.06	28.14 ± 1.06	33.39 ± 2.78	33.40 ± 2.72	35.47 ± 5.01	35.43 ± 5.05
CC	86.71 ± 3.68	86.21 ± 3.35	87.45 ± 6.50	85.69 ± 6.15	95.88 ± 8.05	95.50 ± 7.84	97.60 ± 10.34	96.37 ± 10.17

**Tabela 1. Dados Demográficos e antropométricos**

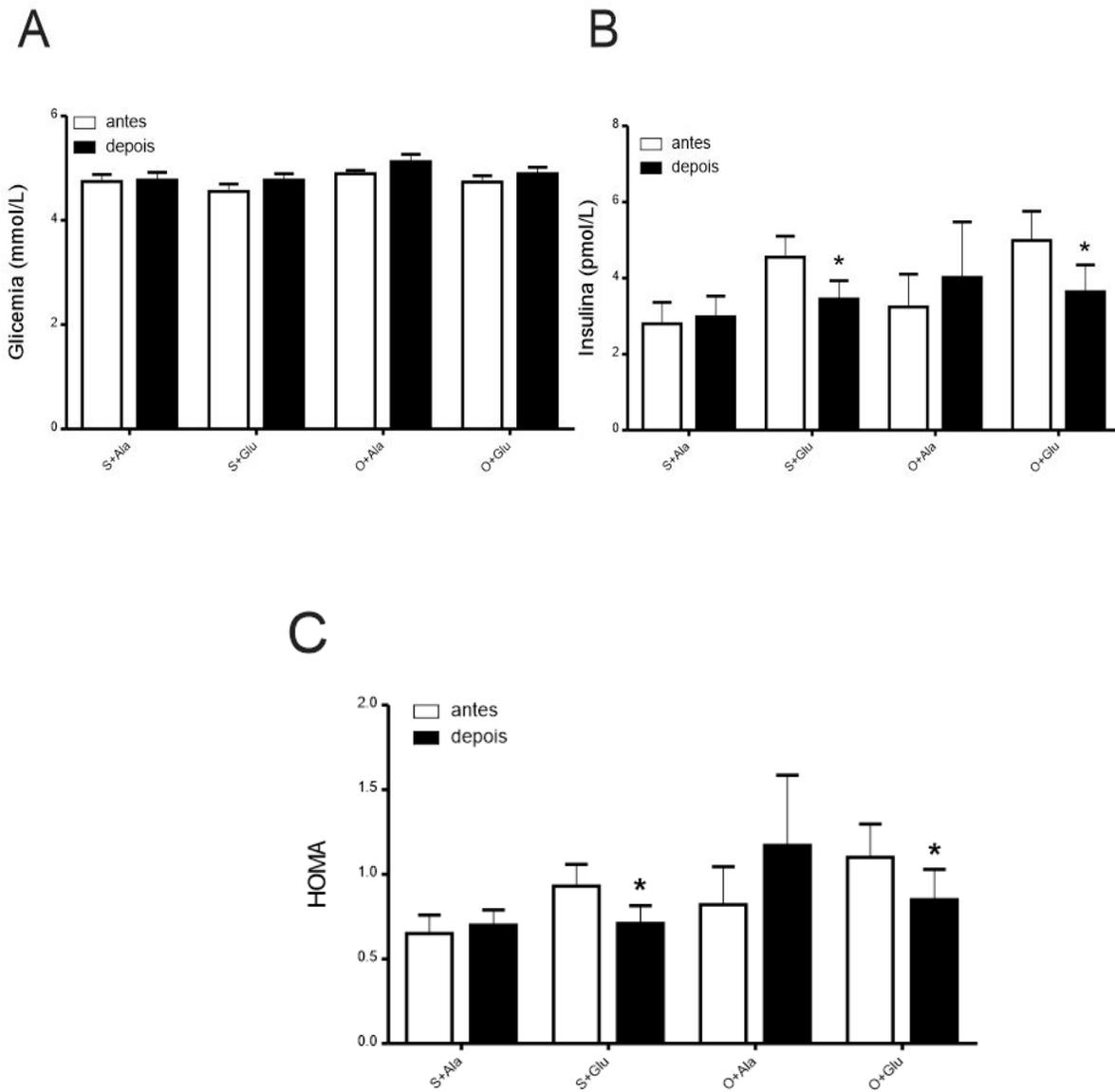
Dados aferidos (pré) e (pós) suplementação com Glutamina (Glut) ou Alanina (Ala) em indivíduos com sobrepeso (S) ou obesidade (O) por 14 dias. Dados expressos em média ± desvio padrão. IMC = Índice de Massa Corpórea. CC = Circunferência da Cintura.

## 4.2 Dados Bioquímicos

### 4.2.1 Níveis Séricos de Jejum de Glicose e Insulina e Índice de Homa

A glicose sérica de jejum não apresentou diferença significativa nos períodos avaliados quando comparados inter grupos (figura 2-a). Já a insulina sérica de jejum apresentou diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os tempos pré e pós e entre os suplementos. A média dos valores iniciais de insulina para o grupo O-Glu foi de  $4,99 \pm 4,07$  uU/ml, sendo estes valores reduzidos no pós suplementação para  $3,64 \pm 3,74$  uU/ml. No grupo S-Glut a redução foi de  $4,55 \pm 2,06$  para  $3,45 \pm 1,80$ . Em oposição, os grupos O-Ala e S-Ala, apresentaram uma tendência de elevação nos níveis séricos do hormônio,  $3,24 \pm 3,12$  para  $4,02 \pm 5,25$  e  $2,80 \pm 1,95$  para  $2,98 \pm 1,89$  uU/ml, respectivamente (figura 2-b).

Por meio do cálculo do índice de HOMA, observou-se uma melhora na sensibilidade à insulina nos grupos suplementados com glutamina ( $p < 0,004$ ). As médias encontradas na análise do HOMA, pré-suplementação, para os seguintes grupos foram: O-Glu  $1,10 \pm 1,04$ , O-Ala  $0,82 \pm 0,81$ , S-Glut  $0,93 \pm 0,48$  e S-Ala  $0,65 \pm 0,38$ . Enquanto que na pós-suplementação foram obtidos: O-Glu  $0,85 \pm 0,95$ , O-Ala  $1,17 \pm 1,50$ , S-Glu  $0,71 \pm 0,39$  e S-Ala  $0,65 \pm 0,38$ . Demonstrando redução na média dos valores de HOMA para os grupos suplementados com glutamina. Os grupos suplementados com alanina não apresentaram alterações no índice de HOMA (figura 2-c).

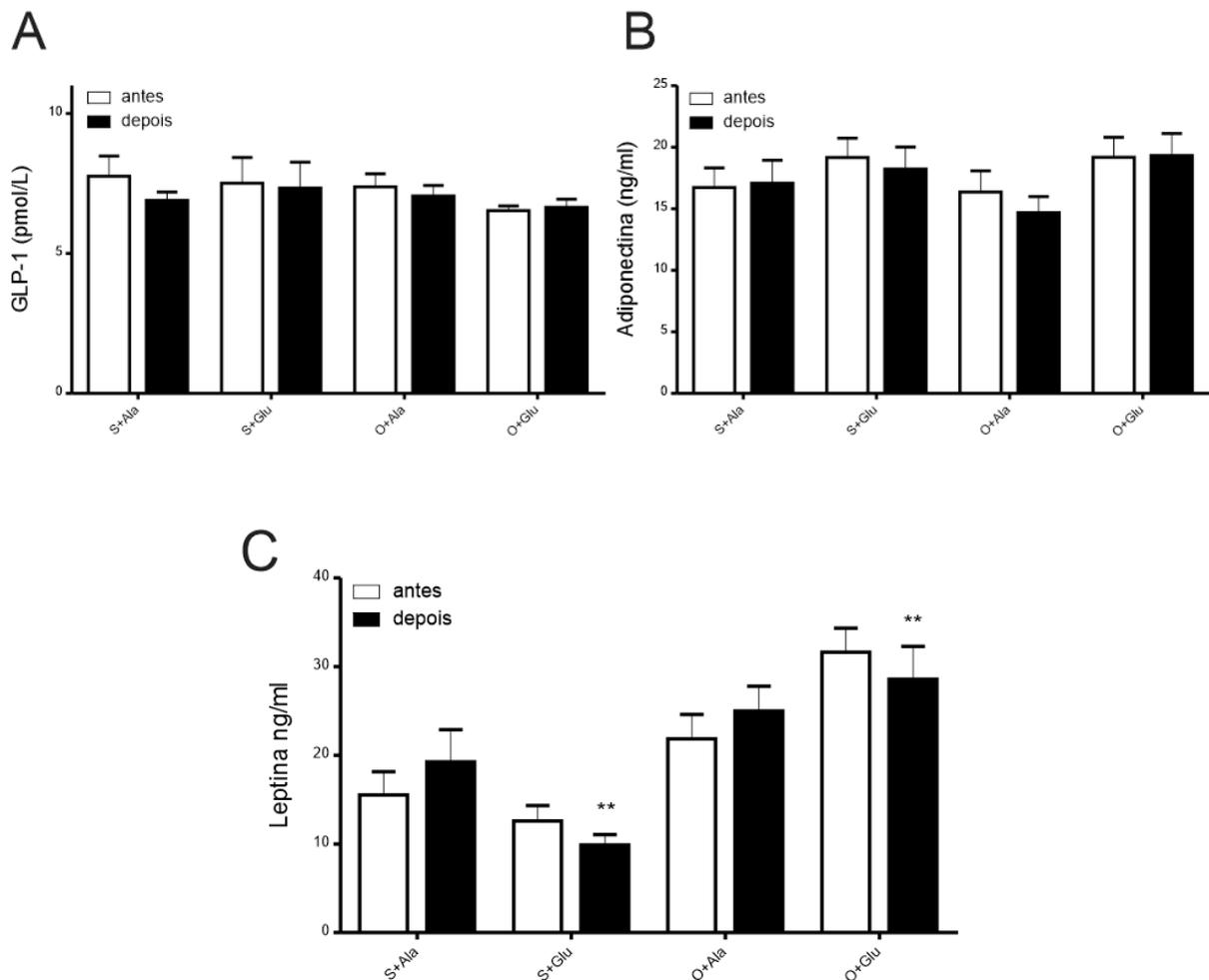


**Figura 2. Glicemia e insulina séricas de jejum e índice de HOMA (A) Glicemia sérica; (B) Insulina sérica; (C) Índice de HOMA.** Dados aferidos (pré) e (pós) suplementação com Glutamina (Glu) ou Alanina (Ala) em indivíduos com sobrepeso (S) ou obesidade (O) por 14 dias. Grupo S-Ala (N=14) e grupo S-Glu (N = 13). Grupo Obeso Glu (N= 28) e grupo Ob-Ala (N= 13). Barras expressas em média + desvio padrão. \*  $p < 0,05$ .

