

Serum myristic fatty acid negatively correlates with anti-inflammatory adiponectin/leptin ratio in obese adolescents: effects of long-term therapy

Aline de Piano-Ganen*

Deborah Cristina Landi Masquio*

Ana R. Dâmaso**

Lila Missae Oyama**

Debora Estadella**

Andreia Chamas***

Claudia Maria Penha Oller do Nascimento**

537

O Mundo da Saúde, São Paulo - 2017;40A: 537-554
Serum myristic fatty acid...

Abstract

Obesity is related to metabolic disorders partially mediated by inflammatory state. In this way, adiponectin/leptin ratio is considered an anti-inflammatory biomarker related to cardiovascular risks. Evidence suggest that decrease in saturated fatty acid intake is an important dietary recommendation to reduce cardiovascular risk factors. Thus, the purpose of the present study was to evaluate if serum myristic fatty acid can modulate metabolic profile and inflammatory process in obese adolescents after weight-loss therapy. Twenty-nine obese post-pubertal obese adolescents, aged 14 to 19 years, were submitted to the long-term interdisciplinary treatment, including physical exercise, clinic, nutritional and psychological intervention. The blood samples were collected to glycaemia, insulin, lipid profile, leptin and adiponectin analysis. Serum fatty acid composition was performed by technical of chromatography in fizzy phase. The therapy promoted significant improvement in body mass, BMI, subcutaneous and visceral fat, insulin, lipid profile, leptin and leptin/adiponectin ratio. Significant decrease in myristic fatty acid was observed. Simple linear regression analysis showed that myristic fatty acid was positively associated with changes in triglycerides and very low density lipoprotein cholesterol, and was negatively associated with adiponectin/leptin ratio. In summary, we observed that long-term weight loss therapy was effective to improve metabolic/inflammatory profile and serum myristic fatty acid. Moreover, our results suggested the relation between changes in serum myristic fatty acids with the anti-inflammatory adiponectin/leptin ratio, which may modulate metabolic and inflammatory process related to obesity.

Keywords: Myristic acid. Obesity. Adiponectin. Leptin. Adolescents.

INTRODUCTION

The worldwide epidemic of childhood obesity in the last decades is responsible for the occurrence of metabolic disorders, which increase cardiovascular risk factors, such as, metabolic syndrome.¹ More specifically, in obese adolescents, investigation clear showed reduction in the anti-inflammatory adipokines, including adiponectin, associated with increased pro-inflammatory and pro-thrombotic markers, such as, leptin and PAI-1.²

In fact, hyperleptinemia state in obese adolescents can up regulate the inflammatory

process, being demonstrated an increase in carotid intima media thickness, a surrogate marker of cardiovascular disease.³ Inversely, decrease in adiponectin concentration has showed by several investigations in obese adolescents and adults. Adiponectin is an anti-inflammatory and insulin-sensitizing adipokine, which is negatively related with adiposity. Indeed, circulating adiponectin is inversely correlated with insulin resistance and glycaemia in obese adolescents.²⁻³

Taken together, leptin and adiponectin are

DOI: 10.15343/0104-7809.201740A537554

* Programa de Pós-Graduação: Mestrado Profissional em Nutrição do Centro Universitário São Camilo, São Paulo, Brazil. / Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), São Paulo-SP, Brazil.

** Universidade Federal de São Paulo, São Paulo-SP, Brazil.

*** Programa de Pós-Graduação: Mestrado Profissional em Nutrição do Centro Universitário São Camilo, São Paulo, Brazil.

E-mail: aline.depiano@gmail.com

considered two major adipose tissue adipokines and they are thought to play important roles in metabolic disorder and comorbidities of obesity.⁴ Long-term weight loss approach can reverse this inflammatory state in obese adolescents, reducing cardiovascular risks and metabolic alteration.² Emerging evidence has suggested that adiponectin/leptin and leptin/adiponectin ratios are strongly associated with surrogate measures of insulin resistance and metabolic alterations, being more effective than these adipokines alone.⁵

Recently, it has been investigated in the literature that the amount and type of dietary fat have direct influence on cardiovascular risk factors, such as, lipids and plasma lipoprotein concentration, as well as, inflammatory processes. It has been evidenced the role of polyunsaturated fatty acids (PUFA) and monounsaturated fatty acids (MUFA) in down-regulating risk factors of cardiovascular disease, and conversely, saturated fatty acid in promoting inflammation and metabolic alteration.⁶⁻⁷

Reducing the consumption of saturated fatty acids is considered an important dietary recommendation to reduce cardiovascular risk factors.⁷ Myristic fatty acid is a 14-carbon, straight-chain saturated fatty acid, widely distributed among plant and animal fats.⁸ Studies suggest that myristic acid is the major contributor to metabolic disorders, including cholesterol-raising and diabetes.^{6,9} However, it is unclear the link between serum myristic fatty acids with pro-anti/inflammatory markers in obese adolescents. In this way, the aim of the present study was to evaluate if serum myristic fatty acid can modulate metabolic profile and inflammatory process in obese adolescents after long-term weight loss therapy.

MATERIAL AND METHODS

Subjects

A total of 29 obese adolescents, being 17 girls and 12 boys, who entered the Interdisciplinary Obesity Program at Universidade Federal de São Paulo – Escola Paulista de Medicina, were submitted to weight loss therapy. The evaluations were performed at baseline and

after 1 year of an interdisciplinary approach.

The age of the participants ranged from 14 to 19 years (16.44 ± 1.65 years). Body mass Index (BMI) was 36.29 ± 4.76 kg/m². All participants were confirmed as meeting the inclusion criteria of post-pubertal Stage V (based on the Tanner stages) and obesity criteria (BMI >95th percentile of the CDC reference growth charts).¹⁰⁻¹¹ Exclusion criteria were identified genetic disease and previous drug utilization.

Informed consent was obtained from all subjects and/or their parents, including agreement of the adolescents and their families to participate as volunteers. This study was performed in accordance with the principles of the Declaration of Helsinki and was formally approved by the Institutional Ethical Committee (#2026/11) and registered in the clinical trials (NCT01358773).

Study protocol and medical screening

The subjects were medically screened; their pubertal stages and their anthropometric measures were assessed (height, weight, BMI and body composition). The endocrinologist completed a clinical interview, including questions to determine eligibility based on inclusion and exclusion criteria. A blood sample was collected and analyzed, and ultrasound (US) was performed to measure visceral and subcutaneous fat. For all subjects, the procedures were scheduled for the same time of day to remove any influence of diurnal variations. All subjects underwent an ergometric test. Thereafter, obese adolescents started the interdisciplinary weight loss program (described in a later section).

Anthropometric measurements and body composition

Subjects were weighed wearing light clothing and no shoes on a Filizola scale to the nearest 0.1 kg. Height was measured to the nearest 0.5 cm by using a wall-mounted stadiometer (Sanny, model ES 2030). BMI was calculated as body weight divided by height squared. Body composition was estimated by plethysmography in the BOD POD body composition system (version 1.69, Life Measurement Instruments,

Concord, CA).¹²

Serum analysis

Blood samples were collected in the outpatient clinic around 8 h after an overnight fast. Insulin resistance was assessed by the HOMA-IR index, calculated using the fasting blood glucose (FBG) and immunoreactive insulin (I): [FBG (mg/dL) X I (mU/L)] /405.¹³ Total cholesterol, triglycerides, HDL-c, LDL-c and VLDL-c were analyzed using a commercial kit (CELM, Barueri, Brazil). Total adiponectin and leptin concentrations were measured using a commercially available enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kit from *Linco Research, Inc.* (St Charles, Missouri, MO) according to the manufacturer's instructions. For the present study, the leptin data was analyzed according to the reference values described by Gutin et al. (2004)¹⁴, and lipid profile was compared to I Guideline for Preventing Atherosclerosis in Childhood and Adolescence.¹⁵

Serum fatty acid composition (%)

Serum free fatty acid composition was determined by gas chromatography using a Varian Model 3900 Gas Chromatograph (Walnut Creek, CA, USA) coupled with flame ionization detection (FID) and a CP-8410 autosampler. Methylation of each fraction was performed with acetyl chloride (5% HCl in methanol) and fatty acid composition was determined as methyl esters. Fatty acids were identified by comparing the retention time using a known standard of fatty acids methyl esters (FAME). FAMES were analysed on a capillary column (CP Wax 52 CB, Varian, Lake Forest, CA, USA; 0.25 µm thickness, inside diameter 0.25mm and 30m length). Hydrogen was used as a carrier gas at a linear velocity of 22 cm/s. The temperature program was 170°C for 1 min, followed by 2.5°C/min increases to 240°C and a final hold time of 5 min. The injector and FID temperatures were 250 and 260°C, respectively. FAMES were identified by comparing the retention times of the samples with those of known standards (Supelco 37-component FAME mix, Sigma-Aldrich; Qualmix PUFA fish M, Menhaden Oil, Mixture ME 93, Larodan).

