

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE
MESTRADO PROFISSIONAL**

CLARISSA LÔBO PORTUGAL DA CUNHA

**RECEPTOR SOLÚVEL DE LEPTINA E ÍNDICE DE LEPTINA LIVRE EM
TRABALHADORES EM TURNOS**

**Uberlândia
2016**

CLARISSA LÔBO PORTUGAL DA CUNHA

**RECEPTOR SOLÚVEL DE LEPTINA E ÍNDICE DE LEPTINA LIVRE EM
TRABALHADORES EM TURNOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Uberlândia, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Yara Cristina de Paiva Maia
Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Cibele Aparecida Crispim

Uberlândia

2016

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

C972r Cunha, Clarissa Lôbo Portugal da, 1987
2016 Receptor solúvel de leptina e índice de leptina livre em trabalhadores
em turnos / Clarissa Lôbo Portugal da Cunha. - 2016.
77 f. : il.

Orientadora: Yara Cristina de Paiva Maia.
Coorientadora: Cibele Aparecida Crispim.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia,
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde.
Inclui bibliografia.

1. Ciências Médicas - Teses. 2. Hormônios peptídicos - Efeito
fisiológico - Teses. 3. Leptina - Teses. 4. Mobilidade de pessoal - Teses.
I. Maia, Yara Cristina de Paiva. II. Crispim, Cibele Aparecida. III.
Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em
Ciências da Saúde. IV. Título.

CLARISSA LÔBO PORTUGAL DA CUNHA

RECEPTOR SOLÚVEL DE LEPTINA E ÍNDICE DE LEPTINA LIVRE EM
TRABALHADORES EM TURNOS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Uberlândia, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.

Uberlândia, 25 de Fevereiro de 2016.

Banca Examinadora:

Titular: Prof^a Dr^a Francislene Glória de Freitas Reis

Instituição: Universidade Federal do Triângulo Mineiro

Titular: Prof^a Dr^a Geórgia das Graças Pena

Instituição: Universidade Federal de Uberlândia

Suplente: Prof^a Dr^a Vivian Alonso Goulart

Instituição: Universidade Federal de Uberlândia

Orientadora: Prof^a Dr^a Yara Cristina de Paiva Maia

Instituição: Universidade Federal de Uberlândia

*Dedico este trabalho à minha
família, porque família é tudo!!!*

AGRADECIMENTOS

À Deus, dono da minha vida, por guiar meus caminhos e sempre renovar minha fé. Pela força que me faz seguir em frente e conquistar cada vez mais e pelas pessoas que colocou no meu caminho nesta etapa.

À minha orientadora Profª. Drª. Yara Cristina de Paiva Maia e à minha co-orientadora Profª. Drª. Cibele Aparecida Crispim, obrigada pela oportunidade de desenvolver este estudo e por acreditarem na minha capacidade desde o primeiro momento. Sou profundamente grata pela generosidade, paciência e dedicação com que me apoiaram durante a realização desse estudo. Agradeço também ao Prof. Dr. Marcelo de Almeida Maia por seu auxílio nas análises estatísticas, que foi fundamental para que conseguíssemos encontrar a melhor modelo para análise dos dados. Agradeço seu empenho e dedicação.

Aos meus pais, Sebastião e Clenita por seus ensinamentos, por todo amor e dedicação e por me darem muito mais do que mereço. À minha irmã, Letícia e ao meu irmão Roger, que estão sempre prontos a me ajudar.

Em memória das minhas avós Helenita e Maria, que estão de alguma forma me dando forças neste momento. Agradeço a todos meus familiares que torcem pelo meu sucesso.

Ao meu amor, Mórgan Júnior, companheiro de caminhada, obrigada pelo carinho, paciência, atenção e por acreditar no meu potencial, sempre apoiando com palavras de incentivo.

Aos meus sogros, cunhadas e cunhados obrigada pelo apoio e compreensão nos momentos de ausência.

À querida amiga e companheira de mestrado e de trabalho, Eduarda, pois foi por ela que tudo começou. Às minhas amigas e companheiras de Nuppec, Patrícia, Thaís e Camila, pela compreensão nos momentos que mais precisei. Agradeço porque amizade se manifesta no companheirismo.

Aos participantes dos grupos de estudo, agradeço pela troca de conhecimentos.

Aos professores das disciplinas cursadas, agradeço por transmitir seus conhecimentos.

À Faculdade de Medicina pela oportunidade de realização do mestrado.

Ao Programa de Residência Multiprofissional em Saúde, pela oportunidade de cursar o mestrado concomitante à Residência Multiprofissional em Saúde.

Ao Grupo Luta pela Vida, em especial ao Dr. Rogério Araújo e Rafael Mathias, pela compreensão e ajuda principalmente na fase final do mestrado.

“Os olhos não viram, nem os ouvidos ouviram, nem o coração humano imaginou, tais são os bens que Deus tem preparado para aqueles que O amam.”

(ICo 2:9)

RESUMO

As concentrações de leptina - um hormônio que contribui de forma importante para a regulação central da ingestão alimentar - parecem ser influenciadas pela escala de trabalho em turnos. Receptores solúveis de leptina (OB-Re) são as principais proteínas de ligação da leptina no sangue e podem afetar o transporte de leptina para o cérebro. Como as concentrações diárias de OB-Re não foram descritas em trabalhadores em turnos, nossa hipótese é que as concentrações de OB-Re e o índice de leptina livre (FLI) não variam ao longo do dia em trabalhadores em turnos da mesma maneira que ocorre em trabalhadores diurnos. Para avaliar as variações do OB-Re e FLI ao longo das 24 horas do dia em trabalhadores em turnos e diurnos, dois grupos de trabalhadores em turnos (turno matutino e noturno) e um grupo de trabalhadores do turno diurno foram estudados. Eles realizaram avaliações do padrão de sono, dos aspectos nutricionais e metabólicos. Amostras de sangue foram coletadas a cada 4 horas durante um período de 24 horas, para mensurações das concentrações de leptina e OB-Re. O FLI foi calculado pela razão entre os níveis de leptina livre e OB-Re. A ANOVA *Mixed-model* indicou que o turno exerceu um efeito significativo nas concentrações de OB-Re, com os trabalhadores diurnos apresentando níveis mais elevados de OB-Re do que o grupo matutino ($p=0,001$) e noturno ($p=0,004$). Não foi observado efeito do tempo ou interação ‘turno x tempo’ nas concentrações de OB-Re. Em adição, não foi observado efeito do turno, tempo ou interação ‘turno x tempo’ no FLI ($p>0,05$). Não foram observadas diferenças significativas nas concentrações médias em 24 horas de OB-Re e FLI entre trabalhadores em turnos e diurnos ($p>0,05$). Conclui-se que as concentrações de OB-Re é menor em trabalhadores em turnos (turno matutino e noturno), comparado a trabalhadores diurnos. Estudos adicionais são necessários para que esses achados sejam confirmados.

Palavras-chave: Trabalho em turnos. Receptor solúvel de leptina. Índice de leptina livre.

ABSTRACT

Concentrations of leptin - a hormone that contributes importantly to the central regulation of food intake - seem to be influenced by the shift work schedule. Soluble leptin receptors (OB-Re) are the major leptin-binding protein in blood and can affect leptin transport in the brain. As the daily concentrations of OB-Re have not been described in shift workers, we hypothesized that OB-Re concentrations and the free leptin index (FLI) do not vary throughout the day in shift workers as they do in day workers. To evaluate the daily profiles of OB-Re and FLI in shift and day workers, two shift-working groups (early morning and night shifts) and one group of day-shift workers were studied. They completed sleep, nutritional and metabolic assessments. Venous blood samples were collected every 4 hours over 24 hours to measure leptin and OB-Re levels. FLI was calculated by the ratio of free leptin to OB-Re levels. The *Mixed-model* ANOVAs indicated that OB-Re showed a significant main effect of shift, with the day workers showing higher OB-Re levels than the early morning ($p=0,001$) and night ($p=0,004$) groups. No effect of time or interaction between time x shift was observed in OB-Re. No main effect of shift, time or interaction between shift x time was observed for FLI ($p>0.05$). No significant differences were observed in mean 24-hours concentrations of Ob-Re and FLI between shift and day workers ($p>0.05$). We conclude that the concentration of OB-Re is altered by working on atypical schedules (early morning and night shifts) compared to day shifts.

Keywords: Shift work. Soluble leptin receptor. Free leptin index.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Sistema Circadiano.....	20
Figura 2 - Leptina e a regulação do tecido adiposo.....	25
Figura 3 - Resposta fisiológica à leptina.....	26
Figura 4 - Isoformas do receptores de leptina.....	28
Figura 5 - Sinalização no receptor de leptina.....	29
Figura 6 - Modelo de sinalização gerada pelos receptores de leptina.....	31
Figura 7 - Média (\pm EP) das concentrações de OB-Re e do FLI nos seis pontos de avaliação em trabalhadores em turnos (GN e GM) e diurnos (GD) e os respectivos horários de sono para cada grupo.....	48

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Idade, tempo de trabalho em turnos, variáveis antropométricas, duração do sono e nível de atividade física dos trabalhadores em turnos (GM e GN) e diurnos (GD).....	45
Tabela 2 - Média em 24 horas das concentrações plasmáticas de OB-Re e do FLI dos trabalhadores em turnos (GM e GN) e diurnos (GD).....	46
Tabela 3 - Testes tipo III dos efeitos fixos do receptor solúvel de leptina (OB-Re) e índice de leptina livre (FLI).....	46
Tabela 4 - Comparação pareada para o fator turno do receptor solúvel de leptina (OB-Re)... 47	

LISTA DE SIGLAS

AFIP	Associação Fundo de Incentivo à Psicofarmacologia
AgRP	Proteínas relacionadas ao agouti
CART	<i>Cocaine Amphetamine-regulated Transcript</i>
FLI	Índice de leptina livre
GD	Grupo diurno
GM	Grupo matutino
GN	Grupo noturno
HDL	Lipoproteína de alta densidade
IMC	Índice de massa corporal
JAK	<i>Janus-kinase</i>
MCH	Hormônio de concentração de melanina
MC4R	Receptor 4 da melanocortina
NPY	Neuropeptídeo Y
OB-R	Receptor de leptina
OB-Ra	Isoforma curta do receptor de leptina
OB-Rb	Isoforma longa do receptor de leptina
OB-Re	Receptor solúvel de leptina
POMC	Pró-opiomelanocortina
SNC	Sistema nervoso central
STAT	Sinal transdutor e ativador de transcrição

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	15
2.1 Trabalho em turnos e doenças crônicas	15
2.2 Ritmo circadiano	18
2.2.1 Dassincronização circadiana.....	20
2.3 Tecido adiposo	22
2.4 Leptina.....	23
2.4.1 Leptina e a homeostase energética	24
2.4.2 Resistência à leptina	26
2.5 Receptores de leptina	27
2.6 Receptor solúvel de leptina	30
2.7 Índice de leptina livre	33
3. JUSTIFICATIVA	35
4. HIPÓTESE DO ESTUDO	36
5. OBJETIVOS	37
5.1 Objetivo Geral	37
5.2 Objetivos Específicos.....	37
6. CASUÍSTICA E MÉTODOS	38
6.1 Casuística.....	38
6.2 Métodos	39
6.2.1 Avaliações preliminares.....	39
6.2.1.1 Parâmetros antropométricos.....	39
6.2.1.1.1 Massa corporal.....	40
6.2.1.1.2 Estatura.....	40
6.2.1.1.3 Índice de Massa Corporal (IMC).....	40
6.2.1.1.4 Composição Corporal.....	40
6.2.1.1.5 Circunferência da cintura.....	41
6.2.1.2 Atividade física habitual.....	41
6.2.1.3 Avaliação do sono.....	41
6.2.2 Protocolo experimental.....	41
6.2.2.1 Coletas de sangue.....	43

6.2.2.2 Análises sanguíneas.....	43
6.2.3 Cálculo do FLI.....	44
6.2.4 Análise estatística	44
7. RESULTADOS	45
8. DISCUSSÃO	49
9. CONCLUSÕES.....	54
10. LIMITAÇÕES DO ESTUDO.....	55
REFERÊNCIAS	56
ANEXOS	66
ANEXO 1 - Carta de aprovação do Comitê de Ética e Pesquisa	67
ANEXO 2 - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	69
ANEXO 3 - Nível de Atividade Física Habitual.....	72
ANEXO 4 - Diário do sono de sete dias	77

1. INTRODUÇÃO

Trabalho em turnos é definido como uma forma de organização do trabalho diário no qual indivíduos ou grupos se organizam em sucessão para cobrir o período de 24 horas do dia (COSTA, 2003). Refere-se a uma vasta gama de arranjos das horas de trabalho, envolvendo duas ou mais equipes (turnos), que diferem em relação ao horário de início e término do expediente (SALLINEN; KEKLUND, 2010). Esta modalidade de trabalho permite que as empresas operem de forma contínua, garantindo que as posições fiquem sempre preenchidas por funcionários que se revezam (BRUM et al., 2015).

O trabalho em turnos é muito frequente na sociedade atual, especialmente no setor de serviços como saúde, alimentação, transporte e também em diversas indústrias (ANTUNES et al., 2010; MCMENAMIN, 2007; RAMIN et al., 2015). Surgiu com o objetivo de atender às necessidades por flexibilidade da força de trabalho, necessárias para alavancar a produtividade e competitividade das empresas (ANTUNES et al., 2010).

A existência de turnos e horários de trabalho flexíveis é muitas vezes determinada por exigências das empresas e não por preferências dos trabalhadores. As empresas normalmente optam por utilizar o sistema de turnos quando estes são necessários para aumentar a eficiência da produção ou quando o tipo de trabalho realizado é necessário fora do horário convencional. Em geral o horário de trabalho tradicional para um funcionário ocorre entre 08:00 e 17:00 horas de segunda à sexta-feira (GUO et al., 2015; MCMENAMIN, 2007). Porém, sabe-se que uma proporção considerável da população ativa já não se encaixa nesta escala de trabalho (MCMENAMIN, 2007).

A frequência e a duração dos turnos podem variar entre empresas e diferenças podem ser observadas também no número de dias de trabalho consecutivos e na existência de rotatividade. Nesse sentido, os turnos podem ser fixos, isto é, o funcionário trabalha sempre no mesmo horário; ou rodizantes, quando o horário é alterado em um intervalo determinado que, em geral, ocorre semanalmente (DRISCOLL; GRUNSTEIN; ROGERS, 2007).

Nos países em desenvolvimento, essa população representa um contingente considerável da força de trabalho (ANTUNES et al., 2010). Acredita-se que nos países industrializados, cerca de 20% da população ativa está envolvida em algum tipo de cronograma de trabalho em turnos (STRAIF et al., 2007). Outros autores afirmam que aproximadamente 15-30% da população ativa mundial trabalha fora do expediente convencional (AXELSSON; PUTTONEN, 2012; MCMENAMIN, 2007).

A crescente utilização do trabalho em turnos no atendimento às demandas da sociedade moderna tem criado a necessidade de avaliar os efeitos que essa modalidade pode causar na saúde dos funcionários (BRUM et al., 2015). Nesse sentido, uma grande quantidade de estudos com essa temática tem sido publicados (ANTUNES et al., 2010; AXELSSON; PUTTONEN, 2012; COSTA, 2003; CRISPIM et al., 2011, 2012; LAJOIE et al., 2015; PEPŁONSKA; BUKOWSKA; SOBALA, 2015; RAMIN et al., 2015; SALLINEN; KECKLUND, 2010; STRAIF et al., 2007; WANG et al., 2014) e seus resultados demonstram que o trabalho em turnos exerce um efeitos negativos sobre a saúde do trabalhador.

Os efeitos negativos incluem as alterações no ciclo sono/vigília e dessincronização crônica entre os ritmos circadianos endógenos e comportamentais, o que pode levar a alterações endócrinas e metabólicas como obesidade (BARBADORO et al., 2013; PEPŁONSKA et al., 2014), intolerância à glicose, alterações no perfil lipídico e na secreção hormonal (AKERSTEDT, 2003; ANTUNES et al., 2010; CRISPIM et al., 2011; GUO et al., 2015; JERMENDY et al., 2012), hipertensão arterial sistêmica (CHEN; LIN; HSIAO, 2010), doenças cardiovasculares (JERMENDY et al., 2012; LAJOIE et al., 2015), diabetes mellitus tipo II (AXELSSON; PUTTONEN, 2012; PAN et al., 2011), síndrome metabólica (BACQUER et al., 2009; GUO et al., 2015; SOOKOIAN et al., 2007) e câncer (LIN et al., 2015a, 2015b).

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Trabalho em turnos e doenças crônicas

O trabalho em turnos tem sido associado a um maior risco de desenvolvimento de doenças crônicas (ANOTHAISINTAWEE et al., 2015; RAMIN et al., 2015) incluindo as doenças cardiovasculares (JERMENDY et al., 2012; LAJOIE et al., 2015), obesidade (ANTUNES et al., 2010; BARBADORO et al., 2013; CHEN; LIN; HSIAO, 2010; PEPLONSKA; BUKOWSKA; SOBALA, 2015; RAMIN et al., 2015; SON et al., 2015), diabetes mellitus tipo 2 (AXELSSON; PUTTONEN, 2012; PAN et al., 2011) e síndrome metabólica (BACQUER et al., 2009; GUO et al., 2015; SOOKOIAN et al., 2007).

Um estudo foi realizado com 54724 mulheres para avaliar a associação entre trabalho em turnos e fatores de risco para doenças crônicas. Os autores verificaram que trabalhadores do turno noturno tendem a ter um perfil de risco desfavorável para doenças crônicas em comparação com quem nunca trabalhou nessa escala e esses fatores de risco variaram de acordo com a idade e o tempo total de trabalho em turnos (RAMIN et al., 2015).

Em relação ao aumento do risco para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares, o estudo de Jermendy et al. (2012) avaliou 481 trabalhadores (121 homens, 360 mulheres), sendo 234 trabalhadores em turnos (idade: $43,9 \pm 8,1$ anos) e 247 diurnos ($42,8 \pm 8,5$ anos). Foi verificado que a pressão arterial sistólica foi maior nos trabalhadores em turnos em comparação com os diurnos (133 ± 8 versus 126 ± 17 mmHg; $p<0,05$), assim como o peso ($73,6 \pm 15,5$ versus $67,7 \pm 13,2$ kg; $p<0,001$), índice de massa corporal - IMC ($27,5 \pm 5,7$ versus $25,0 \pm 4,3$ kg/m²; $p<0,001$), prevalência de hipertensão pregressa (24,4 versus 13,4%; $p<0,01$) e proporção de fumantes atuais (37,7 versus 21,7%, $p<0,001$). Os autores concluíram que trabalhadores em turnos têm um estilo de vida menos saudável e possui maior risco para doenças cardiovasculares em comparação com diurnos.