#### 4.2.2. Níveis Séricos de GLP-1, Adiponectina e Leptina

Nos grupos suplementados com glutamina não houve alteração nos níveis circulantes de GLP1 e adiponectina (figura 3-a, b).

Com relação à leptina, houve redução em seus níveis séricos após o período de suplementação nos grupos que receberam glutamina ( $p < 0,05$ ) (figura 3-c).



**Figura 3. Hormônios ligados ao metabolismo energético** (A) GLP-1; (B) Adiponectina; (C) Leptina. Dados aferidos (pré) e (pós) suplementação com Glutamina (Glu) ou Alanina (Ala) em indivíduos com sobrepeso (S) ou obesidade (O) por 14 dias. Grupo S-Ala (N=14) e grupo S-Glu (N = 13). Grupo Obeso Glu (N= 28) e grupo Ob-Ala (N= 13). Barras expressas em média + desvio padrão. \*\* $p < 0,05$ .

### 4.3 Dados de Ingestão Alimentar

Os dados de consumo de macronutrientes estão descritos na tabela 2. Não houve diferença significativa no consumo de carboidratos proteínas e lipídios antes e pós-suplementação. Porém, foi observada uma diminuição na ingestão de lipídios no grupo S-Glut.

	SOBREPESO				OBESIDADE			
	ALANINA		GLUTAMINA		ALANINA		GLUTAMINA	
	PRÉ	PÓS	PRÉ	PÓS	PRÉ	PÓS	PRÉ	PÓS
<b>Carboidrato (g)</b>	241.38 ± 69.69	236.76 ± 39.17	254.08 ± 113.91	222.56 ± 104.87	220.75 ± 58.41	220.01 ± 94.06	320.75 ± 79.10	250.28 ± 101.04
<b>Lípidios (g)</b>	68 ± 22.66	66.59 ± 25.01	84.53 ± 66.33	59.13 ± 29.38	60.18 ± 24.16	48.25 ± 19.09	65.43 ± 29.16	66.99 ± 26.41
<b>Proteínas (g)</b>	70.29 ± 13.43	77.80 ± 24.71	85.36 ± 35.23	57.53 ± 30.62	69.19 ± 30.90	62.49 ± 27.97	71.81 ± 32.99	58.47 ± 30.27

**Tabela 2. Ingestão de Macronutriente.** Dados coletados através de recordatório 24 horas, (pré) e (pós) suplementação com Glutamina (Glu) ou Alanina (Ala) em indivíduos com sobrepeso (S) ou obesidade (O) por 14 dias. Dados expressos em média ± desvio padrão.

## 5. DISCUSSÃO

Nosso estudo demonstrou que a suplementação com glutamina foi associada com a redução da circunferência da cintura que reflete a massa adiposa visceral. Isto foi acompanhado da redução dos níveis de leptina sérica e de maior sensibilidade à insulina.

Um estudo anterior do nosso grupo demonstrou que a suplementação de glutamina foi capaz de reduzir a massa adiposa e melhorar a sinalização da insulina no fígado e músculo (Prada et al, 2007). A redução da massa adiposa foi explicada como dependente da resistência à insulina que ocorreu isoladamente no tecido adiposo. Esta resistência à insulina no tecido adiposo foi acompanhada por um aumento na glicosilação dos substratos dos receptores de insulina (IRS-1 e IRS-2), sugerindo que este pode ser um importante mecanismo de resistência a insulina nos animais suplementados com glutamina, uma vez que outros mecanismos que poderiam induzir tal resistência não foram alterados ou reduzidos (Prada et al, 2007).. O mecanismo pelo qual a glutamina pode induzir à resistência a insulina no tecido adiposo parece estar relacionado com um aumento na atividade da via da hexosamina, em que a glutamina é um substrato intermediário (Patti et al., 1999). A glutamina: frutose-6-fosfato amidotransferase (GFAT) regula o metabolismo da via da biosíntese da hexosamina (VBH) e a glutamina atua como o aminoácido essencial, doador do grupamento amino para a formação de glucosamina-6-fosfato, o qual é posteriormente metabolizado a UDP-GlcNAc. De acordo com os resultados encontrados em nosso grupo, tem se demonstrado que um aumento na concentração de glutamina aumenta drasticamente UDP-GlcNAc, principalmente se a glicose estiver elevada (Wu et al., 2001). Há hipóteses de que a VBH na resistência a insulina é mediada por uma modificação pós - translacional direta de proteínas – chave da sinalização da insulina, nas quais ocorrem glicosilação em resíduos de serina e treonina com a porção de GlcNAc. (Patti et al., 1999). Nosso grupo demonstrou que IRS-1 e a associação a 2/ O-GlcNAc apenas no tecido adiposo, sugere a modificação em O-GlcNAc pode ter um papel importante na resistência a insulina neste tecido.

A circunferência da cintura auxilia na identificação da gordura visceral tipo

(andróide). O tecido adiposo visceral é fonte de adipocitocinas (Montague et al.,2000), apresentando forte correlação com as complicações cardiovasculares e metabólicas (Holly, 2013). Em nosso estudo observamos que houve redução da circunferência da cintura no grupo suplementado com glutamina, sugerindo um possível efeito da glutamina na lipogênese.

De acordo com a redução da circunferência da cintura, observamos menores níveis séricos de leptina nos indivíduos suplementados com glutamina. A redução de massa adiposa é correlacionada com redução dos níveis circulantes de leptina em humanos e animais de experimentação (Flier, 2004). Os estudos demonstraram que a obesidade não é caracterizada pela deficiência de leptina, mas sim pela hiperleptinemia, que pode ocorrer devido à hiperinsulinemia crônica (Flier, 2004). Indivíduos obesos apresentam elevados níveis plasmáticos de leptina, mas resistência à ação deste hormônio (Steinberg et al., 2002; Paracchini, 2005).

A avaliação da sensibilidade a insulina é uma importante ferramenta para os estudos epidemiológicos e para a compreensão da fisiopatologia e desenvolvimento de doenças metabólicas, como a obesidade (Quon et al.,2006). A perda da massa adiposa visceral está associada à melhora da sensibilidade à insulina (Nilsson et al., 2008), assim como o balanço entre a produção hepática de glicose e a secreção da insulina. A técnica do clamp euglicêmico hiperinsulinêmico é considerada o padrão ouro para a avaliação *in vivo* da sensibilidade a insulina, mas sua complexidade e alto custo limitam seu emprego na prática clínica (Wallace et al., 2004). O HOMA-IR é um modelo matemático baseado no equilíbrio fisiológico entre as concentrações de glicose e insulina de jejum, sendo um método alternativo para estimar a resistência à insulina (Matthews et al., 1985). Nosso estudo observou que os grupos suplementados com glutamina mantiveram os níveis séricos de glicose, no entanto, apresentaram redução nos níveis séricos de insulina e redução nos valores do índice de HOMA. Isto sugere que a glutamina melhorou a sensibilidade à insulina nestes indivíduos.

Em relação aos níveis de adiponectina, não houve variações significativas em nenhum dos grupos. Resultados que diferem de outros autores, em que foi evidenciado aumento da adiponectina com a perda de massa corporal (Yang et al., 2001 ; Espósito et al., 2003). Por outro lado, alguns estudos também não demonstraram aumento desta

adipocina com a perda de massa corporal, e ainda assim, verificaram melhora da resistência à insulina (Xydakis et al., 2004). O tempo de suplementação com glutamina foi de apenas 14 dias. Se a suplementação fosse feita por 30 dias, talvez conseguíssemos evidenciar diferenças nos níveis de adiponectina e sua correlação com a circunferência da cintura.

O GLP-1 é secretado pelas células L intestinais e sua importância como incretina tem sido demonstrada tanto em roedores como em humanos (Lozano et al., 2014). Após a ingestão alimentar, as células L são estimuladas, via nervo vago, logo secretam GLP-1 que por sua vez estimula a liberação de insulina. Além de suprimir a produção hepática de glicose, esvaziamento gástrico e o apetite (Lozano et al., 2014; Xiaosong et al., 2014). Nossos resultados não apresentaram alterações em relação a esse hormônio após suplementação com glutamina. O tempo de suplementação com glutamina pode ter sido muito curto para alterar os níveis de GLP-1 destes indivíduos.

Em resumo, parece que a glutamina desempenha um papel importante modulando parâmetros metabólicos como quantidade de gordura visceral, insulina e leptina séricas, podendo alterar a sensibilidade à insulina em tecidos periféricos. Neste sentido, pode ser benéfica sua suplementação para atenuar e/ou prevenir as conseqüências da obesidade.

## **6. CONCLUSÃO**

Nosso trabalho demonstrou que a suplementação oral com glutamina em indivíduos com sobrepeso e obesidade, reduziu a circunferência da cintura e os níveis de leptina e melhorou a sensibilidade à insulina. Isto sugere que a glutamina pode ser futuramente um nutriente capaz de propiciar uma nova abordagem terapêutica para os pacientes com sobrepeso e obesidade.

