RESUMO

e OLIVEIRA, Nathallia Maria Cotta, PhD., Universidade Federal de Viçosa, dezembro de 2025. **Nutrição de precisão no controle neuroendócrino da saciedade em indivíduos com sobrepeso/obesidade: um ensaio clínico fatorial randomizado controlado (estudo GENON).** Orientadora: Helen Hermana Miranda Hermsdorff. Coorientadoras: Mariana de Moura e Dias e Ana Claudia Pelissari Kravchychyn.

A obesidade é uma doença crônica e é considerada um grande problema de saúde pública. Fatores que interagem com a alimentação, como os polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) nos genes *FTO*, *MC4R* e *LEP* e a composição e a diversidade da microbiota intestinal, emergem como influenciadores do desenvolvimento e da progressão da doença. Alterações no ecossistema intestinal prejudicam a sinalização da saciedade via comunicação intestino-cérebro, aumentam a eficiência na extração de energia, comprometem a função de barreira e induzem inflamação crônica de baixo grau, contribuindo para disrupções metabólicas. A resposta variável ao tratamento convencional da obesidade deve-se, em parte, às variações interindividuais no genótipo e na composição da microbiota. Assim, recomendações personalizadas — a nutrição de precisão — podem ser uma estratégia eficaz para o tratamento nutricional de alguns indivíduos com excesso de peso. O presente projeto tem como objetivos: 1) Avaliar a variação da composição e diversidade da microbiota intestinal; de ácidos graxos de cadeia curta; de marcadores de permeabilidade intestinal – LPS, LBP, zonulina e I-FABP; e do pH fecal de acordo com uma intervenção personalizada para o controle da saciedade associada à restrição calórica e com o escore de risco genético, 2) Avaliar a interação entre a intervenção personalizada, composição/diversidade da microbiota intestinal e os hormônios e neuropeptídeos anorexígenos, 3) Investigar a assinatura da microbiota de indivíduos com obesidade clínica, 4) Investigar a assinatura da microbiota de indivíduos com curta e longa duração do sono, bem como com baixa qualidade do sono e 5) Determinar a digestibilidade *in vitro* de proteínas, lipídios e carboidratos, bem como a fração resistente à digestão (fibra alimentar) em uma mistura de cereais e sementes (granola), utilizando o protocolo INFOGEST. O presente projeto reportará os *desfechos* secundários do estudo GENON, que é um ensaio clínico fatorial, controlado, paralelo e randomizado, com 18 semanas de duração. O protocolo do estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisas com Seres Humanos da Universidade Federal de Viçosa (CAAE: 84893024.5.0000.5153, nº do parecer: 7.283.411). 120 indivíduos com idade entre 20 e 55 anos com IMC ≥ 30 kg/m^2 e PC > 90 cm e > 80 cm, para homens e mulheres, respectivamente, ou com IMC ≥ 27 kg/m^2 e com pelo menos 1 fator da

síndrome metabólica (IDF) serão encaminhados para a coleta de células do epitélio oral (técnica Swab) para avaliação da presença de genótipo de risco dos SNPs *FTO* rs9939609, *FTO* rs1121980, *MC4R* rs17782313 e *LEP* rs7799039. O escore de risco genético não ponderado será calculado (alto risco ≥ 3 alelos de risco). Os indivíduos serão randomizados para um dos dois braços do estudo (intervenção ou controle). Os grupos serão balanceados pela idade, sexo, IMC e escore de risco genético (baixo ou alto). Após 1 semana de *run-in*, os indivíduos serão alocados para o grupo controle: dieta com restrição calórica (-500 kcal/dia) baseada no PCDT ou grupo intervenção: dieta com restrição calórica (-500 kcal/dia) baseada no PCDT + estratégias para promover a saciedade. Os indivíduos serão acompanhados por nutricionistas em visitas de aconselhamento nutricional individual e por psicólogos e nutricionistas em grupos terapêuticos coletivos baseados na abordagem de Carl Rogers. Amostras de sangue serão coletadas na linha de base e após 12 e 18 semanas de estudo. Marcadores do perfil lipídico, glicídico e de função hepática serão determinados de acordo com protocolo padrão. Leptina, GLP-1, PYY, citocinas anti-inflamatória (IL-10) e pró-inflamatórias (TNF-α e IL-6), adiponectina, LPS, LBP, I-FABP, zonulina e α-MSH serão determinados usando kits padronizados ou ensaio ELISA. Peso, altura, circunferência da cintura, % de GC e pressão arterial serão coletados por profissionais treinados no início e após 12 e 18 semanas de estudo. As variáveis antropométricas e bioquímicas serão usadas para calcular os seguintes índices: índice de tecido adiposo abdominal profundo (DAAT), índice de adiposidade visceral (VAI), índice de produto da acumulação lipídica (LAP), razão adiponectina/leptina, HOMA-ß, HOMA-IR, índice TyG, índice de fígado gorduroso (FLI), índice de esteatose de *Framingham* (FSI) e razão ALT/AST. A duração e a qualidade do sono serão avaliadas pelo índice de qualidade do sono de Pittsburgh (PSQI-BR). As horas de sono serão classificadas de acordo com a *National Sleep Foundation*. Amostras de fezes serão coletadas no início e após 12 e 18 semanas de estudo usando ColOff® e materiais estéreis. As fezes serão aliquotadas e armazenadas a -80 °C até as análises. O pH fecal será mensurado usando pH meter. As concentrações de propionato, acetato e butirato serão determinadas por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC). A composição da microbiota intestinal será analisada pelo sequenciamento do gene do RNA ribossômico 16S (16S rRNA). DNA fecal será extraído e, em seguida, análises de bioinformática serão conduzidas. As sequências obtidas serão inicialmente processadas e analisadas quanto à qualidade usando o MOTHUR software v.1.44.3. As sequências quiméricas serão removidas usando os algoritmos UCHIME e UCHIME2. Após isso, os microrganismos serão identificados e classificados com base nas sequências alinhadas ao gene 16S rRNA, utilizando o banco de dados SILVA v.128. As análises estatísticas serão