Fatty acid composition values were expressed as percentages of total fatty acids.¹⁶

Visceral and subcutaneous adiposity measurements

All of the abdominal ultrasonography procedures and measurements of visceral and subcutaneous fat tissue were performed by the same physician, who was blinded to the clinical and laboratory data of the patients and to the initial reading 1 year after the initial assessment in order to assess the treatment evaluation. This physician was a specialist in imaging diagnostics. A 3.5-MHz multifrequency transducer (broad band) was used to reduce the risk of misclassification. The intra-examination coefficient of variation for ultrasound (US) was 0.8%.

US measurements of intra-abdominal (visceral) and subcutaneous fat were obtained. US-determined subcutaneous fat was defined as the distance between the skin and external face of the rectus abdominals muscle, and visceral fat was defined as the distance between the internal face of the same muscle and the anterior wall of the aorta. Cut-off points to define visceral obesity by ultrasonography parameters were based on previous methodological descriptions by Ribeiro-Filho et al.¹⁷

Dietary program

Energy intake was set at the levels recommended by the dietary reference intake for subjects with low levels of physical activity of the same age and gender following a balanced diet.¹⁸ No drugs or antioxidants were recommended. Once a week, adolescents had dietetic lessons (providing information on the food pyramid, diet record assessment, weight-loss diets and "miracle" diets, food labels, dietetics, fat-free and low-calorie foods, fats (kinds, sources and substitutes), fast-food calories and nutritional composition, good nutritional choices on special occasions, healthy sandwiches, shakes and products to promote weight loss, functional foods and decisions on food choices). All patients received individual nutritional consultation during the intervention program.

Exercise program

During 1-year of interdisciplinary intervention period, adolescents followed the combined exercise-training program. This protocol was performed three times per week for 1 year and included 30 minutes of aerobic training plus 30 minutes of resistance training per session. The subjects were instructed to reverse the order of the exercises (aerobic and resistance) at each training session. The aerobic training consisted of running on a motor-driven treadmill (Life Fitness-Model TR 9700HR) at a cardiac frequency intensity representing ventilatory threshold I (± 4 bpm), as determined by the results of an initial oxygen uptake test for aerobic exercises. The exercise program was based on guidelines from the American College of Sports Medicine.¹⁹

Resistance training was also designed based on ACSM recommendations.¹⁹ Exercises targeted each of the main muscle groups. After an introductory period, the load of training was adjusted such that volume and intensity were adjusted inversely, decreasing the number of repetitions to between 6 and 20 repetitions, for

three sets.

Statistical analysis

All data were analyzed using STATISTICA version 6 for Windows, with the significance level set at $p < 0.05$. Data are expressed as the mean \pm SD unless otherwise stated. Distributional assumptions were verified by the Kolmogorov-Smirnov test, and non-parametric methods were performed when appropriate. Adipokines were analyzed with non-parametric tests and expressed as median, quartile range values.

Comparisons between measures at baseline and after weight-loss intervention were made using dependent Student T test or the Wilcoxon signed rank test of non-parametric variables. The delta variation (Δ) was used for the statistical analysis obtained from the difference between the baseline and final values for each variable. Pearson and Spearman correlations were performed to test the direction and strength of the relationship between variables of interest. Simple linear regression analysis was performed to estimate the association between parameters.

RESULTS

Effects of long-term weight loss therapy

At the beginning of therapy, 52 were enrolled in the program, however only 29 obese adolescents followed one year of intervention with more than 75% of frequency. The results are presented for the whole population studied once we did not find significant gender differences in BMI at baseline. After long-term therapy, we could observe significant reduction in body mass, BMI, fat mass, subcutaneous and visceral fat (Table 1).

In relation to metabolic profile, significant improvements were observed in glycaemia, insulin, total cholesterol (TC), LDL-c, VLDL-c, HDL-c and triglycerides (Table 1). Based on the adipokines data, it was verified that leptin and leptin/adiponectin ratio decreased significantly after this therapy (Table 2). Analyzing the

compartment of serum myristic, we are able to show significant reduction after 1 year of therapy (Figure 1).

Correlation and regression analysis

At baseline, we could note positive correlation between myristic fatty acid with triglycerides ($r=0.45$, $p=0.015$) and VLDL-c ($r=0.45$, $p=0.014$) (Table 3). After weight loss therapy, changes in myristic fatty acid correlated positively with changes in plasmatic triglycerides ($r=0.43$, $p=0.019$) and VLDL-c ($r=0.42$, $p=0.022$) concentration. Meanwhile, negative correlation was observed between Δ myristic fatty acid and adiponectin/leptin ratio ($r=-0.46$, $p=0.021$). Simple linear regression analysis showed that Δ myristic fatty acid were associated with changes in TG, VLDL-c and A/L (Figure 2).

Table 1 – Body composition, subcutaneous and visceral adipose tissues and biochemical parameters in obese adolescents after one year of interdisciplinary intervention. São Paulo, Brazil, 2015.

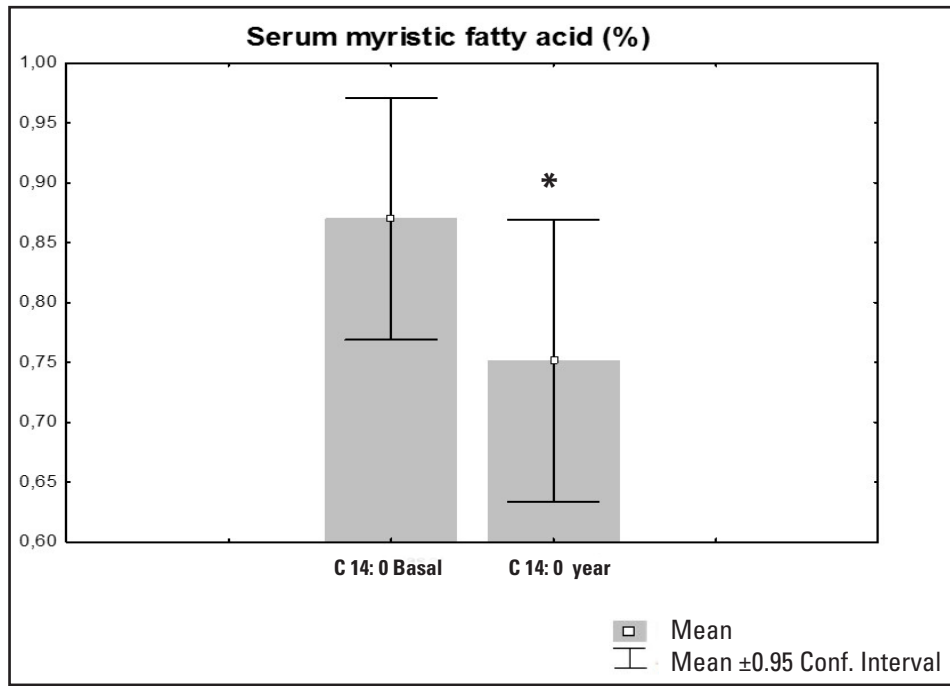
Entire group			
Variables	Basal	1 year	Δ 1 year
Body mass (kg)	104,58 ± 16,67	92,51 ± 15,28*	-12,08
BMI (kg/m ²)	36,29 ± 4,76	31,47 ± 4,33*	-4,82
Fat mass (%)	45,99 ± 4,58	39,52 ± 6,10*	-6,46
Fat mass (kg)	48,29 ± 10,14	36,85 ± 9,68*	-11,44
Lean mass (kg)	56,29 ± 9,06	55,67 ± 8,96	-0,62
Visceral fat (cm)	4,15 ± 1,32	2,75 ± 0,91*	-1,38
Subcutaneous fat (cm)	4,31 ± 0,84	2,90 ± 0,60*	-1,38
Glycemia (mg/dl)	89,79 ± 6,83	93,34 ± 5,99*	3,55
Insulin (mU/L)	15,00 (7,10)	10,60 (7,00)*	-3,04
HOMA-IR	3,48 (1,35)	2,61 (1,63)	-0,55
Total cholesterol (mg/dL)	178,24 ± 35,11	167,66 ± 27,16*	-10,59
LDL-c (mg/dL)	112,17 ± 30,78	102,07 ± 24,89*	-10,10
VLDL-c (mg/dL)	21 (15)	16 (8)*	-3,93
HDL-c (mg/dL)	44,17 ± 9,42	47,62 ± 9,17*	3,45
Triglycerides (mg/dL)	103,00 (75)	78,00 (41)*	-19,93

* Results presented in X±SD or median (Quartil range), basal versus 1 year, p ≤ 0.05

Table 2 – Inflammatory profile in obese adolescents at baseline and after one year of interdisciplinary intervention. São Paulo, Brazil, 2015.

Entire Group			
	Basal	1 year	Δ 1 year
Adiponectin (µg/L)	3.44 (1.16)	4.07 (1.84)	0.46
Leptin (ng/dL)	49.95 (22.23)	29.11 (21.69)*	-22.50
Leptin/Adiponectin ratio	14.18 (6.64)	6.77 (4.83)*	-7.82
Adiponectin/leptin ratio	0.07 (0.02)	0.15 (0.15)	0.26

* Results presented in median (Quartil range), basal versus 1 year p ≤ 0.05.