Estudos mostram também que há um aumento do risco de desenvolvimento de obesidade em indivíduos que trabalham em turnos. Um estudo realizado em Taiwan avaliou 1838 mulheres (idade média: $33,6 \pm 7,1$ anos) em diferentes escalas de trabalho e verificou que aquelas que trabalharam no turno noturno fixo tiveram um maior risco para o desenvolvimento de obesidade (OR: 2,7; 95% IC: 1,6-4,5) em comparação com trabalhadoras do turno diurno (CHEN; LIN; HSIAO, 2010). Resultado semelhante foi encontrado por um estudo coreano que analisou 2952 trabalhadores (1715 homens e 1237 mulheres) e verificou que houve um maior risco de desenvolvimento de obesidade em homens que trabalhavam em

turnos (OR: 1,7; 95% IC: 1,05-3,01) (SON et al., 2015). Outro estudo transversal foi realizado na Polônia com 724 enfermeiras e parteiras com idade entre 40-60 anos (354 no turno noturno rotativo e 370 no diurno) e verificou que trabalhar oito ou mais turnos noturnos por mês está associado a um maior risco de desenvolver obesidade ($IMC \geq 30 \text{ kg/m}^2$) (OR: 3,9; 95% IC: 1,5-9,9) (PEPLONSKA; BUKOWSKA; SOBALA, 2015). Barbadoro et al. (2013) avaliaram 339 homens, sendo 110 trabalhadores em turnos rotativos e 229 diurnos e também verificaram que trabalho em turnos rotativos é um fator de risco independente para o aumento do peso corporal (OR: 1,93, 95% IC: 1,01–3,71).

Tem sido verificado também um aumento do risco de diabetes mellitus tipo II em indivíduos submetidos à escala de turnos. Um estudo longitudinal foi realizado com 69269 mulheres (idade: 42-67 anos) incluídas na coorte Nurses' Health Study I (1988–2008), e 107915 mulheres (idade: 25-42 anos) que participaram da coorte Nurses' Health Study II (1989-2007), todas elas não apresentavam doenças crônicas no início do estudo. Em comparação com as mulheres que não trabalharam em turnos, os riscos (95% IC) para os participantes com 1-2, 3-9, 10-19 e ≥ 20 anos de trabalho em turnos foram 1,03 (0,98-1,08), 1,06 (1,01-1,11), 1,10 (1,02-1,18) e 1,24 (1,13-1,37, $p<0,001$) sugerindo, portanto, que um longo período de trabalho em turnos noturno está associado com um risco moderadamente aumentado de diabetes tipo 2 em mulheres (PAN et al., 2011).

Evidências apontam que o trabalho em turnos aumenta o risco de desenvolvimento de síndrome metabólica. Um estudo com 26382 trabalhadores foi realizado com o objetivo de avaliar os efeitos adversos do trabalho em turnos e o risco de síndrome metabólica. Comparado com quem não trabalhou em turnos, o OR (95% IC) para 1–10, 11–20 e >20 anos de trabalho em turnos foi 1,05 (0,95 – 1,16), 1,14 (1,03 – 1,26), 1,16 (1,01 – 1,31), isto é, um longo período na escala de turnos foi associado com um maior risco de desenvolver a doença (GUO et al., 2015). Bacquer et al. (2009) encontraram resultados semelhantes ao avaliar 1529 trabalhadores belgas e concluir que trabalhar em turnos rotativos por um período de 6 anos aumenta o risco de desenvolvimento de síndrome metabólica e também de cada um dos seus componentes isoladamente confirmando, portanto, que o risco de desenvolver síndrome metabólica aumenta gradualmente, de forma independente, com o aumento do tempo de trabalho em turnos.

Os mecanismos exatos que associam o trabalho em turnos aos fatores de risco para o desenvolvimento de doenças crônicas não estão bem estabelecidos (RAMIN et al., 2015). Porém, acredita-se que a dessincronização do ritmo circadiano, condição muito prevalente em trabalhadores em turnos, pode culminar em mudanças comportamentais na ingestão alimentar

e no padrão de sono resultando em distúrbios metabólicos desfavoráveis (CEDERNAES et al., 2015; RAMIN et al., 2015; SCHEER et al., 2009), uma vez que o ritmo circadiano controla a variação diurna dos ciclos sono-vigília e de várias funções fisiológicas (BAILEY; UDOH; YOUNG, 2014; BASS; TAKAHASHI, 2010).

Trabalhadores em turnos são considerados indivíduos cronicamente restritos de sono. Estudos atuais apontam que alterações do sono, como a redução do tempo total de sono e a sua qualidade ruim, podem ajudar a explicar o aumento do risco para doenças crônicas nesses trabalhadores (ITANI et al., 2011; LAJOIE et al., 2015). Alterações no sono comuns incluem o sono insuficiente (duração), dificuldade para “pegar” no sono (latência do sono) e a sensação de não se sentir revigorado após o sono (AKERSTEDT, 2003; KIM et al., 2015). Um estudo coreano, com 2818 mulheres que trabalhavam em turnos, verificou que quanto maior a rotatividade do turno, mais baixa foi a qualidade do sono (OR: 2,23; 95% IC: 1,73–2,88) após análise ajustada. Os autores sugeriram então que o trabalho no turno noturno de alta rotatividade não proporciona o tempo suficiente de ajuste do ritmo circadiano, o que explica a baixa qualidade do sono nesses trabalhadores (KIM et al., 2015).

Uma revisão sistemática seguida de meta-análise verificou que distúrbios do sono é um fator de risco para o desenvolvimento de diabetes mellitus tipo 2 (ANOTHAISINTAWEE et al., 2015). Um estudo realizado no Canadá verificou que mulheres, que trabalhavam em um esquema de turnos de alta rotatividade e apresentavam baixa qualidade de sono de acordo com o Índice de Qualidade do sono de Pittsburgh (PSQI), tinham uma maior prevalência de síndrome metabólica em comparação com as mulheres do turno diurno (LAJOIE et al., 2015). Outro estudo, realizado no Japão, com trabalhadores em turnos (21693 homens e 2109 mulheres) mostrou que os riscos relativos de desenvolvimento de obesidade em trabalhadores com duração do sono menor do que 5 horas foram de 1,2 (95% IC: 1,09-1,32) para os homens e 1,7 (95% IC: 1,11-2,87) para as mulheres, após análise ajustada para hábitos de vida. Concluíram, portanto, que uma curta duração do sono está associada com o desenvolvimento de obesidade (ITANI et al., 2011).

Alterações no sono têm sido associadas a alterações hormonais, aumentando o risco de desenvolvimento de doenças crônicas. A redução do sono em homens jovens saudáveis tem sido associada à redução nos níveis de leptina e aumentos nos níveis de grelina, que resultam no aumento da fome e do apetite (SPIEGEL et al., 2004). Leptina e grelina são hormônios relacionados ao controle da ingestão alimentar em humanos (FAROOQI; O’RAHFLIY, 2014). O estudo de Spiegel et al. (2004) foi realizado com 12 homens saudáveis (idade 22 ± 2 anos; IMC $23,6 \pm 2,0 \text{ kg/m}^2$) e verificou que a restrição do sono foi associada à diminuição no

hormônio anorexígeno leptina (redução de 18%; $p=0,04$), elevação no hormônio orexígeno grelina (aumento de 28%; $p<0,04$), aumento da fome (aumento de 24%; $p<0,01$) e do apetite (aumento de 23%; $p=0,01$), especialmente para alimentos altamente calóricos com alto teor de carboidratos (aumento de 33% até 45%; $p=0,02$) sugerindo, portanto, que a restrição crônica do sono pode ser um fator de risco reconhecido para a obesidade.

Chaput et al. (2007) também verificaram que a curta duração do sono está associada com redução nos níveis de leptina e aumento da adiposidade, ao avaliar 323 homens e 417 mulheres com idades entre 21 a 64 anos. Eles verificaram que a maioria (88%) dos participantes que relataram uma curta duração do sono (5 e 6 horas de sono/noite) tiveram níveis mais baixos de leptina. Os autores ainda sugeriram que parece haver uma "zona ideal" de duração do sono, que seria de 7 a 8 horas por noite, de tal forma que dormir um intervalo menor do que este causaria efeitos prejudiciais como a perturbação do equilíbrio energético.

Buxton et al. (2012) também avaliaram os efeitos que a privação do sono prolongada, associada ao rompimento circadiano simultâneo como ocorre no trabalho em turnos, exerce na regulação da glicose e do metabolismo. Eles verificaram uma redução nos níveis de leptina durante a restrição de sono ($p=0,05$) e aumento nos níveis de grelina ($p<0,05$). Para os autores, o aumento na ingestão alimentar em trabalhadores em turnos acontece no sentido de normalizar o sinal de fome relacionada à sinalização pelos hormônios leptina/grelina em indivíduos expostos a restrição do sono.

Portanto, o trabalho em turnos não é uma mudança ambiental temporária e pode causar rupturas crônicas no relógio circadiano (KIM et al., 2015), alterando negativamente o ciclo sono/vigília e, consequentemente, os ritmos hormonais, impactando negativamente na saúde desses trabalhadores.

2.2 Ritmo circadiano

O trabalho em turnos tem sido considerado uma causa importante das perturbações do ritmo circadiano (KIM et al., 2015). Isto causa o desalinhamento entre ritmos circadianos fisiológicos endógenos, ambientais e comportamentais (GREEN; TAKAHASHI; BASS, 2008; KUMAR JHA; CHALLET; KALSBECK, 2015).

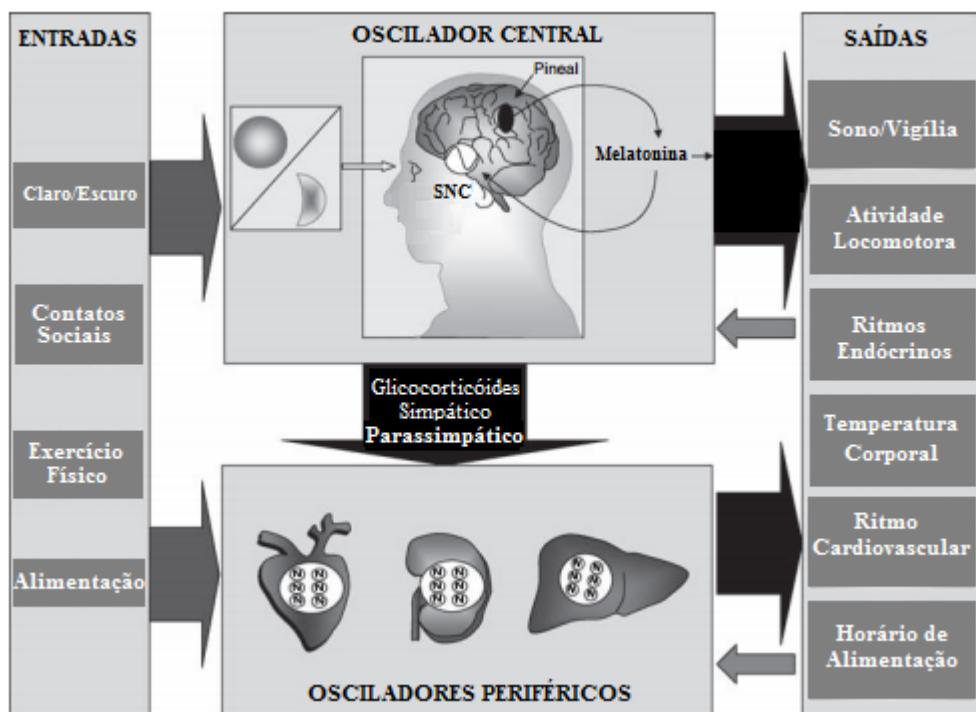
Os ritmos circadianos são mudanças controladas que ocorrem no corpo humano permitindo que os organismos se antecipem às alterações diárias previsíveis que ocorrem no ambiente (BAILEY; UDOH; YOUNG, 2014; BASS; TAKAHASHI, 2010). O termo circadiano tem origem a partir das palavras do latim “*circa*” e “*diem*”, que significa “cerca de

um dia”, isto é, são ritmos que se repetem com uma periodicidade de 24 horas e que persistem na ausência do ciclo claro/escuro. Tais ritmos são sincronizados por estímulos ambientais, ou *zeitgebers*, tais como ciclo claro/escuro, temperatura, ambiente e disponibilidade de alimentos (KUMAR JHA; CHALLET; KALSBECK, 2015).

A maioria dos aspectos do metabolismo energético apresenta nítidas variações durante o dia e a noite, como, por exemplo, os ciclos sono/vigília, alimentação/jejum e a secreção hormonal. Nesse sentido, sabe-se que a secreção de leptina, grelina e de glicocorticoides apresenta variação circadiana (KUMAR JHA; CHALLET; KALSBECK, 2015). Essa ritmicidade diária das funções metabólicas, incluindo a liberação de hormônios, é regida por um sistema circadiano que consiste de um relógio central, localizado no núcleo supraquiasmático do hipotálamo e vários relógios secundários presentes nos órgãos periféricos. Os ritmos gerados pelo relógio central auxiliam na sincronização dos relógios circadianos moleculares presentes nas células e tecidos periféricos. O relógio circadiano periférico coordena as funções fisiológicas com padrões diários de comportamento como alimentação, atividade e sono (BUXTON et al., 2012).

A organização funcional do sistema circadiano (Figura 1) é formada por três componentes principais. Destacam-se as entradas, que podem redefinir o relógio central, de modo que se torna coincidente com o ambiente externo (ciclo claro/escuro, contatos sociais, exercícios físicos, alimentação); o núcleo central e os osciladores periféricos, presentes na maioria dos tecidos e órgãos periféricos, que também podem ocasionalmente dessincronizar o ritmo circadiano; e as saídas, que são funções fisiológicas e comportamentais, que também podem fornecer um *feedback*, modificando a função do núcleo supraquiasmático e osciladores periféricos (sono/vigília, atividade locomotora, ritmos endócrinos, temperatura corporal, ritmo cardiovascular, horários de alimentação) (GARAULET; ORDOVÁS; MADRID, 2010).

Figura 1- Sistema Circadiano



Fonte: Adaptado de Garaulet et al. (2010).

O术 desalinhamento entre o relógio circadiano interno e padrões diários de comportamento, que são influenciados pelo ambiente em geral, ocorre com frequência em trabalhadores em turnos e esta perturbação pode culminar em problemas de saúde em indivíduos expostos a essa escala de trabalho (AXELSSON; PUTTONEN, 2012) (LOWDEN et al., 2010), por exemplo, as alterações metabólicas (BASS; TAKAHASHI, 2010; LEPROULT; HOLMBÄCK; VAN CAUTER, 2014).

2.2.1 Dessincronização circadiana

A sincronização correta do relógio circadiano endógeno permite que os organismos se antecipem às mudanças ambientais diárias e ajustem temporalmente as funções comportamentais e fisiológicas em conformidade com o relógio interno. Os hábitos sociais atuais como exposição à luz durante a noite, alimentação e atividade física noturna, horário de verão, fusos horários e trabalho em turnos agem sobre o cérebro induzindo uma perda da sincronização entre os ritmos internos e externos. Consequentemente, o ambiente detectado pelo cérebro torna-se alterado e arrítmico (BAILEY; UDOH; YOUNG, 2014; BASS; TAKAHASHI, 2010). Essa dessincronização pode resultar, por exemplo, em alterações metabólicas (BUXTON et al., 2012; SCHEER et al., 2009).

Quando o horário de trabalho interrompe o ciclo sono-vigília natural, os seres humanos são expostos a períodos de luz em horários incomuns, promovendo padrão de consumo de alimentos irregular e modificando rotinas sociais e familiares dos trabalhadores. (ANTUNES et al., 2010). Esse padrão de ingestão de alimentos irregular, como o consumo de lanches durante a noite, afeta a resposta termogênica favorecendo o ganho de peso (ROMON et al., 1993). Portanto, essa relação entre os hábitos alimentares alterados, padrão sono-vigília, estilo de vida e ganho de peso pode ajudar a explicar o aumento da obesidade entre trabalhadores em turnos.

Um estudo submeteu dez indivíduos a um protocolo de dessincronização forçada com o intuito de avaliar os efeitos independentes do sistema circadiano e do ciclo comportamental (ciclos jejum/alimentação e sono/vigília) sobre as funções metabólica, endócrina e cardiometabólica na presença de desalinhamento entre os ciclos circadianos e comportamentais, como normalmente ocorre em trabalhadores em turnos. O desalinhamento circadiano diminuiu significativamente os níveis de leptina (17%, $p<0,001$), aumentou a glicose (6%, $p<0,001$), reverteu completamente o ritmo de cortisol diário ($p<0,001$), aumentou a pressão arterial média (3%, $p=0,001$) e reduziu a eficiência do sono (20%, $p<0,002$). Portanto, o desalinhamento circadiano, uma condição muito frequente em trabalhadores em turnos, resultou em menores níveis plasmáticos de leptina, aumento de glicose e de insulina, aumento da pressão sanguínea arterial média e menor eficiência do sono (SCHEER et al., 2009).

Um estudo avaliou 21 indivíduos para compreender o efeito que a restrição prolongada do sono concomitante ao rompimento circadiano, como ocorre em trabalho em turnos, exerce sobre a regulação da glicose e o metabolismo. O estudo verificou que a restrição do sono e a interrupção circadiana prolongada reduziram os níveis de leptina ($p=0,05$), prejudicaram a regulação da glicose (redução de 32% na secreção de insulina) e reduziram o metabolismo basal (queda de 8% na taxa metabólica de repouso) (BUXTON et al., 2012).

A perturbação circadiana, induzida pelo trabalho em turnos, resulta também na perda da ritmidade do cortisol (GARAULET; ORDOVÁS; MADRID, 2010). O cortisol é secretado de acordo com um ritmo circadiano e a perda desta ritmidade poderia resultar em hiperatividade do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal, causando níveis elevados de cortisol em longo prazo, que pode induzir a alterações metabólicas como a obesidade (MANENSCHIJN et al., 2011). A interrupção circadiana pode causar também supressão da melatonina noturna. Essa redução na síntese de melatonina induz resistência à insulina, intolerância à glicose, distúrbios do sono e dessincronização circadiana metabólica levando à obesidade (CIPOLLA-

NETO et al., 2014; SON et al., 2015). Além disso, o术 desalinhamento circadiano tem sido associado também ao diabetes mellitus tipo 2 e doenças cardiovasculares (SCHEER et al., 2009; SOOKOIAN et al., 2007).

Portanto, a literatura demonstra que a sincronização de processos circadianos centrais e periféricos é crucial na manutenção da homeostase metabólica (KUMAR JHA; CHALLETT; KALSBECK, 2015), uma vez que a dessincronização desses ritmos afeta, sobretudo, a secreção de enzimas e os hormônios que afetam o consumo alimentar, dentre eles a leptina, um hormônio secretado pelo tecido adiposo (BUXTON et al., 2012; SCHEER et al., 2009).

2.3 Tecido adiposo

O tecido adiposo é um importante órgão endócrino. As células do tecido adiposo (adipócitos) liberam as adipocinas (TRAYHURN; DREVON; ECKEL, 2011). Adipocinas podem ser definidas como um grupo de mais de 600 moléculas bioativas produzidas pelo tecido adiposo (LEHR; HARTWIG; SELL, 2012) que atuam como hormônios endócrinos e parácrinos (BLÜHER, 2014). Elas agem em diferentes órgãos, incluindo o tecido adiposo, cérebro, fígado, músculos, vasos sanguíneos, pâncreas e coração (BLÜHER, 2014). Além disso, o padrão de secreção dessas moléculas podem refletir a função do tecido adiposo e este padrão é importante para estabelecer o risco individual de desenvolvimento de comorbidades metabólicas e cardiovasculares (BLÜHER, 2009; CATALÁN et al., 2009; VAN GAAL; MERTENS; DE BLOCK, 2006).

Estudos apontam que as adipocinas desempenham funções específicas na resposta imunológica, inflamação, metabolismo da glicose, sensibilidade à insulina, hipertensão, adesão celular, crescimento e função vascular, aterosclerose, adipogênese, crescimento, metabolismo lipídico e também na regulação do apetite e saciedade (ex: leptina) (BLÜHER, 2009, 2014).