## 7. REFERÊNCIAS

- Andrews FJ, Griffiths RD. Glutamine: essential for immune nutrition in the critically ill. *Br J Nutr.* 2002 ;87 Suppl 1:S3-8
- Barrera JG, Sandoval DA, D'Alessio DA, Seeley RJ. GLP-1 and energy balance: an integrated model of short-term and long-term control. *Nat Rev Endocrinol.* 2011; 7(9): 507-16.
- Bjorbaek C, Kahn BB. Leptin signaling in the central nervous system and the periphery. *Recent progress in hormone research.* 2004; 59:305-31.
- Beutheu S, Ouelaa W, Guerin C, Belmonte L, Aziz M, Tennoune N, et al. Glutamine supplementation, but not combined glutamine and arginine supplementation, improves gut barrier function during chemotherapy-induced intestinal mucositis in rats. *Clin Nutr.* 2013.
- Maury E, Brichard SM. Adipokine dysregulation, adipose tissue inflammation and metabolic syndrome. *Mol Cell Endocrinol.* 2010 ; 15;314(1):1-16
- Gregor MF, Hotamisligil GS. Inflammation mechanisms in obesity. *Annual Review Immunology.* 2011: (29): 415-445.
- Hotamisligil GS. Inflammatory pathways and insulin action. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2003 ; Suppl 3:S53-5.
- Hill JO. Role of physical activity in preventing and treating obesity. *J Apply Physiol.* 2005; 99 (2):765-70.
- Hotamisligil GS. Inflammation and metabolic disorders. *Nature.* 2006;444(7121):8607.
- Hotamisligil GS, Shargill NS, Spiegelman BM. Adipose expression of tumor necrosis factor-alpha: direct role in obesity-linked insulin resistance. *Science.* 1993;1; 259(5091):87-91.
- Huang L, Li C. Leptin: a multifunctional hormone. *Cell Res.* 2000;10(2):81-92.
- Irwin N, McClean PL, Hunter K, Flatt PR. Metabolic effects of sustained activation of the GLP-1 receptor alone and in combination with background GIP receptor antagonism in high fat-fed mice. *Diabetes Obes Metab.* 2009; 11(6): 603-10.
- James WP. WHO recognition of the global obesity epidemic. *Int J Obes (Lond).* 2008; 32 Suppl 7:S120-6.

Kanoski SE, Fortin SM, Arnold M, Grill HJ, Hayes MR. Peripheral and central GLP-1 receptor populations mediate the anorectic effects of peripherally administered GLP-1 receptor agonists, liraglutide and exendin-4. *Endocrinology*. 2011 Aug;152(8):3103-12.

Kearney J. Food consumption trends and drivers. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 2010; 365(1554): 2793-807.

Kim S, Popkin BM. Commentary: understanding the epidemiology of overweight and obesity--a real global public health concern. *Int J Epidemiol*. 2006; 35(1): 60-7.

Kopelman PG. Obesity as a medical problem. *Nature*. 2000; 404(6778): 635-43.

Knop FK, Vilsboll T. GLP-1-based treatment of type 2 diabetes mellitus. *Ugeskr Laeger*. 2007 May 28;169(22):2095-9.

Malik VS, Willett WC, Hu FB. Global obesity: trends, risk factors and policy implications. *Nat Rev Endocrinol*. 2013; 9(1): 13-27.

Mark AL. Selective leptin resistance revisited. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2013; 15; 305(6): 566-81.

Marshall S, Garvey WT, Traxinger RR. New insights into the metabolic regulation of insulin action and insulin resistance: role of glucose and amino acids. *FASEB J*. 1991;5(15):3031-6.

Molfino AL, F.; Muscaritoli, M.; et al. Metabolic effects of glutamine on insulin sensitivity. *Nutritional Therapy & Metabolism*. 2010; 1(28): 7 - 11.

Montague CT, O'Rahilly S. The perils of portliness: causes and consequences of visceral adiposity. *Diabetes*. 2000 ;49(6):883-8.

Morris DL, Rui L. Recent advances in understanding leptin signaling and leptin resistance. *American Journal of Physiology: Endocrinology and Metabolism*. 2009.297:E1247-E1259.

Myers MG, Cowley MA, Munzberg H. Mechanisms of leptin action and leptin resistance. *Annual review of physiology*. 2008;70:537-56.

Newsholme P, Procopio J, Lima MM, Pithon-Curi TC, Curi R. Glutamine and glutamate--their central role in cell metabolism and function. *Cell Biochem Funct*. 2003 Mar;21(1):1-9.

Paracchini V, Pedotti P, Taioli E. Genetics of leptin and obesity: a HuGE review. *Am J Epidemiol*. 2005;15;162(2):101-14

Parker JA, McCullough KA, Field BC, Minnion JS, Martin NM, Ghatei MA, et al. Glucagon and GLP-1 inhibit food intake and increase c-fos expression in similar appetite regulating centres in the brainstem and amygdala. *Int J Obes (Lond)*. 2013 Oct;37(10):1391-8

Park-York M, Boghossian S, Oh H, York DA. PKC $\theta$  expression in the amygdala regulates insulin signaling, food intake and body weight. *Obesity (Silver Spring)*. 2013; 21(4): 755-64.

Parry-Billings M, Budgett R, Koutedakis Y, Blomstrand E, Brooks S, Williams C, et al. Plasma amino acid concentrations in the overtraining syndrome: possible effects on the immune system. *Med Sci Sports Exerc*. 1992; 24(12): 1353-8.

Patti ME, Virkamaki A, Landaker EJ, Kahn CR, Yki-Jarvinen H. Activation of the hexosamine pathway by glucosamine *in vivo* induces insulin resistance of early postreceptor insulin signaling events in skeletal muscle. *Diabetes*. 1999; 48:1562–1571

Pereira JA, Lazarin MA, Pareja JC, de Souza A, Muscelli E. Insulin resistance in nondiabetic morbidly obese patients: effect of bariatric surgery. *Obes Res*. 2003; 11(12): 1495-501.

Popkin BM, Adair LS, Ng SW. Global nutrition transition and the pandemic of obesity in developing countries. *Nutr Rev*. 2012; 70(1): 3-21.

Prada PO, Hirabara SM, de Souza CT, Schenka AA, Zecchin HG, Vassallo J, et al. L-glutamine supplementation induces insulin resistance in adipose tissue and improves insulin signalling in liver and muscle of rats with diet-induced obesity. *Diabetologia*. 2007; 50(9): 1949-59.

Rtveladze K, Marsh T, Webber L, Kilpi F, Levy D, Conde W, et al. Health and economic burden of obesity in Brazil. *PLoS One*. 2013;8(7):e68785.

Schlussek MM, Silva AA, Perez-Escamilla R, Kac G. Household food insecurity and excess weight/obesity among Brazilian women and children: a life-course approach. *Cad Saude Publica*. 2013; 29(2):219-26.

Schwartz MW, Woods SC, Porte D, Jr., Seeley RJ, Baskin DG. Central nervous system control of food intake. *Nature*. 2000;404(6778):661-71.

Spiegelman BM, Choy L, Hotamisligil GS, Graves RA, Tontonoz P. Regulation of adipocyte gene expression in differentiation and syndromes of obesity/diabetes. *J Biol*

Chem. 1993 5; 268(10): 6823-6.

Spiegelman BM, Hotamisligil GS. Through thick and thin: wasting, obesity, and TNF alpha. Cell. 1993;73(4):625-7.

Steinberg GR, Bonen A, Dyck DJ. Fatty acid oxidation and triacylglycerol hydrolysis are enhanced after chronic leptin treatment in rats. Am J Physiol Endocrinol Metab. 2002; 282(3): E593-600.

Tremblay F, Marette A. Amino acid and insulin signaling via the mTOR/p70 S6 kinase pathway. A negative feedback mechanism leading to insulin resistance in skeletal muscle cells. J Biol Chem. 2001; 276(41): 38052-60.

Wu G, Haynes TE, Li H, Yan W, Meininger CJ (2001) Glutamine metabolism to glucosamine is necessary for glutamine inhibition of endothelial nitric oxide synthesis. J Biochem 353:245–252

## 8. ARTIGO

Versão do artigo que foi submetido à revista “Mediators of Inflammation”.

**Title: Oral Glutamine Supplementation Reduces Waist Circumference, Pro-Inflammatory Markers and Improves Insulin Sensitivity in Overweight and Obese Humans**

Kahlile Youssef Abboud<sup>1†</sup>, Sabrina Karen Reis<sup>1†</sup>, Fabiana Tannihão<sup>1</sup>, Alessandra Zambom<sup>1</sup>, Dioze Guadagnini<sup>2</sup>, Sandra Regina Bambilha<sup>2</sup>, Mario J.A. Saad<sup>2</sup>, Patricia O. Prada<sup>1,2</sup>

† Equal contributors

<sup>1</sup>School of Applied Sciences; <sup>2</sup>Department of Internal Medicine, State University of Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brazil.

**Please address correspondence to: Patricia O. Prada, PhD.**, School of Applied Sciences, University of Campinas – UNICAMP - Rua Pedro Zaccaria, 1300 - Jd. Sta Luiza 13484-350, Limeira, SP, Brazil. Phone/Fax: +55 19 35218950, e-mail:

[pprada@fcm.unicamp.br](mailto:pprada@fcm.unicamp.br)

Word count: 4.455

Number of figures and tables: 4

## Abstract

**Background:** Obesity is associated with low-grade inflammation and insulin resistance. Glutamine supplementation (GLNsuppl) has been used to reduce inflammation in critically ill patients. However, the effects of GLNsuppl were not yet investigated in diseases with low-grade inflammation such as obesity. Previous data showed that GLNsuppl reduced inflammation, adipose mass and improved insulin sensitivity (INS) of obese rats. Thus, the aim of this study was to investigate whether oral GLNsuppl alters body weight (BW), waist circumference (WC), pro-inflammatory cytokines, hormones levels and INS in overweight and obese humans.