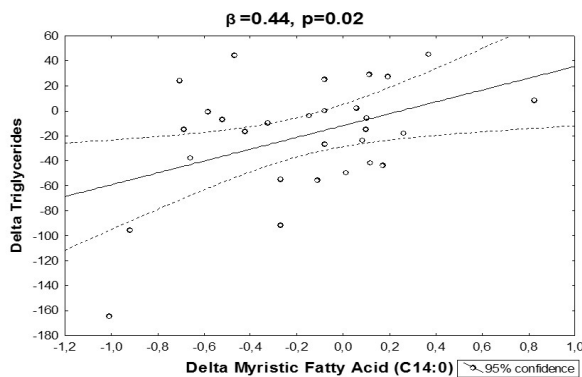


* P < 0,05.

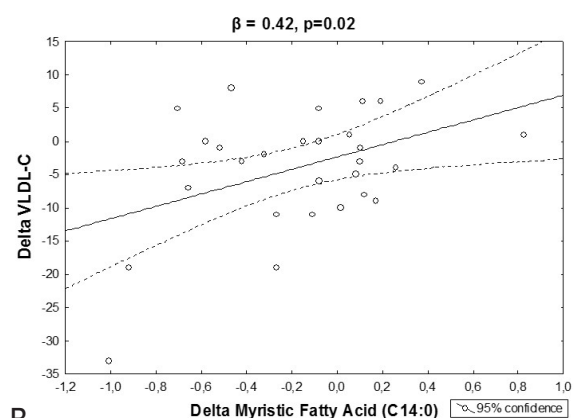
Figure 1 – Serum Myristic acid concentration (%) at baseline and after one year of intervention in obese adolescents. São Paulo, Brazil, 2015.

Table 3 – Pearson correlations of serum myristic fatty acid with metabolic and inflammatory profile. São Paulo, Brazil, 2015.

Myristic acid		
	r	p
TG	0.45	0.015
VLDL-c	0.45	0.014
Δ Myristic acid		
	r	p
Δ TG	0.43	0.019
Δ VLDL-c	0.42	0.022
Δ Adiponectin/leptin ratio	-0.46	0.021



A



B

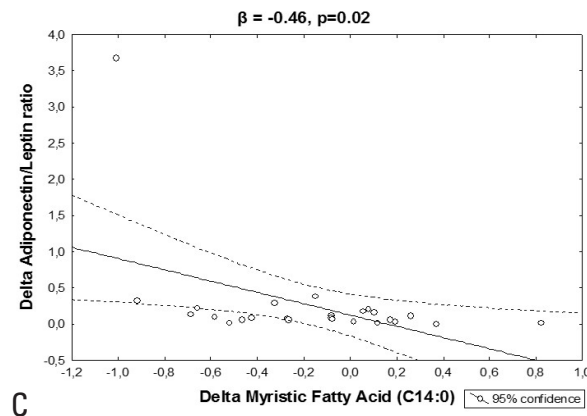


Figure 2 – Simple regression analysis between myristic fatty acid and triglycerides (a), VLDL-c (b) and adiponectin/leptin ratio (c). São Paulo, Brazil, 2015.

DISCUSSION

In the present investigation, we purposed to evaluate if serum myristic fatty acids can modulate, in a long-term, metabolic profile and inflammatory process in obese adolescents. Therefore, the most important finding was that myristic fatty acid negatively correlated with anti-inflammatory biomarker, which suggests its role on development of obesity comorbidities. In fact, we observed significant reduction in serum myristic fatty acid (C14:0) after weight loss therapy, which negatively correlated adiponectin /leptin ratio. Also, this fatty acid was positively correlated with TG and VLDL-c.

Corroborating our findings, it has been showed that percentage of myristic fatty acid was significantly associated with lower adiponectin among healthy individuals.²⁰ Accordingly, in the present study, negative association between Δ myristic fatty acid (%) and Δ adiponectin/leptin ratio was observed, suggesting that the reduction in the serum concentration of this saturated fatty acid can improve inflammatory process related to obesity in adolescents.

The hyperlipidemic status in obese adolescents can favor inflammatory pathways, worsening obesity control. Moreover, leptin is related to increased insulin resistance, which can cause hyperlipidemia.³ In fact, previous study demonstrated that leptin was positively associated with metabolic alterations in obese adolescents.² Interestingly, we observed

significant decrease in leptin concentration after one year of weight loss therapy. Moreover, it was recently suggested that leptin/adiponectin ratio represents a better indicator of insulin resistance, which exerts a key role in the genesis of several comorbidities of obesity, including inflammation and cardiovascular disease.²⁻³ Interestingly, weight loss therapy also promoted reduction in this parameter.

Models to evaluate adiponectin and leptin have been employed to assess metabolic disorders in diverse populations.³⁻⁵ In obese adolescents, adiponectin/leptin ratio was negatively correlated with insulin resistance, total cholesterol, LDL-c and blood pressure. Thus, improvements of this parameter can be considered an essential clinical tool in obesity treatment.²

A large body of evidence suggest some mechanisms that link saturated fatty acid and inflammatory state, which include: 1) activation of TLR4 receptor; 2) lipid intermediate derived from saturated fatty acid, such as, diacylglycerols and ceramides; 3) activation of the NLRP3 inflammasome.²¹ It is relevant to know that myristic fatty acid is the major saturated fatty acid found in milk and dairy foods, accounting for about 18% of dairy fat. It is also present in significant percentage in the composition of coconut oil.²² In the food industry, myristic fatty acid is used as a multipurpose food additive and

flavor adjuvant, as a defoaming agent, and as a coating on fresh citrus fruits.⁸ Another important evidence in the present investigation was that myristic fatty acid up-regulated lipid profile, since we noted positive correlation between changes in myristic fatty acid with triglycerides and VLDL-c. These results were confirmed by simple linear regression. In fact, the literature suggests the close relation between myristic fatty acid and alteration in lipid profile and lipid accumulation in the liver.²³

Between saturated fatty acids, myristic acid is considered the major contributor to the cholesterol-raising effects and palmitic acid may be neutral, like stearic and oleic acid. In a classic well-controlled trial, a large number of volunteers received fat rich in myristic acid. The authors found that myristic fatty acid presented about 1.5 times cholesterol-raising effect.²⁴

The first suggested mechanism refers to increase of VLDL-c hepatic synthesis, by a major hepatic anabolism of this fatty acid. The PUFAs modulate several genes involved in oxidative processes, increasing the Peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs) expression and blocking these related to lipogenesis. Meanwhile, the saturated fatty acts oppositely, favoring the gene expression that participates of lipogenesis.²⁵ Study developed with overweight/obese humans demonstrated that humans' adipocyte size and number are positively associated with dietary saturated fatty acids (SFAs).²⁶ To confirm this hypothesis, Roberts et al. (2009) found strong positive relationships between adipose tissue triglycerides content

of saturated fatty acids, myristic acid (14:0) and stearic acid (18:0), with insulin sensitivity and inverse relationships with adipocyte size.²⁷ Therefore, the study suggests that serum content of myristic fatty acid could modulate lipogenesis and inflammatory ways. Based on these evidence, the reduction of myristic fatty acid concentration is an important strategy to obesity control, mainly in the improvement of plasmatic lipid profile. Furthermore, it is important to highlight that long-term weight loss therapy has demonstrated to be effective to improve obesity and metabolic profile, such as fat mass, visceral fat, insulin and inflammatory biomarkers. In fact, previous studies have been demonstrated the role of weight loss in attenuating inflammation and dyslipidemia.^{2-3;5-7}

Although, the present outcomes suggest that these results may be partially mediated by improvement in the serum myristic fatty acid and its association with down-regulation of pro-inflammatory state in obese adolescents. Moreover, it is consistently demonstrated that the successful delivery of strategies to prevent and treat obesity is dependent upon strong partnerships between health professionals, which corroborates with the present model of weight loss therapy.

The current study presents some limitations, such as, reduced number of subjects. Moreover, all hypotheses should be confirmed in a large study, including translational research. Thus, further studies are needed to evaluate the legitimate therapeutic role of fatty acids in several diseases related to obesity.

CONCLUSION

In summary, the results suggest that changes in lipid profile are related to changes in serum myristic fatty acid. In addition to metabolic effects of this type of fatty acid, we demonstrated that myristic fatty acids can

influence the inflammatory pathways related to obesity in adolescents after long term intervention. Altogether, these results may be considered in order to improve metabolic and inflammatory biomarkers in obesity treatment.

REFERENCES

1. D'Adamo E, Santoro N, Caprio S. Metabolic syndrome in pediatrics: old concepts revised, new concepts discussed. *Curr Probl Pediatr Adolesc Health Care* 2012; 43(5):114-23.
2. Masquio DC, de Piano A, Campos RM, Sanches PL, Carnier J, Corgosinho FC, Netto BD, Carvalho-Ferreira JP, Oyama LM, Nascimento CM, de Mello MT, Tufik S, Dâmaso AR. The role of multicomponent therapy in the metabolic syndrome, inflammation and

cardiovascular risk in obese adolescents. *Br J Nutr* 2015; 113(12):1920-30.