A leptina é uma adipocina que desempenha múltiplas funções no organismo, por exemplo, regula a saciedade, apetite, ingestão alimentar, atividade e gasto energético, fertilidade, aterogênese e induz o crescimento (BLÜHER; MANTZOROS, 2015). Sua importância na homeostase energética será detalhada a seguir.

2.4 Leptina

A clonagem e caracterização do gene *ob* mostrou que ele codifica um importante hormônio, a leptina, que é expressa no tecido adiposo e, em níveis mais baixos, no epitélio gástrico e da placenta (ZHANG et al., 1994). A leptina é um polipeptídio composto de 167 aminoácidos, secretada principalmente pelo tecido adiposo branco (DALAMAGA et al., 2013; WADA et al., 2014).

O nome "leptina" tem origem na palavra grega "*leptos*", que significa "*magro*" (WADA et al., 2014). É um hormônio com efeitos potentes sobre a ingestão alimentar, metabolismo e muitos outros processos fisiológicos importantes, que inclui a fertilidade, angiogênese, formação óssea e função imune (FRIEDMAN; HALAAS, 1998; HUANG; LI, 2000; PARK; AHIMA, 2015; ROEMMICH et al., 1998).

A leptina funciona como um marcador chave da quantidade de reserva energética corporal. Sabe-se que as concentrações circulantes desse hormônio são proporcionais à quantidade de gordura corporal sinalizando adiposidade, isto é, as reservas energéticas disponíveis (MAFFEI et al., 1995). Os níveis de leptina estão diretamente associados à porcentagem de gordura corporal/IMC (MANTZOROS et al., 1997) e são pulsáteis (LICINIO et al., 1997). Essa pulsatilidade estabelece um ritmo diurno para esse hormônio, que já está bem estabelecido, sendo que os maiores níveis são verificados durante o período noturno (CHAN et al., 2002; SHEA et al., 2005; WONG et al., 2004).

Mulheres tendem a ter níveis mais altos de leptina do que os homens, mesmo após correção para quantidade de gordura corporal. Isso pode ser explicado pela maior porcentagem de gordura subcutânea presente nas mulheres, já que, em comparação com a gordura visceral, a gordura subcutânea tem sido associada com maior expressão de RNAm de leptina (DALAMAGA et al., 2013).

Concentrações plasmáticas de leptina refletem o estado nutricional do indivíduo. Em caso de restrição aguda de energia, os níveis de leptina diminuem rapidamente e várias respostas neuroendócrinas são afetadas no sentido de aumentar a ingestão alimentar e reduzir o gasto energético (FRIEDMAN; MANTZOROS, 2015). A leptina, particularmente em estados associados com deficiência de energia e hipoleptinemia, exerce influência em vários eixos neuroendócrinos, dentre eles o da tireoide, gonadal, cortisol, hormônio do crescimento, reprodução, termorregulação e estresse (DALAMAGA et al., 2013). Já um aumento da leptina no sangue contribui para a secreção de insulina a partir das células β pancreáticas em resposta ao aumento dos níveis de glicose no sangue após a alimentação (ZHANG et al., 1994).

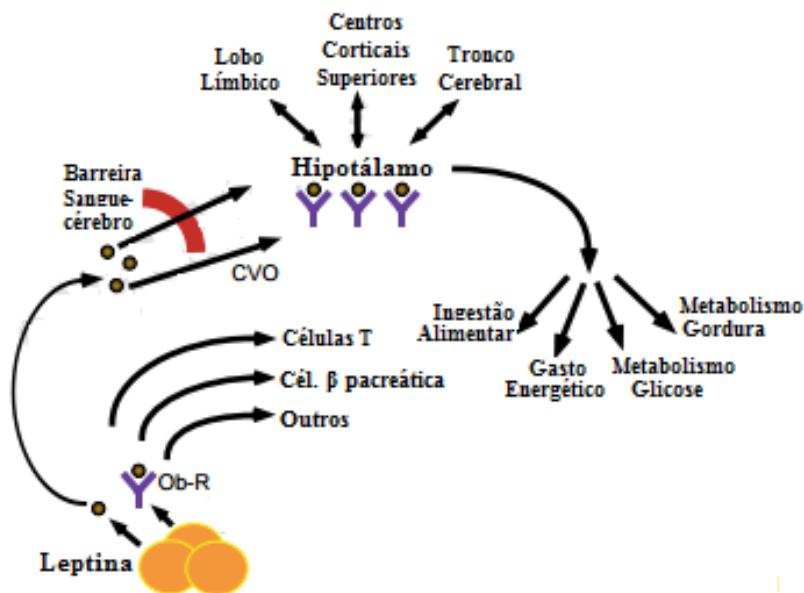
Reservas de gordura e/ou a secreção de insulina, desempenham um papel importante na indução da síntese de leptina, no entanto, a expressão e/ou a liberação de leptina pode ser influenciada por outros fatores, tais como, cortisol (WABITSCH et al., 1996) e estrogênio (SHIMIZU et al., 1997). Portanto, em situações de jejum ou excesso de leptina ocorrem alterações nos níveis plasmáticos desse hormônio (AHIMA et al., 1996), favorecendo a homeostase energética (CHAN et al., 2003).

2.4.1 Leptina e a homeostase energética

Acredita-se na existência de um sistema, tanto de curto quanto de longo prazo, que controla o comportamento alimentar e balanço energético (FRIEDMAN; HALAAS, 1998). A concentração plasmática de glicose, a temperatura corporal, os aminoácidos plasmáticos, colecistoquinina e outros hormônios podem modular o padrão alimentar (fome e saciedade) e são componentes do sistema de curta duração (SPIEGELMAN; FLIER, 1996). A leptina não aumenta significativamente após uma refeição e não leva, por si só, ao encerramento de uma refeição (MAFFEI et al., 1995). Nesse sentido, a leptina parece funcionar dentro do sistema de longa duração que influencia a quantidade de alimento consumido em relação à quantidade de energia gasta (FRIEDMAN; HALAAS, 1998).

A leptina é um sinal num ciclo de *feedback* negativo que regula a quantidade de tecido adiposo, como apresentado na Figura 2. Essa adipocina é secretada pelos adipócitos, seja como uma proteína de 16 kDa ou ligada a uma forma solúvel do seu receptor e seus níveis são positivamente correlacionados com alterações na gordura corporal. Um aumento nos níveis de leptina resulta em um balanço energético negativo, isto é, o gasto energético maior do que ingestão alimentar, enquanto uma redução nos níveis desse hormônio resulta em um balanço energético positivo, ou seja, a ingestão alimentar maior do que o gasto energético. A leptina atua principalmente sobre o hipotálamo reduzindo a ingestão alimentar e modulando o metabolismo de glicose e da gordura. Além disso, exerce efeitos periféricos sobre as células T (estimula a proliferação de células T CD4⁺), células β do pâncreas e outros tecidos (FRIEDMAN; HALAAS, 1998).

Figura 2 - Leptina e a regulação do tecido adiposo



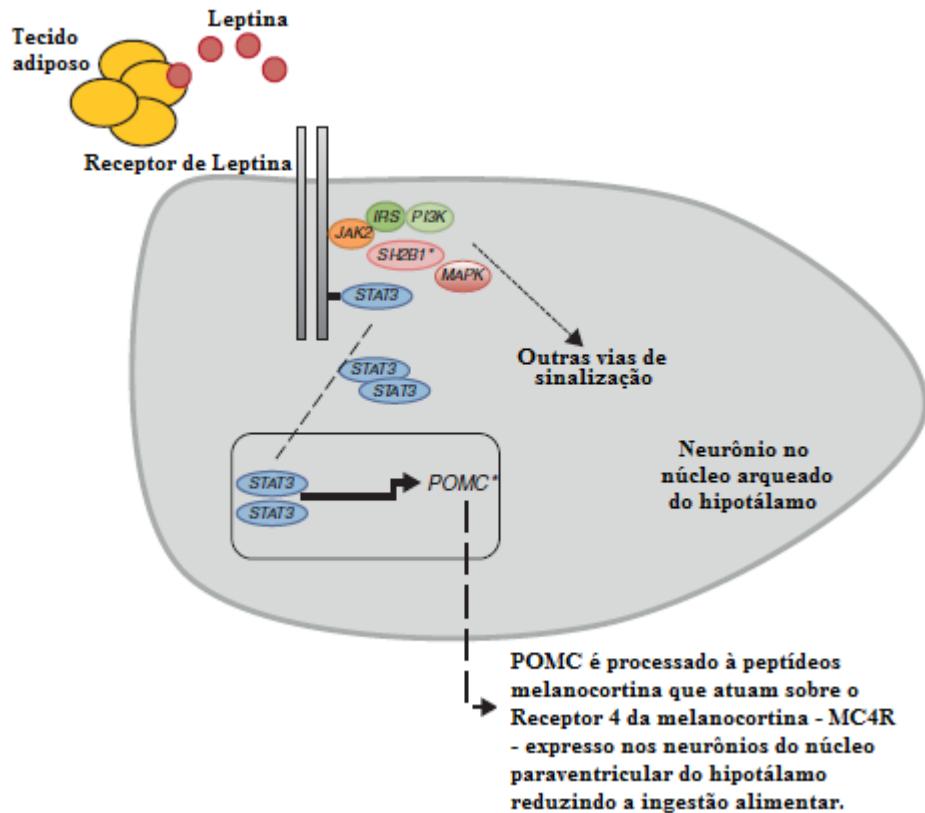
Fonte: Adaptado de Friedman & Halaas (1998).

Os principais alvos da leptina no hipotálamo são os neurônios que expressam Pró-opiomelanocortina (POMC) e o peptídeo *Cocaine Amphetamine-regulated Transcript* (CART), que são ativados pela leptina, assim como neurônios que expressam Proteínas Relacionadas ao Agouti (AgRP) e Neuropeptídeo Y (NPY), que são inibidos por esse hormônio. Esses neurônios são capazes de influenciar a atividade de muitos outros tipos neuronais no cérebro, dando origem a um circuito neural chave que controla a ingestão alimentar e o gasto energético. Este circuito auxilia em uma melhor compreensão do sistema complexo que regula a homeostase energética (SCHWARTZ et al., 2000).

A leptina atua como um sensor do balanço energético, uma vez ligada ao seu receptor no hipotálamo, estimula a síntese de peptídeos anorexígenos, como os peptídeos CART e POMC e também inibe a síntese de peptídeos orexígenos, pela ação do NPY, AGRP e do Hormônio Concentrador de Melanina (MCH), reduzindo a ingestão alimentar (ELIAS et al., 1999; SCHWARTZ et al., 1996). Além disso, a leptina também promove a termogênese, por estimulação β adrenérgica do tecido adiposo marrom e lipólise do tecido adiposo branco (CINTI, 2006).

A leptina exerce, portanto, efeito sobre vários tipos de neurônios no núcleo arqueado, que conduz à supressão de neurônios anorexígenos, ativação dos neurônios orexígenos, via ativação do núcleo paraventricular, culminando em redução do peso corporal e ingestão alimentar (Figura 3) (WADA et al., 2014).

Figura 3 - Resposta fisiológica à leptina



Fonte: Adaptado de Farooqi & O’Rahilly (2014).

2.4.2 Resistência à leptina

A obesidade é caracterizada por níveis elevados de leptina na circulação, que são incapazes de exercer um efeito anorexígeno adequado (ARCH, 2005). Hoje sabe-se que a administração de leptina em indivíduos obesos, na maioria das vezes, não afeta significativamente o apetite e peso corporal. Acredita-se que a falta de eficácia da leptina na obesidade humana ocorra devido ao desenvolvimento de resistência central à leptina concomitante ao aumento dos níveis de leptina plasmáticos (HOUSEKNECHT et al., 1996; VAN DIELEN et al., 2002). Essa condição é chamada de resistência à leptina (ARCH, 2005).

Os mecanismos subjacentes à resistência à leptina ainda não estão bem esclarecidos, embora defeitos no transporte de proteínas por meio da barreira sangue-cérebro, bem como uma diminuição da sinalização hipotalâmica pode ter um papel importante (ARCH, 2005). Segundo Houseknecht et al. (1996), resistência à leptina pode resultar da regulação decrescente do receptor de leptina, de defeitos na ligação ao receptor, na sinalização, alteração da via a jusante e/ou alterações na biodisponibilidade da leptina circulante.

O estudo de Considine et al. (1996) avaliou as concentrações séricas de leptina em 136 indivíduos com peso normal e 139 obesos. A média das concentrações de leptina no soro foram $31,3 \pm 24,1$ ng/mL em obesos e $7,5 \pm 9,3$ ng/mL em indivíduos com peso normal ($p<0,001$). Outro estudo avaliou as concentrações de leptina após perda de peso acentuada em 18 mulheres com obesidade mórbida que fizeram cirurgia gástrica restritiva. Eles verificaram, um ano após a cirurgia, uma redução significativa no IMC (de $42,9 \pm 5,6$ para $32,9 \pm 6,0$ kg/m²) que foi acompanhada de uma redução nas concentrações plasmáticas de leptina de $44,6 \pm 18,0$ para $20,0 \pm 13,1$ ng/mL ($p<0,001$) (LAIMER et al., 2002).

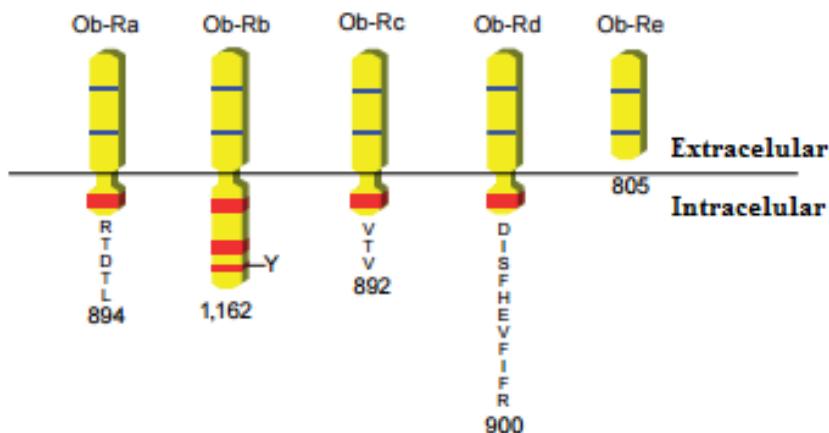
Portanto, em seres humanos, a obesidade está associada a um aumento nas concentrações plasmáticas de leptina (CONSIDINE et al., 1996), resultantes de um estado de resistência a esse hormônio.

2.5 Receptores de leptina

Os efeitos fisiológicos da leptina são mediados pela interação com receptores específicos, que pertencem à superfamília dos receptores de citocina classe I (DIAMOND et al., 1997; TARTAGLIA, 1997; TARTAGLIA et al., 1995). O receptor de leptina (OB-R) foi isolado pela primeira vez em 1995, a partir do plexo coroide e hipotálamo de ratos, (TARTAGLIA et al., 1995), resultante da expressão do gene *db* (LEE et al., 1996).

Em seres humanos foram identificados quatro diferentes isoformas derivadas do *splicing* do RNAm do receptor de leptina (Figura 4), sendo um receptor ligado à membrana, com um domínio citoplasmico de comprimento longo (OB-Rb) e três receptores ligados à membrana com um domínio citoplasmático curto (OB-Ra, OB-Rc, OB-Rd). Além disso, existe o receptor solúvel de leptina (OB-Re) que é gerado por clivagem proteolítica de receptores de membrana (MAAMRA et al., 2001; TARTAGLIA et al., 1995).

Figura 4 - Isoformas do receptores de leptina



Fonte: Adaptado de Friedman & Halaas (1998).

As isoformas do receptor de leptina tem um domínio de ligação comum na região amino-terminal e uma porção diferente na região carboxi-terminal. Além disso, quatro isoformas (OB-Ra, OB-Rb, OB-Rc, OB-Rd) possuem domínios transmembrana, enquanto OB-Re contém apenas o domínio extracelular (WADA et al., 2014).

A leptina se liga aos receptores localizados ao longo do Sistema Nervoso Central (SNC), assim como em vários tecidos periféricos. O receptor OB-Rb é fortemente expresso em todo SNC, principalmente no hipotálamo, centro regulador do apetite. A ligação da leptina à OB-Rb ativa vias de sinalização que propiciam os efeitos centrais e periféricos da leptina (KELESIDIS et al., 2010). Portanto, a capacidade da leptina de ativar o seu receptor e mediar a transdução de sinal depende da sinalização do receptor OB-Rb, que é a isoforma mais importante na mediação da ação da leptina (WADA et al., 2014).

Ativação de OB-Rb pela leptina provoca centralmente a redução da ingestão alimentar e aumento do gasto energético. Estes efeitos centrais são mediados por um circuito neural complexo que envolve NPY, AgRP, POMC e CART, que são modulados pela leptina (YANG et al., 2004).

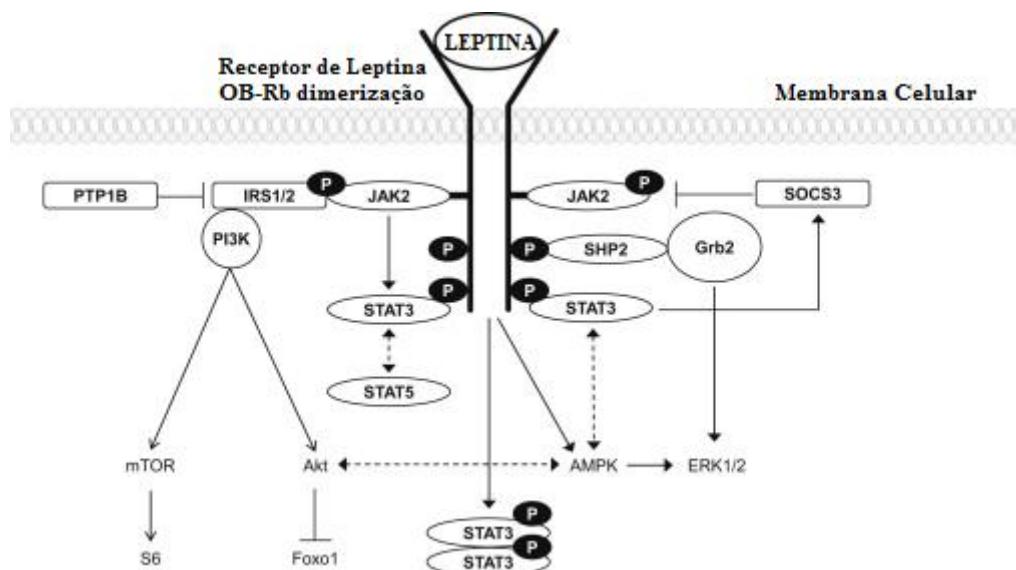
O receptor OB-Rb possui domínios intracelulares conhecidos como regiões Box1, Box2, Box3 que estão associados com a ativação de JAK (Janus-kinase) / STAT (sinal transdutor e ativador de transcrição) (BJØRBAEK et al., 1997; TARTAGLIA et al., 1995; WADA et al., 2014).