**Methods:** Sixty-seven overweight or obese volunteers received 30g of glutamine or alanine (ALA) during 14 days. BW, body mass index (BMI), WC and blood samples were collected before and after supplementation. The same physical activity and diet were maintained.

**Results:** GLNsuppl did not change BW and BMI, however, reduced WC and serum leptin levels, suggesting a decrease in fat mass. GLNsuppl reduced insulin levels, HOMA index, serum TNF- $\alpha$ , IL-6 and lipopolysaccharides (LPS) levels, suggesting a reduction in low-grade inflammation associated with an improvement of INS. GLNsuppl did not alter serum adiponectin, GLP-1 and glucose levels. ALA had no effects on the parameters.

**Conclusions:** Thus, GLNsuppl may become an interesting therapeutic approach for individuals with overweight and obesity.

**Keywords:** Obesity; Glutamine Supplementation; Inflammation; Insulin Sensitivity; Inflammatory Markers; Metabolic Hormones

## Introduction

Obesity has become a major public health problem worldwide and it is associated with other diseases [1, 2]. In 2008 it was estimated that more than 1 billion adults were overweight in the world and approximately 200-300 million were obese [3, 4]. Sedentary lifestyle and the increase in high-energy food consumption contribute to enhance body fat mass [1, 3, 4].

Obesity is considered a low grade inflammatory disease which affects multiple organs and systems leading to insulin resistance [5, 6]. The first molecular link between low grade inflammation and obesity was the discovered of enhanced tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ ) expression in adipose tissue of obese mice [7]. Humans also express elevated levels of TNF- $\alpha$  in serum, muscle and fat tissues [8, 9, 10]. The deletion of TNF- $\alpha$  receptors or the neutralization of TNF- $\alpha$  reversed insulin resistance in obese murine models [11, 12]. The low grade inflammation in obesity is due to an enhanced production of pro-inflammatory cytokines by adipose tissue and especially by infiltrated immune cells [4, 5, 6]. Pro-inflammatory cytokines trigger intracellular signaling, which induce insulin resistance [4, 5, 6]. Many efforts have been made to prevent and treat obesity and to reduce this low grade inflammation, including hypocaloric diets combined or not with physical activity and/or some approved drugs [13]. However, the regain of weight is frequently observed driving to treatment failure [14].

Glutamine (GLN), which has its primary source in the skeletal muscle, is the most abundant free amino acid found in human body [15, 16, 17]. Diets with GLN supplementation have aroused interest since they can mitigate the release of cytokines,

reduce organ damage and improve survival of mice and humans with endotoxemia [18, 19]. Previous data have demonstrated that the critical conditions of stress or illness, glutamine is considered an amino acid "conditionally essential", and is used by cells of the immune system and of the intestinal mucosa [20]. Glutamine prevents bacterial translocation, thus contributing to gut immunity and when given orally at high doses protect the bowel during radiation therapy and chemotherapy [21]. Accordingly, its addition to the enteral and parenteral nutrition is beneficial for the maintenance of gut integrity. By having an effect on signal transduction and in systemic inflammation, glutamine has been applied therapeutically in the treatment of sepsis and inflammatory-related diseases [20].

Nevertheless, the anti-inflammatory effect of glutamine was investigated in states of powerful stress such as sepsis and critically ill patients. Thus, the effect of glutamine in low grade inflammatory diseases such as obesity deserves more investigation. In this regard, a study conducted by our group showed that there was a reduction in inflammatory markers in rats on high fat diet supplemented with GLN for two months, suggesting an anti-inflammatory response of glutamine. In addition, there was a 50% reduction of adipose mass accompanied by improved insulin sensitivity in peripheral tissues in rats on high fat diet, suggesting a metabolic effect of glutamine [22]. However, it has not been studied whether oral glutamine supplementation may change low grade inflammation in obese and overweight individuals. Therefore, the aim of this study was to investigate whether oral GLN supplementation alters body weight, waist circumference, pro-inflammatory cytokines and hormones serum levels and insulin sensitivity in overweight and obese humans.

## 2. Subjects and Methods

This study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki (1964) and was approved by the Ethics Committee of the Department of Internal Medicine at State University of Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brazil. All study was conducted with the understanding and the consent of the volunteers that provided written informed consent.

### 2.1 Subjects

All volunteers were employees in the Sumare State Hospital (HES) in Sumare city, Sao Paulo state, Brazil. A total of hundred and fifty volunteers were random recruited via advertisements placed around the hospital. Only sixty-seven volunteers completed the intervention period. The inclusion criteria to participate were as follow: men or women adults aged between 20 and 60 years; diagnosed overweight or obese. Subjects who reported renal or thyroid disease, pregnancy, taking antidepressant, anorectic or laxative drugs were excluded from the study. Before the beginning of the study body weight and height were measured using a Filizola scale with anthropometer (PL 200 model) and BMI (body mass index) was calculated as weight divided by height squared ( $\text{kg/m}^2$ ). Only overweight ( $\text{BMI} \geq 25 \text{ kg/m}^2$ ) and obese ( $\text{BMI} \geq 30 \text{ kg/m}^2$ ) volunteers were included in the study.

## 2.2 Study Design

Overnight fasted volunteers came to HES between 0800 and 1000 on 2 separate days. On the first day, volunteers were random divided in four groups according to the BMI and the supplement that they would receive: Overweight Alanine (ALA), Obese ALA, Overweight Glutamine (GLN) and Obese GLN. After that, blood samples were collected and waist circumference was measured. Thereafter the volunteers received a kit containing small packs with 15 grams of amino acid (GLN or ALA) each. They were instructed to take two packs per day, taking a total of 30 grams of amino acid per day. The supplementation lasted for fourteen days. The volunteers were instructed to mix the pack content in a cup of water (200 mL) before drinking and maintain the same levels of physical activity and the same diet during the fourteen days of supplementation.

The second day was done fifteen days after the supplementation started. Fasted volunteers came to HES for the second time for body weight and waist circumference measurements and blood samples collections.

## 2.3 Biochemical Analysis

Blood samples were obtained before and after the supplementation from the same volunteer. Overnight fasted volunteers had blood samples collected into tubes placed on ice. After collection, blood samples were immediately centrifuged at 1500 rpm for 15 min at 18°C using a Centrifuge Biofuge Stratos (Hereaus, Dijkstra Vereenigde, Lelystad, Netherlands). The serum obtained was separated and transferred into 2 mL Eppendorf and stored at -80°C until analysis. Glucose concentration was determined using *Glucose* Liquiform Test (Labtest, Brazil) that applied the glucose oxidase method. All the other assays were quantified by specific commercial enzyme-linked

immunosorbent assay (ELISA). Human insulin (EZHI-14K), human leptin (EZHL-80SK), human adiponectin (EZHADP-61K), glucagon-like peptide 1 (GLP-1) (EGLP-35K) kits were from Millipore®, St. Charles, Missouri, United States. Human TNF- $\alpha$  (DTA00C), human IL-1 $\beta$  (DLB50) and human IL-6 (D6050) kits were from R&D Systems Inc., Minneapolis, MN, United States. To determine serum lipopolysaccharides (LPS) levels it was used Limulus Amebocyte Assay from Cambrex (LAL kit endpoint-QCL-1000). Analyzes were performed by following the specific instructions for each manufactory. Serum insulin and glucose levels were used for the homeostasis model assessment (HOMA) calculation in order to estimate insulin sensitivity.

#### **2.4 Dietary assessment and analysis**

To assess the caloric intake of the individuals we applied a 24-hour food record before and after the supplementation. For analysis the 24-hour food record we used the software Diet Pro 4.0. Subjects informed their physical activity before and after supplementations.

#### **2.5 Statistical analysis**

Data were expressed as means  $\pm$  SEM. For statistical analysis, the groups were compared using ANOVA for repeated measures with post test. The adopted level of significance was  $p < 0.05$ .

### **3. Results**

Data were collected before and after GLN and ALA supplementations and were analyzed in separated subgroups according to BMI (overweight and obese).

### **3.1 Subjects Characteristics**

There were no differences between groups in terms of age. We had more females volunteers than males (Table 1). This may occurred because the advertisement placed in the hospital informed that rats supplemented with GLN had a decrease in fat mass [22] and women might have more concern about the body weight than men. There was no alteration in the physical activity during the amino acids supplementation. Caloric intake did not change with GLN or ALA supplementation.

### **3.2 Anthropometric Measurements**

No changes on body weight were observed after 14 days of ALA or GLN supplementation (Table 1). Accordingly, BMI did not alter after both ALA and GLN supplementation (Table 1). In contrast, GLN supplementation induced a significant reduction in the waist circumference in overweight subjects. This effect was not observed in subjects who received ALA neither in GLN-supplemented obese subjects (Table 1).

### **3.3 Biochemical Analysis**

Serum glucose levels did not change after both supplementations (Figure 1 A). However, serum insulin levels were significantly decreased after GLN supplementation independently of the BMI (Figure 1 B). Accordingly, HOMA index also showed significant reduction in subjects who received glutamine independently of BMI (Figure 1 C). No differences were observed in the GLP-1 levels after supplementations with ALA or GLN (Figure 2 A). Meanwhile, supplementation with GLN decreased serum leptin levels of

overweight and obese subjects. This effect was not observed in the groups that received ALA supplementation (Figure 2 B). Serum adiponectin levels did not change after both supplementations GLN and ALA (Figure 2 C).

### **3.4 Pro-Inflammatory Markers**

Serum TNF- $\alpha$  levels were decreased after GLN supplementation independently of BMI. ALA supplementation did not alter serum TNF- $\alpha$  levels of both groups overweight and obese subjects (Figure 3 A). Serum IL-1 $\beta$  levels did not change after ALA or GLN supplementations (Figure 3 B). Subjects who received GLN supplementation had a reduction in the serum IL-6 independently of BMI. ALA supplementation did not change serum IL-6 levels in overweight and obese subjects (Figure 3 C). Serum LPS levels were reduced only in overweight subjects who received GLN supplementation. ALA supplementation did not alter serum LPS levels of overweight and obese subjects (Table 1).