3. Sanches PL, de Mello MT, Elias N, Fonseca FA, Campos RM, Carnier J, de Piano A, Masquio DC, Silva PL, Oyama LM, Corgosinho FC, Nascimento CM, Tock L, D'Elia CA, Tufik S, Dâmaso AR. Hyperleptinemia: implications on the inflammatory state and vascular protection in obese adolescents submitted to an interdisciplinary therapy. *Inflammation* 2014; 37(1):35-43.

4. Schrover IM, Spiering W, Leiner T, Visseren FL. Adipose Tissue Dysfunction: Clinical Relevance and Diagnostic Possibilities. *Horm Metab Res* 2016; 48(4):213-25.

5. Zaletel J, Barlovic DP, Prezelj J. Adiponectin-leptin ratio: a useful estimate of insulin resistance in patients with type 2 diabetes. *J Endocrinol Invest* 2010; 33:514-8.

6. Masquio DC, de Piano A, Campos RM, Sanches PL, Corgosinho FC, Carnier J, Oyama LM, do Nascimento CM, de Mello MT, Tufik S, Dâmaso AR. Saturated fatty acid intake can influence increase in plasminogen activator inhibitor-1 in obese adolescents. *Horm Metab Res* 2014; 46(4):245-51.

7. Jamar G, Pisani LP, Medeiros A, Oyama LM, Masquio DC, Colantonio E, Garcia S, Sanches RB, dos Santos Moraes A, Belote C, Caranti DA. Effect of Fat Intake on the Inflammatory Process and Cardiometabolic Risk in Obesity After Interdisciplinary Therapy. *Horm Metab Res* 2016;48(2):106-11.

8. Burdock GA, Carabin IG. Safety assessment of myristic acid as a food ingredient. *Food Chem Toxicol* 2007; 45(4):517-29.

9. Noto D, Fayer F, Cefalù AB, Altieri I, Palesano O, Spina R, Valenti V, Pitrone M, Pizzolanti G, Barbagallo CM, Giordano C, Averna MR. Myristic acid is associated to low plasma HDL cholesterol levels in a Mediterranean population and increases HDL catabolism by enhancing HDL particles trapping to cell surface proteoglycans in a liver hepatoma cell model. *Atherosclerosis* 2016; 246:50-6.

10. Tanner JM, Whitehouse RH. Clinical longitudinal standards for height, weight, height velocity, weight velocity, and stages of puberty. *Arch Dis Child* 1976; 51(3):170-9.

11. Centers for Disease Control and Prevention. Prevalence of overweight among children and adolescents: United States, 1999–2000. <http://www.cdc.gov/nchs/products/pubs/pubd/hestats/overwght99.htm> [Accessed 2010].

12. Fields DA, Goran MI. Body composition techniques and the four-compartment model in children. *J Appl Physiol* (1985) 2000; 89(2):613-20.

13. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* 1985; 28(7):412-9. 25.

14. Gutin B, Ramsey L, Barbeau P, Cannady W, Ferguson M, Litaker M, Owens S. Plasma leptin concentrations in obese children: changes during 4-mo periods with and without physical training. *Am J Clin Nutr* 1999; 69(3):388-94.

15. Giuliano ICB, Caramelli B, Pellanda L, Duncan B, Mattos S, Fonseca FAH. I Guideline for preventing atherosclerosis in childhood and adolescence. *Int J Atheroscler* 2006; 1:1-30.

16. Christie WW. Lipids analysis. The Oily Press, Bridgwater, 2003.

17. Ribeiro-Filho FF, Faria AN, Azjen S, Zanella MT, Ferreira SR. Methods of estimation of visceral fat: advantages of ultrasonography. *Obes. Res* 2003;11:1488-94.

18. NRC. Dietary Reference Intake: applications in dietary assessment. Washington, DC, National Academic Press, 2001.

19. Donnelly JE, Blair SN, Jakicic JM, Manore MM, Rankin JW, Smith BK; American College of Sports Medicine. American College of Sports Medicine Position Stand. Appropriate physical activity intervention strategies for weight loss and prevention of weight regain for adults. *Med Sci Sports Exerc* 2009; 41(2):459-71.

20. Fernández-Real JM, Vendrell J, Ricart W. Circulating adiponectin and plasma fatty acid profile. *Clin Chem* 2005; 51(3):603-9.

21. Cooke AA, Connaughton RM, Lyons CL, McMorrow AM, Roche HM. Fatty acids and chronic low grade inflammation associated with obesity and the metabolic syndrome. *Eur J Pharmacol* 2016. doi: 10.1016/j.ejphar.2016.04.021.

22. Benatar JR, Stewart RA. The effects of changing dairy intake on trans and saturated fatty acid levels- results from a randomized controlled study. *Nutr J* 2014; 13:32.

23. Martínez L, Torres S, Baulies A, Alarcón-Vila C, Elena M, Fabriàs G, Casas J, Caballeria J, Fernandez-Checa JC, García-Ruiz C. Myristic acid potentiates palmitic acid-induced lipotoxicity and steatohepatitis associated with lipodystrophy by sustaining de novo ceramide synthesis. *Oncotarget* 2015; 6(39):41479-96.

24. Mensink RP, Katan MB. Effect of dietary fatty acids on serum lipids and lipoproteins-a meta-analysis of 27 trials. *Arterioscler Thromb* 1992; 12(8):911-9.

25. Lottenberg AM. Importância da gordura alimentar na prevenção e no controle de distúrbios metabólicos e da doença cardiovascular. *Arq Bras Endocrinol Metab* 2009; 53(5):595-607.

26. Garaulet M, Hernandez-Morante JJ, Lujan J, Tebar FJ, Zamora S. Relationship between fat cell size and number and fatty acid composition in adipose tissue from different fat depots in overweight/obese humans. *Int J Obes (Lond)* 2006; 30(6):899-905.

27. Roberts R, Hodson L, Dennis AL, Neville MJ, Humphreys SM, Harnden KE, Micklem KJ, Frayn KN. Markers of de novo lipogenesis in adipose tissue: associations with small adipocytes and insulin sensitivity in humans. *Diabetologia* 2009; 52(5):882-90.

O ácido graxo mirístico sérico correlaciona-se negativamente com a razão adiponectina/leptina anti-inflamatória em adolescentes obesos: efeitos da terapia de longo prazo

Aline de Piano-Ganen*
Deborah Cristina Landi Masquio*

Ana R. Dâmaso**

Lila Missae Oyama**

Debora Estadella**

Andreia Chamas***

Claudia Maria Penha Oller do Nascimento**

Resumo

A obesidade está relacionada a distúrbios metabólicos parcialmente mediados por um estado inflamatório. Desta forma, a razão adiponectina/leptina é considerada um biomarcador antiinflamatório relacionado aos riscos cardiovasculares. Evidências sugerem que a diminuição na ingestão de ácidos graxos saturados seja uma recomendação dietética importante para reduzir os fatores de risco cardiovascular. Assim, o objetivo do presente estudo foi avaliar se o ácido graxo mirístico sérico pode modular o perfil metabólico e processos inflamatórios em adolescentes obesos após a terapia para perda de peso. Vinte e nove adolescentes pós-púberes e obesos de 14 a 19 anos de idade foram submetidos a um tratamento interdisciplinar de longo prazo, incluindo exercício físico, intervenção clínica, nutricional e psicológica. As amostras de sangue foram coletadas para análise da glicemia, insulina, perfil lipídico, leptina e adiponectina. A composição de ácidos graxos séricos foi realizada por técnicas de cromatografia em fase gasosa. A terapia promoveu uma melhora significativa na massa corporal, IMC, gordura subcutânea e visceral, insulina, perfil lipídico, leptina e a razão leptina/adiponectina. Observou-se uma diminuição significativa na concentração sérica de ácido graxo mirístico. A análise de regressão linear simples mostrou que o ácido graxo mirístico foi positivamente associado a alterações nos triglicerídeos e colesterol de lipoproteínas de muito baixa densidade e foi associado negativamente à proporção de adiponectina/leptina. Em resumo, observamos que a terapia de perda de peso a longo prazo foi efetiva na melhora do perfil metabólico/inflamatório e do ácido graxo mirístico sérico. Além disso, nossos resultados sugerem uma relação entre as alterações no ácido graxo mirístico séricos e a razão adiponectina/leptina antiinflamatória, que podem modular processos metabólicos e inflamatórios relacionados à obesidade.

Palavras-chave: Ácido Mirístico. Obesidade. Adiponectina. Leptina. Adolescentes.

