

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE MEDICINA  
CURSO DE NUTRIÇÃO**

Bruna Aparecida Melo Batista

**RESPOSTA SECRETÓRIA DE PEPTÍDEO YY<sub>3-36</sub> APÓS  
SOBRECARGA ORAL AGUDA DE FONTE DE ÁCIDOS GRAXOS  
MONOINSATURADOS E FONTE DE ÁCIDOS GRAXOS SATURADOS  
EM RATOS WISTAR**

Porto Alegre, 2011

Bruna Aparecida Melo Batista

**RESPOSTA SECRETÓRIA DE PEPTÍDEO YY<sub>3-36</sub> APÓS  
SOBRECARGA ORAL AGUDA DE FONTE DE ÁCIDOS GRAXOS  
MONOINSATURADOS E FONTE DE ÁCIDOS GRAXOS SATURADOS  
EM RATOS WISTAR**

Trabalho de conclusão de curso de graduação apresentado como requisito parcial para a obtenção do grau de Bacharel em Nutrição, à Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Curso de Nutrição.

Orientador: Prof. Dr. Marcello Casaccia Bertoluci

Co-orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dra. Valesca Dall'Alba

Porto Alegre, 2011

Bruna Aparecida Melo Batista

**RESPOSTA SECRETÓRIA DE PEPTÍDEO YY<sub>3-36</sub> APÓS SOBRECARGA ORAL AGUDA DE FONTE DE ÁCIDOS GRAXOS MONOINSATURADOS E FONTE DE ÁCIDOS GRAXOS SATURADOS EM RATOS WISTAR**

Trabalho de conclusão de curso de graduação apresentado como requisito parcial para obtenção do grau de Bacharel em Nutrição, à Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Curso de Nutrição.

Porto Alegre, 05 de dezembro de 2011.

A Comissão Examinadora, abaixo assinada, aprova o Trabalho de Conclusão de Curso "**Resposta secretória de peptídeo YY<sub>3-36</sub> após sobrecarga oral aguda de fonte de ácidos graxos monoinsaturados e fonte de ácidos graxos saturados em ratos Wistar**", elaborado por Bruna Aparecida Melo Batista, como requisito parcial para obtenção de Grau de Bacharel em Nutrição.

Comissão Examinadora:

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Janaína Guimarães Venzke (UFRGS)

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Martine Elisabeth Kienzle Hagen (UFRGS)

---

Prof. Dr. Marcello Casaccia Bertoluci - Orientador

*A Deus, por me dar paciência e serenidade  
nos momentos de dificuldade.*

*Aos meus pais, Conceição e Edvan,  
e irmãos, Brenda e Francisco, amores incondicionais.*

*A Antonio Moacir, amor especial.*

## AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Marcello Casaccia Bertoluci, pela confiança, pelos valiosos ensinamentos e pela importante contribuição para meu crescimento intelectual.

À Prof<sup>a</sup>. Dra. Valesca Dall'Alba, pela disponibilidade, atenção e pelas ótimas sugestões.

Às nutricionistas Kelly Carraro Foletto, Luciana da Conceição Antunes e Manoela Neves da Jornada, pelo construtivo convívio e pela dedicação a esta pesquisa.

À equipe da Unidade de Experimentação Animal (UEA) do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, pelo profissionalismo e fundamental auxílio na execução dos experimentos.

À Prof<sup>a</sup>. Dra. Maria Flávia Marques Ribeiro, pelos ensinamentos e por me abrir a primeira porta para o mundo da pesquisa científica.

À Dra. Susie de Andrade, pelo apoio e pelas lições durante os meus primeiros passos como bolsista de Iniciação Científica.

Aos queridos amigos e futuros nutricionistas Janaína Oliveira da Rosa, Fernando Abreu de Campos, Bianca Garcia Eskinazi e Ximena Estefanía Castillo Velasco, pela grande amizade ao longo desses cinco anos.

Aos colegas do curso de Nutrição, pelo convívio nesta caminhada.

Aos professores e às professoras do curso de Nutrição que souberam transmitir conhecimento e estimular nossa vontade de buscá-lo ainda mais.

## RESUMO

**INTRODUÇÃO:** Peptídeos secretados pelo trato gastrointestinal tem sido objeto de grande interesse para a compreensão dos mecanismos regulatórios da fome e saciedade. Dentre tais peptídeos, o peptídeo YY (PYY) tem sido alvo de muitas pesquisas por ser importante modulador do apetite. O PYY é secretado pelas células L intestinais e circula sob duas formas: PYY 1-36 e PYY 3-36. Estudos mostram que administração periférica desse peptídeo, principalmente a forma PYY 3-36, leva a efeitos inibitórios no apetite. Fisiologicamente, os níveis plasmáticos de PYY são baixos no jejum e se elevam após alimentação, sendo a forma PYY 3-36 predominante no período pós-prandial. A composição da dieta influencia a secreção desse peptídeo, com lipídeos e proteínas sendo estimuladores mais potentes. Ainda, há evidência de que obesos possuem menores níveis plasmáticos de PYY no jejum e menor resposta secretória pós-prandial. **OBJETIVOS:** Avaliar, por meio de experimento controlado, o efeito de sobrecarga oral de fonte de ácidos graxos monoinsaturados (óleo de oliva), de fonte de ácidos graxos saturados (banha suína) e glicose na secreção aguda da forma PYY 3-36 em ratos Wistar. **MÉTODOS:** Foram utilizados 36 ratos Wistar (~300g), distribuídos em 4 grupos de acordo com as sobrecargas orais isocalóricas (~7,8 kcal) administrada por gavagem: MONO (óleo de oliva), SAT (banha suína), GLI (glicose) e Controle (água). O veículo para os macronutrientes foi água pura. O volume total calculado do conteúdo a ser administrado foi de 0,8% em relação ao peso corporal do animal. Os níveis séricos de PYY 3-36 foram medidos por meio do Luminex<sup>®</sup> com o kit Milliplex Map Rat Gut Hormone Panel – Millipore/Linco<sup>®</sup> nos tempos 0, 15, 30, 60 e 120 minutos, e analisados por ANOVA e teste de Tukey para múltiplas comparações. O incremento nos níveis de PYY 3-36 entre 0 e 120 minutos foi expresso pela área sob a curva (ASC). **RESULTADOS:** Os níveis de PYY 3-36 do grupo MONO foram significativamente maiores do que o Controle nos tempos 30, 60 e 120 minutos ( $p < 0,05$ ), e a ASC para MONO foi significativamente maior que a ASC para o Controle ( $p < 0,05$ ). Os níveis séricos de PYY 3-36 no grupo MONO foram maiores comparados ao grupo SAT no tempo 120 minutos e ao grupo GLI no tempo 60 minutos ( $p < 0,05$ ). Os níveis séricos de PYY 3-36 de SAT não diferiram do Controle em nenhum tempo da curva. **CONCLUSÃO:** A pesquisa e os experimentos

conduzidos neste trabalho, somados à revisão de literatura, levam à conclusão de que a secreção de PYY é modulada de forma importante pelos componentes da dieta. Avaliando o efeito de macronutrientes com potencial obesogênico na secreção de PYY, nossos resultados mostram que a forma PYY 3-36 é estimulada de forma mais potente por lipídeos fonte de ácidos graxos monoinsaturados, em comparação com lipídeos fonte de ácidos graxos saturados, enquanto carboidratos (glicose) apresentam fraco estímulo na secreção dessa forma específica do PYY. A capacidade dos ácidos graxos monoinsaturados em induzir saciedade através do PYY 3-36 precisa ser avaliada em futuros estudos.

**Palavras-chave:** Peptídeo YY. Appetite. Macronutrientes. Ácidos graxos monoinsaturados. Ácidos graxos saturados.

## ABSTRACT

**INTRODUCTION:** Peptides released from the gastrointestinal tract has been subject of great interest for understanding the regulatory mechanisms of hunger and satiety. Among these peptides, the peptide YY (PYY) has been object of many researches because it is important modulator of appetite. PYY is secreted by intestinal L-cells and circulates in two forms: PYY 1-36 e PYY 3-36. Several studies show that peripheral administration of this peptide, mainly the form PYY 3-36, leads to inhibitory effects on appetite. Physiologically, the plasma levels of PYY are low in fasting state and rise after feeding, and the form PYY 3-36 is predominant in the postprandial period. The composition of diet influences the secretion of this peptide, with lipids and proteins being more potent stimulators. Still, studies show that obese individuals have lower PYY levels in fasting state and lower secretory response in the postprandial period. **OBJECTIVE:** To evaluate, through controlled experiment, the effect of oral overload of source of monounsaturated fatty acids (olive oil), source of saturated fatty acids (lard) and glucose on acute secretion of the form PYY 3-36 in Wistar rats. **METHODS:** We used 36 Wistar rats (~300g), divided into 4 groups according to oral overload isocaloric (~7.8 kcal) administered by gavage: MUFA (olive oil), SAT (lard), GLU (glucose) and Control group (water). The vehicle for the macronutrients was pure water. The total estimated volume of content to be administered was 0.8% over the animal body weight. The serum levels of PYY 3-36 were measured using the Luminex™, with the Milliplex Map Rat Gut Hormone Panel – Millipore/Linco™ kit, at 0, 15, 30, 60 and 120 minutes after overload, and were analyzed by ANOVA and Tukey test for multiple comparisons. The increment in serum levels of PYY 3-36 between 0 and 120 minutes was expressed by the area under de curve (AUC). **RESULTS:** Serum levels of PYY 3-36 for MUFA were significantly higher than the Control at 30, 60 and 120 minutes ( $p < 0.05$ ), and AUC for MUFA was significantly higher than AUC for Control ( $p < 0.05$ ). Serum levels of PYY 3-36 for MUFA were significantly higher compared to SAT at 120 minutes, and higher than GLU at 60 minutes ( $p < 0.05$ ). Serum levels of PYY (3-36) for SAT did not differ from Control at any time of the curve. **CONCLUSION:** The research and experiments conducted in this work, added to the review of the literature, lead to the conclusion that the secretion of PYY is significantly modulated by dietary components.



Evaluating the effect of macronutrients potentially obesogenic, our results show that the form PYY 3-36 is stimulated more potently by lipids source of monounsaturated fatty acids, compared with lipids source of saturated fatty acids, while carbohydrates (glucose) have a poor stimulus in the secretion of this specific form of PYY. The ability of monounsaturated fatty acids to induce satiety through PYY 3-36 needs to be evaluated in future studies.

**Key-words:** Peptide YY. Appetite. Macronutrients. Monounsaturated fatty acids. Saturated fatty acids.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

### Introdução

Figura 1 – Imagem representativa da estrutura do PYY humano ..... 17

### Revisão da literatura - Artigo de revisão

Figura 1. Resumo esquemático sobre os estímulos para a secreção de PYY e sobre as consequências de sua administração exógena no comportamento alimentar .. 40

### Artigo original

#### Legendas das figuras

Figura 1. Resposta secretória de PYY (3-36) após administração de sobrecarga de óleo de oliva (MONO), banha suína (SAT), glicose (GLI) ou Controle ..... 63

Figura 2. Área sob a curva de PYY (3-36) sérico (pg/ml), ao longo de 120 minutos, em resposta às diferentes sobrecargas ..... 63

### Figuras

Figura 1 ..... 64

Figura 2 ..... 64

## LISTA DE TABELAS

### **Introdução**

Tabela 1 – Representação da sequência de aminoácidos do PYY, caracterizada a partir de extratos de tecido intestinal suíno e humano ..... 16

### **Artigo original**

Tabela 1. Composição de ácidos graxos do óleo de oliva e da banha suína..... 62

## SUMÁRIO

|  |    |
|--|----|
| <b>1 INTRODUÇÃO</b> .....  | 12 |
| 1.1 FATORES ENVOLVIDOS NO CONTROLE ALIMENTAR E NO BALANÇO ENERGÉTICO.....  | 14 |
| 1.1.1 Papel do hipotálamo .....  | 14 |
| 1.1.2 Papel do trato gastrointestinal .....  | 15 |
| 1.2 PEPTÍDEO YY (PYY).....   | 16 |
| <b>REFERÊNCIAS</b> .....   | 19 |
| <b>2 REVISÃO DA LITERATURA - ARTIGO DE REVISÃO “PAPEL DO PEPTÍDEO YY NO APETITE E MODULAÇÃO DE SUA SECREÇÃO POR MACRONUTRIENTES E PESO CORPORAL”</b> .....   | 25 |
| <b>3 JUSTIFICATIVA</b> .....   | 47 |
| <b>4 OBJETIVOS</b> .....   | 48 |
| 3.1 OBJETIVO GERAL.....  | 48 |
| 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....  | 48 |
| <b>5 ARTIGO ORIGINAL “RESPOSTA SECRETÓRIA DE PEPTÍDEO YY (3-36) APÓS SOBRECARGA ORAL AGUDA DE FONTE DE ÁCIDOS GRAXOS MONOINSATURADOS E FONTE DE ÁCIDOS GRAXOS SATURADOS EM RATOS WISTAR”</b> ..... | 49 |
| <b>6 CONCLUSÕES</b> .....  | 68 |
| <b>ANEXO A - Legenda para abreviações de aminoácidos do PYY</b> .....  | 69 |
| <b>APÊNDICE A – Normas da revista Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia</b> .....   | 70 |
| <b>APÊNDICE B – Normas da revista Regulatory Peptides</b> .....  | 75 |

## 1 INTRODUÇÃO

A obesidade é uma doença crônica que representa um desafio de saúde pública em todo o mundo (WHO, 2011). O consumo excessivo de alimentos de alta densidade energética, níveis reduzidos de atividade (SWINBURN et al., 2011), e ainda fatores genéticos que predis põem a obesidade (RANKINEN et al., 2006) são as principais causas que justificam o crescimento desta pandemia.