A ligação da leptina à OB-Rb resulta na sua dimerização e promove a fosforilação de JAK2 e ativação da via de JAK2/STAT3 (Figura 5). Fosforilação de STAT3 faz com que ele dissocie-se do receptor de OB-Rb e forme dímeros ativos que regulam a expressão do gene após a translocação para o núcleo. Sinalização STAT3 pode ativar STAT5, que também pode

regular a expressão de genes dependentes de STAT3. Fosforilação de JAK2 também ativa SHP2, que então recruta a proteína adaptadora Grb2 que promove a ativação de ERK1/2. Ativação PI3K mediada por leptina via IRS1/2 causa a fosforilação de Akt/ mTOR e subsequente regulação da atividade de S6 e FOXO1. PTP1B pode interferir com a ativação de PI3K pela inibição da fosforilação de IRS-1/2, estimulada por leptina. Expressão de SOCS3 é induzida por STAT3 e atua por meio da inibição da fosforilação de JAK2, estimulada pela leptina (DALAMAGA et al., 2013; KELESIDIS et al., 2010).

Alterações na sinalização da leptina pode resultar em resistência à leptina, isto é, incapacidade de leptina endógena ou exógena em promover resultados metabólicos tais como a inibição do apetite e do ganho de peso e aumento do gasto energético (DALAMAGA et al., 2013).

Figura 5 - Sinalização no receptor de leptina



Fonte: Adaptado de Dalamaga et al., (2013).

Em relação à isoforma curta do receptor de leptina (OB-Ra), alguns autores tem sugerido que ela seja responsável pelo transporte do hormônio por meio da barreira sangue-cérebro e pela produção do domínio extracelular do receptor que complexa com a leptina, isto é, a isoforma solúvel (GE et al., 2002; LAMMERT et al., 2001). O mecanismo exato de transporte da leptina para o SNC é desconhecido, mas como a absorção de leptina ocorre no cérebro, o transporte ativo por Ob-Ra ou outras proteínas tem sido sugerido como um mecanismo possível (BANKS et al., 1996).

O receptor solúvel, Ob-Re, representa a principal proteína de ligação da leptina na circulação humana (LAMMERT et al., 2001). Ele compete pela ligação com os receptores de

leptina presentes na superfície das células-alvo e reduz a taxa de degradação e depuração da leptina (HUANG; WANG; LI, 2001; ZASTROW et al., 2003).

2.6 Receptor solúvel de leptina

Conforme foi mencionado anteriormente, a leptina atua por meio da ligação ao seu receptor, OB-R, que possui diferentes isoformas. Em seres humanos, a isoforma solúvel (OB-Re) é gerada pela clivagem proteolítica do domínio extracelular das isoformas de membrana, mediada por uma metaloprotease (GE et al., 2002; MAAMRA et al., 2001). Como OB-Re, não possui o domínio transmembrana, então ele é liberado na circulação (CHAN et al., 2002; HOUSEKNECHT et al., 1996; YANG et al., 2004).

Assim como observado para leptina, os níveis de OB-Re são diferentes entre homens e mulheres. As mulheres apresentam níveis significativamente menores desse receptor (CHAN et al., 2002; OGAWA et al., 2004; OGIER et al., 2002) e essa diferença pode ser explicada pelas variações nas quantidades de gordura corporal existentes entre homens e mulheres (OGIER et al., 2002). Segundo Chan et al. (2002) sexo e adiposidade são os principais preditores de OB-Re em adultos saudáveis, mas os esteróides sexuais também podem determinar os níveis desse receptor.

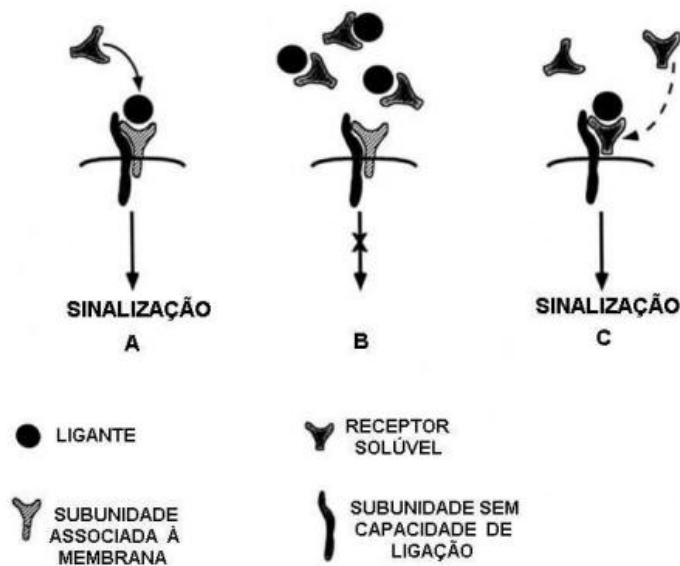
Existe uma correlação inversa entre os níveis de OB-Re e o IMC (CONSIDINE et al., 1996; MAFFEI et al., 1995; VAN DIELEN et al., 2002). Os níveis de OB-Re são significativamente menores e os níveis de leptina são significativamente maiores em indivíduos com obesidade mórbida em comparação com indivíduos magros (VAN DIELEN et al., 2002). Além disso, existem diferenças entre as proporções leptina livre/ligada em indivíduos magros e obesos. Sinha et al. (1996) demonstraram que em indivíduos magros a leptina circula principalmente na forma ligada a OB-Re enquanto que em indivíduos obesos a maioria dos leptina circula na a forma livre.

A leptina circula no sangue humano tanto na forma livre como ligada à OB-Re (SINHA et al., 1996). A atividade da leptina é influenciada por OB-Re (LAMMERT et al., 2001), que é considerada a principal proteína de ligação de alta afinidade da leptina no plasma humano (HUANG; WANG; LI, 2001; LAMMERT et al., 2001; WADA et al., 2014) e atua como um inibidor da função da leptina (YANG et al., 2004; ZASTROW et al., 2003).

Liu et al. (1997) demonstraram que OB-Re se acopla à leptina com alta afinidade, podendo inibir sua ligação ao receptor de membrana. A ligação da leptina ao seu receptor solúvel não resulta na sinalização e ativação de JAK/STAT (Figura 6) (HEANEY; GOLDE,

1993). Landt et al. (2000) verificaram que apenas leptina livre foi detectada no líquido cefalorraquidiano, sugerindo que é a forma biologicamente ativa da leptina. Portanto, OB-Re se liga à leptina desempenhando uma função inibitória temporária sobre a atividade desse hormônio (GE et al., 2002).

Figura 6 – Modelo de sinalização gerada pelos receptores de leptina



Fonte: Adaptado de Heaney et al. (1993).

Descobertas “in vivo” sugerem que a ligação da leptina a OB-Re pode retardar a depuração da leptina, aumentando assim o “pool” desse hormônio disponível na circulação, ou seja, aumentando sua biodisponibilidade (ZASTROW et al., 2003). Portanto, OB-Re é o principal determinante dos níveis de leptina no plasma (HUANG; WANG; LI, 2001; LAMMERT et al., 2001).

Os níveis de OB-Re tendem a diminuir quando há picos dos níveis de leptina, sugerindo que a leptina regula os níveis circulantes de sua própria proteína de ligação (CHAN et al., 2002). A proteína de ligação pode ser regulada positivamente em resposta a falta relativa de leptina. Com o jejum, o aumento de OB-Re concomitante à redução da leptina total, ocasiona uma diminuição ainda mais marcante na leptina livre. Isto pode ser entendido como uma resposta adaptativa a estados de privação alimentar, porque nessa situação seria vantajoso restringir a disponibilidade de leptina livre (devido seu efeito inibidor sobre a ingestão alimentar) (CHAN et al., 2002). Por outro lado elevados níveis de leptina resultam em decréscimo nos níveis de OB-Re. Em situações de obesidade os níveis elevados de leptina no soro refletem as reservas de tecido adiposo e nesta situação pode haver uma redução nos

níveis de OB-Re, também como uma resposta adaptativa, com o objetivo de aumentar a disponibilidade de leptina ativa (SINHA et al., 1996; VAN DIELEN et al., 2002).

Além das funções já citadas para o receptor solúvel, como inibição da atividade da leptina e o aumento da sua biodisponibilidade, OB-Re tem sido apontado como um marcador da expressão do receptor de leptina no hipotálamo (CHAN et al., 2002). Acredita-se que os níveis reduzidos de OB-Re possam refletir a expressão reduzida das isoformas do receptor de leptina (OB-R) ancorados à membrana (SCHAAB et al., 2012) e a redução das concentrações de OB-Re possa servir como um indicador da absorção reduzida de leptina no cérebro (TU et al., 2008).

A geração do mRNA de OB-Re e da leptina é regulada em condições fisiológicas e fisiopatológicas. Em humanos, os níveis de OB-Re são inversamente relacionados com adiposidade (LAIMER et al., 2002; VAN DIELEN et al., 2002) e outros estados patológicos (HAMNVIK et al., 2011; MARTINS et al., 2012). Evidências apontam que os níveis de OB-Re são inversamente relacionados com o IMC, circunferência da cintura (CHAN et al., 2002) e com componentes da síndrome metabólica, tais como, pressão arterial sistólica/diastólica, insulina/glicose de jejum e triglicerídeos, por outro lado ele está positivamente associado com a idade, o colesterol total e lipoproteína de alta densidade (HDL) (INGELSSON et al., 2008).

Um estudo prospectivo analisou a relação entre os níveis séricos de leptina e OB-Re com parâmetros metabólicos em 91 homens jovens (18 anos de idade) e saudáveis, após um follow-up de 2 anos. Na análise prospectiva os níveis basais de OB-Re foram preditivos de glicemia de jejum, síndrome metabólica e medidas de adiposidade (HAMNVIK et al., 2011). Um estudo transversal avaliou na população brasileira a associação entre leptina e OB-Re com risco cardiometabólico em 173 indivíduos adultos e verificaram uma relação inversa entre os níveis de OB-Re e fatores de risco cardiometabólicos ($p \leq 0,006$) (MARTINS et al., 2012). Outro estudo analisou 419 indivíduos japoneses saudáveis (198 homens e 221 mulheres, IMC: $21,7 \pm 2,6 \text{ kg/m}^2$) e em 150 pacientes diabéticos tipo 2 (96 homens e 54 mulheres, IMC: $24,3 \pm 3,8 \text{ kg/m}^2$). Os autores verificaram que os níveis de OB-Re foram negativamente correlacionados com insulina de jejum, HOMA-IR, triglicerídeos e leptina e positivamente correlacionada com HDL e níveis plasmáticos de adiponectina em indivíduos saudáveis, mesmo após o ajuste para idade, sexo e IMC. Estes resultados sugerem que a OB-Re pode ser um dos fatores que influenciam a resistência à insulina e a resistência à leptina (OGAWA et al., 2004).

Portanto, diante do relatado é possível postular que OB-Re desempenha um papel significativo na determinação dos níveis de leptina total e leptina livre, bem como na atividade biológica da leptina (YANG et al., 2004).

2.7 Índice de leptina livre

O sistema leptina é constituído pela leptina plasmática, OB-Re e pelo índice de leptina livre (FLI, do inglês, *free leptin index*) (TRAYHURN, 1996). O receptor solúvel é a principal proteína de ligação da leptina na circulação humana e um dos determinantes do índice de leptina livre (CHAN et al., 2002). FLI corresponde à razão entre os níveis plasmáticos de leptina em relação aos níveis de OB-Re (CATLI et al., 2014; ZEPF et al., 2015).

Embora originalmente os níveis de leptina livre pudessem ser avaliados apenas pelo método de cromatografia de filtração em gel, Ogier et al. (2002) relataram que o quociente entre os níveis de leptina circulante pelos níveis de OB-Re (leptina/OB-Re) foi fortemente correlacionado com o percentual de gordura corporal e esta taxa foi denominada como índice de leptina livre. FLI é considerado o principal parâmetro para avaliar o eixo da leptina (ZEPF et al., 2015).

Existem diferenças nos valores de FLI entre homens e mulheres. O estudo de Ogawa et al. (2004) avaliou 419 japoneses saudáveis e 150 diabéticos tipo 2 e verificou que os níveis de FLI foram significativamente maiores em mulheres ($0,19 \pm 0,15$) do que em homens ($0,09 \pm 0,06$).

FLI difere também entre indivíduos magros e obesos. Um estudo realizado com crianças obesas e não obesas analisando a relação entre níveis de leptina e níveis de OB-Re com parâmetros metabólicos e clínicos verificou os níveis plasmáticos de leptina e o FLI foram significativamente maiores em crianças obesas ($p<0,001$) e que Ob-Re foi significativamente maior em crianças não-obesas ($p=0,028$) (CATLI et al., 2014). De acordo com Brabant et al. (2000) a porcentagem de gordura corporal é reconhecida como principal regulador dos níveis absolutos de leptina e da proporção entre a forma livre e a forma ligada. Além disso, o FLI aumenta com o IMC e é afetado pelos níveis totais de leptina.

O estudo de Houseknecht et al. (1996), realizado com animais, verificou que em ratos magros uma maior porcentagem de leptina encontra-se predominantemente na forma ligada a OB-Re, embora uma parte esteja livre. Já em animais obesos, os níveis de leptina no soro estavam elevados e uma maior quantidade de leptina foi encontrada na forma livre, isto é, apresentam um maior FLI (HOUSEKNECHT et al., 1996). Resultados semelhante foram

verificados em seres humanos no estudo realizado por Sinha et al. (1996) que analisou indivíduos obesos e não-obesos e encontraram uma proporção significativamente maior ($p<0,001$) de leptina total circulando sob a forma ligada em indivíduos não-obesos ($46,5 \pm 6,6\%$ ng/mL) do que em obesos ($21,4 \pm 3,4\%$ ng/mL), confirmando que indivíduos obesos apresentam maior FLI. Um aumento do FLI pode contribuir para o desenvolvimento de hiperinsulinemia e da resistência à insulina (CATLI et al., 2014).

O índice de leptina livre representa, portanto, um marcador da leptina livre, sendo um meio de caracterizar o equilíbrio entre a leptina e o OB-Re (KRATZSCH et al., 2002).

3. JUSTIFICATIVA

A crescente utilização do sistema de turnos na sociedade atual reforça a necessidade de melhor compreensão dos reflexos que esta forma de organização do trabalho pode ter na saúde dos trabalhadores. O trabalho em turnos é frequentemente associado à dessincronização circadiana, que pode afetar, sobretudo, a secreção de hormônios que regulam o consumo alimentar, dentre eles a leptina. Alterações na leptina pode criar um ambiente favorável para o desenvolvimento de distúrbios metabólicos como a obesidade.

Para compreender a ação da leptina é importante avaliar um subtipo específico de receptor, a isoforma solúvel (OB-Re), que está associada ao aumento da biodisponibilidade da leptina plasmática e à inibição da atividade desse hormônio, além de ser a principal proteína de ligação da leptina na circulação. OB-Re é essencial na mediação dos efeitos biológicos da leptina. Além do receptor solúvel, avaliar o índice de leptina livre permite uma melhor compreensão da ação da leptina em humanos e FLI pode ser utilizado para avaliar resistência à leptina que está associada com obesidade.

A partir deste estudo será possível uma melhor compreensão do sistema leptina, que é constituído pela leptina plasmática, OB-Re e FLI, em trabalhadores em turnos. Até o momento não há estudos avaliando OB-Re e FLI nesses trabalhadores. O conhecimento do padrão de secreção de OB-Re e o FLI permitirá compreender melhor a ação da leptina nesses indivíduos, de forma que as necessidades e os problemas nutricionais dos mesmos possam ser melhor entendidos.

4. HIPÓTESE DO ESTUDO

Há diferenças no perfil diário de secreção de receptores solúveis de leptina e no índice de leptina livre quando se comparam indivíduos que trabalham em turnos (matutinos e noturnos) e trabalhadores diurnos.

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo Geral

O objetivo deste estudo foi avaliar os perfis diários de secreção do receptor solúvel de leptina e do índice de leptina livre em trabalhadores em turnos e diurnos.

5.2 Objetivos Específicos

- Avaliar a concentração média em 24 horas de OB-Re e FLI em trabalhadores em turnos e diurnos.
- Avaliar o efeito do turno, do tempo e da interação entre turno e tempo sobre as concentrações de OB-Re e FLI.
- Verificar a duração total do sono dos trabalhadores em turnos e diurnos.
- Avaliar o nível de atividade física habitual dos trabalhadores em turnos e diurnos.

6. CASUÍSTICA E MÉTODOS

Este estudo transversal é um desdobramento de um projeto de pesquisa maior que originou uma tese de doutorado intitulada “Concentrações de leptina, grelina acilada e grelina não acilada em trabalhadores em turnos fixos” (CRISPIM, 2008). Outras abordagens metabólicas utilizando o mesmo desenho metodológico foram descritas em outros artigos (CRISPIM et al., 2011; CRISPIM et al., 2012; PADILHA et al., 2010).

6.1 Casuística

A pesquisa incluiu dois grupos de trabalhadores em turnos fixos (noturno e matutino) que trabalhavam em uma indústria de aço localizada na cidade de Diadema, no Estado de São Paulo, desempenhando a função de manobristas de empilhadeiras. Um outro grupo de indivíduos que trabalhavam em horário comercial (diurnos) e que tinha rotinas estabelecidas de trabalho, refeições e sono foi incluído no estudo. Pelo fato de não haver indivíduos que trabalhassem no turno diurno com a mesma exigência física e atividade dos grupos noturno e matutino na indústria de aço, os voluntários desse grupo foram selecionados em uma associação de pesquisa localizada no município de São Paulo. Este grupo deveria apresentar cargo, atividade profissional (serem manobristas) e nível de atividade física compatível ao grupo experimental, sendo este estimado de acordo com Baecke et al. (1982).

Os voluntários foram recrutados por meio de anúncios impressos veiculados na indústria de aço e na associação de pesquisa, sendo esses divulgados pelo serviço social da empresa sob autorização expressa da presidência da mesma. Todos os voluntários realizaram uma entrevista inicial em que foram informados do objetivo do projeto, bem como sobre todos os procedimentos que seriam realizados (avaliações, coletas de sangue e tempo despendido durante a participação do projeto).

Assim, participaram da pesquisa 22 voluntários, divididos nos seguintes grupos:

- **Grupo noturno (GN):** (9 indivíduos, que trabalhavam das 22:00h às 6:00h).
- **Grupo matutino (GM):** (6 indivíduos, que trabalhavam das 6:00h às 14:00h).
- **Grupo diurno (GD):** (7 indivíduos, que trabalhavam das 8:00h às 17:00h).

Foram incluídos no estudo:

- Homens com idade entre 20 e 35 anos;
- Sedentários;
- Indivíduos que não apresentavam patologias, de acordo com o exame periódico de saúde da empresa;
- Indivíduos que trabalhavam no mesmo horário há pelo menos 2 anos;
- Indivíduos que apresentavam horários regulares das refeições e do sono.

Foram excluídos do estudo:

- Tabagistas;
- Indivíduos que apresentaram variação importante na massa corporal nos últimos dois anos ($\pm 2\text{kg}$).

Este estudo foi devidamente aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade Federal de São Paulo/ Escola Paulista de Medicina (CEP 0591/07) (ANEXO 1). Todos os voluntários assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido como critério para inclusão no estudo (ANEXO 2).

6.2 Métodos

Os voluntários dos três grupos passaram pelas mesmas avaliações, as quais foram divididas em “Avaliações preliminares” e “Protocolo Experimental”, de acordo com a descrição a seguir.

6.2.1 Avaliações preliminares

6.2.1.1 Parâmetros antropométricos

Os parâmetros antropométricos avaliados nesse estudo foram: massa corporal, estatura, IMC, composição corporal e circunferência da cintura.