INTRODUÇÃO

A epidemia mundial de obesidade infantil nas últimas décadas é responsável pela ocorrência de distúrbios metabólicos, que aumentam os fatores de risco cardiovascular, como a síndrome metabólica.¹ Mais especificamente, em adolescentes obesos, investigações mostraram claramente uma redução nas adipocinas antiinflamatórias, incluindo adiponectina, associada a marcadores pró-inflamatórios e pró-trombóticos aumentados, tais como leptina e PAI-1.²

De fato, o estado de hiperleptinemia em

adolescentes obesos pode regular o processo inflamatório, aumentando a espessura da mília íntima carotídea, um marcador substituto da doença cardiovascular.³ Inversamente, a diminuição da concentração de adiponectina foi mostrada em várias investigações em adolescentes e adultos obesos.

A adiponectina é uma adipocina antiinflamatória e insulina-sensibilizante, que está relacionada negativamente com a adiposidade. De fato, a adiponectina circulante está inversamente correlacionada com a resistência à

DOI: 10.15343/0104-7809.201740A537554

* Programa de Pós-Graduação: Mestrado Profissional em Nutrição do Centro Universitário São Camilo, São Paulo, Brazil. / Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), São Paulo-SP, Brazil.

** Universidade Federal de São Paulo, São Paulo-SP, Brazil.

*** Programa de Pós-Graduação: Mestrado Profissional em Nutrição do Centro Universitário São Camilo, São Paulo, Brazil.
E-mail:aline.depiano@gmail.com

insulina e a glicemia em adolescentes obesos.²⁻³

Em conjunto, a leptina e a adiponectina são consideradas duas das principais adipocinas secretadas pelo tecido adiposo e acredita-se que desempenham papéis importantes nas alterações metabólicas e comorbidades da obesidade.⁴ A abordagem de perda de peso a longo prazo pode reverter esse estado inflamatório em adolescentes obesos, reduzindo os riscos cardiovasculares e alterações metabólicas.²

Evidências emergentes sugeriram que as razões de adiponectina/leptina e leptina/adiponectina estão fortemente associadas à resistência à insulina e alterações metabólicas, sendo mais efetivas na predição de risco cardiovascular.⁵

Recentemente, investigou-se na literatura que a quantidade e o tipo de gordura dietética têm influência direta nos fatores de risco cardiovascular, tais como lipídios e concentração plasmática de lipoproteínas, além de processos inflamatórios. Foi evidenciado o papel dos ácidos graxos poliinsaturados (PUFA) e ácidos graxos monoinsaturados (MUFA) em negativamente regular fatores de risco de doenças cardiovasculares e, inversamente, ácidos graxos saturados na promoção da inflamação e alteração metabólica.⁶⁻⁷

Reduzir o consumo de ácidos graxos saturados é considerada uma recomendação dietética importante para reduzir os fatores de risco cardiovascular.⁷ O ácido graxo mirístico é um ácido graxo saturado de cadeia linear de 14 carbonos, amplamente distribuído entre as gorduras vegetais e animais.⁸ Estudos sugerem que o ácido mirístico é o principal contribuidor para alterações metabólicas, incluindo elevação no colesterol desenvolvimento de diabetes.^{6,9} No entanto, a relação entre o ácido graxo mirístico sérico e marcadores pró-/antiinflamatórios em adolescentes obesos não está clara. Desta forma, o objetivo do presente estudo foi avaliar se o ácido graxo mirístico sérico pode modular perfil metabólico e o processo inflamatório em adolescentes obesos após terapia para perda de peso em longo prazo.

MATERIAIS E MÉTODOS

Sujeitos

Um total de 29 adolescentes obesos, sendo

17 meninas e 12 meninos, que entraram no Programa de Obesidade Interdisciplinar da Universidade Federal de São Paulo - Escola Paulista de Medicina, foram submetidos à terapia de perda de peso. As avaliações foram realizadas no início após um ano de intervenção interdisciplinar.

As idades dos participantes variaram de 14 a 19 anos (16,44 ± 1,65 anos). O índice de massa corporal (IMC) foi de 36,29 ± 4,76 kg/m². Todos os participantes selecionados atenderam aos critérios dos critérios de inclusão do estágio pós-puberal V (com base nos estágios Tanner) e os critérios de obesidade (IMC percentil >95 dos gráficos de crescimento de referência do CDC).¹⁰ ¹¹ Foram identificados como critérios de exclusão doença genética e uso prévio de fármacos.

O termo de consentimento livre e esclarecimento, bem como o termo de assentimento foi obtido de todos os indivíduos e/ou seus responsáveis, para participar como voluntários. Este estudo foi realizado de acordo com os princípios da Declaração de Helsinque e foi formalmente aprovado pelo Comitê de Ética Institucional (# 2026/11) e foi registrado nos ensaios clínicos (NCT01358773).

Protocolo de estudo e rastreio médico

Os sujeitos foram examinados pelo médico; seu estadiamento puberal e suas medidas antropométricas foram avaliados (altura, peso, IMC e composição corporal). O endocrinologista completou uma entrevista clínica, incluindo questões para determinar a elegibilidade com base em critérios de inclusão e exclusão. Amostra de sangue foi coletada e analisada, e a ultra-sonografia (US) foi realizada para medir a gordura visceral e subcutânea. Para todos os tópicos, os procedimentos foram programados para a mesma hora do dia para retirar qualquer influência das variações diurnas. Todos os sujeitos foram submetidos a um teste ergométrico. Posteriormente, os adolescentes obesos iniciaram o programa interdisciplinar de perda de peso (descrito na seção posterior).

Medições antropométricas e composição corporal

Os indivíduos foram pesados vestindo roupas leves e sem calçados em uma balança da marca Filizola com precisão de 0.1 kg. A altura

foi medida com precisão de 0.5 cm utilizando um estadiômetro de parede (Sanny, modelo ES 2030). O IMC foi calculado como a massa corporal dividido pela altura ao quadrado. A composição corporal foi estimada por pletismografia no sistema de composição corporal BOD POD (versão 1.69, Life Measurement Instruments, Concord, CA).¹²

Análises sanguíneas

As amostras de sangue foram coletadas no ambulatório por volta das 8 hs após um jejum durante o período da noite. A resistência à insulina foi avaliada pelo índice HOMA-IR; calculado usando a glicemia de jejum (FBG) e insulina imunorreativa (I): $[FBG \text{ (mg/dL)} \times I \text{ (mU/L)}] / 405$.¹³ Colesterol total, triglicerídeos, HDL-c, LDL-c e VLDL-c foram analisados usando um kit comercial (CELM, Barueri, Brasil). As concentrações totais de adiponectina e leptina foram medidas utilizando um kit de ensaio de imunoabsorção (ELISA), comercialmente disponível de Linco Research, Inc. (St Charles, Missouri, MO) de acordo com as instruções do fabricante.

Para o presente estudo, os dados de leptina foram analisados de acordo com os valores de referência descritos por Gutin et al. (2004)¹⁴ e o perfil lipídico foi comparado à I Diretriz para Prevenção da Aterosclerose na Infância e na Adolescência.¹⁵

Composição dos ácidos graxos séricos (%)

A composição de ácidos graxos livres do soro foi determinada por cromatografia gasosa utilizando o modelo, Varian Model 3900 Cromatógrafo de Gás (WalnutCreek, CA, EUA), juntamente com a detecção de ionização de chama (FID), e um amostrador automático CP-8410. A metilação de cada fração foi realizada com cloreto de acetilo (HCl a 5% em metanol) e a composição de ácidos graxos foi determinada como ésteres metílicos.

Os ácidos graxos foram identificados comparando o tempo de retenção usando um padrão conhecido de ésteres metílicos de ácidos graxos (FAME). Os FAMEs foram analisados em uma coluna capilar (CP Wax 52 CB, Varian, Lake Forest, CA, EUA, 0,25 μm de espessura, diâmetro interno de 0,25 mm e comprimento de 30 m). O hidrogênio foi utilizado como gás

transportador a uma velocidade linear de 22 cm/s. O programa de temperatura foi de 170°C durante 1 min, seguido de aumentos de 2,5°C/min para 240°C e um tempo de espera final de 5 min. As temperaturas do injetor e FID foram de 250 e 260°C, respectivamente. Os FAMEs foram identificados comparando os tempos de retenção das amostras com os padrões conhecidos (Supelco 37-component FAME mix, Sigma-Aldrich; Qualmix PUFA fish M, Menhaden Oil, Mixture ME 93, Larodan). Os valores da composição de ácidos graxos foram expressos como porcentagens de ácidos graxos totais.¹⁶

Medições de adiposidade visceral e subcutânea

Todos os procedimentos de ultrassonografia abdominal e as medidas do tecido adiposo visceral e subcutâneo foram realizados pelo mesmo médico, que foi cega aos dados clínicos e laboratoriais dos pacientes e à leitura inicial 1 ano após o exame inicial, a fim de examinar a avaliação do tratamento. Este médico era um especialista em diagnóstico por imagem. Um transdutor de multifrequência de 3,5 MHz (banda larga) foi usado para reduzir o risco de erros de classificação. O coeficiente de variação intra-exame para ultrassom (US) foi de 0,8%.