A manutenção do peso corporal depende do balanço energético, definido como a relação entre calorias consumidas e calorias gastas em um dado período de tempo. Sob condições normais, as calorias consumidas são utilizadas para manter a taxa metabólica basal, a termogênese e as funções orgânicas (LENARD, BERTHOUD, 2008). As calorias excedentes serão armazenadas em forma de gordura no tecido adiposo (HAUSMAN et al., 2001).

Há evidência de que os carboidratos e os lipídeos possuem papéis fundamentais na composição de dietas nutricionalmente inadequadas, que favorecem o consumo calórico excessivo e, assim, o prejuízo no balanço energético (SIMPSON, RAUBENHEIMER, 2005).

Os carboidratos representam a principal fonte de energia para o corpo, sendo a glicose considerada um dos fatores envolvidos na regulação do apetite (DE GRAAF et al., 2004). Em nível fisiológico, a fome e o ato de se alimentar espontaneamente podem ser explicados em parte por alterações nos níveis de glicose circulantes (RABEN et al., 1996). A glicose também influencia a secreção de diversos peptídeos gastrointestinais, como grelina (SHIYA et al., 2002), peptídeo semelhante ao glucagon – 1 (GLP-1) (KONG et al., 1999) e peptídeo YY (PYY) (LINDQVIST; BAELEMANS; ERLANSON-ALBERTSSON, 2008), relacionados aos mecanismos de fome, saciação e saciedade. Contudo, como potente fonte energética, os carboidratos podem contribuir para o consumo excessivo de calorias e o conseqüente ganho de peso (VAN DAM, SEIDELL, 2007).

O conteúdo lipídico da dieta também pode contribuir para o consumo excessivo de calorias (LISSNER et al., 1987), e assim levar ao desequilíbrio do balanço energético e à obesidade (HILL, 2006).

Os lipídeos causam forte estimulação oral, o que pode aumentar o consumo calórico (BLUNDELL, MACDIARMID, 1997). Há evidência de que indivíduos com excesso de gordura corporal têm preferência aumentada para alimentos com alto teor de lipídeos (MELA, SACCHETTI, 1991), e de que obesos consomem maior proporção de lipídeos na dieta do que indivíduos eutróficos (MILLER et al., 1990).

O papel obesogênico dos lipídeos em excesso também é mostrado em modelos animais, nos quais roedores submetidos a dietas hiperlipídicas apresentam ganho de peso excessivo (HARIRI, THIBault, 2010). Além disso, uma metanálise mostrou que reduzir o conteúdo lipídico da dieta, mesmo sem redução intencional de calorias, leva à perda de peso, principalmente em indivíduos obesos (ASTRUP et al., 2000).

Apesar do seu papel no desenvolvimento da obesidade, a presença de lipídeos no trato gastrointestinal (TGI) provoca a liberação de vários hormônios intestinais, como colecistocinina (CCK), GLP-1 e PYY (LITTLE, FEINLE-BISSET, 2010). Em adição, os lipídeos provocam retardo do esvaziamento gástrico, e esse efeito inibitório pode contribuir para a supressão do apetite (LITTLE; HOROWITZ; FEINLE-BISSET, 2007). Entretanto, sinais gastrointestinais relacionados à inibição do consumo alimentar se apresentam prejudicados na obesidade (RANGANATH et al., 1996; BARANOWSKA et al., 2000; TSCHÖP et al., 2001).

Alguns estudos mostram que o perfil dos ácidos graxos da dieta tem influência sobre o ganho de peso e o depósito de gordura corporal (BOURGEOIS; ALEXIU; LEMONNIER, 1983; LOH et al., 1998; WANG; STORLIEN; HUANG, 2002), mas outros divergem quanto a isso (SU, JONES, 1993; ELLIS; LAKE; HOOVER-PLOW, 2002). Porém, evidências apontam que ácidos graxos mono e poliinsaturados são mais bem oxidados, em comparação com saturados, o que pode levar a menor armazenamento de gordura corporal (DELANY et al., 2000).

## 1.1 FATORES ENVOLVIDOS NO CONTROLE ALIMENTAR E NO BALANÇO ENERGÉTICO

Vários fatores interagem na regulação da ingestão de alimentos e de armazenamento de energia, contribuindo para a manutenção balanço energético. Dentre esses, encontram-se fatores neuronais, com importante papel do hipotálamo, e fatores gastrointestinais (HALPERN; RODRIGUES; DA COSTA , 2004).

### 1.1.1 Papel do hipotálamo

O hipotálamo é fundamental para o processamento de sinais aferentes, vindos do tronco encefálico e do intestino, e eferentes que modulam a ingestão alimentar e o gasto energético (SIMPSON; MARTIN; BLOOM, 2009). Vários núcleos importantes formam o hipotálamo: núcleo arqueado (ARC), núcleo paraventricular, núcleo ventromedial, núcleo dorsomedial e a área hipotalâmica lateral (SIMPSON; MARTIN; BLOOM, 2009).

O ARC é considerado um núcleo-chave na regulação do apetite, pois possui muitos neurônios envolvidos no comportamento alimentar (WILLIAMS et al., 2001). Nele se encontram duas populações principais de neurônios envolvidos na regulação da ingestão alimentar: a que co-expressa pró-opiomelanocortina (POMC) e transcrito regulado por cocaína e anfetamina (CART), inibidores da ingestão, e a que co-expressa neuropeptídeo Y (NPY) e peptídeo relacionado ao agouti (AgRP), estimuladores da ingestão. Assim, neuropeptídeos de efeitos opostos são produzidos dentro desse núcleo (SUZUKI et al., 2010).

O tronco encefálico comporta o complexo vagal dorsal, que interpreta e transmite ao hipotálamo os sinais periféricos, como os recebidos por meio de aferências vagais intestinais (KONTUREK et al, 2004).

Além dos sinais periféricos, que podem ser recebidos via tronco encefálico e nervo vago, parece haver uma barreira hemato-encefálica (BHE) incompleta na

eminência mediana do hipotálamo e na área postrema do tronco encefálico (SUZUKI et al., 2010). O hipotálamo se encontra próximo aos órgãos do terceiro ventrículo, que constituem regiões onde não há BHE. Essas regiões são: eminência mediana, órgão subfornical e órgão vascular da lâmina terminal (ZAC-VARGHESE; TAN; BLOOM, 2010). Os dois últimos são conhecidos como órgãos sensoriais do terceiro ventrículo, com função de transmitir informações sobre o conteúdo sanguíneo, podendo ser mediadores da comunicação entre hormônios peptídicos e o hipotálamo (FRY, FERGUSON, 2007).

### **1.1.2 Papel do trato gastrointestinal**

O TGI é considerado o maior órgão endócrino (SUZUKI et al., 2010). Nele, os nutrientes ativam receptores químico e mecanossensórios, que transmitem ao encéfalo informações acerca de suas características (LENARD, BERTHOUD, 2008), promovendo a regulação do apetite.

No estômago, os nutrientes são percebidos por receptores vagais de estiramento, tensão e volume. As informações geradas por esses receptores são transmitidas ao encéfalo por meio de nervos vagais sensoriais (CUMMINGS, OVERDUIN, 2007). A distensão gástrica causada normalmente por uma refeição contribui, juntamente com outros fatores, para a saciação, ou seja, o término da refeição (RITTER, 2004). O estômago também se relaciona com o controle alimentar através da grelina, um peptídeo orexígeno sintetizado por células gástricas (CUMMINGS, 2006).

Somados à distensão gástrica, diversos peptídeos secretados por células endócrinas intestinais constituem sinais de saciedade, como CCK, GLP-1, oxintomodulina e PYY (WOODS, 2004). Tais peptídeos difundem-se pelo interstício celular e ativam fibras nervosas vagais e entéricas, ou entram na circulação sanguínea para atuar como hormônios (CUMMINGS, OVERDUIN, 2007).

O PYY é um dos peptídeos gastrointestinais mais estudados atualmente, e diversos trabalhos demonstram seu papel na regulação da ingestão alimentar



(UENO et al., 2008) e a modulação de sua secreção por macronutrientes da dieta (KARHUNEN et al., 2008).

## 1.2 PEPTÍDEO YY

Peptídeo YY (PYY) é um polipeptídeo secretado por células entero-endócrinas do tipo L, principalmente a partir do íleo e do cólon (ONAGA; ZABIELSKI; KATO, 2002).

Em 1980, Tatemoto e Mutt isolaram o PYY pela primeira vez, a partir da mucosa intestinal de porcos (TATEMOTO, MUTT, 1980). Sua nomenclatura se deve à presença do aminoácido tirosina (abreviação: Y) em ambas as extremidades N- e C-terminal da cadeia linear de 36 aminoácidos que forma sua estrutura, sendo que sua extremidade C-terminal possui a tirosina ligada a um grupo  $-NH_2$ , formando uma amida C-terminal (TATEMOTO, 1982). Em 1988, Tatemoto et al. isolaram e identificaram a seqüência de aminoácidos do PYY humano (TATEMOTO, 1988) (Tabela 1). As estruturas diferem nos aminoácidos das posições 3, com substituição de alanina por isoleucina, e 18, com substituição de serina por asparagina.

**Tabela 1 – Representação das seqüências de aminoácidos do PYY, caracterizadas a partir de extratos de tecido intestinal suíno e humano.**

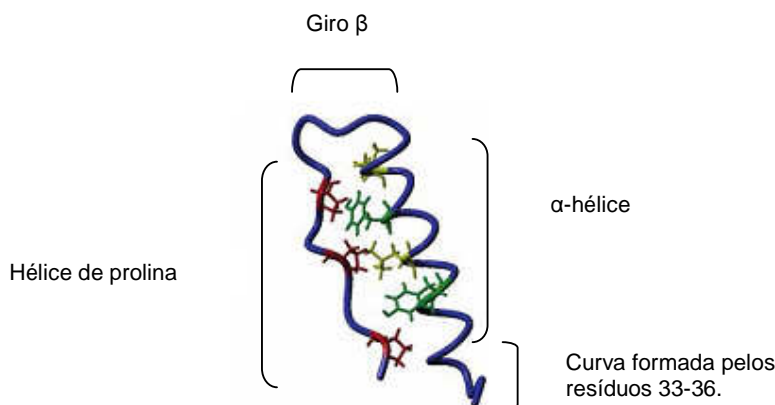
| Seqüência de aminoácidos de PYY |   |
|---------------------------------|---|
|                                 | 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15<br>Tyr – Pro – Ala – Lys – Pro – Glu – Ala – Pro – Gly – Glu – Asp – Ala – Ser – Pro – Glu            |
| Porco                           | 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30<br>– Glu – Leu – Ser – Arg – Tyr – Tyr – Ala – Ser – Leu – Arg – His – Tyr – Leu – Asn – Leu |
|                                 | 31 32 33 34 35 36<br>– Val – Thr – Arg – Gln – Arg – Tyr–NH <sub>2</sub>  |
| Abreviação em letra única       | Y P A K P E A P G E D A S P E E L S R Y Y A S L R H Y L N L V T R Q R Y- NH <sub>2</sub>  |
|                                 | 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15<br>Tyr – Pro – Ile – Lys – Pro – Glu – Ala – Pro – Gly – Glu – Asp – Ala – Ser – Pro – Glu            |
| Homem                           | 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30<br>– Glu – Leu – Asn – Arg – Tyr – Tyr – Ala – Ser – Leu – Arg – His – Tyr – Leu – Asn – Leu |

|                           | 31   | 32 | 33 | 34 | 35 | 36 |
|---------------------------|--|----|----|----|----|----|
|                           | – Val – Thr – Arg – Gln – Arg – Tyr–NH <sub>2</sub>                                      |    |    |    |    |    |
| Abreviação em letra única | Y P I K P E A P G E D A S P E E L N R Y Y A S L R H Y L N L V T R Q R Y- NH <sub>2</sub> |    |    |    |    |    |

Fonte: Adaptado de Tatemoto (1982) e Tatemoto et al. (1988). Abreviações segundo a IUPAC-IUB (1984). Legenda para abreviações no anexo A.