6.2.1.1.1 Massa corporal

As medidas foram aferidas na balança do equipamento *Bod Pod®* cuja precisão é de 0,001g. Os participantes foram orientados a ficarem de pé, descalços, vestindo o mínimo de roupa possível, com os braços esticados ao longo do corpo, olhar fixo no horizonte e evitando movimentos que pudessem atrapalhar as aferições (LOHMAN; ROCHE; MARTORREL, 1988).

6.2.1.1.2 Estatura

Este parâmetro foi mensurado por meio de um estadiômetro vertical cuja precisão é de 0,1 cm, da marca *Sanny* (American Medical do Brasil, São Paulo). O participante foi posicionado sobre a base do estadiômetro, com os braços pendentes ao longo do corpo, pés descalços posicionando um ao lado do outro. A região posterior dos calcanhares, a cintura pélvica e escapular e a região occipital deveriam tocar a escala de medida. Considerou-se como altura, o valor correspondente à distância entre a planta dos pés e o vértice do indivíduo apontado pelo cursor. No momento da aferição o participante deveria permanecer em apneia inspiratória e com a cabeça orientada no plano de Frankfurt paralelo ao solo (LOHMAN; ROCHE; MARTORREL, 1988).

6.2.1.1.3 Índice de Massa Corporal (IMC)

Após a aferição do peso e altura foi calculado o IMC dividindo-se o peso (Kg) pelo quadrado da altura do indivíduo (m^2). O IMC (Kg/m 2) de adultos é classificado segundo a Organização Mundial de Saúde (2000) em: baixo peso (<18,5 Kg/m 2), eutrófico (18,0 – 24,9 Kg/m 2), sobrepeso (25,0 – 29,4 Kg/m 2) e obeso (≥ 30 Kg/m 2).

6.2.1.1.4 Composição Corporal

Este parâmetro foi avaliado por meio da espessura das dobras cutâneas. Utilizou-se um adipômetro com precisão de 0,5 mm da marca *Lange Beta Technology Incorporated* (Cambridge, Maryland, EUA). As dobras avaliadas foram: tricipital, subescapular, axilar média, peitoral, abdominal, supra-ilíaca e coxa. Todas elas foram medidas do lado direito do corpo, em triplicata e posteriormente foi feito a média dos três resultados. Foi utilizado a

padronização de Jackson & Pollock (1985) para obtenção dos valores. Para efeito de estimativa da densidade corporal levou-se em consideração as equações específicas para os gêneros deste mesmo autor. O percentual de gordura foi estimado pela equação de Siri (1961).

6.2.1.1.5 Circunferência da cintura

Para a medida da circunferência da cintura foi utilizada uma fita antropométrica inelástica de fibra de vidro (Sanny) com precisão de 0,1 cm. As medidas de circunferência da cintura foram aferidas com o indivíduo ereto, com os braços ao longo do corpo e abdome relaxado, no ponto médio entre a crista ilíaca e o último arco costal, em duplicata, de acordo com Heyward & Stolarczyk (2000). A medida final adotada foi a média dos dois valores obtidos.

6.2.1.2 Atividade física habitual

O nível de atividade física habitual foi avaliado por meio do questionário de Baecke et al. (1982). É um instrumento composto por 21 questões (ANEXO 3) que avalia a atividade física ocupacional, exercícios físicos no lazer e atividades físicas de lazer e locomoção.

6.2.1.3 Avaliação do sono

A duração total do sono foi obtida por meio do diário do sono de sete dias (ANDRADE, 1991) que consiste em um registro auto-preenchido pelos voluntários do estudo (ANEXO 4). Foi calculado a média aritmética dos sete dias de registro.

6.2.2 Protocolo experimental

Este experimento foi planejado de modo a manter a ingestão energética e os níveis de atividade de acordo com os padrões habituais dos voluntários ao longo do período de realização do estudo. O objetivo deste foi simular uma condição real de vida dos voluntários, buscando-se entender o papel do horário do trabalho nas concentrações dos receptores solúveis de leptina e no índice de leptina livre, parâmetros importantes para se compreender a dinâmica da leptina, hormônio relacionado com o controle da ingestão alimentar e outras funções fisiológicas importantes. Muitos estudos da área de ritmos biológicos estabelecem

dietas padronizadas, nutrição enteral ou parenteral para os voluntários durante o protocolo experimental, o que pode alterar o perfil metabólico do indivíduo em relação ao consumo alimentar habitual. Por este motivo, este estudo realizou as análises no próprio ambiente de trabalho, mantendo todos os hábitos do cotidiano dos indivíduos analisados, inclusive os alimentares.

Para que o trabalhador fosse incluído no protocolo experimental, ele deveria estar no terceiro ou quarto dia do turno, após o último dia de descanso. Na semana anterior a esta etapa, os participantes foram orientados a não alterar sua rotina habitual de sono, alimentação e atividade física.

O protocolo experimental foi realizado em um período de 24 horas, sendo que o início ocorreu na empresa durante o período de trabalho (6:00 às 14:00h para o GM, 22:00h às 6:00h para o GN e 8:00h às 17:00h para o GD). Após o expediente de trabalho, os participantes do estudo foram conduzidos para o Instituto do Sono da Associação Fundo de Incentivo à Psicofarmacologia (AFIP), por meio de um automóvel providenciado pela equipe de pesquisa, possibilitando assim a realização das demais avaliações.

No Instituto do Sono, cada participante foi mantido em um quarto privativo, onde poderiam descansar, realizar as refeições, usar o telefone, ler ou jogar videogame. Já atividades físicas vigorosas não foram permitidas. Foram respeitados os horários habituais de sono dos voluntários previamente relatados pelos mesmos (GD: 24:00h às 6:00h; GM: 22:00h às 4:00h; GN: 8:00h às 14:00h). Os indivíduos permaneceram nos leitos nestes períodos.

Durante o período que permaneceram na empresa, a rotina alimentar dos participantes não foi alterada, ou seja, as refeições consumidas foram as mesmas servidas na empresa habitualmente. Já no laboratório do Instituto do Sono, a equipe executora do trabalho providenciou as refeições, sendo que estas foram preparadas com alimentos habitualmente consumidos pelos voluntários, conforme relatado anteriormente no registro alimentar de sete dias. Os horários das refeições também seguiu o que foi referido no registro alimentar, com o intuito de não modificar a rotina alimentar habitual. Todos os participantes foram orientados e supervisionados para que não alterassem a quantidade habitual de alimentos consumida. Os horários das refeições foram em média: GD – 7:30h, 12:30h, 17:00h e 20:30h; GM – 6:00h, 11:00h, 15:30h e 19:00h; GN – 15:00h, 20:00h, 1:30h e 6:00h.

Ao término do período de 24 horas, após a conclusão de todas as avaliações, os indivíduos foram conduzidos ao local de sua escolha que poderia ser a residência, caso estivessem de folga, ou a empresa, caso tivessem que trabalhar. As avaliações realizadas durante o protocolo experimental estão detalhadas a seguir.

6.2.2.1 Coletas de sangue

Cada participante teve amostras de sangue coletadas a cada quatro horas durante as 24 horas do estudo, totalizando então 6 amostras (8:00h; 12:00h; 16:00h; 20:00h; 24:00h; 4:00h). Estas foram usadas nas análises bioquímicas de leptina e OB-Re.

Na empresa, os voluntários eram chamados pelo pesquisador para que comparecessem à enfermaria, onde uma pessoa devidamente treinada pela equipe de pesquisa efetuava a coleta de sangue.

No laboratório do Instituto do Sono, os indivíduos permaneceram com um cateter intravenoso periférico com adaptador em Y da marca Saf-T-IntimaTM para facilitar as coletas de sangue. Durante o sono, uma enfermeira entrava no quarto para efetuar a coleta, sem atrapalhar o sono dos voluntários e um abajur com uma luz fraca foi utilizado durante as coletas.

No total foi coletado de cada participante um volume máximo de 210 mL durante as 24 horas (6 amostras de 35mL). De acordo com Simon et al. (1994), esse volume coletado não produz mudanças significativas no hematócrito do indivíduo. As amostras de sangue foram armazenadas em tubos contendo EDTA. O plasma foi dividido em alíquotas e mantido congelado a temperatura de -80°C.

6.2.2.2 Análises sanguíneas

As concentrações de leptina e OB-Re foram determinados por meio da técnica de ensaio imuno-enzimático, utilizando-se kits comerciais de ELISA (Phoenix Pharmaceuticals, Inc. Califórnia, EUA), seguindo as devidas recomendações dos fabricantes. O ensaio imuno-enzimático é uma ferramenta para detectar peptídeos específicos baseado no princípio da competitividade enzimática.

Para as dosagens de leptina as placas apresentaram-se previamente revestidas com um anticorpo de captura humano e com os sítios de ligação não específicos bloqueados. A proteína da amostra ou da solução padrão se uniu ao anticorpo de captura nos poços. Após os procedimentos de lavagem o biotinilado foi adicionado. Após nova lavagem a AS-HRP catalisou o substrato. A reação enzima-substrato foi cessada por meio da adição da solução de interrupção. A intensidade da cor é diretamente proporcional à quantidade do peptídeo da amostra ou da solução padrão. Uma curva padrão de concentração conhecida foi estabelecida.

As concentrações desconhecidas das amostras foram então determinadas por extração da curva padrão. A sensibilidade dos kits foi de 0,5 ng/mL para leptina.

A dosagem das concentrações de OB-Re no plasma foram realizadas com kits de Ensaio Imunoenzimático (ELISA) seguindo as recomendações do fabricante (Phoenix Pharmaceuticals®, Burlingame, CA, Estados Unidos). As amostras de plasma foram diluídas (1:2) com o tampão específico do kit. As placas foram incubadas a 37 °C por 90 minutos e a seguir foram realizadas 3 lavagens. A seguir, as placas foram incubadas a 37°C por 30 minutos com anticorpo monoclonal marcado com peroxidase. Após os novos procedimentos de lavagem, as placas foram incubadas a 37°C no escuro por 15 minutos com Tetra-metilbenzidina (TMB). A seguir, 100 µL de solução de interrupção foi adicionada em cada well e a leitura da absorbância foi realizada a 450 nm. A intensidade da cor é diretamente proporcional à concentração de OB-Re na amostra. As concentrações das amostras foram então determinadas por extração da curva padrão.

6.2.3 Cálculo do FLI

O FLI foi calculado pela fórmula: $FLI = \frac{\text{concentração de leptina (ng/mL)}}{\text{concentrações de OB-Re (ng/mL)}}$ (ROSZKOWSKA-GANCARZ et al., 2015; WONG et al., 2004).

6.2.4 Análise estatística

Inicialmente foi realizada a análise da normalidade dos dados utilizando o teste Komolgorov-Smirnov. Em seguida, foi realizada uma análise descritiva para a determinação das médias e dos erros-padrão ($\pm EP$). Nas análises de OB-Re e FLI, foram calculadas as médias ($\pm EP$) dos seis pontos coletados durante o período de 24 horas. A ANOVA *one-way* foi utilizada para comparar as características dos indivíduos e o teste de *post-hoc* de Tukey foi utilizado para verificar as diferenças significativas. A *Mixed-model* ANOVA foi construída para verificar as modificações nos níveis de OB-Re e FLI durante as 24 horas nos diferentes grupos (*random-effect term*, grupo; *fixed-effect term*, tempo; *fixed-effect term*, medidas repetidas). O teste tipo III de efeitos fixos foi realizado para verificar a significância de qualquer efeito sobre OB-Re e FLI. Foi realizada análise *pos hoc* com correção de Bonferroni para encontrar diferenças significativas. A análise estatística foi realizada usando o software SPSS 23 e foram considerados significativos valores com $p\text{-value} \leq 0,05$.

7. RESULTADOS

A caracterização dos voluntários do estudo de acordo com os turnos de trabalho (GM, GN e GD) é apresentada na tabela 1. Não foram verificadas diferenças entre os grupos em relação à idade, tempo de trabalho em turnos, nível de atividade física e variáveis antropométricas quando os três turnos de trabalho foram comparados ($p>0,05$). Os grupos diferiram apenas em relação a duração habitual do sono ($p=0,05$), que foi maior para o GM.

Tabela 1 - Idade, tempo de trabalho em turnos, variáveis antropométricas, duração do sono e nível de atividade física dos trabalhadores em turnos (GM e GN) e diurnos (GD)

	GD (n = 7)		GM (n = 6)		GN (n = 9)		p*
	Média	EP	Média	EP	Média	EP	
Idade (anos)	26,7	2,6	31,8	1,5	30,1	1,4	0,20
Tempo de trabalho em turnos (anos)	2,9	1,1	3,7	0,58	4,2	0,8	0,45
Estatura (metros)	1,7	0,02	1,7	0,03	1,8	0,02	0,54
Massa corporal (kg)	82,6	3,9	79,8	3,9	80,4	4,0	0,07
Índice de Massa Corporal (kg/m ²)	27,2	1,0	27,6	1,16	26,1	1,4	0,20
Massa gorda (%)	22,4	1,9	21,7	2,2	21,3	2,6	0,21
Circunferência da cintura (cm)	91,4	2,9	92,7	3,2	89,5	3,2	0,07
Duração total do sono (min)	341,8 ^b	17,6	413,2 ^a	16,4	350,9 ^b	20,5	0,05
Nível de atividade física	2,7	0,4	2,8	0,4	2,8	0,3	0,86

Nota: Valores expressos em média (\pm EP). Valores com diferentes letras sobrescritas são significativamente diferentes ($a \neq b$); $p \leq 0,05$. *Diferenças entre os turnos foram calculadas com o uso da ANOVA e teste *post-hoc de Tukey*.

A tabela 2 apresenta as concentrações médias em 24 horas de OB-Re e FLI médio para os três grupos estudados. Não foram observadas diferenças significativas nesses parâmetros quando os turnos de trabalho foram comparados ($p>0,05$).

Tabela 2 - Média em 24 horas das concentrações plasmáticas de OB-Re e do FLI dos trabalhadores em turnos (GM e GN) e diurnos (GD)

	GD (n = 7)		GM (n = 6)		GN (n = 9)		p*
	Média	EP	Média	EP	Média	EP	
Receptor solúvel de leptina (OB-Re)							
Valor médio em 24 horas, ng/mL	23,2	2,3	18,4	0,98	19,4	1,8	0,21
Índice de leptina livre- FLI							
Valor médio em 24 horas	0,16	0,09	0,25	0,07	0,24	0,06	0,64

Nota: Valores expressos em média (\pm EP). *Calculado com o uso da ANOVA.

A ANOVA *Mixed-model* (Tabela 3) indicou um efeito significativo do turno de trabalho sobre as concentrações de OB-Re

Tabela 3 - Testes tipo III dos efeitos fixos do receptor solúvel de leptina (OB-Re) e índice de leptina livre (FLI)

Variável	Efeito	GL Numerador	GL Denominador	F	p*
Ob-Re	Tempo	5	33,32	0,66	0,65
	Turno	2	105,87	8,45	<0,005
	Turno x tempo	10	33,32	0,29	0,97
FLI	Tempo	5	31,01	2,18	0,08
	Turno	2	76,25	2,23	0,11
	Turno x tempo	10	31,01	0,70	0,71

Nota: *p values calculado pela ANOVA *Mixed-model*. GL=Graus de liberdade.

A comparação *post hoc* com correção de Bonferroni (Tabela 4) foi realizada para o fator turno e mostrou que os trabalhadores diurnos apresentavam níveis mais elevados de OB-Re do que o GM (diferença média \pm EP = $4,74 \pm 1,26$; GL = 105,87; p=0,001) e o GN (diferença média \pm EP = $3,80 \pm 1,14$; GL = 105,87; p=0,004). Não foram observados efeitos do tempo (p=0,65) ou da interação entre turno x tempo (p=0,97) nas concentrações de OB-Re.

Não foi observado efeito significante do tempo (p=0,08), turno (p=0,11) e interação turno x tempo (p=0,71) para os valores de FLI.

Tabela 4 - Comparação *post hoc* para o fator turno do receptor solúvel de leptina (OB-Re)

(I) Turno	(J)Turno	Diferença Média (I-J)	EP	GL	p	95% Intervalo de Confiança para a diferença	
						Limite Inferior	Limite Superior
GD	GM	4,774*	1,263	105,868	0,001	1,701	7,847
	GN	3,800*	1,144	105,868	0,004	1,016	6,583
GM	GD	-4,774*	1,263	105,868	0,001	-7,847	-1,701
	GN	-0,974	1,197	105,868	1,000	-3,885	1,937
GN	GD	-3,800*	1,144	105,868	0,004	-6,583	-1,016
	GM	0,974	1,197	105,868	1,000	-1,937	3,885

Nota: *p calculado pela ANOVA Mixed-model. Comparação *post hoc* para o fator turno: GD tiveram maiores níveis de OB-Re do que o GM (diferença média ± EP [erro padrão] = 4,74 ± 1,26; GL (graus de liberdade) = 105,87; p=0,001) e GN (diferença média ± EP = 3,80 ± 1,14; GL = 105,87; p=0,004).

Os perfis diários das concentrações médias de OB-Re e dos valores de FLI nos seis pontos analisados (8:00h, 12:00h, 16:00h, 20:00h, 24:00h e 4:00h) para trabalhadores em turnos (GM e GN) e diurnos (GD) são apresentados na figura 7.

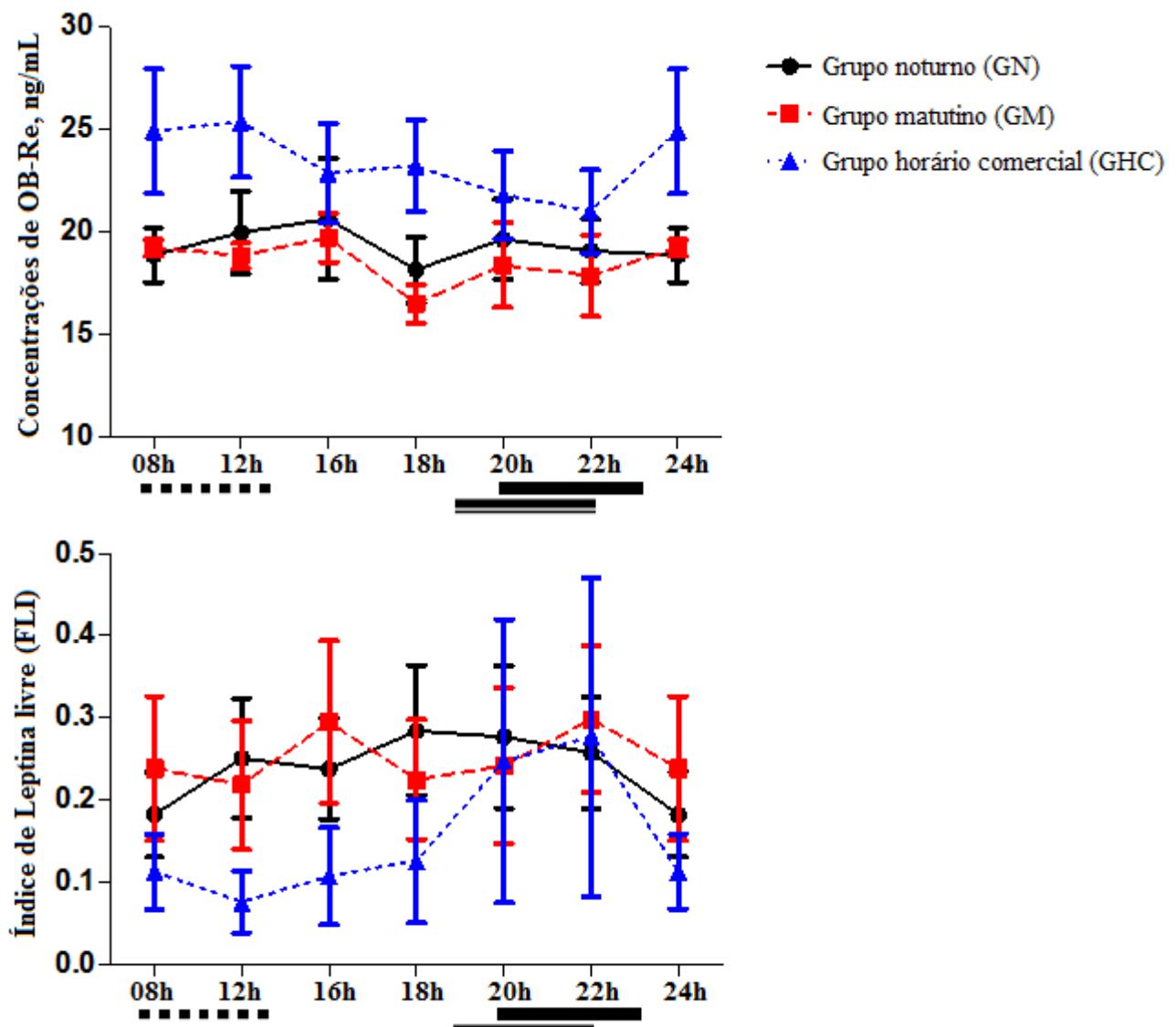


Figura 7: Média (\pm EP) das concentrações de OB-Re e do FLI nos seis pontos de avaliação em trabalhadores em turnos (GN e GM) e diurnos (GD) e os respectivos horários de sono para cada grupo.