Foram obtidas medidas de US de gordura intra-abdominal (visceral) e subcutânea. A gordura subcutânea determinada pela US foi definida como a distância entre a pele e a face externa do músculo reto abdominal, e a gordura visceral foi definida como a distância entre a face interna do mesmo músculo e a parede anterior da aorta. Os pontos de corte para definir a obesidade visceral por parâmetros de ultrassonografia foram baseados em descrições metodológicas anteriores de Ribeiro-Filho et al.¹⁷

Programa dietético

A necessidade energética diária foi estabelecida a partir da recomendação dietética de referência para indivíduos com baixos níveis de atividade física da mesma idade e gênero seguindo uma dieta equilibrada.¹⁸ Não foram recomendados medicamentos ou antioxidantes. Uma vez por semana, os adolescentes tiveram aulas dietéticas (fornecendo informações sobre a pirâmide alimentar, avaliação de registros de dieta, dietas de perda de peso e dietas

“milagrosas”, rótulos de alimentos, alimentos sem gordura e com baixas calorias, gorduras (tipos, fontes e substitutos), calorias de *fast-food* e composição nutricional, boas escolhas nutricionais em ocasiões especiais, sanduíches saudáveis, shakes e produtos para promover perda de peso, alimentos funcionais e decisões sobre escolhas alimentares). Todos os pacientes receberam consulta nutricional individual durante o programa de intervenção.

Programa de exercícios

Durante um período de intervenção interdisciplinar de 1 ano, os adolescentes seguiram o o protocolo de treinamento de exercício combinado. Este protocolo foi realizado três vezes por semana durante 1 ano e incluiu 30 minutos de treinamento aeróbico e mais 30 minutos de treinamento de resistência por sessão.

Os sujeitos foram instruídos a inverter à ordem dos exercícios (aeróbico e resistência) em cada sessão de treinamento. O treino aeróbico consistiu em correr em uma esteira motorizada (Life Fitness-Model TR 9700HR) a uma intensidade de frequência cardíaca que representa o limiar ventilatório I (± 4 bpm), conforme determinado pelos resultados de um teste inicial de consumo de oxigênio para exercícios aeróbicos.

O programa de exercícios foi baseado em diretrizes do *American College of Sports Medicine* (ACSM).¹⁹ O treinamento de resistência também foi projetado com base

nas recomendações do ACSM.¹⁹ Os exercícios visavam cada um dos principais grupos musculares.

Após um período introdutório, a carga de treinamento foi ajustada de modo que o volume e a intensidade foram ajustados inversamente, diminuindo o número de repetições entre 6 e 20 repetições, para três conjuntos.

Análise estatística

Todos os dados foram analisados usando STATISTICA versão 6 para Windows, com o nível de significância definido em $p < 0,05$. Os dados são expressos com a média \pm DP, salvo indicação em contrário. Os pressupostos distributivos foram verificados pelo teste de Kolmogorov-Smirnov, e métodos não-paramétricos foram realizados quando apropriado.

As adipocinas foram analisadas com testes não paramétricos e expressas com mediana, valores de intervalo de quartil. As comparações entre as medidas no momento basal e após a intervenção de perda de peso foram feitas usando o teste T de Student dependente ou o teste de Wilcoxon para variáveis não paramétricas.

A variação delta (Δ) foi utilizada para a análise estatística obtida a partir da diferença entre os valores basais e os valores finais para cada variável. As correlações de Pearson e Spearman foram realizadas para testar a direção e a força da relação entre variáveis de interesse. A análise de regressão linear simples foi realizada para estimar a associação entre os parâmetros.

RESULTADOS

Efeitos da terapia de perda de peso a longo prazo

No início da terapia, 52 estavam inscritos no programa, no entanto, apenas 29 adolescentes obesos seguiram um ano de intervenção com mais de 75% de frequência. Os resultados são apresentados para toda a população estudada, uma vez que não encontramos diferenças significativas de gênero no IMC no início da intervenção. Após a terapia a

longo prazo, observamos redução significativa na massa corporal, IMC, massa gorda, gordura subcutânea e visceral (Tabela 1). Em relação ao perfil metabólico, observaram-se melhorias significativas na glicemia, insulina, colesterol total (TC), LDL-c, VLDL-c, HDL-c e triglicerídeos (Tabela 1). Com base nos dados de adipocinas, verificou-se que a proporção de leptina e razão leptina/adiponectina diminuiu significativamente após esta terapia (Tabela 2). Analisando o comportamento do ácido

mirístico sérico, podemos mostrar redução significativa após 1 ano de terapia (Figura 1).

Análise de correlação e regressão

No momento basal, podemos observar uma correlação positiva entre o ácido graxo mirístico com triglicerídeos ($r = 0,45$, $p = 0,015$) e VLDL-c ($r = 0,45$, $p = 0,014$) (Tabela 3). Após a terapia de perda de peso, as alterações no ácido graxo

mirístico correlacionaram-se positivamente com as alterações nas concentrações plasmáticas de triglicerídeos ($r = 0,44$, $p = 0,02$) e VLDL-c ($r = 0,42$, $p = 0,02$).

Entretanto, observou-se correlação negativa entre Δ ácido graxo mirístico e a razão de adiponectina/leptina ($r = -0,46$, $p = 0,021$). A análise de regressão linear simples mostrou que Δ ácido graxo mirístico estava associado a alterações em TG, VLDL-c e A/L (Figura 2).

Tabela 1 – Composição corporal, tecidos adiposos subcutâneos e viscerais e parâmetros bioquímicos em adolescentes obesos após um ano de intervenção interdisciplinar. São Paulo, Brasil, 2015.

Variáveis	Grupo Inteiro		
	Basal	1 ano	Δ 1 ano
Massa corporal (kg)	104,58 \pm 16,67	92,51 \pm 15,28*	-12,08
IMC (kg/m ²)	36,29 \pm 4,76	31,47 \pm 4,33*	-4,82
Massa gorda (%)	45,99 \pm 4,58	39,52 \pm 6,10*	-6,46
Massa gorda (kg)	48,29 \pm 10,14	36,85 \pm 9,68*	-11,44
Massa magra (kg)	56,29 \pm 9,06	55,67 \pm 8,96	-0,62
Gordura visceral (cm)	4,15 \pm 1,32	2,75 \pm 0,91*	-1,38
Gordura subcutânea (cm)	4,31 \pm 0,84	2,90 \pm 0,60*	-1,38
Glicemia (mg/dL)	89,79 \pm 6,83	93,34 \pm 5,99*	3,55
Insulina (mU/L)	15,00 (7,10)	10,60 (7,00)*	-3,04
HOMA-IR	3,48 (1,35)	2,61 (1,63)	-0,55
Colesterol total (mg/dL)	178,24 \pm 35,11	167,66 \pm 27,16*	-10,59
LDL-c (mg/dL)	112,17 \pm 30,78	102,07 \pm 24,89*	-10,10
VLDL-c (mg/dL)	21 (15)	16 (8)*	-3,93
HDL-c (mg/dL)	44,17 \pm 9,42	47,62 \pm 9,17*	3,45
Triglicerídeos (mg/dL)	103,00 (75)	78,00 (41)*	-19,93

* Os dados foram apresentados em $X \pm DP$ ou Mediana (Intervalo interquartil), basal versus 1 ano $p \leq 0,05$.

Tabela 2 – Perfil inflamatório em adolescentes obesos após um ano de intervenção interdisciplinar. São Paulo, Brasil, 2015.

	Grupo Inteiro		
	Basal	1 ano	Δ 1 ano
Adiponectina (μ g/L)	3.44 (1.16)	4.07 (1.84)	0.46
Leptina (ng/dL)	49.95 (22.23)	29.11 (21.69)*	-22.50
Razão de leptina/adiponectina	14.18 (6.64)	6.77 (4.83)*	-7.82
Razão adiponectina/leptina	0.07 (0.02)	0.15 (0.15)	0.26

* Os dados foram apresentados em Mediana (Intervalo interquartil), basal versus 1 ano $p \leq 0,05$.