O PYY pertence à família de peptídeos que inclui neuropeptídeo Y (NPY) e polipeptídeo pancreático (PP), chamada de família *PP-fold*. Essa denominação se dá porque a cadeia de aminoácidos dos peptídeos dobra sobre si mesma e forma uma curva acentuada, semelhante à letra U (MICHEL et al., 1998).

A estrutura dos membros da família *PP-fold* se caracteriza pela presença de uma hélice de prolina, formada por resíduos de prolina nas posições 2, 5 e 8, ligada à extremidade N-terminal. A hélice de prolina é conectada, por uma região chamada de giro  $\beta$ , a uma  $\alpha$ -hélice anfipática (NYGAARD et al., 2006), que por sua vez é seguida por resíduos configurados em curva flexível, ligados à extremidade C-terminal (BERGLUND; HIPSKIND; GEHLERT, 2003), como mostrado na figura 1.



**Figura 1 – Imagem representativa da estrutura do PYY humano.**

Fonte: Modificado de Nygaard et al. (2006).

As formas moleculares circulantes de PYY são: PYY 1-36 e PYY 3-36 (EBERLEIN et al., 1989). O PYY 3-36 se origina da ação da enzima dipeptidil peptidase - IV (DPP-IV), que cliva o dipeptídeo tirosina-prolina (Tyr-Pro) da extremidade N-terminal do PYY 1-36 (MENTLEIN, 1999), e constitui a forma predominante no período pós-prandial (GRANDT et al., 1994; MAAS et al., 1998).

A composição da dieta e os tipos de macronutrientes influenciam a secreção de PYY de maneiras diferentes, com lipídeos e proteínas tendo efeitos mais pronunciados do que carboidratos (ADRIAN et al., 1985; BATTERHAM et al., 2006).

## REFERÊNCIAS

ADRIAN, T. E. et al. Human distribution and release of a putative new gut hormone, peptide YY. **Gastroenterology**, v. 89, n. 5, p. 1070-7, Nov 1985.

ASTRUP, A. et al. The role of low-fat diets in body weight control: a meta-analysis of ad libitum dietary intervention studies. **Int J Obes Relat Metab Disord**, v. 24, n. 12, p. 1545-52, Dec 2000.

BARANOWSKA, B. et al. Disturbed release of gastrointestinal peptides in anorexia nervosa and in obesity. **Diabetes Obes Metab**, v. 2, n. 2, p. 99-103, Apr 2000.

BATTERHAM, R. L. et al. Critical role for peptide YY in protein-mediated satiation and body-weight regulation. **Cell Metab**, v. 4, n. 3, p. 223-33, Sep 2006.

BERGLUND, M. M.; HIPSKIND, P. A.; GEHLERT, D. R. Recent developments in our understanding of the physiological role of PP-fold peptide receptor subtypes. **Exp Biol Med (Maywood)**, v. 228, n. 3, p. 217-44, Mar 2003.

BLUNDELL, J. E.; MACDIARMID, J. I. Fat as a risk factor for overconsumption: satiation, satiety, and patterns of eating. **J Am Diet Assoc**, v. 97, n. 7 Suppl, p. S63-9, Jul 1997.

BOURGEOIS, F.; ALEXIU, A.; LEMONNIER, D. Dietary-induced obesity: effect of dietary fats on adipose tissue cellularity in mice. **Br J Nutr**, v. 49, n. 1, p. 17-26, Jan 1983.

CUMMINGS, D. E. Ghrelin and the short- and long-term regulation of appetite and body weight. **Physiol Behav**, v. 89, n. 1, p. 71-84, Aug 2006.

CUMMINGS, D. E.; OVERDUIN, J. Gastrointestinal regulation of food intake. **J Clin Invest**, v. 117, n. 1, p. 13-23, Jan 2007.

DE GRAAF, C. et al. Biomarkers of satiation and satiety. **Am J Clin Nutr**, v. 79, n. 6, p. 946-61, Jun 2004.

DELANY, J. P. et al. Differential oxidation of individual dietary fatty acids in humans. **Am J Clin Nutr**, v. 72, n. 4, p. 905-11, Oct 2000.

EBERLEIN, G. A. et al. A new molecular form of PYY: structural characterization of human PYY(3-36) and PYY(1-36). **Peptides**, v. 10, n. 4, p. 797-803, 1989 Jul-Aug 1989.

ELLIS, J.; LAKE, A.; HOOVER-PLOW, J. Monounsaturated canola oil reduces fat deposition in growing female rats fed a high or low fat diet. **Nutrition Research**, v. 22, n. 5, p. 609-621, 2002.

FRY, M.; FERGUSON, A. V. The sensory circumventricular organs: brain targets for circulating signals controlling ingestive behavior. **Physiol Behav**, v. 91, n. 4, p. 413-23, Jul 2007.

GRANDT, D. et al. Two molecular forms of peptide YY (PYY) are abundant in human blood: characterization of a radioimmunoassay recognizing PYY 1-36 and PYY 3-36. **Regul Pept**, v. 51, n. 2, p. 151-9, May 1994.

HALPERN, Z. S. C.; RODRIGUES, M. D. B.; DA COSTA, R. F. Determinantes fisiológicos do controle do peso e apetite. **Rev Psiq Clin**, v. 31, n. 4, p. 4, 2004.

HARIRI, N.; THIBAUT, L. High-fat diet-induced obesity in animal models. **Nutr Res Rev**, v. 23, n. 2, p. 270-99, Dec 2010.

HAUSMAN, D. B. et al. The biology of white adipocyte proliferation. **Obes Rev**, v. 2, n. 4, p. 239-54, Nov 2001.

HILL, J. O. Understanding and addressing the epidemic of obesity: an energy balance perspective. **Endocr Rev**, v. 27, n. 7, p. 750-61, Dec 2006.

IUPAC-IUB. Nomenclature and Symbolism for Amino Acids and Peptides. Recommendations 1983. **Pure & Appl Chem**, v. 56, n. 5, p. 595-624, 1984.

KARHUNEN, L. J. et al. Effect of protein, fat, carbohydrate and fibre on gastrointestinal peptide release in humans. **Regul Pept**, v. 149, n. 1-3, p. 70-8, Aug 2008.

KONG, M. F. et al. Effects of oral fructose and glucose on plasma GLP-1 and appetite in normal subjects. **Peptides**, v. 20, n. 5, p. 545-51, 1999.

KONTUREK, S. J. et al. Brain-gut axis and its role in the control of food intake. **J Physiol Pharmacol**, v. 55, n. 1 Pt 2, p. 137-54, Mar 2004.

LENARD, N. R.; BERTHOUD, H. R. Central and peripheral regulation of food intake and physical activity: pathways and genes. **Obesity** (Silver Spring), v. 16 Suppl 3, p. S11-22, Dec 2008.

LINDQVIST, A.; BAELEMANS, A.; ERLANSON-ALBERTSSON, C. Effects of sucrose, glucose and fructose on peripheral and central appetite signals. **Regul Pept**, v. 150, n. 1-3, p. 26-32, Oct 2008.

LISSNER, L. et al. Dietary fat and the regulation of energy intake in human subjects. **Am J Clin Nutr**, v. 46, n. 6, p. 886-92, Dec 1987.

LITTLE, T. J.; FEINLE-BISSET, C. Oral and gastrointestinal sensing of dietary fat and appetite regulation in humans: modification by diet and obesity. **Front Neurosci**, v. 4, p. 178, 2010.

LITTLE, T. J.; HOROWITZ, M.; FEINLE-BISSET, C. Modulation by high-fat diets of gastrointestinal function and hormones associated with the regulation of energy intake: implications for the pathophysiology of obesity. **Am J Clin Nutr**, v. 86, n. 3, p. 531-41, Sep 2007.

LOH, M. Y. et al. Dietary fat type and level influence adiposity development in obese but not lean Zucker rats. **Proc Soc Exp Biol Med**, v. 218, n. 1, p. 38-44, May 1998.

MAAS, M. I. et al. Release of peptide YY and inhibition of gastric acid secretion by long-chain and medium-chain triglycerides but not by sucrose polyester in men. **Eur J Clin Invest**, v. 28, n. 2, p. 123-30, Feb 1998.

MELA, D. J.; SACCHETTI, D. A. Sensory preferences for fats: relationships with diet and body composition. **Am J Clin Nutr**, v. 53, n. 4, p. 908-15, Apr 1991.

MENTLEIN, R. Dipeptidyl-peptidase IV (CD26)--role in the inactivation of regulatory peptides. **Regul Pept**, v. 85, n. 1, p. 9-24, Nov 1999.

MICHEL, M. C. et al. XVI. International Union of Pharmacology recommendations for the nomenclature of neuropeptide Y, peptide YY, and pancreatic polypeptide receptors. **Pharmacol Rev**, v. 50, n. 1, p. 143-50, Mar 1998.

MILLER, W. C. et al. Diet composition, energy intake, and exercise in relation to body fat in men and women. **Am J Clin Nutr**, v. 52, n. 3, p. 426-30, Sep 1990.

NYGAARD, R. et al. The PP-fold solution structure of human polypeptide YY and human PYY3-36 as determined by NMR. **Biochemistry**, v. 45, n. 27, p. 8350-7, Jul 2006.

ONAGA, T.; ZABIELSKI, R.; KATO, S. Multiple regulation of peptide YY secretion in the digestive tract. **Peptides**, v. 23, n. 2, p. 279-90, Feb 2002.

RABEN, A. et al. Determinants of postprandial appetite sensations: macronutrient intake and glucose metabolism. **Int J Obes Relat Metab Disord**, v. 20, n. 2, p. 161-9, Feb 1996.

RANGANATH, L. R. et al. Attenuated GLP-1 secretion in obesity: cause or consequence? **Gut**, v. 38, n. 6, p. 916-9, Jun 1996.

RANKINEN, T. et al. The human obesity gene map: the 2005 update. **Obesity** (Silver Spring), v. 14, n. 4, p. 529-644, Apr 2006.

RITTER, R. C. Gastrointestinal mechanisms of satiation for food. **Physiol Behav**, v. 81, n. 2, p. 249-73, Apr 2004.

SHIYA, T. et al. Plasma ghrelin levels in lean and obese humans and the effect of glucose on ghrelin secretion. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 87, n. 1, p. 240-4, Jan 2002.

SIMPSON, K. A.; MARTIN, M. N.; BLOOM, S. R. Hypothalamic regulation of food intake and clinical therapeutic applications. **Arq Bras Endocrinol Metab**, v. 53, n. 2, p. 9, 2009.

SIMPSON, S. J.; RAUBENHEIMER, D. Obesity: the protein leverage hypothesis. **Obes Rev**, v. 6, n. 2, p. 133-42, May 2005.

SU, W.; JONES, P. J. Dietary fatty acid composition influences energy accretion in rats. **J Nutr**, v. 123, n. 12, p. 2109-14, Dec 1993.

SUZUKI, K. et al. The role of gut hormones and the hypothalamus in appetite regulation. **Endocr J**, v. 57, n. 5, p. 359-72, 2010.

SWINBURN, B. A. et al. The global obesity pandemic: shaped by global drivers and local environments. **Lancet**, v. 378, n. 9793, p. 804-14, Aug 2011.

TATEMOTO, K. Isolation and characterization of peptide YY (PYY), a candidate gut hormone that inhibits pancreatic exocrine secretion. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 79, n. 8, p. 2514-8, Apr 1982.