## **4. Discussion**

Here, we showed that oral GLN supplementation alters waist circumference and insulin sensitivity and reduces serum pro-inflammatory markers in overweight and obese humans.

GLN supplementation did not change body weight and BMI of overweight and obese subjects. However, GLN supplementation decreased waist circumference in the overweight group, but not in obese group. The absence of changes on body weight, BMI and waist circumference in obese subjects may be due to the short duration of

supplementation. Decreased waist circumference in overweight subjects after GLN was accompanied by a reduction in serum leptin levels, which reflects lower adipose tissue. Waist circumference measurements are a viable and reliable way to measure abdominal fat mass and represent mostly visceral adipose tissue [23, 24]. Our group observed that GLN supplementation reduced 50% of fat mass of rats on high fat diet [22]. The mechanisms by which GLN reduce fat mass remains under investigation. One possibility is that GLN increases the activity of the hexosamine pathway (HBP) [25]. GLN is an intermediary substrate to generate glucosamine-6-phosphate via HBP, which is further metabolized to UDP-GlcNAc (UDP-N-acetylglucosamine). UDP-GlcNAc causes posttranslational modification of proteins leading to lower lipogenesis and reduced adipose mass [22].

Visceral adipose tissue loss is associated with improved insulin resistance decreasing the risk for type 2 diabetes development [11, 23, 26, 27]. Herein, we observed that GLN supplementation reduced waist circumference and this was associated with a reduction in insulin levels and HOMA index, suggesting an improvement on insulin sensibility in these subjects.

Several mechanisms have been described to explain insulin resistance in tissues in obesity [28]. In this regard, low grade inflammation represents one of the most important mechanisms inducing insulin resistance in overweight and obesity [29]. Obese hypertrophied adipose tissue as well as immune cells infiltrated in the adipose tissue release pro-inflammatory cytokines including TNF- $\alpha$ , IL-6 and IL-1 $\beta$ . Those cytokines activate serine kinases such as IKK $\beta$  (inhibitor of nuclear factor kappa B kinase) and JNK (c-Jun N -terminal kinase), which phosphorylate IRS1 (insulin receptor substrate 1) in serine blocking insulin signaling in tissues leading to insulin resistance [30, 31]. Our

results showed that GLN supplementation reduced serum TNF- $\alpha$  and IL-6 levels of overweight and obese subjects, suggesting a potential decrease in low grade inflammation in these individuals. This result was associated with improvement of insulin sensitivity measured by HOMA index. Glutamine has anti-inflammatory effects, which are, in part, due to a decreased NF- $\kappa$ B (nuclear factor kappa B) activation. Studies in rats have shown that glutamine decreases NF- $\kappa$ B synthesis and increases NF- $\kappa$ B degradation [32]. Two other studies in rodents also shown that glutamine inhibited the activation of IKK $\beta$  and JNK, which link inflammation with insulin resistance [12, 33]. In fact, our group demonstrated that GLN supplementation in rats on high fat diet decreased NF- $\kappa$ B activation and JNK phosphorylation in peripheral tissues [22]. It is tempting to speculate that the anti-inflammatory effect of GLN, demonstrated by the lower levels of pro-inflammatory cytokines, may be consequence of decreased activation of JNK and IKK/NF- $\kappa$ B pathways, but it deserves further investigation.

LPS is found in the cell wall of gram-negative bacteria and is absorbed by intestinal mucosal barrier. Serum LPS concentration increases significantly after a high fat meal, in both rats and humans [34, 35]. Diabetics and obese individuals have elevated plasma levels of LPS [36] and mice on high-fat diet when subjected to physical activity have reduced serum LPS levels [34]. Two mechanisms have been described to explain the high levels of LPS in models of obesity. One explanation is that because LPS is a lipid its absorption is increased when a high fat diet is applied [37]. Another explanation is the fact that obese states are associated with low grade inflammation which leads to increase intestinal permeability to LPS [36]. On the other hand, Poodle et al. suggested that the increased LPS or endotoxemia may be a cause of low grade

inflammation that occurred in obesity and insulin resistance models [36]. The mechanism by which increased plasma levels of LPS can trigger inflammation involves the activation of TLR4 (toll-like receptor 4). TLR4 is a transmembrane receptor of the innate immune system expressed in most tissues. The activation of TLR4 induces activation of IKK/NF- $\kappa$ B and JNK. Those serine kinases in turn, increase the expression of more pro-inflammatory cytokines that perpetuate inflammation [31]. Therefore, circulating LPS may be associated with the onset of obesity and insulin resistance and a change in these effectors could be beneficial. Here we showed that GLN supplementation reduced LPS levels in overweight subjects, which may explain, in part, the improvement of low grade inflammation and insulin sensitivity observed in those individuals.

## **5. Conclusions**

In summary, our data showed that GLN supplementation decreased waist circumference and serum leptin levels, which together suggest a reduction in adipose fat mass. In addition, we demonstrated that GLN supplementation decreased serum TNF $\alpha$ , IL-6 and LPS levels, suggesting a reduction on low grade inflammation. Lower adiposity and inflammation may contribute to explain the improvement of insulin sensitivity. Thus, GLN supplementation may become an interesting therapeutic approach for individuals with overweight and obesity by reducing visceral fat mass and improving insulin sensitivity.

## Disclosure Policy

The authors declare that there is no conflict of interests regarding the publication of this paper.

## Acknowledgments

The present work was supported by FAPESP (Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo) Sao Paulo, Brazil: Auxílio Regular 2012/10338-6 and CEPID 2013/07607-8. CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico): INCT (Instituto Nacional Ciência e Tecnologia em Obesidade e Diabetes) 573856/2008-7 and UNIVERSAL 481084/2013-4.

The authors would like to thank L. Janeri, J. Pinheiro (Department of Internal Medicine, UNICAMP, Campinas, Sao Paulo) for their technical assistance.

## References

- [1].B. A. Swinburn, K. D. Hall, K. McPherson et al., "The global obesity pandemic: shaped by global drivers and local environments," *The Lancet*, vol. 378, no. 9793, pp. 804-814, 2011.
- [2].V. S. Malik, W. C. Willett, and F. B. Hu, "Global obesity: trends, risk factors and policy implications," *Nature Reviews Endocrinology*, vol. 9, no. 1, pp.13-27, 2013.
- [3].WHO, World Health Organization. Obesity and Overweight 2012. Accessed: 10/12/2013. Available in: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/>.
- [4].R. S. Ahima, "Digging deeper into obesity," *The Journal of Clinical Investigation*, vol. 121, no. 6, pp. 2076-2079, 2011.

- [5].Lyer and L. Brown, "Lipid mediators and inflammation in glucose intolerance and insulin resistance," *Drug Discovery Today: Disease Mechanisms*, vol.7, no. 3-4, pp. 191-197, 2010.
- [6].N. Lumeng and A. R. Saltiel, "Inflammatory links between obesity and metabolic disease," *The Journal of Clinical Investigation*, vol.121, no.6, pp. 2111-2117, 2011.
- [7].L. K. Forsythe, J. M. Wallace, and M. B. Livingstone, "Obesity and inflammation: the effects of weight loss," *Nutrition Research Reviews*, vol. 21. no. 2, pp. 117-133, 2008.
- [8].R. Canello, C. Henegar, N. Viguerie et al., "Reduction of macrophage infiltration and chemoattractant gene expression changes in white adipose tissue of morbidly obese subjects after surgery-induced weight loss," *Diabetes*, vol. 54, no. 8, pp. 2277-2286. 2005.
- [9].Harman-Boehm, M. Bluher, H. Redel et al., "Macrophage infiltration into omental versus subcutaneous fat across different populations: effect of regional adiposity and the comorbidities of obesity," *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, vol. 92, no. 6, pp. 2240-2247, 2007.
- [10]. Aron-Wisnewsky, J. Tordjman, C. Poitou et al., "Human adipose tissue macrophages: m1 and m2 cell surface markers in subcutaneous and omental depots and after weight loss," *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, vol.94, no. 11, pp. 4619-4623, 2009.
- [11]. E. Staiano, B. A. Reeder, S. Elliott et al., "Body mass index versus waist circumference as predictors of mortality in Canadian adults," *International Journal of Obesity*, vol. 36, no. 11. pp. 1450-1454, 2012.
- [12]. Brasse-Lagnel, A. Lavoinne, and A. Husson, "Control of mammalian gene

- expression by amino acids, especially glutamine,” *The FEBS Journal*, vol. 276, no. 7, pp.1826–1844, 2009.
- [13]. F. Belgardt and J. C. Bruning, “CNS leptin and insulin action in the control of energy homeostasis,” *Annals of the New York Academy of Sciences*, vol. 1212, no. 1, pp. 97-113, 2010.
- [14]. M. Friedman, “Obesity in the millennium”, *Nature*, vol. 404, 2000
- [15]. R. Curi, C. J. Lagranha, S. Q. Doi et al., “Molecular Mechanisms of Glutamine Action,” *Journal of Cellular Physiology*, vol. 204, no. 2, pp. 392-401, 2005.
- [16]. Z. Lin, F. Cai, N. Lin et al., “Effects of glutamine on oxidative stress and nuclear factor-κB expression in the liver of rats with nonalcoholic fatty liver disease,” *Experimental and Therapeutic Medicine*, vol. 7, no. 2, pp. 365-370, 2014.
- [17]. N. P. Shanware, A. R. Mullen, R.J. De Berardinis et al., “Glutamine: pleiotropic roles in tumor growth and stress resistance,” *Journal of Molecular Medicine*”, vol. 89, no. 3, pp. 229-236, 2011.
- [18]. S. Andreasen, T. Pedersen-Skovsgaard, O. H. Mortensen et al., “The effect of glutamine infusion on the inflammatory response and HSP70 during human experimental endotoxaemia,” *Critical Care*, vol. 13, no. 1, R7, 2009.
- [19]. X. Zhou, X. Wu, Y. Win et al., “Preventive oral supplementation with glutamine and argine has beneficial effects on the intestinal mucosa and inflammatory cytokines in endotoxemic rats,” *Amino Acids*, vol. 43, no. 2, pp. 813– 821, 2012.
- [20]. F. J. Andrews and R. D. Griffiths, “Glutamine: essential for immune nutrition

in the critically ill,” *British Journal of Nutrition*, vol. 87, s3 - 8, 2002.