conduzidas no SPSS v.21, STATA v.14 e no *software* R v.4.5.1 (α=0,05). Para verificar o equilíbrio de Hardy-Weinberg será aplicado o teste qui-quadrado ($p>0,05$). O delta para cada variável será calculado subtraindo os valores após 12 ou 18 semanas de estudo dos valores basais. O teste de Shapiro–Wilk avaliará a distribuição dos dados. A depender da normalidade e do número de grupos, serão usados para comparações entre grupos: teste *t* de Student, *one-way* ANOVA, Mann-Whitney ou Kruskal-Wallis, e para comparações intragrupos: teste *t* pareado, Wilcoxon, ANOVA de medidas repetidas e teste de Friedman. Para controlar o efeito de covariáveis sobre a variável dependente será usada análise de covariância (ANCOVA). A ANOVA fatorial será conduzida para avaliar o efeito de dois fatores no desfecho. Análises de *post hoc* serão conduzidas. A correlação de Pearson e a de Spearman serão usadas para avaliar correlações entre as variáveis contínuas. Os índices de α-diversidade (Chao1, Shannon, Simpson e ACE) e β-diversidade (Índice de dissimilaridade de Bray-Curtis e PERMANOVA) serão estimados usando o *software* MicrobiomeAnalyst 2.0. A composição da microbiota e a abundância serão estimadas usando MaAsLin2 e ALDEX2 no R Studio, com foco em dados composicionais, bem como o módulo LEfSe do site Online Galaxy. Os valores de p serão ajustados pela taxa de falsa descoberta usando o método de Benjamini-Hochberg. Registro do ensaio clínico no REBEC: RBR-8csbc2g.

Palavras-chave: Obesidade; Nutrição de precisão; Microbiota intestinal; Resposta de saciedade; Fígado gorduroso; Duração do sono; Qualidade do sono.

ABSTRACT

e OLIVEIRA, Nathallia Maria Cotta, PhD., Universidade Federal de Viçosa, December 2025. **Precision nutrition on neuroendocrine control of satiety in individuals with overweight/obesity: a factorial controlled randomized trial (GENON study)**. Advisor: Helen Hermana Miranda Hermsdorff. Co-advisors: Mariana de Moura Dias and Ana Claudia Pelissari Kravchychyn.

Obesity is a chronic disease and is considered a major public health problem. Factors that interact with diet, such as single-nucleotide polymorphisms (SNPs) in the *FTO*, *MC4R*, and *LEP* genes, and the composition and diversity of the gut microbiota, emerge as influencers of the development and progression of the disease. Alterations in the gut ecosystem impair satiety signaling via gut-brain communication, increase energy extraction efficiency, compromise barrier function, and induce low-grade chronic inflammation, contributing to metabolic disruptions. The variable response to conventional obesity treatment is partly due to interindividual variations in genotype and microbiota composition. Thus, personalized recommendations—precision nutrition—may be an effective strategy for the nutritional treatment of some overweight individuals. This project aims to: 1) Evaluate the variation in the composition and diversity of the gut microbiota; short-chain fatty acids; intestinal permeability markers – LPS, LBP, zonulin, and I-FABP; and fecal pH according to a personalized intervention for satiety control associated with caloric restriction and the genetic risk score; 2) Evaluate the interaction between the personalized intervention, gut microbiota composition/diversity, and anorexigenic hormones and neuropeptides; 3) Investigate the microbiota signature of individuals with clinical obesity; 4) Investigate the microbiota signature of individuals with short and long sleep duration, as well as with poor sleep quality; and 5) Determine the in vitro digestibility of proteins, lipids, and carbohydrates, as well as the digestion-resistant fraction (dietary fiber) in a mixture of cereals and seeds (granola), using the INFOGEST protocol. This project will report the secondary outcomes of the GENON study, which is a factorial, controlled, parallel, and randomized clinical trial lasting 18 weeks. The study protocol was approved by the Research Ethics Committee with Human Beings of the Universidade Federal de Viçosa (CAAE: 84893024.5.0000.5153, opinion number: 7.283.411). 120 individuals aged 20 to 55 years with a BMI ≥ 30 kg/m^2 and WC > 90 cm and > 80 cm, for men and women, respectively, or with a BMI ≥ 27 kg/m2 and at least one metabolic syndrome factor will be referred for oral epithelial cell collection (Swab technique) to assess the presence of risk genotypes for the SNPs *FTO* rs9939609, *FTO* rs1121980, *MC4R* rs17782313 and *LEP*