TATEMOTO, K.; MUTT, V. Isolation of two novel candidate hormones using a chemical method for finding naturally occurring polypeptides. **Nature**, v. 285, n. 5764, p. 417-8, Jun 1980.



TATEMOTO, K. et al. Isolation and primary structure of human peptide YY. **Biochem Biophys Res Commun**, v. 157, n. 2, p. 713-7, Dec 1988.

TSCHÖP, M. et al. Circulating ghrelin levels are decreased in human obesity. **Diabetes**, v. 50, n. 4, p. 707-9, Apr 2001.

UENO, H. et al. The role of PYY in feeding regulation. **Regul Pept**, v. 145, n. 1-3, p. 12-6, Jan 2008.

VAN DAM, R. M.; SEIDELL, J. C. Carbohydrate intake and obesity. **Eur J Clin Nutr**, v. 61 Suppl 1, p. S75-99, Dec 2007.

WANG, H.; STORLIEN, L. H.; HUANG, X. F. Effects of dietary fat types on body fatness, leptin, and ARC leptin receptor, NPY, and AgRP mRNA expression. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, v. 282, n. 6, p. E1352-9, Jun 2002.

WHO. **Obesity and overweight**. Fact sheet n° 311, 2011. Disponível em <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/index.html>. Acessado em 05 de outubro de 2011.

WILLIAMS, G. et al. The hypothalamus and the control of energy homeostasis: different circuits, different purposes. **Physiol Behav**, v. 74, n. 4-5, p. 683-701, 2001 Nov-Dec 2001.

WOODS, S. C. Gastrointestinal satiety signals I. An overview of gastrointestinal signals that influence food intake. **Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol**, v. 286, n. 1, p. G7-13, Jan 2004.

ZAC-VARGHESE, S.; TAN, T.; BLOOM, S. R. Hormonal interactions between gut and brain. **Discov Med**, v. 10, n. 55, p. 543-52, Dec 2010.

**4 REVISÃO DA LITERATURA**

**ARTIGO DE REVISÃO “PAPEL DO PEPTÍDEO YY NO APETITE E MODULAÇÃO  
DE SUA SECREÇÃO POR MACRONUTRIENTES E PESO CORPORAL”**

**PERIÓDICO DE ESCOLHA**

*Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia*

Editor Científico: Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia

Área: Endocrinologia e Metabologia

Fator de Impacto: 1,000

Editor/distribuidor: SciELO Brasil

ISSN: 0004-2730

Papel do peptídeo YY no apetite e modulação de sua secreção por macronutrientes e peso corporal  
Role of peptide YY in appetite and modulation of its secretion by macronutrients and body weight

Bruna Aparecida Melo Batista<sup>1</sup>, Valesca Dall'Alba<sup>1</sup>, Marcello Casaccia Bertoluci<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Curso de Nutrição, Faculdade de Medicina, Departamento de Medicina Interna/Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil

<sup>2</sup>Faculdade de Medicina, Departamento de Medicina Interna/Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil

Autor para correspondência:

Marcello Casaccia Bertoluci

Serviço de Medicina Interna HCPA, UFRGS

Ramiro Barcelos, 2350 CEP 90035-903 Porto Alegre, RS, Brasil

E-mail: mbertoluci@uol.com.br

Título abreviado:

PYY, apetite, nutrientes e peso corporal

**Sumário:** O peptídeo YY (PYY) é um polipeptídeo de 36 aminoácidos secretado por células êntero-endócrinas L, possuindo duas formas circulantes: PYY 1-36 e PYY 3-36. A presente revisão sintetiza informações a respeito das ações do PYY sobre o apetite, de como sua secreção é modulada pela composição da dieta e como seus níveis plasmáticos se relacionam com o peso corporal. A administração exógena de ambas as formas do PYY altera o comportamento alimentar, sendo a forma PYY 3-36 responsável, principalmente, por efeitos anorexígenos. Fisiologicamente, os níveis plasmáticos de PYY são baixos no jejum e se elevam após ingestão alimentar, com a forma PYY 3-36 sendo predominante no período pós-prandial. A composição da dieta modula a secreção de PYY, porém há necessidade de mais estudos que avaliem a relação entre os níveis pós-prandiais de PYY e a saciedade, principalmente em obesos, pois existem controvérsias quanto à associação entre níveis plasmáticos de PYY e peso corporal.

**Descritores:** Peptídeo YY; apetite; macronutrientes; peso corporal

**Summary:** Peptide YY (PYY) is a 36-amino-acid polypeptide secreted from L-cells, which has two circulating forms: PYY 1-36 and PYY 3-36. This review summarizes information about the actions of PYY on appetite, how its secretion is modulated by diet composition and how their plasma levels are associated with body weight. The exogenous administration of both forms of PYY alters eating behavior and the form PYY 3-36 is mainly responsible for anorectic effects. Physiologically, the plasma levels of PYY are low in fasting state and rise after food intake. The form PYY 3-36 is predominant in the postprandial period. The composition of the diet modulates the release of PYY, but it needs further studies to assess the relationship between postprandial levels of PYY and satiety, especially in obese people, because there are controversies about the association between plasma levels of PYY and body weight.

**Keywords:** Peptide YY; appetite; macronutrients; body weight

## **Introdução**

Com a crescente incidência e prevalência de obesidade no mundo, muitas pesquisas se voltam para o estudo de diversos mecanismos reguladores da ingestão alimentar e da homeostase energética, sendo o trato gastrointestinal (TGI) objeto de grande interesse para a compreensão desses mecanismos, devido à sua constante comunicação com núcleos centrais reguladores do apetite (1).

Diversos peptídeos secretados por células êntero-endócrinas se relacionam com o comportamento alimentar, sendo o peptídeo YY (PYY) alvo de muitas pesquisas recentes, devido à sua capacidade de modular apetite (2, 3).

O objetivo dessa revisão foi sintetizar informações a respeito do PYY, quanto aos efeitos de suas formas ativas no comportamento alimentar de diferentes espécies de animais, a modulação de sua secreção pela ingestão de diferentes nutrientes e a associação entre seus níveis plasmáticos e o peso corporal. As estratégias de busca de estudos para esta revisão foram: a) utilização de descritores (PYY, peptídeo YY, peptídeo tirosina tirosina, PYY e carboidratos, PYY e proteínas, PYY e lipídeos) nas bases de dados Pubmed, Web of Science e SciELO; b) avaliação de referências relevantes citadas nos artigos obtidos na primeira estratégia de busca e c) avaliação de revisões para identificar outros artigos relevantes.

## **Estrutura molecular e distribuição tecidual do PYY**

O PYY é um polipeptídeo secretado por células êntero-endócrinas do tipo L (4). Sua nomenclatura se deve à presença do aminoácido tirosina (abreviação: Y) em ambas as extremidades N- e C-terminal da cadeia linear de 36 aminoácidos que forma sua estrutura, sendo que sua extremidade C-terminal possui a tirosina ligada a um grupo  $-NH_2$ , formando uma amida C-terminal (5). Em 1988, Tatemoto et al. (6) isolaram e identificaram a sequência de aminoácidos do PYY humano.

As formas moleculares ativas circulantes de PYY são PYY 1-36 e PYY 3-36, sendo que o PYY 3-36 se origina da ação da enzima dipeptidil peptidase - IV (DPP-IV), que cliva o dipeptídeo tirosina-prolina da extremidade N-terminal do PYY 1-36 (7).

Experimentos com radioimunoensaios e análises por imunocitoquímica/ imunohistoquímica mostraram que células endócrinas contendo PYY se encontram principalmente na porção mucosa do epitélio intestinal (8, 9).

O conteúdo tecidual de PYY aumenta no sentido proximal-distal do TGI, em diferentes espécies de mamíferos, de forma pronunciada a partir do íleo (10). Por exemplo, no intestino humano, o conteúdo de PYY é menor que 10 pmol/g de tecido no duodeno, mas aumenta de forma progressiva ao longo do jejuno e do íleo, chegando a 480 pmol/g de tecido no reto (9).

Estudos em animais mostraram que o PYY também está presente em fibras nervosas mioentéricas e em diversas regiões do sistema nervoso central, como núcleo do trato solitário, hipotálamo, ponte e medula espinhal (10).

### **Família do PYY e seus receptores**

O PYY pertence à família de peptídeos que inclui neuropeptídeo Y (NPY) e polipeptídeo pancreático (PP). Quanto à sua estrutura primária, o PYY possui aproximadamente 70% de homologia com NPY e 50% de homologia com PP (11, 12).

Os efeitos desses peptídeos se dão via receptores do tipo Y, que pertencem à família dos receptores acoplados à proteína G, sendo que cinco subtipos foram clonados em mamíferos: Y1, Y2, Y4, Y5 e y6 (13). Em primatas, o gene que codifica o y6 é considerado um pseudo-gene, pois não leva à expressão de proteína funcional (14).

Os subtipos de receptores Y possuem diferentes graus de afinidade com PYY, NPY e PP: Y1 tem como ligantes mais potentes as formas não clivadas de NPY e PYY; Y2 possui maior afinidade por formas clivadas de NPY e PYY, que possuem somente a extremidade C-terminal; Y4 tem como ligante mais potente o PP; e Y5 possui maior afinidade por NPY (14).

### **Ações do PYY no comportamento alimentar**

A administração de PYY pode resultar em alterações no comportamento alimentar, causando tanto efeitos orexígenos quanto anorexígenos (4) (**Figura 1**).

Administradas centralmente, as duas formas de PYY podem levar a efeitos opostos, dependendo do sítio de administração. Em ratos alimentados, PYY 1-36 administrado no núcleo paraventricular levou à hiperfagia (15), efeito que também foi causado após administração intracerebroventricular de PYY 1-36 em camundongos (2) e de PYY 3-36 em ratos (16). Tal ação orexígena de ambas as formas do PYY, após serem administradas nessas regiões, pode ser atribuída à ativação de receptores Y1 e Y5, pois camundongos deficientes nos dois receptores não apresentaram comportamento hiperfágico (17). Após administração direta no núcleo arqueado de ratos em jejum, o PYY 3-36 levou à redução da ingestão alimentar cumulativa de 2 horas (3), efeito provavelmente mediado por receptores Y2, expressos em grande quantidade nesse núcleo hipotalâmico (18).

Quando administrado periféricamente, a principal ação do PYY é a redução da ingestão alimentar (3). Injeções intraperitoneais de PYY 3-36 em roedores em jejum (3) ou sem privação alimentar (19), logo antes do início da fase escura, durante a qual os roedores exibem maior consumo (20), levaram à redução da ingestão alimentar cumulativa de até 24 horas.

Em camundongos apresentando obesidade induzida por dieta hiperlipídica, infusões subcutâneas diárias de PYY 3-36, durante 28 dias, provocaram redução da ingestão alimentar cumulativa e do peso corporal (21).

Tanto em camundongos com ausência do gene para o peptídeo anorexígeno pró-ópiomelanocortina (POMC) quanto em camundongos selvagens, o PYY 3-36 injetado intraperitonealmente, após jejum, levou à redução da ingestão alimentar durante as 4 horas posteriores às injeções, comparado com salina (22).

A forma PYY 1-36, que é orexígena quando administrada centralmente (2, 15), apresenta efeito anorexígeno quando administrada periféricamente em ratos (23) e em camundongos (24). Tal efeito que pode ser devido à conversão periférica de PYY 1-36 em PYY 3-36, pela ação da DPP-IV (7).

Em um estudo com primatas não humanos, a forma PYY 3-36 também exerceu efeito anorexígeno. Injeções intramusculares diárias desse peptídeo em macacos, durante quatro dias, causaram redução da ingestão alimentar durante 6 horas após as injeções, comparado com salina (25).

Em humanos, tanto indivíduos obesos quanto eutróficos se mostram sensíveis ao efeito inibitório no apetite causado pelo PYY 3-36 (3, 26). Em adultos eutróficos, PYY 3-36 reduziu a ingestão calórica, o tempo de duração de uma refeição e a ingestão de líquidos, de maneira dose-dependente (27). Duas horas após receberem infusão de PYY 3-36, em dose de 0,2 nmol/m<sup>2</sup> de área de superfície corporal, indivíduos obesos apresentaram redução de 29% na ingestão calórica de uma refeição, e indivíduos eutróficos apresentaram redução de 31%, em comparação com infusões de salina (26). Em indivíduos com sobrepeso e obesos, infusões de 0,25 pmol/Kg/min de PYY 3-36, durante 110 minutos levaram à redução de cerca de 25% na ingestão calórica, avaliada pelo consumo de uma refeição oferecida durante as infusões (28).