- [21]. S. Beutheu, W. Ouelaa, C. Guerin et al., “Glutamine supplementation, but not combined glutamine and arginine supplementation, improves gut barrier function during chemotherapy-induced intestinal mucositis in rats,” *Clinical Nutrition*, 2013.
- [22]. P. O. Prada, S. M. H. Souza, A. A. Schenka et al., “L-glutamine supplementation induces insulin resistance in adipose tissue and improves insulin signaling in liver and muscle of rats with diet-induced obesity,” *Diabetologia*, vol. 50, no.9, pp. 1949-1959, 2007.
- [23]. R. Ness-Abramof and C. Apovian, “Waist circumference measurement in clinical practice,” *Nutrition in Clinical Practice*, vol.23, no. 4, pp. 397-404, 2008.
- [24]. E. Bonora, “Relationship between regional fat distribution and insulin resistance,” *International Journal of Obesity*, vol.24, pp. s32-s35, 2000.
- [25]. E. Patti, A. Virkamaki, E. J. Landaker et al., “Activation of the hexosamine pathway by glucosamine in vivo induces insulin resistance of early postreceptor insulin signaling events in skeletal muscle,” *Diabetes*, vol. 48, no. 8, pp.1562–1571, 1999.
- [26]. Vogeser, D. Konig, I. Frey et al., “Fasting serum insulin and the homeostasis model of insulin resistance (HOMA-IR) in the monitoring of lifestyle interventions in obese persons,” *Clinical Biochemistry*, vol. 40, no.13-13, pp. 964-968, 2007.
- [27]. G. Nilsson, P. Hedberg, T. Jonason et al., “Waist circumference alone predicts insulin resistance as good as the metabolic syndrome in elderly women,” *European Journal of Internal Medicine*, vol. 19, no.7, pp.520-526, 2008.

- [28]. F. Gregor and G. S. Hotamisligil, "Inflammation mechanisms in obesity," *Annual Review Immunology*, no. 29, pp. 415-445, 2011.
- [29]. G. S. Hotamisligil, "Inflammatory pathways and insulin action," *International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders*, Suppl 3:s 53-5, 2003.
- [30]. O. Prada, H. G. Zecchin, A. L. Gasparetti et al., "Western diet modulates insulin signaling, c-Jun N terminal kinase activity, and insulin receptor substrate-1ser307 phosphorylation in a tissue specific fashion," *Endocrinology*, vol. 146, no.3, pp. 1576-1587, 2005.
- [31]. G. S. Hotamisligil, "Inflammation and metabolic disorders," *Nature*, vol. 444, no. 7121, pp. 860-867, 2006.
- [32]. K. D. Singleton, V. E. Beckey and P. E. Wischmeyer, "Glutamine prevents activation of NF-kappaB and stress kinase pathways, attenuates inflammatory cytokine release, and prevents acute respiratory distress syndrome (ARDS) following sepsis," *Shock*, vol.24, no. 1, pp.583–589, 2005.
- [33]. H. Tsai, J. J. Liu, W. C. Chiu et al., "Effects of dietary glutamine on adhesion molecule expression and oxidative stress in mice with streptozotocin-induced type 1 diabetes," *Clinical Nutrition*, vol. 30, no. 1, pp. 124-129, 2011.
- [34]. G. Oliveira, B. M. Carvalho, N. Tobar et al., "Physical exercise reduces circulating lipopolysaccharide and TLR4 activation and improves insulin signaling in tissues of DIO rats," *Diabetes*, vol. 60, no. 3, pp. 784-96, 2011.
- [35]. M. Carvalho and M. J. Saad, "Influence of gut microbiota on subclinical inflammation and insulin resistance," *Mediators of Inflammation*, vol. 2013, pp. 986734, 2013.

- [36]. D. Cani, M. A. Iglesias, M. Poggi et al., "Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance," *Diabetes*, vol. 56. no. 7, pp. 1761 – 1772, 2007.
- [37]. S. Ghoshal, J. Witta, J. Zhong et al., "Chylomicrons promote intestinal absorption of lipopolysaccharides," *Journal of Lipid Research*, vol. 50, no. 1, pp. 90-97, 2009.

## Legends

TABLE 1. Subjects characteristics. BW (body weight) (g), BMI (body mass index) (kg/m<sup>2</sup>), WC (waist circumference) (cm) and fasting serum lipopolysaccharides (LPS) levels were obtained from the same volunteer before and after supplementation with glutamine (GLN) or alanine (ALA) for 14 days. Age (years) and gender (female/male) were obtained in the beginning of the study. Volunteers were divided in group overweight ALA (n = 14), group overweight GLN (n=13), group obese ALA (n=13) and group obese GLN (n=28). Data are means  $\pm$  SEM. \*p<0.05 vs. same BMI same supplementation.

FIGURE 1. Insulin Sensitivity after GLN Supplementation. (a) serum glucose, and (b) serum Insulin levels, (c) Homa Index. Blood samples of overnight fasted subjects were obtained from the same volunteer before and after supplementation with glutamine (GLN) or alanine (ALA) for 14 days. Volunteers were divided in group overweight ALA (n = 14), group overweight GLN (n=13), group obese ALA (n=13) and group obese GLN (n=28). Data are means  $\pm$  SEM. \*p<0.05 vs. same body mass index and same supplementation.

FIGURE 2. Metabolic Hormones after GLN Supplementation. (a) serum GLP-1 (glucagon-like peptide-1), (b) serum leptin, and (c) serum adiponectin levels. Blood samples of overnight fasted subjects were obtained from the same volunteer before and after supplementation with glutamine (GLN) or alanine (ALA) for 14 days. Volunteers were divided in group overweight ALA (n = 14), group overweight GLN (n=13), group

obese ALA (n=13) and group obese GLN (n=28). Data are means  $\pm$  SEM. \*p<0.05 vs. same body mass index and same supplementation.

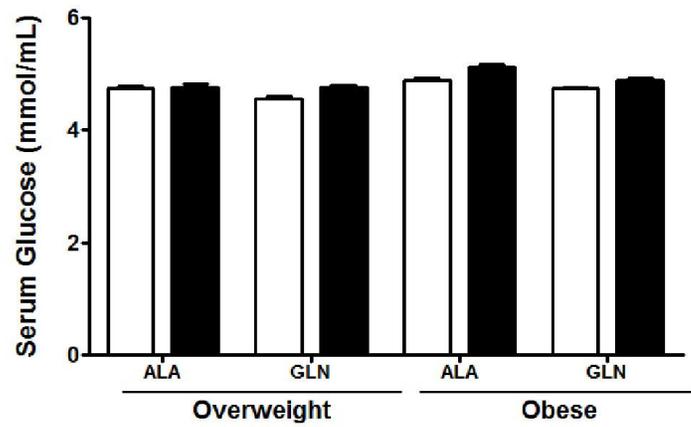
FIGURE 3. Pro-Inflammatory Cytokines after GLN Supplementation. (a) serum tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ ), (b) serum interleukin 1 beta (IL-1 $\beta$ ), (c) serum interleukin 6 (IL-6). Blood samples of overnight fasted subjects were obtained from the same volunteer before and after supplementation with glutamine (GLN) or alanine (ALA) for 14 days. Volunteers were divided in group overweight ALA (n = 14), group overweight GLN (n=13), group obese ALA (n=13) and group obese GLN (n=28). Data are means  $\pm$  SEM. \*p<0.05 vs. same body mass index and same supplementation.

# Table 1

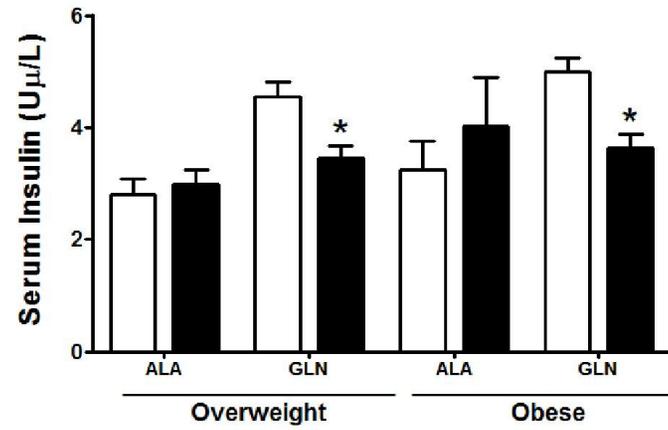
	OVERWEIGHT				OBESE			
	ALANINE		GLUTAMINE		ALANINE		GLUTAMINE	
	BEFORE	AFTER	BEFORE	AFTER	BEFORE	AFTER	BEFORE	AFTER
<b>Age (years)</b>	37.6 ± 9.0	-	39.1 ± 9.2	-	37.2 ± 7.4	-	39.5 ± 10.2	-
<b>Gender F/M</b>	11/1	-	13/1	-	12/1	-	27/1	-
<b>BW (g)</b>	73.1 ± 5.6	73.5 ± 5.5	72.8 ± 7.7	72.7 ± 7.8	86.1 ± 13.3	86.1 ± 13.1	89.8 ± 14.2	89.8 ± 14.4
<b>BMI (kg/m<sup>2</sup>)</b>	27.6 ± 1.7	27.7 ± 1.6	28.2 ± 1.1	28.1 ± 1.1	33.4 ± 2.8	33.4 ± 2.7	35.5 ± 5.0	35.4 ± 5.0
<b>WC (cm)</b>	86.7 ± 3.7	86.2 ± 3.3	87.4 ± 6.5	85.7 ± 6.1*	95.9 ± 8.0	95.5 ± 7.8	97.6 ± 10.3	96.4 ± 10.2
<b>LPS (EU/mL)</b>	0.57 ± 0.1	0.57 ± 0.1	0.54 ± 0.1	0.51 ± 0.1*	0.53 ± 0.0	0.52 ± 0.1	0.52 ± 0.1	0.53 ± 0.1