rs7799039. The unweighted genetic risk score will be calculated (high risk ≥ 3 risk alleles). Individuals will be randomized into one of two study arms (intervention or control). Groups will be balanced by age, sex, BMI, and genetic risk score (low or high). After a 1-week run-in, individuals will be allocated to the control group: a calorie-restricted diet (-500 kcal/day) based on the PCDT, or the intervention group: a calorie-restricted diet (-500 kcal/day) based on the PCDT + strategies to promote satiety. Individuals will be followed by nutritionists in individual nutritional counseling visits and by psychologists and nutritionists in group therapy sessions based on the Carl Rogers approach. Blood samples will be collected at baseline and after 12 and 18 weeks of the study. Lipid, glucose, and liver function markers will be determined according to a standard protocol. Leptin, GLP-1, PYY, anti-inflammatory (IL-10) and pro-inflammatory (TNF-α and IL-6) cytokines, adiponectin, LPS, LBP, I-FABP, zonulin, and α-MSH will be determined using standardized kits or an ELISA assay. Weight, height, waist circumference, body fat percentage, and blood pressure will be collected by trained professionals at baseline and after 12 and 18 weeks of the study. Anthropometric and biochemical variables will be used to calculate the following indices: deep abdominal adipose tissue index (DAAT), visceral adiposity index (VAI), lipid accumulation product index (LAP), adiponectin/leptin ratio, HOMA-β, HOMA-IR, TyG index, fatty liver index (FLI), Framingham steatosis index (FSI), and ALT/AST ratio. Sleep duration and quality will be assessed using the Pittsburgh Sleep Quality Index (PSQI-BR). Sleep hours will be classified according to the National Sleep Foundation. Stool samples will be collected at baseline and after 12 and 18 weeks of the study using ColOff® and sterile materials. Stools will be aliquoted and stored at -80 °C until analysis. Fecal pH will be measured using a pH meter. Propionate, acetate, and butyrate concentrations will be determined by high-performance liquid chromatography (HPLC). The composition of the gut microbiota will be analyzed by sequencing the 16S ribosomal RNA (16S rRNA) gene. Fecal DNA will be extracted, and then bioinformatics analyses will be conducted. The obtained sequences will initially be processed and analyzed for quality using MOTHUR software v.1.44.3. Chimeric sequences will be removed using the UCHIME and UCHIME2 algorithms. After that, microorganisms will be identified and classified based on sequences aligned with the 16S rRNA gene, using the SILVA v.128 database. Statistical analyses will be conducted using SPSS v.21, STATA v.14, and R software v.4.5.1 ($\alpha=0.05$). To verify the Hardy-Weinberg equilibrium, the chi-square test ($p>0.05$) will be applied. The delta for each variable will be calculated by subtracting the values after 12 or 18 weeks of study from the baseline values. The Shapiro-Wilk test will assess the distribution of the data. Depending on the normality and the number of groups, the following will be used for

comparisons between groups: Student's t-test, one-way ANOVA, Mann-Whitney or Kruskal-Wallis, and for intragroup comparisons: paired t-test, Wilcoxon, repeated measures ANOVA, and Friedman test. To control for the effect of covariates on the dependent variable, analysis of covariance (ANCOVA) will be used. A factorial ANOVA will be conducted to evaluate the effect of two factors on the outcome. *Post hoc* analyses will be conducted. Pearson's correlation and Spearman's correlation will be used to assess correlations between continuous variables. Alpha-diversity indices (Chao1, Shannon, Simpson, and ACE) and beta-diversity indices (Bray-Curtis dissimilarity index and PERMANOVA) will be estimated using MicrobiomeAnalyst 2.0 software. Microbiota composition and abundance will be estimated using MaAsLin2 and ALDEX2 in R Studio, focusing on compositional data, as well as the LEfSe module from the Online Galaxy website. p-values will be adjusted for the false discovery rate using the Benjamini-Hochberg method. Clinical trial registration in REBEC: RBR-8csbc2g.

Keywords: Obesity; Precision nutrition; Gut microbiota; Satiety response; Fatty liver; Sleep duration; Sleep quality.