Estudos mostram que os efeitos anorexígenos do PYY 3-36 se dão via receptor Y2, pois animais deficientes nesse receptor não apresentam redução da ingestão alimentar após administração de PYY 3-36 (3) e o uso do BIIE0246, um antagonista desse receptor, também leva à ausência do efeito anorexígeno do PYY 3-36 (29). Em adição, a ativação de receptores Y2 inibe a liberação de NPY, neuropeptídeo que possui ação orexígena (4).

As aferências vagais gastrointestinais parecem ser a principal via de convergência dos sinais anorexígenos do PYY 3-36, pois em ratos submetidos à vagotomia a administração periférica dessa forma do PYY não alterou o consumo alimentar nem ativou neurônios no núcleo arqueado (30, 31). Além disso, a frequência de disparos neuronais em fibras nervosas vagais aferentes do estômago foi aumentada após administração intravenosa de PYY 3-36 em ratos (30).

### **Estímulos para a secreção de PYY**

Os níveis circulantes de PYY são baixos no jejum e se elevam após ingestão alimentar, atingindo picos geralmente entre 60 e 120 minutos (9, 27, 32), podendo se manter elevados por até cinco horas (9). Essa mudança pós-prandial indica que o PYY pode agir como um sinal de saciedade (33, 34). No período pós-prandial, a forma PYY 3-36 predomina, representando 54% dos níveis circulantes de PYY (35) (**Figura 1**).

Mesmo antes de chegarem às partes mais distais do intestino, onde as células entero-endócrinas contendo PYY estão presentes em maior quantidade, os nutrientes já provocam a liberação desse peptídeo na circulação (36), indicando que, durante a alimentação, a secreção de



PYY pode ser também regulada por mecanismos neurais, através do nervo vago, por mecanismos humorais, via liberação de CCK (37), ou ainda por mecanismos de transdução sensorial, com participação de receptores gustativos presentes nas células êntero-endócrinas, os quais são ativados por contato direto com nutrientes (38).

Distensão gástrica (39), consumo de água (40), alimentação simulada (41) e adoçantes artificiais não calóricos (42) não alteram a secreção de PYY.

#### *Secreção pós-prandial de PYY estimulada por conteúdo calórico*

Adrian et al. (9) mostraram pela primeira vez a relação entre conteúdo calórico de uma refeição e a secreção pós-prandial de PYY. Oferecendo para adultos saudáveis três refeições diferentes entre si nos tipos de alimentos e com conteúdo crescente de calorias, obtiveram como resultado um aumento nos níveis plasmáticos de PYY de maneira dependente da quantidade calórica. Após 120 minutos, a concentração plasmática de PYY total, partindo do jejum, sofreu incremento de 3,7 pmol/L com uma refeição de 530 Kcal; de 16,2 pmol/L com uma refeição de 870 Kcal; e de 45 pmol/L com uma refeição de 4500 Kcal (9). O incremento causado pela refeição de 4500 Kcal se manteve até cinco horas após o consumo, o que pode ser explicado pela proporção de nutrientes que ainda não havia sido digerida e absorvida (9).

Em um estudo utilizando refeições padronizadas, com diferentes conteúdos calóricos, oferecidas a adultos eutróficos, foram obtidos resultados semelhantes: comparando com o jejum, uma refeição com 1500 Kcal causou maior secreção de PYY em relação a uma refeição de 500 Kcal, e os níveis plasmáticos de PYY permaneceram maiores durante mais de 3 horas (27).

Oferecendo refeições líquidas com diferentes conteúdos calóricos, divididas em dois grupos isovolumétricos (500 mL – 250, 500 e 1000 Kcal; 900 mL – 1000, 2000 e 3000 Kcal), para adultos eutróficos e obesos, os níveis plasmáticos pós-prandiais de PYY total aumentaram de acordo com o crescente conteúdo calórico das refeições, para ambos os grupos, não havendo influência do volume destas (34).

Após serem submetidos a uma semana de consumo de dieta hipercalórica (incremento de aproximadamente 2500 Kcal no consumo calórico diário), adultos eutróficos, com sobrepeso e

obesos apresentaram níveis plasmáticos de PYY total no jejum significativamente maiores do que antes do início do período da dieta (43).

#### *Modulação da secreção de PYY por carboidratos*

Em ratos recebendo sacarose, glicose ou frutose adicionada à água disponível para consumo diário, os grupos sacarose e glicose apresentaram níveis plasmáticos de PYY total maiores após 24 horas, comparados com o grupo controle, que recebeu somente água (44). Após uma semana, não houve diferença entre os grupos, mas ao final de duas semanas, todos os grupos apresentaram níveis plasmáticos de PYY total menores que o controle, sem diferenças entre si (44).

Em humanos, infusões intragástricas de soluções contendo glicose ou frutose (dissolvidas em quantidades ajustadas para intensidade de doçura em relação à sacarose) elevaram os níveis plasmáticos de PYY total, em comparação com os níveis de jejum, após 28 minutos para infusão de glicose e após 38 minutos da infusão de frutose. Porém, em 120 minutos, a resposta secretória de PYY foi maior somente para glicose (42). As soluções foram preparadas para se igualarem em intensidade de doçura e, portanto não foram isocalóricas, já que o poder de doçura da glicose é menor que o da frutose (42), o que pode dificultar a interpretação desses resultados.

#### *Modulação da secreção de PYY por lipídeos*

Adrian et al. (9) foram os primeiros a sugerir que lipídeos são os mais potentes estimuladores da secreção de PYY. Utilizando quantidades isocalóricas (530 Kcal) de creme de leite (fonte lipídica), bacalhau cozido (fonte proteica) e glicose, oferecidas para adultos saudáveis, em diferentes dias, a secreção pós-prandial de PYY total foi estimulada de forma mais potente pela fonte lipídica, tendo pico após 120 minutos de sua ingestão. A secreção após o consumo da fonte proteica foi menor em magnitude em relação à fonte lipídica, tendo pico de concentração em cerca de 90 minutos, e a glicose consumida estimulou a secreção além dos níveis de jejum somente nos primeiros 30 minutos após sua ingestão, não sendo significativa a partir dos 60 minutos (9).

Indivíduos obesos, após uma semana de adaptação a uma dieta com distribuição normal de macronutrientes (65% de carboidratos, 25% de lipídeos, 10% de proteína) ou a uma dieta

hiperlipídica/hipoglicídica (6% de carboidratos, 74% de lipídeos e 20% de proteína), não apresentaram diferenças quanto aos níveis plasmáticos de PYY total no jejum (45). Porém após consumo de refeições teste, uma refeição hiperlipídica/hipoglicídica levou a uma maior resposta secretória de PYY (45).

Para mulheres obesas hiperinsulinêmicas, refeições líquidas hiperglicídicas, hiperlipídicas ou hiperproteicas, provendo 30% das necessidades diárias individuais de energia, foram oferecidas a fim de se avaliar a resposta secretória de PYY 3-36, e o resultado obtido mostrou que a refeição hiperlipídica aumentou os níveis plasmáticos de PYY 3-36 de forma significativa 30 minutos após a ingestão, em comparação com as outras refeições (46).

Em cachorros, os níveis plasmáticos de PYY total não se alteraram por infusão intraduodenal de peptonas, mas após co-infusão de lipídeos, elevaram-se 200% em relação aos níveis de jejum (47).

Diferentes tipos de lipídeos causam diferentes respostas secretórias de PYY. Um estudo comparado o efeito de infusões intraduodenais de óleos fontes de ácidos graxos de cadeia longa mostrou que óleo de peixe, fonte de ácidos graxos de cadeia com 20-22 carbonos, e óleo de milho, fonte de ácidos graxos de cadeia com 18 carbonos, elevaram os níveis plasmáticos de PYY total em comparação com os níveis de jejum, mas não diferiram entre si nesse efeito (48). Porém, comparando-se o efeito de infusões intraduodenais de óleo de milho e de triacilgliceróis de cadeia média, ambas também estimularam a secreção de PYY além dos níveis de jejum, mas o óleo de milho, fonte de ácidos graxos de cadeia longa, teve maior efeito (35).

Utilizando ácidos graxos livres, estudos mostraram diferentes respostas secretórias de PYY em relação ao tamanho da cadeia dos ácidos graxos. Ácido láurico (12 carbonos) e oleato de sódio (ácido oleico ligado a um átomo de sódio; 18 carbonos), administrados intraduodenalmente em indivíduos saudáveis, elevaram significativamente os níveis plasmáticos de PYY total em relação aos níveis de jejum, porém o efeito do oleato de sódio foi maior em comparação com o ácido láurico (49); e ácido decanóico (10 carbonos) não estimulou a secreção de PYY (50).

Comparando o efeito de triacilgliceróis e de ácidos graxos isolados, um estudo mostrou que infusões intragástricas de óleo de macadâmia e de ácido oleico, em indivíduos saudáveis, causaram elevação dos níveis plasmáticos de PYY total além dos níveis de jejum, porém esse aumento foi significativamente maior em resposta ao ácido oléico (51). Outro estudo mostrou que, em ratos, a

administração de óleo de milho no duodeno e no íleo falhou em produzir secreção de PYY além dos níveis de jejum, ao longo de 120 minutos, ao passo que ácido oleico produziu respostas secretórias significativas a partir de 60 minutos (52).

Avaliando o efeito de fontes de ácidos graxos de cadeia longa com diferentes graus de saturação, um estudo em humanos mostrou que infusões intraileais de óleo de karité (fonte de ácidos graxos saturados), óleo de canola (fonte de ácidos graxos monoinsaturados) e óleo de cártamo (fonte de ácidos graxos poliinsaturados) foram capazes de elevar os níveis plasmáticos de PYY total em relação aos níveis de jejum, sem diferenças entre as infusões (53).

Utilizando diferentes fontes lipídicas em situações mais próximas dos hábitos alimentares, também foram encontradas diferenças na resposta secretória de PYY. Em cachorros, após seis meses de adaptação a dietas tendo como fonte lipídica óleo de oliva [fonte de ácido oleico (18 carbonos)] ou óleo de semente de girassol [fonte de ácido linoleico (20 carbonos)], o grupo com óleo de oliva apresentou significativamente maior concentração plasmática de PYY total no jejum; e após consumo de refeições teste, semelhantes em fonte lipídica de acordo com as respectivas dietas, o grupo com óleo de oliva também apresentou significativamente maior resposta secretória de PYY total após o consumo (54).

Resultados semelhantes foram encontrados em humanos após 30 dias de adaptação a dietas com óleo de oliva ou óleo de girassol como fonte lipídica: o grupo adaptado à dieta com óleo de oliva apresentou concentração plasmática de PYY total no jejum significativamente maior do que o grupo tendo óleo de girassol como fonte lipídica, e essa diferença permaneceu após consumo de refeições teste, com fontes lipídicas de acordo com as respectivas dietas (55). A análise do consumo alimentar desse estudo com humanos foi realizada com base em registros alimentares feitos pelos próprios indivíduos, assim, os resultados devem analisados com cuidado, pelo risco de sub-relato.

Ácidos graxos sob a forma de ésteres de sacarose (oleato, palmitato, estearato, linoleato), que são compostos não digeríveis e não absorvíveis pelo TGI, não produziram efeito na secreção de PYY em humanos (35).

### *Modulação da secreção de PYY por proteínas*

Alguns estudos sugerem que proteínas são estimuladores mais potentes da secreção de PYY. Após consumirem refeições isocalóricas hiperglicídicas, hiperlipídicas ou hiperproteicas, adultos eutróficos e obesos apresentaram níveis plasmáticos de PYY total e da forma PYY 3-36 significativamente maiores após consumo de refeição hiperproteica (56).

Em um estudo com crianças eutróficas e obesas, utilizando refeições isocalóricas hiperglicídicas, hiperlipídicas ou hiperproteicas, os níveis plasmáticos pós-prandiais de PYY total em um período de 4 horas, partindo do estado de jejum, foram significativamente maiores para as obesas após consumo da refeição hiperproteica (57). Para as eutróficas, não houve diferença entre as refeições (57).

Em camundongos, dietas hiperproteicas, sendo hiper ou hipolipídicas, promoveram maiores níveis plasmáticos de PYY total, em comparação com dietas normais em proteínas (56).

Um estudo com ratos mostrou que tanto lipídeos quanto proteínas são potentes estimuladores da secreção da forma PYY 3-36 (58). Infusões jejunais isocalóricas de ácido linoleico e de caseína resultaram em maior secreção de PYY 3-36, comparadas com infusões de salina, ao passo que infusões de glicose causaram inibição da secreção desse peptídeo (58).