- Horário do sono do GM
- Horário do sono do GN
- Horário do sono do GHC

8. DISCUSSÃO

Este estudo avaliou as concentrações médias de OB-Re e FLI em trabalhadores em turnos (GM e GN) e diurnos (GD). Ao realizar a ANOVA *Mixed model* foi encontrado um efeito significativo do turno sobre as concentrações de OB-Re, com o GD apresentando níveis mais elevados do receptor em relação ao GM ($p=0,001$) e GN ($p=0,004$). Estes resultados sugerem que a liberação de OB-Re pode ser influenciada pelo turno de trabalho. Dessa maneira, torna-se importante elucidar se esses resultados podem contribuir para a alta prevalência de distúrbios metabólicos encontrados entre trabalhadores em turnos (AXELSSON; PUTTONEN, 2012; GUO et al., 2015).

Neste estudo verificamos que as concentrações médias em 24 horas de OB-Re e FLI não diferiram significativamente entre os grupos (Tabela 2). Apesar disso, é importante se atentar aos níveis médios de OB-Re e FLI, uma vez que evidências têm apontado que pode haver aumento ou redução nos níveis de OB-Re e FLI de acordo com a situação metabólica do indivíduo. A obesidade, por exemplo, está associada a uma redução significativa dos níveis de OB-Re e um aumento no FLI (VAN DIELEN et al., 2002). Em resumo, é possível inferir que níveis ótimos de OB-Re e FLI são importantes para a homeostase energética.

Este foi o primeiro estudo que encontrou um efeito significativo do turno de trabalho sobre as concentrações de OB-Re (Tabelas 3 e 4), mostrando um perfil de secreção distinto (Figura 7) para trabalhadores em turnos (indivíduos usualmente dessincronizados) em comparação com indivíduos que trabalham em horários regulares (possuem um ritmo biológico mais ajustado). Shea et al. (2005) enfatizam que fatores comportamentais externos – tais como o ciclo sono/vigília e a ingestão alimentar - poderiam exercer um efeito importante sobre as concentrações de OB-Re ao longo do dia. Assim, o diferente padrão de secreção de OB-Re entre trabalhadores em turnos poderia ser resultado da influência de fatores comportamentais, que são frequentemente alterados pelo trabalho em turnos, explicando assim o efeito significativo do turno sobre a secreção de OB-Re. Esse perfil diferenciado de secreção de OB-Re verificado entre trabalhadores em turnos poderia, por exemplo, ser induzido por alterações no ciclo sono/vigília e ingestão alimentar, o que poderia influenciar o apetite, a ingestão alimentar e o balanço energético nessas populações, tendo implicações importantes no aumento da obesidade, diabetes e doenças cardiovasculares nesses trabalhadores (LAJOIE et al., 2015; PAN et al., 2011; PEPLONSKA; BUKOWSKA; SOBALA, 2015).

A manutenção de um perfil de secreção de OB-Re é importante na modulação da ação da leptina, uma vez que a ação da leptina sobre o sistema nervoso central é relevante para a regulação fisiológica da ingestão alimentar, balanço energético e função neuroendócrina (WONG et al., 2004). O receptor OB-Re pode desempenhar um papel significativo na determinação dos níveis de leptina total e leptina livre, bem como na atividade biológica da leptina. Então, é possível postular que alterações no perfil diário desse receptor poderiam afetar as funções desempenhadas pela leptina em trabalhadores em turnos (SCHAAB et al., 2012; TU et al., 2008).

Uma grande fração de leptina circula no plasma sob a forma de um complexo leptina-OB-Re, que é formado por meio de ligações dissulfeto/sulfidrilo (HOUSEKNECHT et al., 1996). A formação desse complexo permite aumentar a meia-vida da leptina e modular sua ação nas células alvo (YANG et al., 2004). A leptina, por apresentar um peso molecular de apenas 16 kDa, pode ser mais rapidamente eliminada ou metabolizada do que a leptina ligada a uma proteína de ligação que resulta em um complexo de 300 kDa (CHAN et al., 2002). Assim, verificamos que uma importante função do OB-Re é atrasar o depuramento de leptina da circulação e, consequentemente, aumentar a sua biodisponibilidade (HOUSEKNECHT et al., 1996; HUANG; WANG; LI, 2001; SINHA et al., 1996).

Além disso, OB-Re pode competir diretamente com os receptores de membrana pelo ligante (HUANG; WANG; LI, 2001). Quando a leptina está ligada ao seu receptor solúvel, o complexo OB-Re-leptina não é capaz de ativar o receptor OB-Rb (YANG et al., 2004). Ao comparar a capacidade de uma quantidade fixa de leptina ativar OB-Rb, verifica-se que a transdução do sinal de OB-Rb estimulada por leptina é reduzida na presença do receptor solúvel. Isso sugere que OB-Re “sequestra” a leptina, evitando assim a ligação ao seu receptor de sinalização OB-Rb e, com isso, tal hormônio fica temporariamente “inativo” (GE et al., 2002; YANG et al., 2004). Essa regulação dos níveis de leptina livre é importante na modulação da ação da leptina nas células alvo.

A leptina, hormônio polipeptídeo secretado pelos adipócitos em proporção ao seu teor de triglicerídeos, informa mudanças nas reservas de gordura corporal para que ocorra as devidas respostas adaptativas no controle central do balanço energético (PARK; AHIMA, 2015; SCHWARTZ et al., 2000). Ao ligar-se e ativar a forma longa do seu receptor (OB-Rb) no cérebro, a leptina reduz a ingestão alimentar enquanto aumenta o gasto energético (WADA et al., 2014). Portanto, é necessária a ação da leptina para que as reservas de energia sejam detectadas pelo SNC, fato essencial para homeostase energética, reprodução, etc. (MYERS et al., 2010). Alterações nos níveis diários de leptina circulante desempenham um papel

importante na patogênese da obesidade e síndrome metabólica (CHAPUT et al., 2007; ROSENBAUM et al., 2002; SPIEGEL et al., 2004) e pode contribuir para consequências cardiovasculares adversas (MARTINS et al., 2012).

Trabalhadores diurnos são indivíduos que trabalham em horário comercial e, teoricamente, são “menos” dessincronizados quando comparados às pessoas submetidas à escala de turnos (LAJOIE et al., 2015; RAMIN et al., 2015). A população de trabalhadores em turnos frequentemente apresenta alterações no ciclo sono/vigília e no comportamento alimentar (BUXTON et al., 2012; CHAPUT et al., 2007; SPIEGEL et al., 2004), que podem culminar na dessincronização entre os sinais ambientais e o ritmo circadiano endógeno. Sabe-se que os processos biológicos mantêm um ritmo diário que é mediado por um sincronismo entre sinais ambientais e o relógio circadiano interno, que contribui para manutenção da homeostase metabólica (BASS; TAKAHASHI, 2010; KUMAR JHA; CHALLET; KALSBEK, 2015). Portanto, podemos inferir que o diferente perfil de secreção de OB-Re verificado nos grupos de trabalhadores em turnos (GM e GN) pode ser reflexo desse estilo de vida dessincronizado. Em situações em que o comportamento e o sistema circadiano ficam desalinhados, mudanças na biodisponibilidade da leptina podem ocorrer, criando um ambiente favorável para o desenvolvimento de distúrbios metabólicos (SHEA et al., 2005).

Até o ano de 2002 pouco se sabia sobre o perfil diário de secreção de OB-Re, uma vez que os estudos não avaliavam diretamente esse receptor. Foi nesse ano que Chan et al. (2002) avaliaram as concentrações de OB-Re a cada 15 minutos, durante 24 horas, em seis jovens magros (idade média $20,3 \pm 0,6$ anos e IMC $22,8 \pm 0,9$ kg/m²) do sexo masculino, saudáveis, sem transtornos no ciclo sono-vigília e verificaram um ritmo circadiano para OB-Re, indicando que existia uma variação diurna nos níveis de OB-Re. Em concordância com os resultados de Chan et al. (2002), os resultados de Wardlaw et al. (2014) também verificaram uma variação nos níveis de OB-Re ao longo de 24 horas ($p=0,003$) ao analisar um grupo de oito indivíduos saudáveis (5 homens e 3 mulheres), com idade média de 34,5 anos e IMC médio de 27,8 Kg/m². Os nossos resultados diferem desses dois estudos citados, uma vez que não observamos um efeito do fator tempo sobre os níveis de OB-Re em trabalhadores em turnos e diurnos.

Em oposição aos resultados de Chan et al. (2002) e Wardlaw et al. (2014) e de acordo com nossos achados, Shea et al. (2005) não verificaram um ritmo circadiano significativo sobre as concentrações de OB-Re. O objetivo do estudo de Shea et al. (2005) foi avaliar a contribuição dos fatores circadianos endógenos e dos fatores comportamentais nas concentrações circulantes de adipocinas em seis indivíduos do sexo masculino, saudáveis

(idade média: 30,7 anos; IMC médio: 25,2 kg/m²) que foram mantidos em laboratório e submetidos a um protocolo de dessincronização/ressincronização circadiana. Diante das divergências encontradas na literatura acerca do padrão diário de secreção de OB-Re e dos seus possíveis fatores influenciadores é fundamental a realização de mais estudos com essa temática.

Sabe que as alterações no horário de sono/vigília podem levar a um aumento no FLI, forma fisiologicamente ativa da leptina, o que pode influenciar a ingestão alimentar e balanço energético ocasionando aumento da obesidade e doenças cardiovasculares na população de trabalhadores em turnos. Mudanças no ritmo sono-vigília que ocorrem em trabalhadores em turnos poderiam induzir um maior nível de leptina livre, influenciando a ingestão alimentar e o balanço energético (SHEA et al., 2005). No entanto, no presente estudo não foram encontrados efeitos do tempo, do turno e interação tempo x turno sobre as medidas do FLI entre os grupos estudados. A ausência de resultados significantes na análise do FLI nos três grupos do presente estudo pode ter ocorrido devido ao baixo tamanho amostral e porque analisamos apenas indivíduos saudáveis e não obesos.

Indivíduos obesos apresentam elevados valores de FLI, resultantes da alta liberação de leptina pelos adipócitos, uma vez que os níveis de leptina total são proporcionais à massa gorda e também devido à resistência à leptina (MYERS et al., 2010). Além do aumento de leptina total, em obesos acontece também redução nos níveis de OB-Re como parte de um mecanismo que visa reduzir o aumento da leptina total (VAN DIELEN et al., 2002), na tentativa de normalizar a homeostase energética. Van Dielen et al. (2002) analisaram a razão molar de leptina e OB-Re no plasma de indivíduos magros e obesos. Os autores verificaram que a proporção molar de leptina livre e Ob-Re foi de 1:1 em pessoas magras. Por outro lado, nos indivíduos com obesidade mórbida foi verificado uma proporção de 25:1, confirmando assim o elevado FLI em indivíduos obesos.

No presente estudo verificamos um diferente padrão de secreção de OB-Re nos trabalhadores em turnos, porém isso não se refletiu, como seria esperado, em um diferente perfil de FLI nesses trabalhadores, já que o OB-Re é um dos determinantes do FLI. Porém, a possível influência do turno de trabalho sobre a secreção de OB-Re pode ser um sinal de que alterações no sistema leptina já poderiam ter sido iniciadas nesses trabalhadores, o que poderia predispor esses indivíduos a alterações metabólicas. De qualquer maneira, essa possibilidade deve ser confirmada por estudos futuros.

O nosso estudo avaliou, pela primeira vez, as variações nas concentrações médias de OB-Re e FLI em trabalhadores em turnos e diurnos. Os resultados obtidos apresentam

evidências consistentes de que existem diferenças determinadas pelo turno de trabalho sobre os perfis diários de OB-Re, a isoforma do receptor de leptina capaz de regular a biodisponibilidade desse importante hormônio que regula a ingestão alimentar, entre indivíduos que trabalham em turnos e diurnos.

Portanto, os resultados do presente estudo sugerem que a ação da leptina pode ser influenciada pelo turno de trabalho. Estudos adicionais são necessários para elucidar se estes resultados podem contribuir para a elevada prevalência de distúrbios metabólicos comumente verificados nesses trabalhadores (AXELSSON; PUTTONEN, 2012; GUO et al., 2015; PEPLONSKA; BUKOWSKA; SOBALA, 2015).

9. CONCLUSÕES

Os resultados desse estudo nos permite concluir que:

- A concentração média em 24 horas de OB-Re e FLI foi semelhante entre os três turnos de trabalho.
- Foi encontrado um efeito do turno sobre as concentrações de OB-Re ao longo das 24h, com maiores valores no grupo GD em relação ao GM e GN.
- Não foram encontrados efeitos do tempo ou da interação tempo x turno sobre as concentrações de OB-Re.
- Não foram encontrados efeitos do tempo, turno ou interação tempo x turno nas medidas do FLI.

Esses resultados são fundamentais para compreender melhor a ação da leptina em trabalhadores em turnos. O diferente perfil de secreção de OB-Re verificado nos grupos de trabalhadores em turnos (GM e GN) pode ser reflexo do estilo de vida dessincronizado. Neste cenário, nós sugerimos que mudanças na biodisponibilidade da leptina podem ocorrer interferindo na homeostase metabólica. Portanto, é importante se atentar ao sistema leptina em trabalhadores em turnos.

É importante se concentrar em melhorar a duração do sono e estratégias de realinhamento do ritmo circadiano com a intenção de minimizar a dessincronização dos osciladores circadianos a nível central e periférico. Além disso, encontrar melhores práticas alimentares, de estilo de vida e rotina para atenuar as respostas fisiológicas indesejáveis.

Pesquisas futuras poderiam ser direcionadas também no sentido de encontrar um modelo mais eficiente de trabalho em turnos que minimizasse seus efeitos na saúde dos trabalhadores.

Mais estudos, empregando amostras maiores, indivíduos com uma faixa etária mais ampla e de ambos os sexos, e separar efeitos devido à alterações nos padrões de sono e ingestão alimentar, são necessários.

10. LIMITAÇÕES DO ESTUDO

Este estudo apresentou algumas limitações:

- Foram incluídos apenas homens, jovens e saudáveis por um período único de 24 horas.
- Trata-se de um estudo transversal, que não permite estabelecer relação de causa/efeito entre trabalho em turno e alteração no perfil diário de OB-Re.
- As coletas de sangue para dosagens de leptina e OB-Re foram realizadas de 6/6 horas durante 24 horas. Intervalos menores entre as coletas permitiria conhecer melhor os períodos de pico e nadir de OB-Re ao longo de 24 horas.

REFERÊNCIAS

- AHIMA, R. S. et al. Role of leptin in the neuroendocrine response to fasting. **Nature**, New York, v. 382, n. 6588, p. 250–252, 18 jul. 1996.
- AKERSTEDT, T. Shift work and disturbed sleep/wakefulness. **Occupational Medicine**, Oxford, v. 53, n. 2, p. 89–94, mar. 2003.
- ANDRADE, M. M. M. **Ciclo vigília-sono de adolescentes: um estudo longitudinal**. 1991. 119 f. Dissertação (Mestrado em Fisiologia) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1991.
- ANOTHAISINTAWEE, T. et al. Sleep disturbances compared to traditional risk factors for diabetes development: Systematic review and meta-analysis. **Sleep Medicine Reviews**, London, v. 30, p. 11–24, 21 out. 2015.
- ANTUNES, L. C. et al. Obesity and shift work: chronobiological aspects. **Nutrition Research Reviews**, London, v. 23, n. 1, p. 155–168, jun. 2010.
- ARCH, J. R. S. Central regulation of energy balance: inputs, outputs and leptin resistance. **The Proceedings of the Nutrition Society**, London, v. 64, n. 1, p. 39–46, fev. 2005.
- AXELSSON, J.; PUTTONEN, S. Night shift work increases the risk for type 2 diabetes. **Evidence-Based Medicine**, Ireland, v. 17, n. 6, p. 193–194, dez. 2012.
- BACQUER, D. D. et al. Rotating shift work and the metabolic syndrome: a prospective study. **International Journal of Epidemiology**, London, v. 38, n. 3, p. 848–854, 1 jun. 2009.
- BAECKE, J. A.; BUREMA, J.; FRIJTERS, J. E. A short questionnaire for the measurement of habitual physical activity in epidemiological studies. **The American Journal of Clinical Nutrition**, Iowa City, v. 36, n. 5, p. 936–942, nov. 1982.
- BAILEY, S. M.; UDOH, U. S.; YOUNG, M. E. Circadian regulation of metabolism. **The Journal of Endocrinology**, Bristol, v. 222, n. 2, p. R75–96, ago. 2014.
- BANKS, W. A. et al. Leptin enters the brain by a saturable system independent of insulin. **Peptides**, New York, v. 17, n. 2, p. 305–311, 1996.
- BARBADORO, P. et al. Rotating shift-work as an independent risk factor for overweight Italian workers: a cross-sectional study. **PloS One**, San Francisco, v. 8, n. 5, p. e63289, 2013.
- BASS, J.; TAKAHASHI, J. S. Circadian integration of metabolism and energetics. **Science**, New York, v. 330, n. 6009, p. 1349–1354, 3 dez. 2010.
- BJØRBAEK, C. et al. Divergent signaling capacities of the long and short isoforms of the leptin receptor. **The Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v. 272, n. 51, p. 32686–32695, 19 dez. 1997.