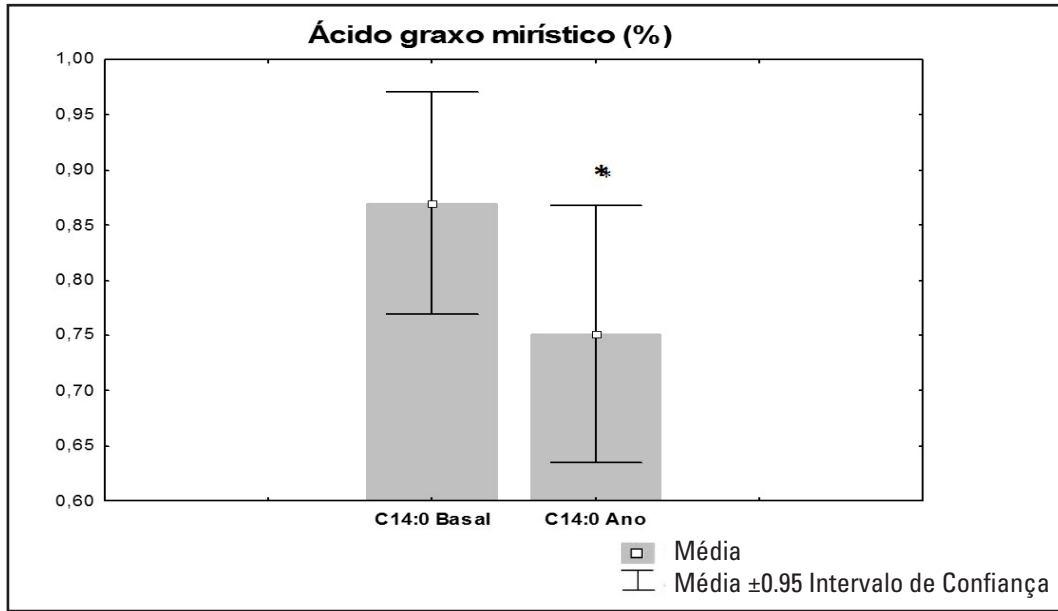
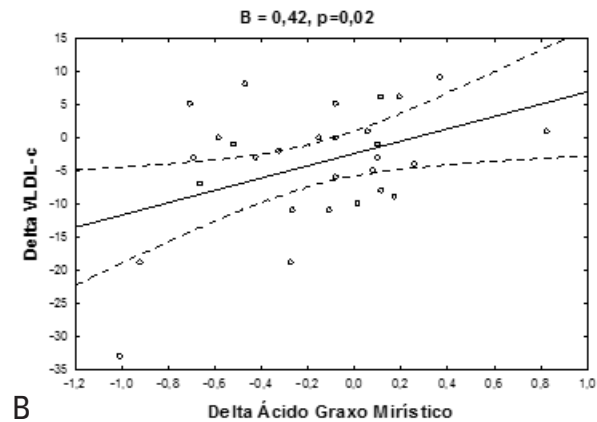
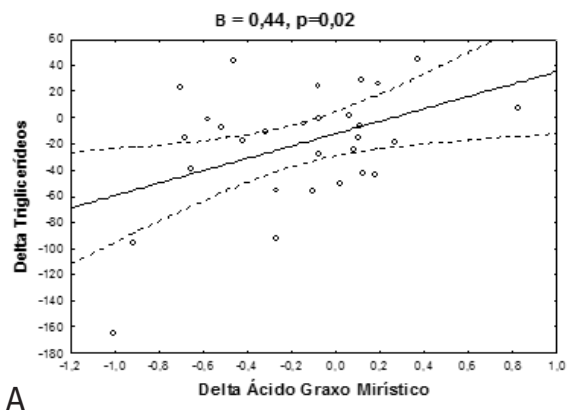


Figura 1 – Concentração sérica de ácido mirístico (%) no momento basal e após intervenção em adolescentes obesos. São Paulo, Brasil, 2015.

Tabela 3 – Correlações de Pearson do ácido graxo mirístico sérico com perfil metabólico e inflamatório. São Paulo, Brasil, 2015.

Ácido mirístico		
	r	p
TG	0,45	0,015
VLDL-c	0,45	0,014
Δ Ácido mirístico		
	r	p
Δ TG	0,43	0,019
Δ VLDL-c	0,42	0,022
Δ Taxa de Adiponectina/leptina	-0,46	0,021



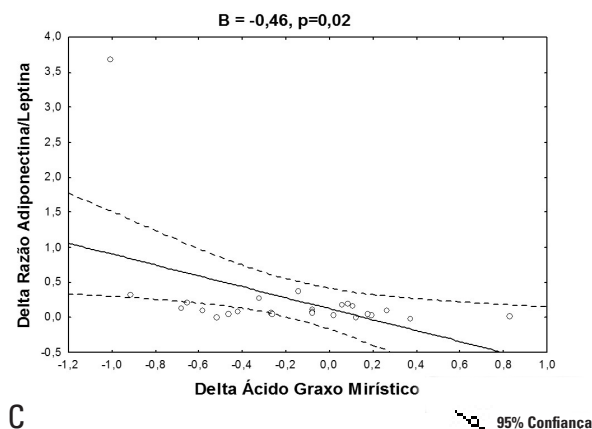


Figura 2 – Análise de regressão simples entre ácido graxo mirístico e triglicerídeos (a), VLDL-c (b) e razão adiponectina/leptina (c). São Paulo, Brasil, 2015.

DISCUSSÃO

Na presente investigação, nos propusemos avaliar se os ácidos graxos mirísticos séricos podem modular, a longo prazo, perfil metabólico e processo inflamatório em adolescentes obesos. Portanto, o achado mais importante foi que o ácido graxo mirístico correlacionou negativamente o biomarcador antiinflamatório, o que sugere seu papel no desenvolvimento de comorbidades relacionadas a obesidade. De fato, observamos redução significativa no ácido graxo mirístico sérico (C14:0) após a terapia de perda de peso, que correlacionou negativamente a proporção de adiponectina/leptina. Além disso, este ácido graxo foi positivamente correlacionado com TG e VLDL-c.

Corroborando nossas descobertas, verificou-se que a porcentagem de ácido graxo mirístico foi significativamente associada à menor adiponectina entre indivíduos saudáveis²⁰. Assim, no presente estudo, observou-se uma associação negativa entre a Δ de ácido graxo mirístico (%) e Δ de razão adiponectina/leptina, sugerindo que a redução da concentração sérica deste ácido graxo saturado pode melhorar os processos inflamatório relacionado à obesidade em adolescentes.

O estado hiperlipetinêmico em adolescentes obesos pode favorecer as vias inflamatórias, agravando o controle da obesidade. Além disso, a leptina está relacionada ao aumento

da resistência à insulina, que pode causar hiperlipidemia.³ De fato, um estudo prévio demonstrou que a leptina foi positivamente associada a alterações metabólicas em adolescentes obesos.² No entanto, observamos diminuição significativa na concentração de leptina após um ano de terapia de perda de peso. Além disso, foi sugerido recentemente que a proporção de leptina/adiponectina representa um melhor indicador de resistência à insulina, que exerce um papel fundamental na gênese de várias comorbidades da obesidade, incluindo inflamação e doenças cardiovasculares.²⁻³ Curiosamente, a terapia de perda de peso também promoveu redução nesse parâmetro.

Foram utilizados modelos para aferir adiponectina e leptina para assim avaliar distúrbios metabólicos em populações diversas.³⁻⁵ Em adolescentes obesos, a proporção adiponectina/leptina foi negativamente correlacionada com a resistência à insulina, colesterol total, LDL-c e pressão arterial. Assim, as melhorias deste parâmetro podem ser consideradas uma ferramenta clínica essencial no tratamento da obesidade.²

Um grande número de evidências sugere que alguns mecanismos que ligam os ácidos graxos saturados e o estado inflamatório, que incluem: 1) ativação do receptor TLR4; 2) lipídeo intermediário derivado de ácidos graxos

saturados, tais como diacilgliceróis e ceramidas; 3) ativação da inflamação NLRP3.²¹ É relevante saber que o ácido graxo mirístico é o ácido graxo saturado mais encontrado no leite e nos produtos lácteos, representando cerca de 18% de gorduras lácteas. Também está presente em porcentagem significativa na composição do óleo de coco.²² Na indústria alimentícia, o ácido graxo mirístico é usado como aditivo alimentar multifuncional e adjuvante de sabor, como agente antiespumante e como revestimento em frutas cítricas frescas.⁸

Uma outra evidência importante na presente investigação foi que o ácido graxo mirístico regulou o perfil lipídico; uma vez que observamos uma correlação positiva entre as alterações no ácido graxo mirístico com triglicerídeos e VLDL-c. Estes resultados foram confirmados por regressão linear simples. Na verdade, a literatura sugere uma relação próxima entre ácido graxo mirístico e alteração no perfil lipídico e na acumulação de lipídios no fígado.²³

Entre os ácidos graxos saturados, o ácido mirístico é considerado o principal contribuinte para os efeitos de colesterol, e o ácido palmítico pode ser neutro, como o ácido esteárico e o ácido oleico. Em um ensaio clássico bem controlado, um grande número de voluntários recebeu gordura rica em ácido mirístico. Os autores descobriram que o ácido graxo mirístico apresentou cerca de 1,5 vezes o efeito de aumentar colesterol.²⁴

O primeiro mecanismo sugerido refere-se ao aumento da síntese hepática de VLDL-c, por um grande anabolismo hepático desse ácido graxo. Os PUFAs modulam vários genes envolvidos em processos oxidativos, aumentando a expressão de receptores ativados por proliferadores de peroxissoma (PPARs) e bloqueando estes relacionados à lipogênese. Enquanto isso, o ácido graxo saturado funciona de forma oposta, favorecendo a expressão gênica que participa da lipogênese.²⁵

O estudo desenvolvido com humanos com

excesso de peso/obesidade demonstrou que o tamanho e o número de adipócitos dos humanos estão positivamente associados aos ácidos graxos saturados alimentares (SFA).²⁶ Para confirmar esta hipótese, Roberts et al. (2009) encontraram fortes relações positivas entre o teor de triglicerídeos do tecido adiposo de ácidos graxos saturados, ácido mirístico (14: 0) e ácido esteárico (18: 0), com sensibilidade à insulina e relações inversas com tamanho de adipócitos.²⁷ Portanto, o estudo sugere que o conteúdo sérico de ácido graxo mirístico poderia modular a lipogênese e vias inflamatórias. Com base nessas evidências, a redução da concentração de ácido graxo mirístico é uma estratégia importante para o controle da obesidade, principalmente na melhora do perfil lipídico plasmático.