Considerando o uso de proteínas integrais ou hidrolisadas, um estudo em humanos avaliou o efeito de proteína do soro do leite, de caseína (integrais) e de seus hidrolisados, e mostrou que após infusões intragástricas, todos foram capazes de elevar os níveis plasmáticos de PYY total em relação aos níveis de jejum, não diferindo entre si (59).

### **Associação entre peso corporal e níveis plasmáticos de PYY**

Ratos submetidos à obesidade induzida por dieta hiperlipídica apresentaram níveis plasmáticos de PYY total (PYY 1-36 e PYY 3-36) no jejum significativamente menores em comparação com ratos resistentes à indução de obesidade, e menor expressão de RNA mensageiro de PYY no íleo e no cólon (60).

Em camundongos obesos, os níveis plasmáticos de PYY total, tanto no jejum quanto após ingestão alimentar, apresentaram-se mais baixos do que em camundongos não obesos (34). Além

disso, os obesos apresentaram maior conteúdo de PYY no tecido colônico, porém sem diferença significativa para a expressão de RNA mensageiro de PYY nesse tecido, sugerindo que em obesos não há prejuízo na síntese desse peptídeo, mas sim na sua secreção (34).

Estudos em humanos também mostraram que obesos possuem menores níveis de PYY no estado de jejum e apresentam menor resposta secretória desse peptídeo no período pós-prandial (26, 34), porém há controvérsias (61).

Em um estudo avaliando os níveis plasmáticos de PYY em adultos eutróficos e obesos, em jejum e após refeições *ad libitum*, Batterham et al. (26) mostraram que o grupo obeso apresentou níveis plasmáticos de PYY total significativamente menores no jejum e após ingestão alimentar, havendo uma correlação negativa entre os níveis no jejum e o índice de massa corporal. Analisando especificamente o PYY 3-36, foi encontrado que, no jejum, indivíduos obesos também apresentaram menores níveis plasmáticos dessa forma do PYY, em comparação com indivíduos eutróficos (56).

Quando utilizadas refeições com cargas calóricas definidas, de 250 a 3000 quilocalorias (Kcal), foi encontrado que o pico de resposta pós-prandial de PYY total para obesos foi significativamente menor do que para os eutróficos, para todas as cargas, além do fato de os obesos também terem apresentado menores níveis plasmáticos de PYY no jejum (34). Em adição, os menores picos de resposta para os indivíduos obesos foram acompanhados por menores escores de plenitude, após refeições com 1000, 2000 e 3000 Kcal (34).

Contudo, comparando os níveis plasmáticos de PYY total no jejum entre adultos com anorexia nervosa (mulheres), eutróficos e obesos, um estudo mostrou que indivíduos eutróficos não diferiram dos obesos, e as anoréxicas apresentaram maiores níveis de PYY em relação aos outros indivíduos (61). Além disso, para os obesos, uma redução de 5,4% no peso corporal foi acompanhada por um decréscimo de 30% nos níveis de PYY no jejum, e para as anoréxicas, o ganho de peso de 7,6 Kg após terapia especializada não teve efeito na concentração plasmática de PYY (61). Acompanhando esses resultados, tanto antes quanto após serem submetidos a uma semana de consumo de dieta hipercalórica, adultos eutróficos, com sobrepeso e obesos não diferiram entre si quanto aos níveis plasmáticos de PYY no jejum (43).

Em um estudo com adolescentes eutróficos e obesos, de ambos os sexos, os níveis plasmáticos de PYY total no jejum não diferiram entre os grupos, e os adolescentes eutróficos apresentaram semelhantes níveis plasmáticos após consumirem refeições com diferentes conteúdos

calóricos, o que não ocorreu com os obesos, que precisaram de mais calorias para apresentar níveis plasmáticos de PYY semelhantes aos dos eutróficos (62).

Em adolescentes do sexo feminino, os níveis plasmáticos de PYY total no jejum não diferiram entre anoréxicas, eutróficas e obesas (33). Entretanto, após 15 minutos de ingestão de uma refeição líquida, o grupo eutrófico apresentou aumento significativo dos níveis de PYY total em relação aos outros grupos, e após controlar para agrupamento, uma correlação positiva foi encontrada entre a diminuição dos escores de fome e o aumento dos níveis plasmáticos absolutos de PYY (33).

Entre crianças eutróficas e com sobrepeso, Lomenick et al. (32) não encontraram diferenças entre os níveis plasmáticos de PYY total no jejum, apesar de haver uma tendência para maiores níveis no grupo sobrepeso. Porém as respostas pós-prandiais de PYY foram significativamente maiores para as eutróficas no intervalo de tempo de uma hora após o consumo de uma refeição com 400 Kcal, não havendo diferença para as obesas; porém após uma hora do consumo de uma refeição com 600 Kcal, as respostas pós-prandiais foram significativamente maiores para ambos os grupos em relação ao momento pré-refeição (32).

Em um estudo com crianças e adolescentes eutróficos e obesos, o grupo obeso apresentou significativamente menores níveis plasmáticos de PYY total no jejum comparado ao grupo eutrófico, mas após um ano de participação em um programa de redução de peso, os níveis plasmáticos de PYY total no jejum aumentaram de forma significativa em relação à medida anterior ao início do programa (63).

Em gestantes adultas também foi encontrada influência do ganho de peso nos níveis plasmáticos de PYY. Tanto em jejum quanto durante duas horas após o início da ingestão de uma refeição de 527 Kcal, as gestantes obesas apresentaram níveis plasmáticos de PYY 3-36 significativamente menores quando comparadas com gestantes eutróficas e com sobrepeso (64).

A associação entre peso corporal e níveis plasmáticos de PYY não apresenta controvérsias somente em indivíduos com excesso de peso comparados com eutróficos. Um estudo conduzido somente com adultos eutróficos mostrou que após consumo de bebida rica em lipídeos, metade dos indivíduos apresentou níveis plasmáticos de PYY total significativamente maiores em relação ao consumo de bebida controle, e a outra metade não apresentou mudanças na resposta secretória de PYY (65). Além disso, houve forte correlação positiva entre a maior resposta secretória de PYY e a diminuição dos escores de fome (65).

**Conclusões**

A administração periférica de PYY, principalmente da forma PYY 3-36, leva a efeitos inibitórios no apetite, tanto em animais quanto em humanos, sugerindo que esse peptídeo modula de forma importante o comportamento alimentar.

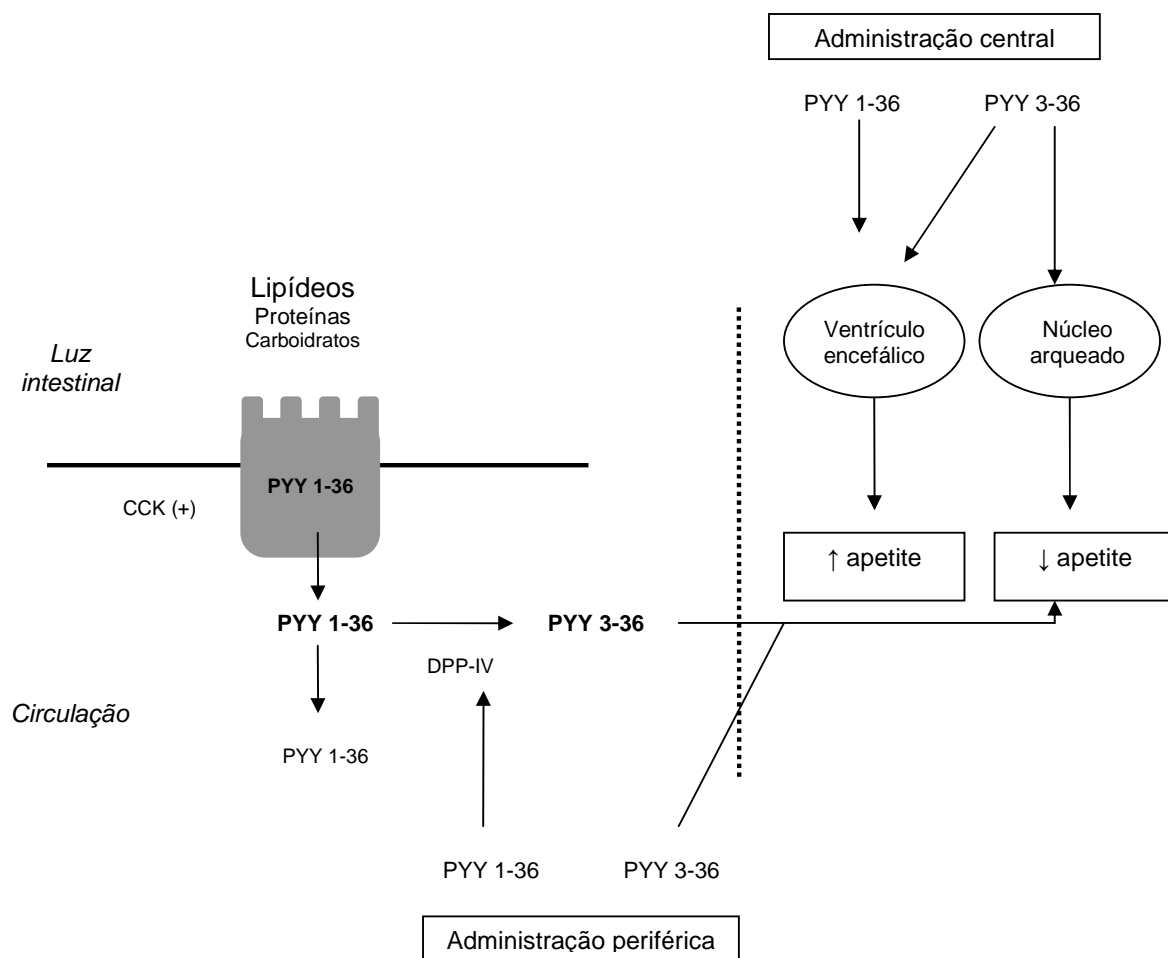
A composição da dieta e os tipos de macronutrientes influenciam a secreção desse peptídeo, com lipídeos e proteínas tendo efeitos mais pronunciados do que carboidratos. O grau de hidrólise proteica parece não afetar a secreção de PYY, porém quanto aos lipídeos, o grau de hidrólise e o tamanho da cadeia dos ácidos graxos influenciam de maneiras diferentes sua secreção.

Há necessidade de mais trabalhos que avaliem o grau de influência da secreção pós-prandial de PYY na saciedade, principalmente em obesos, pois existem controvérsias quanto à associação entre níveis plasmáticos de PYY e peso corporal.

**Conflitos de interesse**

Os autores declaram não haver quaisquer conflitos de interesse.





**Figura 1.** Resumo esquemático sobre os estímulos para a secreção de PYY e sobre as consequências de sua administração exógena no comportamento alimentar.

## Referências

1. Konturek SJ, Konturek JW, Pawlik T, Brzozowski T. Brain-gut axis and its role in the control of food intake. *J Physiol Pharmacol*. 2004;55(1 Pt 2):137-54.
2. Nakajima M, Inui A, Teranishi A, Miura M, Hirosue Y, Okita M, et al. Effects of pancreatic polypeptide family peptides on feeding and learning behavior in mice. *J Pharmacol Exp Ther*. 1994;268(2):1010-4.
3. Batterham RL, Cowley MA, Small CJ, Herzog H, Cohen MA, Dakin CL, et al. Gut hormone PYY(3-36) physiologically inhibits food intake. *Nature*. 2002;418(6898):650-4.
4. Ballantyne GH. Peptide YY(1-36) and peptide YY(3-36): Part I. Distribution, release and actions. *Obes Surg*. 2006;16(5):651-8.
5. Tatemoto K. Isolation and characterization of peptide YY (PYY), a candidate gut hormone that inhibits pancreatic exocrine secretion. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1982;79(8):2514-8.
6. Tatemoto K, Nakano I, Makk G, Angwin P, Mann M, Schilling J, et al. Isolation and primary structure of human peptide YY. *Biochem Biophys Res Commun*. 1988;157(2):713-7.
7. Mentlein R. Dipeptidyl-peptidase IV (CD26)--role in the inactivation of regulatory peptides. *Regul Pept*. 1999;85(1):9-24.
8. Lundberg JM, Tatemoto K, Terenius L, Hellström PM, Mutt V, Hökfelt T, et al. Localization of peptide YY (PYY) in gastrointestinal endocrine cells and effects on intestinal blood flow and motility. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1982;79(14):4471-5.
9. Adrian TE, Ferri GL, Bacarese-Hamilton AJ, Fuessl HS, Polak JM, Bloom SR. Human distribution and release of a putative new gut hormone, peptide YY. *Gastroenterology*. 1985;89(5):1070-7.
10. Ekblad E, Sundler F. Distribution of pancreatic polypeptide and peptide YY. *Peptides*. 2002;23(2):251-61.
11. Tatemoto K. Neuropeptide Y: complete amino acid sequence of the brain peptide. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1982;79(18):5485-9.
12. Gehlert DR. Multiple receptors for the pancreatic polypeptide (PP-fold) family: physiological implications. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1998;218(1):7-22.