- BLÜHER, M. Adipose tissue dysfunction in obesity. **Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes**: Official Journal, German Society of Endocrinology and German Diabetes Association, Heidelberg, v. 117, n. 6, p. 241–250, jun. 2009.
- BLÜHER, M. Adipokines - removing road blocks to obesity and diabetes therapy. **Molecular Metabolism**, München, v. 3, n. 3, p. 230–240, jun. 2014.
- BLÜHER, M.; MANTZOROS, C. S. From leptin to other adipokines in health and disease: facts and expectations at the beginning of the 21st century. **Metabolism: Clinical and Experimental**, Duluth, v. 64, n. 1, p. 131–145, jan. 2015.
- BRABANT, G. et al. Free and protein bound leptin are distinct and independently controlled factors in energy regulation. **Diabetologia**, Berlim, v. 43, n. 4, p. 438–442, 1 abr. 2000.
- BRUM, M. C. B. et al. Shift work and its association with metabolic disorders. **Diabetology & Metabolic Syndrome**, London, v. 7, 17 maio 2015.
- BUXTON, O. M. et al. Adverse metabolic consequences in humans of prolonged sleep restriction combined with circadian disruption. **Science Translational Medicine**, Washington, v. 4, n. 129, p. 129ra43, 11 abr. 2012.
- CALLAWAY, C. W., et al. “Circunferences”. In Lohman, T. G.; Roche, A. F.; Martorrel, R. **Anthropometrics standardization reference manual**. Champaign: Human Knectis Books, p 39-54, 1988.
- CATALÁN, V. et al. Adipokines in the treatment of diabetes mellitus and obesity. **Expert Opinion on Pharmacotherapy**, v. 10, n. 2, p. 239–254, fev. 2009.
- CATLI, G. et al. The relation of leptin and soluble leptin receptor levels with metabolic and clinical parameters in obese and healthy children. **Peptides**, New York, v. 56, p. 72–76, jun. 2014.
- CEDERNAES, J. et al. Acute Sleep Loss Induces Tissue-Specific Epigenetic and Transcriptional Alterations to Circadian Clock Genes in Men. **The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, Springfield, v. 100, n. 9, p. E1255–1261, set. 2015.
- CHAN, J. L. et al. Regulation of circulating soluble leptin receptor levels by gender, adiposity, sex steroids, and leptin: observational and interventional studies in humans. **Diabetes**, New York, v. 51, n. 7, p. 2105–2112, jul. 2002.
- CHAN, J. L. et al. The role of falling leptin levels in the neuroendocrine and metabolic adaptation to short-term starvation in healthy men. **The Journal of Clinical Investigation**, New York, v. 111, n. 9, p. 1409–1421, maio 2003.
- CHAPUT, J.-P. et al. Short sleep duration is associated with reduced leptin levels and increased adiposity: Results from the Quebec family study. **Obesity**, Silver Spring, v. 15, n. 1, p. 253–261, jan. 2007.

- CHEN, J. D.; LIN, Y. C.; HSIAO, S. T. Obesity and high blood pressure of 12-hour night shift female clean-room workers. **Chronobiology International**, Oxford, v. 27, n. 2, p. 334–344, jan. 2010.
- CINTI, S. The role of brown adipose tissue in human obesity. **Nutrition, metabolism, and cardiovascular diseases: NMCD**, Amsterdam, v. 16, n. 8, p. 569–574, dez. 2006.
- CIPOLLA-NETO, J. et al. Melatonin, energy metabolism, and obesity: a review. **Journal of Pineal Research**, Oxford, v. 56, n. 4, p. 371–381, maio 2014.
- CONSIDINE, R. V. et al. Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. **The New England Journal of Medicine**, Boston, v. 334, n. 5, p. 292–295, 1 fev. 1996.
- COSTA, G. Shift work and occupational medicine: an overview. **Occupational Medicine**, Oxford, v. 53, n. 2, p. 83–88, mar. 2003.
- CRISPIM, C. A. **Concentrações de leptina, grelina acilada e grelina não acilada em trabalhadores em turnos fixos**. 2008. 167 f. Tese (Doutorado em Ciências) - Programa de Pós Graduação em Nutrição, Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, 2008.
- CRISPIM, C. A. et al. Hormonal appetite control is altered by shift work: a preliminary study. **Metabolism: Clinical and Experimental**, Duluth, v. 60, n. 12, p. 1726–1735, dez. 2011.
- CRISPIM, C. A. et al. Adipokine levels are altered by shiftwork: a preliminary study. **Chronobiology International**, Oxford, v. 29, n. 5, p. 587–594, jun. 2012.
- DALAMAGA, M. et al. Leptin at the intersection of neuroendocrinology and metabolism: current evidence and therapeutic perspectives. **Cell Metabolism**, Cambridge, v. 18, n. 1, p. 29–42, 2 jul. 2013.
- DIAMOND, F. B. et al. Demonstration of a leptin binding factor in human serum. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, Filadélfia, v. 233, n. 3, p. 818–822, 28 abr. 1997.
- DRISCOLL, T. R.; GRUNSTEIN, R. R.; ROGERS, N. L. A systematic review of the neurobehavioural and physiological effects of shiftwork systems. **Sleep Medicine Reviews**, London, v. 11, n. 3, p. 179–194, jun. 2007.
- ELIAS, C. F. et al. Leptin differentially regulates NPY and POMC neurons projecting to the lateral hypothalamic area. **Neuron**, Cambridge, v. 23, n. 4, p. 775–786, ago. 1999.
- FAROOQI, I. S.; O'RAHILLY, S. 20 years of leptin: human disorders of leptin action. **The Journal of Endocrinology**, Bristol, v. 223, n. 1, p. T63–70, out. 2014.
- FRIEDMAN, J. M.; HALAAS, J. L. Leptin and the regulation of body weight in mammals. **Nature**, New York, v. 395, n. 6704, p. 763–770, 22 out. 1998.

FRIEDMAN, J. M.; MANTZOROS, C. S. 20 years of leptin: from the discovery of the leptin gene to leptin in our therapeutic armamentarium. **Metabolism: Clinical and Experimental**, Duluth, v. 64, n. 1, p. 1–4, jan. 2015.

GARAULET, M.; ORDOVÁS, J. M.; MADRID, J. A. The chronobiology, etiology and pathophysiology of obesity. **International Journal of Obesity**, London, v. 34, n. 12, p. 1667–1683, dez. 2010.

GE, H. et al. Generation of soluble leptin receptor by ectodomain shedding of membrane-spanning receptors in vitro and in vivo. **The Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v. 277, n. 48, p. 45898–45903, 29 nov. 2002.

GREEN, C. B.; TAKAHASHI, J. S.; BASS, J. The meter of metabolism. **Cell**, Cambridge, v. 134, n. 5, p. 728–742, 5 set. 2008.

GUO, Y. et al. Shift work and the relationship with metabolic syndrome in chinese aged workers. **PLoS One**, San Francisco, v. 10, n. 3, p. e0120632, 2015.

HAMNVIK, O.-P. R. et al. Soluble leptin receptor and leptin are associated with baseline adiposity and metabolic risk factors, and predict adiposity, metabolic syndrome, and glucose levels at 2-year follow-up: the Cyprus Metabolism Prospective Cohort Study. **Metabolism: Clinical and Experimental**, Duluth, v. 60, n. 7, p. 987–993, jul. 2011.

HEANEY, M. L.; GOLDE, D. W. Soluble hormone receptors. **Blood**, Philadelphia, v. 82, n. 7, p. 1945–1948, 1 out. 1993.

HEYWARD, V. H.; STOLARCZYK, I. M. **Avaliação da composição corporal aplicada**. São Paulo: Manole, 2000.

HOUSEKNECHT, K. L. et al. Evidence for leptin binding to proteins in serum of rodents and humans: modulation with obesity. **Diabetes**, New York, v. 45, n. 11, p. 1638–1643, nov. 1996.

HUANG, L.; LI, C. Leptin: a multifunctional hormone. **Cell Research**, Beijing, v. 10, n. 2, p. 81–92, jun. 2000.

HUANG, L.; WANG, Z.; LI, C. Modulation of Circulating Leptin Levels by Its Soluble Receptor. **Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v. 276, n. 9, p. 6343–6349, 2 mar. 2001.

INGELSSON, E. et al. Circulating ghrelin, leptin, and soluble leptin receptor concentrations and cardiometabolic risk factors in a community-based sample. **The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, Springfield, v. 93, n. 8, p. 3149–3157, ago. 2008.

ITANI, O. et al. Association of onset of obesity with sleep duration and shift work among Japanese adults. **Sleep Medicine**, London, v. 12, n. 4, p. 341–345, abr. 2011.

JACKSON, A.; POLLOCK, M. Practical assessment of body composition. **Phys Sportmed**, London, v. 13, p. 76–90, 1985.

JERMENDY, G. et al. Assessment of cardiometabolic risk among shift workers in Hungary. **Health and Quality of Life Outcomes**, London, v. 10, p. 18, 2012.

KELESIDIS, T. et al. Narrative review: the role of leptin in human physiology: emerging clinical applications. **Annals of Internal Medicine**, Philadelphia, v. 152, n. 2, p. 93–100, 19 jan. 2010.

KIM, J. Y. et al. The relationship between quality of sleep and night shift rotation interval. **Annals of Occupational and Environmental Medicine**, London, v. 27, p. 31, 2015.

KRATZSCH, J. et al. Circulating soluble leptin receptor and free leptin index during childhood, puberty, and adolescence. **The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, Springfield, v. 87, n. 10, p. 4587–4594, out. 2002.

KUMAR JHA, P.; CHALLET, E.; KALSBEEK, A. Circadian rhythms in glucose and lipid metabolism in nocturnal and diurnal mammals. **Molecular and Cellular Endocrinology**, Greenwich, v. 418 Pt 1, p. 74–88, 15 dez. 2015.

LAIMER, M. et al. Weight loss increases soluble leptin receptor levels and the soluble receptor bound fraction of leptin. **Obesity Research**, Baton Rouge, v. 10, n. 7, p. 597–601, jul. 2002.

LAJOIE, P. et al. A cross-sectional study of shift work, sleep quality and cardiometabolic risk in female hospital employees. **BMJ open**, London, v. 5, n. 3, p. e007327, 2015.

LAMMERT, A. et al. Soluble leptin receptor represents the main leptin binding activity in human blood. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, Filadélfia, v. 283, n. 4, p. 982–988, 18 maio 2001.

LANDT, M.; PARVIN, C. A.; WONG, M. Leptin in cerebrospinal fluid from children: correlation with plasma leptin, sexual dimorphism, and lack of protein binding. **Clinical Chemistry**, Baltimore, v. 46, n. 6 Pt 1, p. 854–858, jun. 2000.

LEE, G. H. et al. Abnormal splicing of the leptin receptor in diabetic mice. **Nature**, New York, v. 379, n. 6566, p. 632–635, 15 fev. 1996.

LEHR, S.; HARTWIG, S.; SELL, H. Adipokines: a treasure trove for the discovery of biomarkers for metabolic disorders. **Proteomics. Clinical Applications**, Weinheim, v. 6, n. 1-2, p. 91–101, jan. 2012.

LEPROULT, R.; HOLMBÄCK, U.; VAN CAUTER, E. Circadian misalignment augments markers of insulin resistance and inflammation, independently of sleep loss. **Diabetes**, New York, v. 63, n. 6, p. 1860–1869, jun. 2014.

LICINIO, J. et al. Human leptin levels are pulsatile and inversely related to pituitary-adrenal function. **Nature Medicine**, New York, v. 3, n. 5, p. 575–579, maio 1997.

LIN, X. et al. Night-shift work increases morbidity of breast cancer and all-cause mortality: a meta-analysis of 16 prospective cohort studies. **Sleep Medicine**, London, v. 16, n. 11, p. 1381–1387, nov. 2015b.

- LIN, Y. et al. Association between shift work and the risk of death from biliary tract cancer in Japanese men. **BMC cancer**, London, v. 15, p. 757, 2015a.
- LIU, C. et al. Expression and characterization of a putative high affinity human soluble leptin receptor. **Endocrinology**, Philadelphia, v. 138, n. 8, p. 3548–3554, ago. 1997.
- LOWDEN, A. et al. Eating and shift work - effects on habits, metabolism and performance. **Scandinavian Journal of Work, Environment & Health**, Helsinki, v. 36, n. 2, p. 150–162, mar. 2010.
- MAAMRA, M. et al. Generation of human soluble leptin receptor by proteolytic cleavage of membrane-anchored receptors. **Endocrinology**, Philadelphia, v. 142, n. 10, p. 4389–4393, out. 2001.
- MAFFEI, M. et al. Leptin levels in human and rodent: measurement of plasma leptin and ob RNA in obese and weight-reduced subjects. **Nature Medicine**, New York, v. 1, n. 11, p. 1155–1161, nov. 1995.
- MANENSCHIJN, L. et al. Shift work at young age is associated with elevated long-term cortisol levels and body mass index. **The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, Springfield, v. 96, n. 11, p. E1862–E1865, nov. 2011.
- MANTZOROS, C. S. et al. Leptin concentrations in relation to body mass index and the tumor necrosis factor-alpha system in humans. **The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, Springfield, v. 82, n. 10, p. 3408–3413, out. 1997.
- MARTINS, C. J. DE M. et al. Association between leptin and its soluble receptor with cardiometabolic risk factors in a Brazilian population. **European Journal of Internal Medicine**, Amsterdam, v. 23, n. 6, p. e131–135, set. 2012.
- MCMENAMIN, T. M. Time to work: recent trends in shift work and flexible schedules, A. **Monthly Lab. Rev.**, Washington, v. 130, p. 3, 2007.
- MYERS, M. G. et al. Obesity and Leptin Resistance: Distinguishing Cause from Effect. **Trends in endocrinology and metabolism: TEM**, New York, v. 21, n. 11, p. 643–651, nov. 2010.
- OGAWA, T. et al. Relationships between serum soluble leptin receptor level and serum leptin and adiponectin levels, insulin resistance index, lipid profile, and leptin receptor gene polymorphisms in the Japanese population. **Metabolism: Clinical and Experimental**, Duluth, v. 53, n. 7, p. 879–885, jul. 2004.
- OGIER, V. et al. Obesity is associated with decreasing levels of the circulating soluble leptin receptor in humans. **International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders: Journal of the International Association for the Study of Obesity**, London, v. 26, n. 4, p. 496–503, abr. 2002.
- PADILHA, H. G. et al. Metabolic responses on the early shift. **Chronobiology International**, Oxford, v. 27, n. 5, p. 1080–1092, jul. 2010.

PAN, A. et al. Rotating night shift work and risk of type 2 diabetes: two prospective cohort studies in women. **PLoS medicine**, San Francisco, v. 8, n. 12, p. e1001141, dez. 2011.

PARK, H.-K.; AHIMA, R. S. Physiology of leptin: energy homeostasis, neuroendocrine function and metabolism. **Metabolism: Clinical and Experimental**, Duluth, v. 64, n. 1, p. 24–34, jan. 2015.

PEPŁOŃSKA, B. et al. Night shift work and modifiable lifestyle factors. **International Journal of Occupational Medicine and Environmental Health**, Łódź, v. 27, n. 5, p. 693–706, out. 2014.

PEPLONSKA, B.; BUKOWSKA, A.; SOBALA, W. Association of Rotating Night Shift Work with BMI and Abdominal Obesity among Nurses and Midwives. **PloS One**, San Francisco, v. 10, n. 7, p. e0133761, 2015.

RAMIN, C. et al. Night shift work at specific age ranges and chronic disease risk factors. **Occupational and environmental medicine**, London, v. 72, n. 2, p. 100–107, fev. 2015.

ROEMMICH, J. N. et al. Gender differences in leptin levels during puberty are related to the subcutaneous fat depot and sex steroids. **The American Journal of Physiology**, Washington, v. 275, n. 3 Pt 1, p. E543–551, set. 1998.

ROMON, M. et al. Circadian variation of diet-induced thermogenesis. **The American Journal of Clinical Nutrition**, Iowa City, v. 57, n. 4, p. 476–480, abr. 1993.

ROSENBAUM, M. et al. Low dose leptin administration reverses effects of sustained weight-reduction on energy expenditure and circulating concentrations of thyroid hormones. **The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, Springfield, v. 87, n. 5, p. 2391–2394, maio 2002.

ROSZKOWSKA-GANCARZ, M. et al. Age-related changes of leptin and leptin receptor variants in healthy elderly and long-lived adults. **Geriatrics & Gerontology International**, Tokyo, v. 15, n. 3, p. 365–371, mar. 2015.

SALLINEN, M.; KECKLUND, G. Shift work, sleep, and sleepiness - differences between shift schedules and systems. **Scandinavian Journal of Work, Environment & Health**, Helsinki, v. 36, n. 2, p. 121–133, mar. 2010.

SCHAAB, M. et al. Novel regulatory mechanisms for generation of the soluble leptin receptor: implications for leptin action. **PloS One**, San Francisco, v. 7, n. 4, p. e34787, 2012.

SCHEER, F. A. J. L. et al. Adverse metabolic and cardiovascular consequences of circadian misalignment. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 106, n. 11, p. 4453–4458, 17 mar. 2009.

SCHWARTZ, M. W. et al. Specificity of leptin action on elevated blood glucose levels and hypothalamic neuropeptide Y gene expression in ob/ob mice. **Diabetes**, New York, v. 45, n. 4, p. 531–535, abr. 1996.

- SCHWARTZ, M. W. et al. Central nervous system control of food intake. **Nature**, New York, v. 404, n. 6778, p. 661–671, 6 abr. 2000.
- SHEA, S. A. et al. Independent Circadian and Sleep/Wake Regulation of Adipokines and Glucose in Humans. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, Springfield, v. 90, n. 5, p. 2537–2544, maio 2005.
- SHIMIZU, H. et al. Estrogen increases in vivo leptin production in rats and human subjects. **The Journal of Endocrinology**, Bristol, v. 154, n. 2, p. 285–292, ago. 1997.
- SIMON, C. et al. Slow oscillations of plasma glucose and insulin secretion rate are amplified during sleep in humans under continuous enteral nutrition. **Sleep**, Rochester, v. 17, n. 4, p. 333–338, jun. 1994.
- SINHA, M. K. et al. Evidence of free and bound leptin in human circulation. Studies in lean and obese subjects and during short-term fasting. **The Journal of Clinical Investigation**, New York, v. 98, n. 6, p. 1277–1282, 15 set. 1996.
- SIRI, W. E. **Body composition from fluid spaces and density: analysis of methods**. In Brozek, J. (Ed.), Techniques for measuring body composition. Berkeley: National Academy of Science, 1961.
- SON, M. et al. Association between shift work and obesity according to body fat percentage in Korean wage workers: data from the fourth and the fifth Korea National Health and Nutrition Examination Survey (KNHANES 2008-2011). **Annals of Occupational and Environmental Medicine**, London, v. 27, p. 32, 2015.
- SOOKOIAN, S. et al. Effects of rotating shift work on biomarkers of metabolic syndrome and inflammation. **Journal of Internal Medicine**, Amsterdam, v. 261, n. 3, p. 285–292, 1 mar. 2007.
- SPIEGEL, K. et al. Brief communication: Sleep curtailment in healthy young men is associated with decreased leptin levels, elevated ghrelin levels, and increased hunger and appetite. **Annals of Internal Medicine**, Philadelphia, v. 141, n. 11, p. 846–850, 7 dez. 2004.
- SPIEGELMAN, B. M.; FLIER, J. S. Adipogenesis and obesity: rounding out the big picture. **Cell**, Cambridge, v. 87, n. 3, p. 377–389, 1 nov. 1996.
- STRAIF, K. et al. Carcinogenicity of shift-work, painting, and fire-fighting. **The Lancet. Oncology**, New York, v. 8, n. 12, p. 1065–1066, dez. 2007.
- TARTAGLIA, L. A. et al. Identification and expression cloning of a leptin receptor, OB-R. **Cell**, Cambridge, v. 83, n. 7, p. 1263–1271, 29 dez. 1995.
- TARTAGLIA, L. A. The Leptin Receptor. **Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v. 272, n. 10, p. 6093–6096, 7 mar. 1997.
- TRAYHURN, P. New insights into the development of obesity: obese genes and the leptin system. **The Proceedings of the Nutrition Society**, London, v. 55, n. 3, p. 783–791, nov. 1996.