# Figure 1

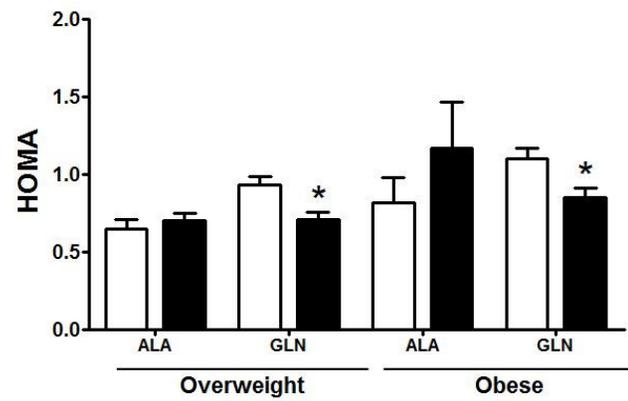
**A.**



**B.**



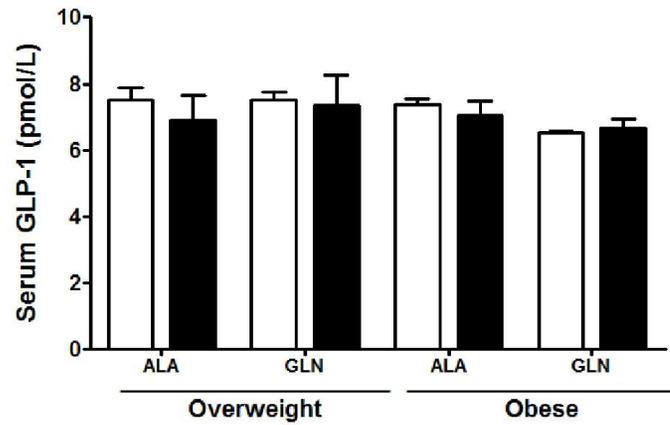
**C.**



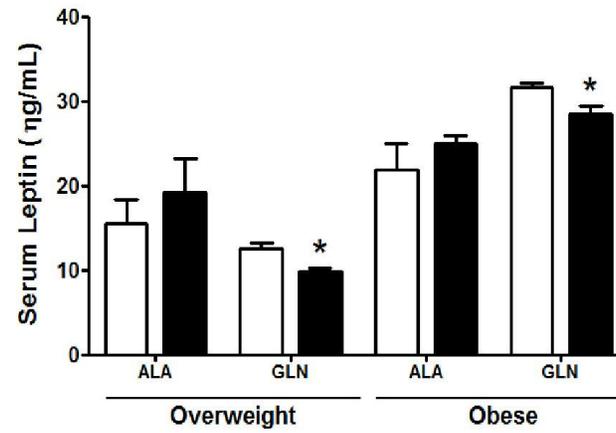
□ Before Supplementation  
■ After Supplementation

# Figure 2

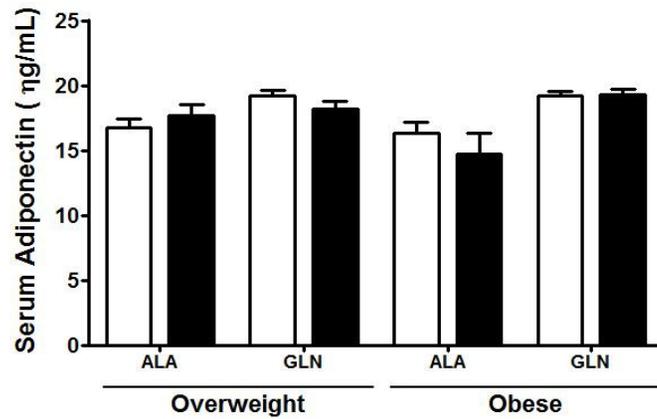
## A.



## B.



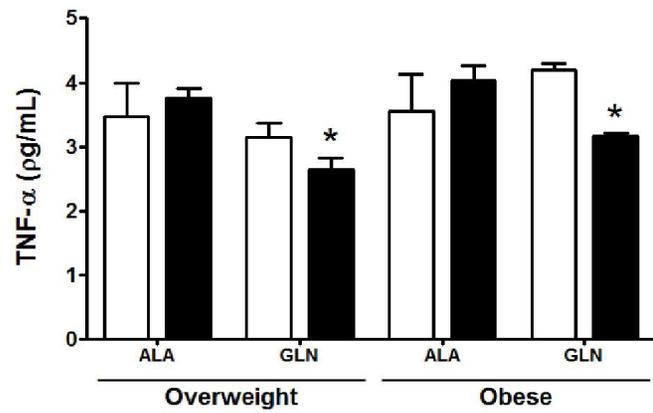
## C.



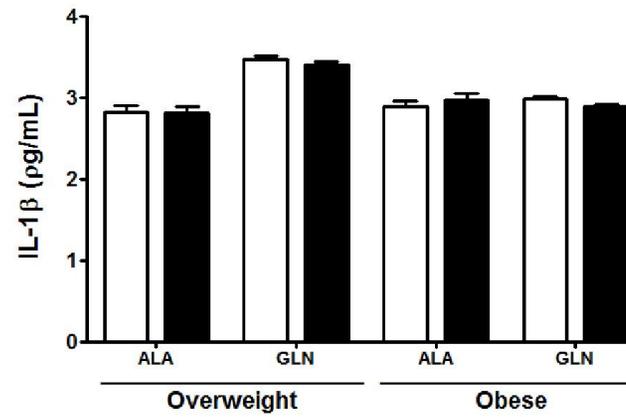
□ Before Supplementation  
■ After Supplementation

# Figure 3

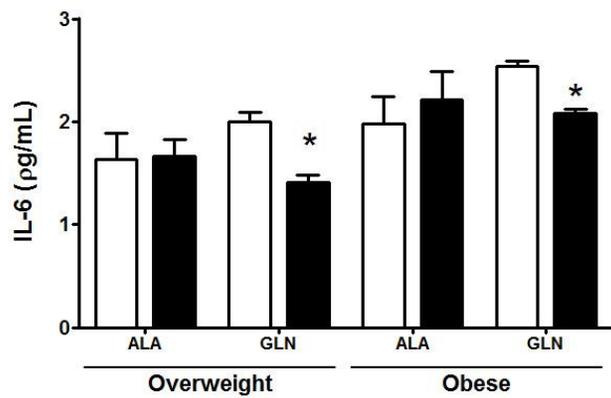
## A.



## B.



## C.



□ Before Supplementation

■ After Supplementation

## APÊNDICE I. Anamnese

### DADOS PESSOAIS

Nome: \_\_\_\_\_ Idade: \_\_\_\_\_

Data de nascimento: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Cidade: \_\_\_\_\_ Estado: \_\_\_\_\_

Telefones: \_\_\_\_\_

Residencial ( ) \_\_\_\_\_ Celular( ) \_\_\_\_\_ Comercial ( ) \_\_\_\_\_

E-mail: \_\_\_\_\_

Facebook: \_\_\_\_\_

Qual sua escolaridade:

( ) Ensino Fundamental Completo

( ) Ensino médio completo

( ) Graduação. Qual? \_\_\_\_\_ Completa? ( ) sim ( ) não

Outra: \_\_\_\_\_

Profissão: \_\_\_\_\_

Setor de trabalho no HES: \_\_\_\_\_

### HISTÓRICO FAMILIAR

Antecedentes pessoais (patologias): \_\_\_\_\_

Antecedentes familiares: ( ) DM ( ) HAS ( ) Câncer ( ) Obesidade

Outros: \_\_\_\_\_

### FUNÇÃO GASTROINTESTINAL

Gastrite: \_\_\_\_\_

Azia: \_\_\_\_\_

Urina (coloração, frequência): \_\_\_\_\_

Função Intestinal (frequência, consistência, esforço): \_\_\_\_\_

### HÁBITOS ALIMENTARES

Preferências alimentares: \_\_\_\_\_

Aversões alimentares: \_\_\_\_\_

Quem prepara suas refeições: \_\_\_\_\_

Quais são as preparações mais frequentes: \_\_\_\_\_

Local das refeições: \_\_\_\_\_

Possui o hábito de se alimentar fora de casa: \_\_\_\_\_

### HISTÓRICO ATUAL

Peso Usual: \_\_\_\_\_

Ganho ou perda de peso recente: \_\_\_\_\_ Quanto perdeu/ganhou? \_\_\_\_\_

Há quanto tempo: \_\_\_\_\_

Alergia Alimentar: \_\_\_\_\_

Medicamentos: ( ) sim Não ( )

Quais: \_\_\_\_\_

Tabagismo (frequência, quantidade): \_\_\_\_\_

Etilismo (frequência, quantidade): \_\_\_\_\_

Atividade Física (tipo, frequência, duração) \_\_\_\_\_

Já realizou algum tipo de operação: \_\_\_\_\_

É acompanhado por nutricionista? ( ) sim ( ) não

Faz alguma dieta específica? ( ) sim ( ) não

É acompanhado por outro(s) profissional(is)? ( ) sim ( ) não

Qual (is) \_\_\_\_\_

Observações: \_\_\_\_\_

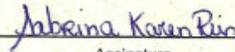
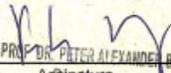
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

**APÊNDICE II. Medidas Antropométricas**

**Nome:** \_\_\_\_\_

	<b>Pré</b>	<b>Após</b>
	<b>Suplementação</b>	<b>Suplementação</b>
<b>Data</b>	___/___/___	___/___/___
<b>Massa Corporal (Kg)</b>		
<b>Estatura (m<sup>2</sup>)</b>		
<b>IMC (Kg/m<sup>2</sup>)</b>		
<b>Classificação do EN</b>		
<b>Circunferência da Cintura</b>		