13. Berglund MM, Hipskind PA, Gehlert DR. Recent developments in our understanding of the physiological role of PP-fold peptide receptor subtypes. *Exp Biol Med (Maywood)*. 2003;228(3):217-44.
14. Michel MC, Beck-Sickinger A, Cox H, Doods HN, Herzog H, Larhammar D, et al. XVI. International Union of Pharmacology recommendations for the nomenclature of neuropeptide Y, peptide YY, and pancreatic polypeptide receptors. *Pharmacol Rev*. 1998;50(1):143-50.
15. Stanley BG, Daniel DR, Chin AS, Leibowitz SF. Paraventricular nucleus injections of peptide YY and neuropeptide Y preferentially enhance carbohydrate ingestion. *Peptides*. 1985;6(6):1205-11.
16. Tschöp M, Castañeda TR, Joost HG, Thöne-Reineke C, Ortmann S, Klaus S, et al. Physiology: does gut hormone PYY3-36 decrease food intake in rodents? *Nature*. 2004;430(6996):1 p following 165; discussion 2 p following
17. Kanatani A, Mashiko S, Murai N, Sugimoto N, Ito J, Fukuroda T, et al. Role of the Y1 receptor in the regulation of neuropeptide Y-mediated feeding: comparison of wild-type, Y1 receptor-deficient, and Y5 receptor-deficient mice. *Endocrinology*. 2000;141(3):1011-6.
18. Broberger C, Landry M, Wong H, Walsh JN, Hökfelt T. Subtypes Y1 and Y2 of the neuropeptide Y receptor are respectively expressed in pro-opiomelanocortin- and neuropeptide-Y-containing neurons of the rat hypothalamic arcuate nucleus. *Neuroendocrinology*. 1997;66(6):393-408.
19. Nordheim U, Hofbauer KG. Stimulation of NPY Y2 receptors by PYY3-36 reveals divergent cardiovascular effects of endogenous NPY in rats on different dietary regimens. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2004;286(1):R138-42.
20. Clifton PG. Meal patterning in rodents: psychopharmacological and neuroanatomical studies. *Neurosci Biobehav Rev*. 2000;24(2):213-22.
21. Pittner RA, Moore CX, Bhavsar SP, Gedulin BR, Smith PA, Jodka CM, et al. Effects of PYY[3-36] in rodent models of diabetes and obesity. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2004;28(8):963-71.
22. Challis BG, Coll AP, Yeo GS, Pinnock SB, Dickson SL, Thresher RR, et al. Mice lacking pro-opiomelanocortin are sensitive to high-fat feeding but respond normally to the acute anorectic effects of peptide-YY(3-36). *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004;101(13):4695-700.
23. Chelikani PK, Haver AC, Reidelberger RD. Intravenous infusion of peptide YY(3-36) potently inhibits food intake in rats. *Endocrinology*. 2005;146(2):879-88.

24. Asakawa A, Inui A, Yuzuriha H, Ueno N, Katsuura G, Fujimiya M, et al. Characterization of the effects of pancreatic polypeptide in the regulation of energy balance. *Gastroenterology*. 2003;124(5):1325-36.
25. Moran TH, Smedh U, Kinzig KP, Scott KA, Knipp S, Ladenheim EE. Peptide YY(3-36) inhibits gastric emptying and produces acute reductions in food intake in rhesus monkeys. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2005;288(2):R384-8.
26. Batterham RL, Cohen MA, Ellis SM, Le Roux CW, Withers DJ, Frost GS, et al. Inhibition of food intake in obese subjects by peptide YY3-36. *N Engl J Med*. 2003;349(10):941-8.
27. Degen L, Oesch S, Casanova M, Graf S, Ketterer S, Drewe J, et al. Effect of peptide YY3-36 on food intake in humans. *Gastroenterology*. 2005;129(5):1430-6.
28. Field BC, Wren AM, Peters V, Baynes KC, Martin NM, Patterson M, et al. PYY3-36 and oxyntomodulin can be additive in their effect on food intake in overweight and obese humans. *Diabetes*. 2010;59(7):1635-9.
29. Abbott CR, Small CJ, Kennedy AR, Neary NM, Sajedi A, Ghatei MA, et al. Blockade of the neuropeptide Y Y2 receptor with the specific antagonist BIIE0246 attenuates the effect of endogenous and exogenous peptide YY(3-36) on food intake. *Brain Res*. 2005;1043(1-2):139-44.
30. Koda S, Date Y, Murakami N, Shimbara T, Hanada T, Toshinai K, et al. The role of the vagal nerve in peripheral PYY3-36-induced feeding reduction in rats. *Endocrinology*. 2005;146(5):2369-75.
31. Abbott CR, Monteiro M, Small CJ, Sajedi A, Smith KL, Parkinson JR, et al. The inhibitory effects of peripheral administration of peptide YY(3-36) and glucagon-like peptide-1 on food intake are attenuated by ablation of the vagal-brainstem-hypothalamic pathway. *Brain Res*. 2005;1044(1):127-31.
32. Lomenick JP, Clasey JL, Anderson JW. Meal-related changes in ghrelin, peptide YY, and appetite in normal weight and overweight children. *Obesity (Silver Spring)*. 2008;16(3):547-52.
33. Stock S, Leichner P, Wong AC, Ghatei MA, Kieffer TJ, Bloom SR, et al. Ghrelin, peptide YY, glucose-dependent insulinotropic polypeptide, and hunger responses to a mixed meal in anorexic, obese, and control female adolescents. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005;90(4):2161-8.
34. Le Roux CW, Batterham RL, Aylwin SJ, Patterson M, Borg CM, Wynne KJ, et al. Attenuated peptide YY release in obese subjects is associated with reduced satiety. *Endocrinology*. 2006;147(1):3-8.

35. Maas MI, Hopman WP, Katan MB, Jansen JB. Release of peptide YY and inhibition of gastric acid secretion by long-chain and medium-chain triglycerides but not by sucrose polyester in men. *Eur J Clin Invest.* 1998;28(2):123-30.
36. Fu-Cheng X, Anini Y, Chariot J, Voisin T, Galmiche JP, Rozé C. Peptide YY release after intraduodenal, intraileal, and intracolonic administration of nutrients in rats. *Pflugers Arch.* 1995;431(1):66-75.
37. Burdyga G, de Lartigue G, Raybould HE, Morris R, Dimaline R, Varro A, et al. Cholecystokinin regulates expression of Y2 receptors in vagal afferent neurons serving the stomach. *J Neurosci.* 2008;28(45):11583-92.
38. Steinert R, Gerspach A, Gutmann H, Asarian L, Drewe J, Beglinger C. The functional involvement of gut-expressed sweet taste receptors in glucose-stimulated secretion of glucagon-like peptide-1 (GLP-1) and peptide YY (PYY). *Clinical Nutrition.* 2011;30(4):524-32.
39. Oesch S, Rüegg C, Fischer B, Degen L, Beglinger C. Effect of gastric distension prior to eating on food intake and feelings of satiety in humans. *Physiol Behav.* 2006;87(5):903-10.
40. Pedersen-Bjergaard U, Høst U, Kelbaek H, Schifter S, Rehfeld JF, Faber J, et al. Influence of meal composition on postprandial peripheral plasma concentrations of vasoactive peptides in man. *Scand J Clin Lab Invest.* 1996;56(6):497-503.
41. Symersky T, Biemond I, Frolich M, Masclee AA. Effect of peptide YY on pancreatico-biliary secretion in humans. *Scand J Gastroenterol.* 2005;40(8):944-9.
42. Steinert RE, Frey F, Töpfer A, Drewe J, Beglinger C. Effects of carbohydrate sugars and artificial sweeteners on appetite and the secretion of gastrointestinal satiety peptides. *Br J Nutr.* 2011;105(9):1320-8.
43. Cahill F, Shea JL, Randell E, Vasdev S, Sun G. Serum peptide YY in response to short-term overfeeding in young men. *Am J Clin Nutr.* 2011;93(4):741-7.
44. Lindqvist A, Baelemans A, Erlanson-Albertsson C. Effects of sucrose, glucose and fructose on peripheral and central appetite signals. *Regul Pept.* 2008;150(1-3):26-32.
45. Essah PA, Levy JR, Sistrun SN, Kelly SM, Nestler JE. Effect of macronutrient composition on postprandial peptide YY levels. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007;92(10):4052-5.
46. Helou N, Obeid O, Azar ST, Hwalla N. Variation of postprandial PYY 3-36 response following ingestion of differing macronutrient meals in obese females. *Ann Nutr Metab.* 2008;52(3):188-95.

47. Fung LC, Chisholm C, Greenberg GR. Glucagon-like peptide-1-(7-36) amide and peptide YY mediate intraduodenal fat-induced inhibition of acid secretion in dogs. *Endocrinology*. 1998;139(1):189-94.
48. Jonkers IJ, Ledebouer M, Steens J, Smelt AH, Masclee AA. Effects of very long chain versus long chain triglycerides on gastrointestinal motility and hormone release in humans. *Dig Dis Sci*. 2000;45(9):1719-26.
49. Feltrin KL, Little TJ, Meyer JH, Horowitz M, Rades T, Wishart J, et al. Comparative effects of intraduodenal infusions of lauric and oleic acids on antropyloroduodenal motility, plasma cholecystokinin and peptide YY, appetite, and energy intake in healthy men. *Am J Clin Nutr*. 2008;87(5):1181-7.
50. Feltrin KL, Patterson M, Ghatei MA, Bloom SR, Meyer JH, Horowitz M, et al. Effect of fatty acid chain length on suppression of ghrelin and stimulation of PYY, GLP-2 and PP secretion in healthy men. *Peptides*. 2006;27(7):1638-43.
51. Little TJ, Russo A, Meyer JH, Horowitz M, Smyth DR, Bellon M, et al. Free fatty acids have more potent effects on gastric emptying, gut hormones, and appetite than triacylglycerides. *Gastroenterology*. 2007;133(4):1124-31.
52. Aponte GW, Park K, Hess R, Garcia R, Taylor IL. Meal-induced peptide tyrosine tyrosine inhibition of pancreatic secretion in the rat. *FASEB J*. 1989;3(8):1949-55.
53. Maljaars J, Romeyn EA, Haddeman E, Peters HP, Masclee AA. Effect of fat saturation on satiety, hormone release, and food intake. *Am J Clin Nutr*. 2009;89(4):1019-24.
54. Yago MD, Martinez-Victoria E, Mañas M, Martinez MA, Mataix J. Plasma Peptide YY and Pancreatic Polypeptide in Dogs After Long-Term Adaptation to Dietary Fats of Different Degrees of Saturation: Olive and Sunflower Oil. *The Journal of Nutritional Biochemistry*. 1997;8(9):502-7.
55. Serrano P, Yago MD, Mañas M, Calpena R, Mataix J, Martínez-Victoria E. Influence of type of dietary fat (olive and sunflower oil) upon gastric acid secretion and release of gastrin, somatostatin, and peptide YY in man. *Dig Dis Sci*. 1997;42(3):626-33.
56. Batterham RL, Heffron H, Kapoor S, Chivers JE, Chandarana K, Herzog H, et al. Critical role for peptide YY in protein-mediated satiation and body-weight regulation. *Cell Metab*. 2006;4(3):223-33.