TRAYHURN, P.; DREVON, C. A.; ECKEL, J. Secreted proteins from adipose tissue and skeletal muscle - adipokines, myokines and adipose/muscle cross-talk. *Archives of Physiology and Biochemistry*, London, v. 117, n. 2, p. 47–56, maio 2011.

TU, H. et al. Soluble receptor inhibits leptin transport. *Journal of Cellular Physiology*, Hoboken, v. 214, n. 2, p. 301–305, fev. 2008.

VAN DIELEN, F. M. H. et al. Leptin and Soluble Leptin Receptor Levels in Obese and Weight-Losing Individuals. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, Springfield, v. 87, n. 4, p. 1708–1716, 1 abr. 2002.

VAN GAAL, L. F.; MERTENS, I. L.; DE BLOCK, C. E. Mechanisms linking obesity with cardiovascular disease. *Nature*, v. 444, n. 7121, p. 875–880, 14 dez. 2006.

WABITSCH, M. et al. Insulin and cortisol promote leptin production in cultured human fat cells. *Diabetes*, New York, v. 45, n. 10, p. 1435–1438, out. 1996.

WADA, N. et al. Leptin and its receptors. *Journal of Chemical Neuroanatomy*, New York, v. 61–62, p. 191–199, nov. 2014.

WANG, F. et al. Meta-analysis on night shift work and risk of metabolic syndrome. *Obesity Reviews: An Official Journal of the International Association for the Study of Obesity*, Oxford, v. 15, n. 9, p. 709–720, set. 2014.

WARDLAW, S. L. et al. Continuous 24-Hour Leptin, Proopiomelanocortin, and Amino Acid Measurements in Human Cerebrospinal Fluid: Correlations With Plasma Leptin, Soluble Leptin Receptor, and Amino Acid Levels. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, Springfield, v. 99, n. 7, p. 2540–2548, 26 mar. 2014.

WONG, M.-L. et al. Simultaneous and Continuous 24-Hour Plasma and Cerebrospinal Fluid Leptin Measurements: Dissociation of Concentrations in Central and Peripheral Compartments. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, Springfield, v. 89, n. 1, p. 258–265, 1 jan. 2004.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. *Obesity: preventing and managing the global epidemic*. Report of a World Health Organization Consultation. Geneva: World Health Organization, 2000. p. 256.

YANG, G. et al. Modulation of direct leptin signaling by soluble leptin receptor. *Molecular Endocrinology*, Baltimore, v. 18, n. 6, p. 1354–1362, jun. 2004.

ZASTROW, O. et al. The soluble leptin receptor is crucial for leptin action: evidence from clinical and experimental data. *International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders: Journal of the International Association for the Study of Obesity*, London, v. 27, n. 12, p. 1472–1478, dez. 2003.

ZEPF, F. D. et al. Effects of a short-term reduction in brain serotonin synthesis on the availability of the soluble leptin receptor in healthy women. *Journal of Neural Transmission*, Wien, v. 122, n. 3, p. 343–348, mar. 2015.

ZHANG, Y. et al. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. **Nature**, New York, v. 372, n. 6505, p. 425–432, 1 dez. 1994.

ANEXOS

ANEXO 1 - Carta de aprovação do Comitê de Ética e Pesquisa

ANEXO 2 - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

ANEXO 3 - Questionário de Atividade Física Habitual

ANEXO 4 - Diário do sono de sete dias

ANEXO 1 - Carta de aprovação do Comitê de Ética e Pesquisa



*Universidade Federal de São Paulo
Escola Paulista de Medicina*

*Comitê de Ética em Pesquisa
Hospital São Paulo*

São Paulo, 27 de abril de 2007.
CEP 0591/07

Ilmo(a). Sr(a).

Pesquisador(a) MARCO TÚLIO DE MELLO

Co-Investigadores: Cibele Aparecida Crispim, Heloisa Guarita padilha e Ioná Zalcman

Disciplina/Departamento: Psicobiologia/Medicina e Biologia do Sono da Universidade Federal de São Paulo/Hospital São Paulo

Patrocinador: AFIP.

PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA INSTITUCIONAL

Ref: Projeto de pesquisa intitulado: “**Controle da ingestão alimentar e metabolismo glicídico de trabalhadores por turno**”.

CARACTERÍSTICA PRINCIPAL DO ESTUDO: ESTUDO CLÍNICO OBSERVACIONAL - TRANSVERSAL -.

RISCOS ADICIONAIS PARA O PACIENTE: Risco mínimo, desconforto leve - coleta de sangue.

OBJETIVOS: Avaliar o controle de ingestão alimentar e o comportamento do metabolismo glicídico em trabalhadores por turno.

RESUMO: Serão selecionados 40 trabalhadores por turno da indústria de aço Brasmetal, localizada na cidade de Diadema, sendo: 20 trabalhadores diurnos e 20 trabalhadores noturnos. A empresa concedeu carta de autorização para a realização do estudo. As avaliações nos voluntários serão divididas em : bioquímica, ingestão alimentar , avaliação antropométrica e sono. Toas essas etapas serão realizadas em um período de 24 horas, tendo início na empresa durante o período de trabalho. Após o turno de trabalho, os indivíduos serão conduzidos, através de carro providenciado pela equipe de pesquisa, para o Instituto do Sono da AFIP para que as demais avaliações sejam procedidas. No instituto do Sono, os voluntários serão manidos em leitos privativos, de forma que poderão descansar, dormir, realizar as refeições, usar o telefone, computador ler ou jogar video game. Apenas não serão permitidas atividades físicas vigorosas. Após completarem o periodo de 24 h de estudo e que todas as avaliações forem executadas, os indivíduos serão conduzidos pelo pesquisador ao local que desejarem. Para a avaliação bioquímica, serão coletadas 6 amostras de sangue, a cada 4 horas. Um máximo de 210 ml de sangue será coletado de cada voluntário durante as 24 horas. Com relação à ingestão alimentar, os voluntários deverão realizar um registro de 3 dias não consecutivos, incluindo dois dias da semana e um dia de final de semana. Haverá um nutricionista responsável para orientar esse procedimento. Para a avaliação antropométrica, no dia da coleta de sangue, os indivíduos terão a massa corporal aferida por meio de uma balança e a estatura será mensurada através de escala métrica vertical com precisão de 1mm. Para a avaliação da qualidade de sono, os voluntários preencherão o questionário Índice de Qualidade do Sono de Pittsburg , utilizado para quantificar a qualidade do seu sono..



FUNDAMENTOS E RACIONAL: estudo bem fundamentado, uma vez que trabalhadores por turno são indivíduos conhecidamente mais predispostos a obesidade, descontração da ingestão alimentar, resistência à insulina e diabetes..

MATERIAL E MÉTODO: estão apresentados os procedimentos que serão utilizados no projeto.

TCLE: TCLE adequado, de acordo com as normas do Res. 196/96.

DETALHAMENTO FINANCEIRO: Projeto financiado por AFIP.

CRONOGRAMA: 12 meses.

OBJETIVO ACADÉMICO: doutorado.

ENTREGA DE RELATÓRIOS PARCIAIS AO CEP PREVISTOS PARA: 26/4/2008 e 26/4/2009.

O Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de São Paulo/Hospital São Paulo **ANALISOU** e **APROVOU** o projeto de pesquisa referenciado.

1. Comunicar toda e qualquer alteração do projeto e termo de consentimento livre e esclarecido. Nestas circunstâncias a inclusão de pacientes deve ser temporariamente interrompida até a resposta do Comitê, após análise das mudanças propostas.
2. Comunicar imediatamente ao Comitê qualquer evento adverso ocorrido durante o desenvolvimento do estudo.
3. Os dados individuais de todas as etapas da pesquisa devem ser mantidos em local seguro por 5 anos para possível auditoria dos órgãos competentes.

Atenciosamente,

Prof. Dr. José Osmar Medina Pestana
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa da
Universidade Federal de São Paulo/ Hospital São Paulo

ANEXO 2 - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

“Controle da ingestão alimentar e metabolismo glicídico de trabalhadores por turno”

As seguintes informações estão sendo fornecidas para sua participação voluntária neste estudo, que visa averiguar o “Controle da ingestão alimentar e metabolismo glicídico de trabalhadores por turno”. Este estudo pelo Centro de Estudos em Psicobiologia e Exercício da Universidade Federal de São Paulo/ Escola Paulista de Medicina, durante um dia (24 horas), na Empresa Brasmetal, no e Instituto do Sono da Associação Fundo de Incentivo à Psicofarmacologia (AFIP).

Para atingir nosso objetivo, os procedimentos utilizados neste estudo serão compostos de avaliações da dieta alimentar, avaliação laboratorial, avaliação antropométrica e avaliação do sono. As avaliações serão realizadas em um período de 24 horas, tendo início na empresa durante o período de trabalho (6:00 às 14:00h para trabalhadores diurnos e das 22:00h às 6:00h para trabalhadores noturnos). Após o período de trabalho, você será conduzido, através de um carro providenciado pela equipe de pesquisa, para o Instituto do Sono da Universidade Federal de São Paulo/ Escola Paulista de Medicina, para que as demais avaliações sejam procedidas. No Instituto do Sono, você será mantido em um leito privativo, de forma que possa descansar, dormir, realizar as refeições com os alimentos habitualmente consumidos, usar o telefone, o computador, ler ou jogar vídeo-game. Atividades físicas vigorosas não serão permitidas. Após completar o período de 24 horas de estudo e que todas as avaliações forem executadas, você será conduzido pelo pesquisador ao local que desejar (residência, caso esteja de folga, ou para a empresa, caso tenha que trabalhar).

A avaliação da dieta alimentar será realizada a partir de registros alimentares preenchidos por você. Nestes registros, você escreverá todos os alimentos consumidos e suas respectivas quantidades durante três dias não consecutivos, incluindo um dia do final de semana.

A avaliação laboratorial será composta pelas coletas de seis amostras de sangue no período das 24 horas do estudo, sendo duas coletas realizadas na enfermaria da empresa durante o trabalho e as outras quatro no laboratório do Instituto do Sono. A coleta de sangue para análise laboratorial será realizada por um enfermeiro devidamente treinado, onde serão retirados 35 ml de sangue em cada análise, totalizando 210ml no período de 24 horas. A avaliação antropométrica será realizada pela medida do peso corporal e altura dos voluntários.

A avaliação do sono será realizada por meio do preenchimento de um questionário durante a permanência dos voluntários no Instituto do Sono, o qual levanta informações sobre o padrão e queixas relativas ao sono.

Este estudo não oferece risco e não há benefício direto para o participante, pois se trata de um estudo experimental, testando a hipótese de que diferentes turnos de trabalho possam interferir nos aspectos avaliados.

É importante ressaltar que em qualquer etapa do estudo, haverá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas. Os principais investigadores são o Professor Marco Túlio de Mello e a Nutricionista Cibele Crispim, que podem ser encontrados no endereço: R. Marselhesa, 535, Vila Clementino, ou no telefone 11-5572-0177. Caso haja alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) - Rua Botucatu, 572 cj 14 - 1º andar - 5571-1062 — Fone/fax: 5539-7162.

É garantida a liberdade da retirada de consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem qualquer prejuízo à continuidade de seu tratamento na instituição. As informações obtidas serão analisadas em conjunto com outros pacientes, não sendo divulgado a identificação de nenhum paciente.

Não há despesas pessoais para o participante em qualquer fase do estudo, incluindo exames e consultas. Também não há compensação financeira relacionada à sua participação. Se existir qualquer despesa adicional, ela será absorvida pelo orçamento da pesquisa.

Em caso de dano pessoal, diretamente causado pelos procedimentos ou tratamentos propostos neste estudo (nexo causal comprovado), o participante tem direito a tratamento médico na Instituição, bem como às indenizações legalmente estabelecidas.

O nosso compromisso é de utilizar os dados e o material coletado somente para esta pesquisa.

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo “**Controle da ingestão alimentar e metabolismo glicídico de trabalhadores por turno**”. Eu discuti com o Professor Marco Túlio de Mello e com a Nutricionista Cibele Crispim sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia do acesso a tratamento hospitalar quando necessário. Concordei 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.

Assinatura do paciente / Representante legal

RG: _____ Data: ___/___/___.

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

Assinatura do responsável pelo estudo

Data: ___/___/___.

ANEXO 3 - Nível de Atividade Física Habitual

NOME: _____ **IDADE:** _____

SEXO: M() F() **PESO** ____ **kg** **ALTURA** ____ **cm** ____ **DATA:** ____/____/____

OCUPAÇÃO

P1) Qual a sua principal ocupação (descrever) _____

- 1- Trabalho em escritório, vendas, maioria do tempo sentado, sem grande esforço físico.
- 2- Trabalho fabril, encanador, carpinteiro, serralheiro, mecânico, trabalho com esforço físico moderado.
- 3- Trabalho em construção civil, pedreiro, marceneiro, carregador, com grande esforço físico.

P2) No trabalho, o Sr.(a) senta-se:

- 1 () Nunca
- 2 () Raramente
- 3 () Algumas vezes
- 4 () Freqüentemente
- 5 () Sempre

P3) No trabalho, o Sr.(a) fica em pé:

- 1 () Nunca
- 2 () Raramente
- 3 () Algumas vezes
- 4 () Freqüentemente
- 5 () Sempre

P4) No trabalho, o Sr.(a) anda:

- 1 () Nunca
- 2 () Raramente
- 3 () Algumas vezes
- 4 () Freqüentemente
- 5 () Sempre

P5) No trabalho, o Sr.(a) carrega objetos pesados:

- 1 () Nunca
- 2 () Raramente
- 3 () Algumas vezes

4 () Freqüentemente

5 () Muito freqüentemente

P6) Depois do trabalho, o Sr.(a) sente-se fisicamente cansado:

1 () Nunca

2 () Raramente

3 () Algumas vezes

4 () Freqüentemente

5 () Muito freqüentemente

P7) No trabalho, o Sr.(a) sua:

1 () Nunca

2 () Raramente

3 () Algumas vezes

4 () Freqüentemente

5 () Muito freqüentemente

P8) Em comparação com outras pessoas do seu convívio e com a mesma idade, o Sr.(a) acha que seu trabalho é fisicamente:

1 () Muito mais leve

2 () Mais leve

3 () Da mesma intensidade

4 () Mais intenso

5 () Muito mais intenso

ÍNDICE OCUPACIONAL: [P1 + (6-P2) + P3+P4+P5+P6+P7+P8] / 8 _____

ESPORTES

P9) O Sr.(a) pratica algum esporte: Sim () Não ()

P9a) Em caso de sim:

INTENSIDADE

Qual esporte você pratica mais freqüentemente ?_____

0,76 () bilhar, boliche, vela, outro esporte sem deslocamento ativo.

1,26 () ciclismo, dança, natação, tênis, vôlei, caminhada

1,76 () basquete, boxe, futebol, canoagem, ginástica, corrida, musculação

TEMPO

Quantas horas por semana ?

0,5 () < 1

1,5 () 1-2

2,5 () 2-3

3,5 () 3-4

4,5 () > 4

PROPORÇÃO

Quantos meses por ano ?

0,04 () < 1

0,17 () 1-3

0,42 () 4-6

0,67 () 7-9

0,92 () > 9

P9a: INTENSIDADE X TEMPO X PROPORÇÃO (_____)

INTENSIDADE

P9b) O Sr.(a) pratica algum segundo esporte: _____

0,76 () bilhar, boliche, vela, outro esporte sem deslocamento ativo

1,26 () ciclismo, dança, natação, tênis, vôlei, caminhada

1,76 () basquete, boxe, futebol, canoagem, ginástica, corrida, musculação

TEMPO

Quantas horas por semana ?

0,5 () < 1

1,5 () 1-2

2,5 () 2-3

3,5 () 3-4

4,5 () > 4

PROPORÇÃO

Quantos meses por ano ?

0,04 () < 1

0,17 () 1-3

0,42 () 4-6

0,67 () 7-9

0,92 () > 9

P9b: INTENSIDADE X TEMPO x PROPORÇÃO (_____)

P9 = P9a + P9b (_____)

1 () 0

2 () 0,01 a < 4

3 () 4 a < 8

4 () 8 a < 12

5 () > ou = 12

P10) Em comparação com outras pessoas de seu convívio e da mesma idade, o Sr.(a) acha que a atividade de seu lazer é:

1 () Muito menor

2 () Menor

3 () Da mesma intensidade

4 () Maior

5 () Muito maior

P11) Durante seu lazer o Sr.(a) sua:

1 () Nunca

2 () Raramente

3 () Algumas vezes

4 () Freqüentemente

5 () Muito freqüentemente

P12) durante seu lazer, o Sr.(a) pratica esportes:

1 () Nunca

2 () Raramente

3 () Algumas vezes

4 () Freqüentemente

ÍNDICE DE ATIVIDADE ESPORTIVA: [P9 + P10 + P11 + P12] / 4 _____

LAZER

P13) Durante seu lazer, o Sr.(a) assiste TV:

1 () Nunca

2 () Raramente

3 () Algumas vezes

4 () Frequentemente

5 () Muito freqüentemente

P14) Durante seu lazer, o Sr.(a) anda a pé:

1 () Nunca

2 () Raramente

3 () Algumas vezes

4 () Freqüentemente

5 () Muito freqüentemente

P15) Durante seu lazer, Sr.(a) anda de bicicleta:

1 () Nunca

2 () Raramente

3 () Algumas vezes

4 () Freqüentemente

5 () Muito freqüentemente

P16) Quanto minutos habitualmente o Sr.(a) anda a pé ou de bicicleta por dia, indo e voltando do trabalho, escola ou compras:

1 () <5

2 () 5-15

3 () 15-30

4 () 30-45

5 () >45

ÍNDICE DE ATIVIDADE DO LAZER: [(6-P13) + P14 + P15 + P16] / 4 (_____)

SUMÁRIO

INDÍCE	VALOR
OCUPACIONAL	()
ATIVIDADE ESPORTIVA	()
ATIVIDADE NO LAZER	()

TOTAL ABSOLUTO (a + b + c) (_____)

TOTAL MÉDIO (a + b + c / 3) (_____)

ANEXO 4 - Diário do sono de sete dias

Nome: _____ **Identificação:** _____

Sexo: () masculino () feminino **Peso:** _____ Kg **Idade:** _____ anos

Altura: _____ cm **Data:** _____ / _____ / _____ **Dia da semana:** _____

1- A que horas foi dormir ontem?

R: _____ : _____ horas

2- A que horas você acha que pegou no sono?

R: _____ : _____ horas

3- Você se lembra de ter acordado e dormido de novo?

Não () Sim () Quantas vezes: R: _____ vezes Não me lembro ()

4- Como foi a qualidade do sono ontem? Faça um traço na régua abaixo:

Muito Ruim-----Boa

5- Comparando com o seu sono habitual, como foi o sono de ontem?

Melhor () Igual () Pior ()

6- A que horas você acordou hoje?

R: _____ : _____ horas

7- Como você acordou hoje?

Alguém me chamou () Espontaneamente (sozinho) () Com despertador ()

8- Como você se sentiu ao acordar? Faça um traço na régua abaixo:

Muito mal-----Muito Bem

9- Você dormiu a sesta ou cochilou durante o dia de ontem?

Não () Sim () Quantas vezes? R: _____ vezes. De que horas a que horas?

Das _____ ás _____