## ANEXO 1. Comitê de Ética em Pesquisa

 MINISTÉRIO DA SAÚDE - Conselho Nacional de Saúde - Comissão Nacional de Ética em Pesquisa – CONEP FOLHA DE ROSTO PARA PESQUISA ENVOLVENDO SERES HUMANOS				
1. Projeto de Pesquisa: EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE L-GLUTAMINA NOS NÍVEIS SÉRICOS DE ÁCIDOS GRAXOS DE CADEIA CURTA EM INDIVÍDUOS OBESOS		2. CAAE:		
3. Área Temática:				
4. Área do Conhecimento: Grande Área 2. Ciências Biológicas				
<b>PESQUISADOR RESPONSÁVEL</b>				
5. Nome: Sabrina Karen Reis				
6. CPF: 369.827.608-98	7. Endereço (Rua, n.º): DOUTOR RUBERLEI BOARETO DA SILVA 785 CIDADE UNIVERSITARIA CAMPINAS SAO PAULO 13083710			
8. Nacionalidade: BRASILEIRA	9. Telefone: (19) 3325-4614	10. Outro Telefone:	11. Email: reis.sabrinakaren@gmail.com	
12. Cargo:				
Termo de Compromisso: Declaro que conheço e cumprirei os requisitos da Resolução CNS 196/96 e suas complementares. Comprometo-me a utilizar os materiais e dados coletados exclusivamente para os fins previstos no protocolo e a publicar os resultados sejam eles favoráveis ou não. Aceito as responsabilidades pela condução científica do projeto acima. Tenho ciência que essa folha será anexada ao projeto devidamente assinada por todos os responsáveis e fará parte integrante da documentação do mesmo.				
Data: <u>26</u> / <u>09</u> / <u>12</u>		 Assinatura		
<b>INSTITUIÇÃO PROPONENTE</b>				
13. Nome: Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP	14. CNPJ: 46.068.425/0001-33	15. Unidade/Orgão: Faculdade de Ciências Aplicadas - FCA		
16. Telefone: (19) 3701-6709	17. Outro Telefone:			
Termo de Compromisso (do responsável pela instituição): Declaro que conheço e cumprirei os requisitos da Resolução CNS 196/96 e suas Complementares e como esta instituição tem condições para o desenvolvimento deste projeto, autorizo sua execução.				
Responsável: <u>Peter Alexandre B. Schulz</u>	CPF: <u>096.767.668-10</u>			
Cargo/Função: <u>Diutor Associado</u>				
Data: <u>24</u> / <u>09</u> / <u>12</u>		 PROFESSOR PETER ALEXANDRE B. SCHULZ Assinatura Diutor Associado Faculdade de Ciências e Letras de Unesp - Ilheus Matrícula: 245798		
<b>PATROCINADOR PRINCIPAL</b>				
Não se aplica.				



**Informação:**

Aprovo *ad referendum* o projeto de pesquisa intitulado "EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE L – GLUTAMINA NOS NÍVEIS SÉRICOS DE ÁCIDOS GRAXOS DE CADEIA CURTA EM INDÍVIDUOS OBESOS", sob responsabilidade da Pesquisadora Sabrina Karen Reis e orientação da Profa. Dra. Patrícia de Oliveira Prada, a ser submetido para avaliação do Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas – CEP/FCM.

À Diretoria para aprovação.

Limeira, 20 de setembro de 2012.

**Prof. Dr. Márcio Alberto Torsoni**  
Coordenador de Pesquisa da  
Faculdade de Ciências Aplicadas  
Matrícula 298956

## ANEXO 2. Comitê de Ética do Hospital Estadual de Sumaré (HES)



### DECLARAÇÃO

Pelo presente instrumento declaramos que foi aprovada pela Comissão de Ensino e Pesquisa do Hospital Estadual Sumaré o desenvolvimento do projeto de mestrado intitulado **“EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE L-GLUTAMINA NOS NÍVEIS SÉRICOS DE ÁCIDOS GRAXOS DE CADEIA CURTA EM INDIVÍDUOS OBESOS.”** sob responsabilidade de **SABRINA KAREN REIS**, porém sendo autorizado o início da pesquisa nesta instituição a partir da aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa – UNICAMP.

Na oportunidade, renovamos nossos laços de elevada estima e consideração.

Sumaré, 24 de janeiro de 2013.

Cordialmente,

  
Dra. June Barreiros Freire.  
Coord. Centro de Ensino e Pesquisa  
Hospital Estadual Sumaré.

### **ANEXO 3. Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)**

#### **Termo de Consentimento Livre e Esclarecido**

#### **EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO COM L-GLUTAMINA NOS NÍVEIS SÉRICOS DE HORMÔNIOS LIGADOS AO METABOLISMO ENERGÉTICO EM INDIVÍDUOS COM SOBREPESO E OBESIDADE**

Pesquisador: Sabrina Karen Reis

Orientadora: Profa. Dra. Patrícia de Oliveira Prada

Estas informações estão sendo fornecidas para a sua participação voluntária nesse estudo que visa investigar os níveis séricos de ácidos graxos de cadeia curta de indivíduos com sobrepeso e obesidade após suplementação oral com glutamina.

Caso você autorize sua participação na pesquisa você estará consentido e realizando as seguintes avaliações e atividades:

*1- anamnese (questionário sobre os dados pessoais)*

O participante responderá a questões gerais para sua identificação e sobre as características da saúde e padrão alimentar.

*2- medidas antropométricas (medida de massa corporal e estatura)*

*Será realizada em uma balança eletrônica da marca Tanita UM – 080 com capacidade de 150 kg e com precisão de 100g, a mensuração da massa corporal.*

Também serão aferidos os dados da estatura, utilizando-se estadiômetro portátil da marca *Sanny* com extensão de 2 metros e graduação em milímetros.

Os dados de estatura serão aferidos utilizando-se estadiômetro portátil da marca *Sanny* com extensão até 2 metros e graduação em milímetros.

Tais medidas serão utilizadas para verificação do IMC (Índice de Massa Corporal = peso / (altura)<sup>2</sup>, o qual definirá o estado nutricional do atleta, conforme a proposta da Organização Mundial de Saúde (1997).

*3-Identificação dos dados dietéticos (recordatório alimentar 24 horas e registro alimentar de três dias; o que, quanto e a qualidade do que se consome).*

Para a coleta de dados dietéticos será utilizado um recordatório alimentar 24 horas e um registro alimentar de 3 dias, nos quais os participantes deverão anotar todos os alimentos e fluidos consumidos (em ml e medidas caseiras), antes do início de suplementação com glutamina, no período de suplementação e no final da suplementação. O formulário apropriado para o registro dos alimentos será fornecido para os voluntários.

A análise do consumo de energia e nutrientes (carboidratos, proteínas e lipídeos) será realizada mediante a utilização do software DIETPRO sendo apresentados em média e desvio padrão.

*4- Exames laboratoriais e plasmáticos (glicemia e insulinemia de jejum e níveis de ácidos graxos de cadeia curta).*

Serão coletadas amostras de sangue (24 ml) dos voluntários tanto para análise de glicemia e insulinemia de jejum, quanto para a análise dos ácidos graxos de cadeia curta.

*4.1 Riscos e desconfortos potenciais:*

No momento da coleta de sangue poderá haver alguma dor decorrente da punção da pele. Complicações de coleta de sangue rotineira são raras e geralmente de pequeno porte. Se houver pequena perda de sangue da veia no local da punção geralmente há um pequeno desconforto que desaparece em poucos dias.

*4.2 Benefícios esperados:*

Alguns benefícios são esperados com a pesquisa: melhora do estado nutricional e da inflamação associada à obesidade.

As avaliações deste estudo serão realizadas por profissionais da área da saúde especializados previamente treinados e não oferecem risco. Somente no final do estudo poderemos concluir e qualificar a presença de reais benefícios ocorridos pela associação da suplementação oral com glutamina em pacientes com sobrepeso e obesidade.

Os voluntários terão assistência e acompanhamento dos responsáveis pela pesquisa. Serão acompanhados diariamente através de encontros e contato telefônico. Para esclarecimento de eventuais dúvidas, entre em contato com Sabrina Karen Reis, Fone: (019) 35218026 / (19) 87069634, e-mail: reis.sabrinakaren@gmail.com ou no endereço Rua: Tessália Vieira de Camargo, 126 – Cidade Universitária - CEP 13083-887 Campinas – SP. Se houver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) – Tessália Vieira de Camargo, 126 – Cidade Universitária - CEP 13083-887 Campinas – SP; Fone (019) 3521-8936 ou 3521-7187 - E-mail: cep@fcm.unicamp.br

É garantida a liberdade da retirada de consentimento a qualquer momento, e deixar de participar do estudo, sem qualquer prejuízo. Por outro lado, as informações obtidas serão mantidas em sigilo e analisadas em conjunto com dados de outros participantes, não sendo divulgada a identificação de nenhum envolvido quando os dados do estudo forem publicados.

O voluntário tem o direito de se manter atualizado sobre os resultados parciais desse estudo.

Não há despesas pessoais para o participante em qualquer fase do estudo. Também não haverá retorno financeiro relacionado à sua participação (não pagará e não será remunerado).

É compromisso de o pesquisador utilizar os dados deste estudo somente para fins dessa pesquisa.

Acredito ter sido suficientemente esclarecido a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo **“EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO COM L-GLUTAMINA EM INDIVÍDUOS COM SOBREPESO E OBESIDADE”**. Eu discuti com a Professora Doutora Patrícia de Oliveira Prada e com a aluna Sabrina Karen Reis sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficou claro para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, a garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que, se necessário, receberei encaminhamento a atendimento hospitalar. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste Serviço.

Este documento será assinado em 2 vias, ficando uma em poder do participante do estudo;

Assinatura do participante \_\_\_\_\_

Data: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste paciente para a participação neste estudo.

Assinatura do responsável \_\_\_\_\_

Data: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_