Além disso, é importante ressaltar que a terapia de perda de peso em longo prazo demonstrou ser eficaz para melhorar a obesidade e o perfil metabólico, como massa gorda, gordura visceral, insulina e biomarcadores inflamatórios. De fato, estudos anteriores demonstraram o papel da perda de peso na atenuação da inflamação e da dislipidemia.^{2-3;5-7} Embora, os resultados atuais sugerem que esses achados podem ser parcialmente mediados pela melhora no ácido graxo mirístico sérico e sua associação com a regulação negativa do estado pró-inflamatório em adolescentes obesos. Além disso, é consistentemente demonstrado que a implementação bem-sucedida de estratégias para prevenir e tratar a obesidade depende de fortes parcerias entre profissionais de saúde, o que corrobora com o modelo atual de terapia de perda de peso.

O presente estudo apresenta algumas limitações, tais como o número reduzido de indivíduos. Além disso, todas as hipóteses devem ser confirmadas em um grande estudo, incluindo a pesquisa translacional. Assim, são necessários mais estudos para avaliar o papel terapêutico legítimo dos ácidos graxos em várias doenças relacionadas à obesidade.

CONCLUSÃO

Em resumo, os resultados sugerem que as alterações no perfil lipídico estão relacionadas

a mudanças séricas no ácido graxo mirístico. Além dos efeitos metabólicos deste tipo de

ácido graxo, demonstramos que o ácido graxo mirístico pode influenciar as vias inflamatórias relacionadas à obesidade em adolescentes após intervenção prolongada.

De modo geral, esses resultados podem ser considerados para melhorar os biomarcadores metabólicos e inflamatórios no tratamento da obesidade.

REFERÊNCIAS

1. D'Adamo E, Santoro N, Caprio S. Metabolic syndrome in pediatrics: old concepts revised, new concepts discussed. *Curr Probl Pediatr Adolesc Health Care* 2012; 43(5):114-23.
2. Masquio DC, de Piano A, Campos RM, Sanches PL, Carnier J, Corgosinho FC, Netto BD, Carvalho-Ferreira JP, Oyama LM, Nascimento CM, de Mello MT, Tufik S, Dâmaso AR. The role of multicomponent therapy in the metabolic syndrome, inflammation and cardiovascular risk in obese adolescents. *Br J Nutr* 2015; 113(12):1920-30.
3. Sanches PL, de Mello MT, Elias N, Fonseca FA, Campos RM, Carnier J, de Piano A, Masquio DC, Silva PL, Oyama LM, Corgosinho FC, Nascimento CM, Tock L, D'Elia CA, Tufik S, Dâmaso AR. Hyperleptinemia: implications on the inflammatory state and vascular protection in obese adolescents submitted to an interdisciplinary therapy. *Inflammation* 2014; 37(1):35-43.
4. Schrover IM, Spiering W, Leiner T, Visseren FL. Adipose Tissue Dysfunction: Clinical Relevance and Diagnostic Possibilities. *Horm Metab Res* 2016; 48(4):213-25.
5. Zaletel J, Barlovic DP, Prezelj J. Adiponectin-leptin ratio: a useful estimate of insulin resistance in patients with type 2 diabetes. *J Endocrinol Invest* 2010; 33:514-8.
6. Masquio DC, de Piano A, Campos RM, Sanches PL, Corgosinho FC, Carnier J, Oyama LM, do Nascimento CM, de Mello MT, Tufik S, Dâmaso AR. Saturated fatty acid intake can influence increase in plasminogen activator inhibitor-1 in obese adolescents. *Horm Metab Res*. 2014; 46(4):245-51.
7. Jamar G, Pisani LP, Medeiros A, Oyama LM, Masquio DC, Colantonio E, Garcia S, Sanches RB, dos Santos Moraes A, Belote C, Caranti DA. Effect of Fat Intake on the Inflammatory Process and Cardiometabolic Risk in Obesity After Interdisciplinary Therapy. *Horm Metab Res*. 2016;48(2):106-11.
8. Burdock GA, Carabin IG. Safety assessment of myristic acid as a food ingredient. *Food Chem Toxicol* 2007; 45(4):517-29.
9. Noto D, Fayer F, Cefalù AB, Altieri I, Palesano O, Spina R, Valenti V, Pitrone M, Pizzolanti G, Barbagallo CM, Giordano C, Averna MR. Myristic acid is associated to low plasma HDL cholesterol levels in a Mediterranean population and increases HDL catabolism by enhancing HDL particles trapping to cell surface proteoglycans in a liver hepatoma cell model. *Atherosclerosis* 2016; 246:50-6.
10. Tanner JM, Whitehouse RH. Clinical longitudinal standards for height, weight, height velocity, weight velocity, and stages of puberty. *Arch Dis Child* 1976; 51(3):170-9.
11. Centers for Disease Control and Prevention. Prevalence of overweight among children and adolescents: United States, 1999–2000. <http://www.cdc.gov/nchs/products/pubs/pubd/hestats/overwght99.htm> [Accessed 2010].
12. Fields DA, Goran MI. Body composition techniques and the four-compartment model in children. *J Appl Physiol* (1985) 2000; 89(2):613-20.
13. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* 1985; 28(7):412-9. 25.
14. Gutin B, Ramsey L, Barbeau P, Cannady W, Ferguson M, Litaker M, Owens S. Plasma leptin concentrations in obese children: changes during 4-mo periods with and without physical training. *Am J Clin Nutr* 1999; 69(3):388-94.
15. Giuliano ICB, Caramelli B, Pellanda L, Duncan B, Mattos S, Fonseca FAH. I Guideline for preventing atherosclerosis in childhood and adolescence. *Int J Atheroscler* 2006; 1:1-30.
16. Christie WW. Lipids analysis. The Oily Press, Bridgwater, 2003.
17. Ribeiro-Filho FF, Faria AN, Azjen S, Zanella MT, Ferreira SR. Methods of estimation of visceral fat: advantages of ultrasonography. *Obes. Res* 2003;11:1488-94.
18. NRC. Dietary Reference Intake: applications in dietary assessment. Washington, DC, National Academic Press, 2001.
19. Donnelly JE, Blair SN, Jakicic JM, Manore MM, Rankin JW, Smith BK; American College of Sports Medicine. American College of Sports Medicine Position Stand. Appropriate physical activity intervention strategies for weight loss and prevention of weight regain for adults. *Med Sci Sports Exerc* 2009; 41(2):459-71.
20. Fernández-Real JM, Vendrell J, Ricart W. Circulating adiponectin and plasma fatty acid profile. *Clin Chem* 2005; 51(3):603-9.
21. Cooke AA, Connaughton RM, Lyons CL, McMorrow AM, Roche HM. Fatty acids and chronic low grade inflammation associated with obesity and the metabolic syndrome. *Eur J Pharmacol* 2016. doi: 10.1016/j.ejphar.2016.04.021.
22. Benatar JR, Stewart RA. The effects of changing dairy intake on trans and saturated fatty acid levels- results from a randomized controlled study. *Nutr J* 2014; 13:32.
23. Martínez L, Torres S, Baulies A, Alarcón-Vila C, Elena M, Fabriàs G, Casas J, Caballeria J, Fernández-Checa JC, García-Ruiz C. Myristic acid potentiates palmitic acid-induced lipotoxicity and steatohepatitis associated with lipodystrophy by sustaining de novo ceramide synthesis. *Oncotarget* 2015; 6(39):41479-96.
24. Mensink RP, Katan MB. Effect of dietary fatty acids on serum lipids and lipoproteins-a meta-analysis of 27 trials. *Arterioscler Thromb* 1992; 12(8):911-9.
25. Lottenberg AM. Importância da gordura alimentar na prevenção e no controle de distúrbios metabólicos e da doença cardiovascular. *Arq Bras Endocrinol Metab* 2009; 53(5):595-607.
26. Garault M, Hernandez-Morante JJ, Lujan J, Tebar FJ, Zamora S. Relationship between fat cell size and number and fatty acid composition in adipose tissue from different fat depots in overweight/obese humans. *Int J Obes (Lond)* 2006; 30(6):899-905.
27. Roberts R, Hodson L, Dennis AL, Neville MJ, Humphreys SM, Harnden KE, Micklem KJ, Frayn KN. Markers of de novo lipogenesis in adipose tissue: associations with small adipocytes and insulin sensitivity in humans. *Diabetologia* 2009; 52(5):882-90.