57. Lomenick JP, Melguizo MS, Mitchell SL, Summar ML, Anderson JW. Effects of meals high in carbohydrate, protein, and fat on ghrelin and peptide YY secretion in prepubertal children. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009;94(11):4463-71.
58. Dailey MJ, Tamashiro KL, Terrillion CE, Moran TH. Nutrient specific feeding and endocrine effects of jejunal infusions. *Obesity (Silver Spring).* 2010;18(5):904-10.
59. Calbet JA, Holst JJ. Gastric emptying, gastric secretion and enterogastrone response after administration of milk proteins or their peptide hydrolysates in humans. *Eur J Nutr.* 2004;43(3):127-39.
60. Yang N, Wang C, Xu M, Mao L, Liu L, Sun X. Interaction of dietary composition and PYY gene expression in diet-induced obesity in rats. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci.* 2005;25(3):243-6.
61. Pfluger PT, Kampe J, Castaneda TR, Vahl T, D'Alessio DA, Kruthaupt T, et al. Effect of human body weight changes on circulating levels of peptide YY and peptide YY3-36. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007;92(2):583-8.
62. Mittelman SD, Klier K, Braun S, Azen C, Geffner ME, Buchanan TA. Obese adolescents show impaired meal responses of the appetite-regulating hormones ghrelin and PYY. *Obesity (Silver Spring).* 2010;18(5):918-25.
63. Roth CL, Enriori PJ, Harz K, Woelfle J, Cowley MA, Reinehr T. Peptide YY is a regulator of energy homeostasis in obese children before and after weight loss. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005;90(12):6386-91.
64. Sadowski K, Zwirska-Korczala K, Kuka D, Kukla M, Budziszewska P, Czuba B, et al. Basal and postprandial gut peptides affecting food intake in lean and obese pregnant women. *J Physiol Pharmacol.* 2007;58 Suppl 1:37-52.
65. Stoeckel LE, Weller RE, Giddings M, Cox JE. Peptide YY levels are associated with appetite suppression in response to long-chain fatty acids. *Physiol Behav.* 2008;93(1-2):289-95.

### 3 JUSTIFICATIVA

Há uma complexa interação entre sistemas centrais e periféricos que regulam a ingestão alimentar e a homeostase energética, sendo o TGI fonte periférica de diversos peptídeos envolvidos na modulação do apetite. Compreender as ações de tais peptídeos e os fatores dietéticos que os modulam, principalmente macronutrientes com potencial obesogênico, pode auxiliar no planejamento de melhores estratégias para combater a obesidade e suas complicações.



## 4 OBJETIVOS

### 4.1 OBJETIVO GERAL

Estudar o efeito da sobrecarga oral aguda de diferentes tipos de lipídeos na secreção de PYY.

### 4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Medir seriadamente, nos tempos 0, 15, 30, 60 e 120 minutos, os níveis séricos de PYY 3-36, em ratos Wistar, após sobrecarga oral aguda de:
  - Fonte de ácidos graxos monoinsaturados (óleo de oliva);
  - Fonte de ácidos graxos saturados (banha suína);
  - Glicose;
  - Veículo.

**5 ARTIGO ORIGINAL**

**“RESPOSTA SECRETÓRIA DE PEPTÍDEO YY (3-36) APÓS SOBRECARGA ORAL AGUDA DE FONTE DE ÁCIDOS GRAXOS MONOINSATURADOS E FONTE DE ÁCIDOS GRAXOS SATURADOS EM RATOS WISTAR”**

**PERIÓDICO DE ESCOLHA**

*Regulatory Peptides*

Editor Científico: Elsevier

Áreas: Morfologia, Citoquímica, Bioquímica, Fisiologia, Patologia, Farmacologia, Psicologia

Fator de Impacto: 2.473

Editor/distribuidor: Elsevier

ISSN: 0167-0115

**Resposta secretória de peptídeo YY (3-36) após sobrecarga oral aguda de fonte de ácidos graxos monoinsaturados e fonte de ácidos graxos saturados em ratos Wistar**

Bruna A. M. Batista<sup>a</sup>, Luciana da C. Antunes<sup>b</sup>, Manoela N. da Jornada<sup>b</sup>,  
Kelly C. Foletto<sup>b</sup>, Marcello C. Bertoluci<sup>bc\*</sup>

<sup>a</sup>Curso de Nutrição, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul  
Ramiro Barcelos, 2400 CEP 90035-003 Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil

<sup>b</sup>Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas, Faculdade de Medicina, Universidade  
Federal do Rio Grande do Sul  
Ramiro Barcelos, 2400 CEP 90035-003 Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil

<sup>c</sup>Serviço de Medicina Interna/Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Faculdade de Medicina,  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil  
Ramiro Barcelos, 2350 CEP 90035-003 Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil

\*Autor para correspondência:

Marcello Casaccia Bertoluci

Serviço de Medicina Interna, HCPA, UFRGS

Ramiro Barcelos, 2350 CEP 90035-003 Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil

Fone/Fax: + 55 51 3359 8152

E-mail: mbertoluci@uol.com.br

**Resumo:** O peptídeo YY (PYY) é um polipeptídeo de 36 aminoácidos secretado pelas células L intestinais, que possui efeito predominantemente anorexígeno, estando presente na circulação sob as formas PYY (1-36) e PYY (3-36), sendo sua secreção estimulada por macronutrientes. O presente estudo foi um experimento controlado que avaliou a resposta secretória aguda da forma PYY (3-36) em 36 ratos Wistar (~300g), distribuídos em 4 grupos (9 animais/grupo) de acordo com a sobrecarga oral isocalórica (~7,8 kcal) de diferentes macronutrientes, administrados por gavagem: grupo MONO (óleo de oliva: fonte de ácidos graxos monoinsaturados); grupo SAT (banha suína: fonte de ácidos graxos saturados); grupo GLI (glicose) e grupo Controle (água). O veículo para os macronutrientes foi água pura. O volume total calculado do conteúdo a ser administrado foi de 0,8% em relação ao peso corporal do animal. A concentração sérica de PYY (3-36) foi medida por meio do Luminex® com o kit Milliplex Map Rat Gut Hormone Panel – Millipore/Linco® nos tempos 0, 15, 30, 60 e 120 minutos após as sobrecargas. Os níveis séricos de PYY (3-36) em cada tempo foram analisados por ANOVA e teste de Tukey para múltiplas comparações. O incremento nos níveis séricos de PYY (3-36) entre 0 e 120 minutos foi expresso pela área sob a curva (ASC), calculada por método trapezoidal. Os níveis de PYY (3-36) do grupo MONO foram significativamente maiores do que o Controle nos tempos 30, 60 e 120 min ( $p < 0,05$ ), e a ASC para MONO foi significativamente maior que a ASC para o Controle ( $p < 0,05$ ). Os níveis séricos de PYY (3-36) no grupo MONO foram maiores comparados ao grupo SAT no tempo 120 minutos e maiores do que o grupo GLI no tempo 60 minutos ( $p < 0,05$ ). Os níveis séricos de PYY (3-36) do grupo SAT não diferiram do grupo Controle em nenhum tempo da curva. Em conclusão, em ratos Wistar, ácidos graxos monoinsaturados estimulam a resposta secretória de PYY (3-36) enquanto ácidos graxos saturados não apresentam o mesmo efeito nos tempos estudados. Considerando o efeito anorexígeno do PYY (3-36), a maior capacidade

dos ácidos graxos monoinsaturados em induzir saciedade através do PYY (3-36) precisa ser avaliada em futuros estudos.

**Palavras-chave:** Peptídeo YY; ácidos graxos monoinsaturados; ácidos graxos saturados

**Abstract:** Peptide YY is a 36-amino-acid polypeptide secreted by intestinal L cells, which has predominantly anorectic effect, being present in the circulation in two forms, PYY (1-36) and PYY (3-36), and its secretion is stimulated by macronutrients. This study was a controlled experiment that evaluated the acute secretory response of the form PYY (3-36) in 36 Wistar rats (~300g), divided into 4 groups (9 animal/group) according to the oral overload isocaloric (~7.8 kcal) of different macronutrients, administered by gavage: MUFA (olive oil: source of monounsaturated fatty acids), SAT (lard: source of saturated fatty acids), GLU (glucose) and Control group (water). The vehicle for the macronutrients was pure water. The total estimated volume of content to be administered was 0.8% over the animal body weight. The serum concentration of PYY (3-36) was measured using the Luminex™, with the Milliplex Map Rat Gut Hormone Panel – Millipore/Linco™ kit, at 0, 15, 30, 60 and 120 minutes after overload. Serum levels of PYY (3-36) at each time point were analyzed by ANOVA and Tukey test for multiple comparisons. The increment in serum levels of PYY (3-36) between 0 and 120 minutes was expressed by the area under de curve (AUC), calculated by trapezoidal method. Serum levels of PYY (3-36) for MUFA were significantly higher than the Control at 30, 60 and 120 minutes ( $p<0.05$ ), and AUC for MUFA was significantly higher than AUC for Control ( $p<0.05$ ). Serum levels of PYY (3-36) for MUFA were significantly higher compared to SAT at 120 minutes, and higher than GLU at 60 minutes ( $p<0.05$ ). Serum levels of PYY (3-36) for SAT did not differ from Control at any time of the curve. In conclusion, in Wistar rats, monounsaturated fatty acids stimulate the secretory response of PYY (3-36) while saturated fatty acids do not have the same effect, at times studied. Considering the anorectic effect of PYY (3-36), the greater capacity of monounsaturated fatty acids to induce satiety through PYY (3-36) needs to be evaluated in further studies.

**Keywords:** Peptide YY; monounsaturated fatty acids; saturated fatty acids

## 1. Introdução

Peptídeos originários do trato gastrointestinal tem sido objeto de interesse para a compreensão dos mecanismos regulatórios da fome e saciedade, devido à íntima comunicação com núcleos centrais reguladores do apetite [1]. Macronutrientes estimulam receptores quimio e mecanossensórios localizados no trato gastrointestinal que transmitem ao encéfalo informações capazes de modular o apetite [2]. Entre os diversos peptídeos envolvidos na regulação da ingestão alimentar, o peptídeo YY (PYY) é um importante modulador do apetite [3].

O PYY é um polipeptídeo de 36 aminoácidos secretado principalmente [4] a partir do íleo e do cólon pelas células endócrinas do tipo L [5], circulando sob duas formas: PYY (1-36) e PYY (3-36) [6], sendo que a forma PYY (3-36) se origina a partir da forma PYY (1-36) através da ação proteolítica da enzima dipeptil dipeptidase IV (DPP-IV) [7]. A forma PYY (3-36) tem sido considerada essencialmente sacietógena, com efeito inibitório no apetite quando administrada na circulação periférica em diferentes espécies de animais [8, 9]. Este efeito também é sugerido fisiologicamente, devido à elevação de seus níveis séricos após alimentação [10, 11].

Macronutrientes promovem a liberação de PYY na circulação mesmo antes de chegarem às partes mais distais do intestino [12], onde as células êntero-endócrinas contendo PYY estão presentes em maior quantidade, indicando que durante a alimentação, a secreção desse peptídeo pode ser também regulada por mecanismos neurais, através do nervo vago, por mecanismos humorais, via liberação de colecistocinina (CCK) [13], ou ainda por mecanismos de transdução sensorial, com participação de receptores gustativos presentes nas células êntero-endócrinas, os quais são ativados por contato direto com macronutrientes [14, 15].

Embora os macronutrientes possam estimular respostas secretórias de PYY, eles diferem entre si quanto à potência na estimulação [16, 17]. Estudos mostram que carboidratos estimulam a secreção de PYY de maneira menos potente do que proteínas ou lipídeos [16,

18], podendo ainda apresentar efeito inverso, ou seja, suprimindo a resposta secretória de ambas as formas do PYY [19, 20].

Lipídeos são os mais potentes estimuladores da secreção de PYY [21]. O comprimento da cadeia dos ácidos graxos parece ser crucial para esse efeito, sendo que ácidos graxos de cadeia longa promovem maior resposta secretória quando comparados com ácidos graxos de cadeia média [11].

Poucos estudos avaliaram até o momento a influência do grau de saturação de lipídeos na secreção do PYY. Há discordância na literatura em relação à existência de diferenças na capacidade estimulatória de gordura saturada e monoinsaturada na secreção do PYY [22, 23]. Um estudo mostrou que a secreção de PYY é estimulada de maneira similar tanto por sobrecarga de ácidos graxos saturados como por ácidos graxos monoinsaturados [23], enquanto outro estudo mostrou que a secreção de PYY é estimulada de maneira mais potente por ácidos graxos monoinsaturados [22].

Embora estudos mostrem que a secreção do PYY pode ser modulada por diferentes graus de saturação de lipídeos, nenhum deles avaliou especificamente a resposta secretória da forma PYY (3-36), a principal forma circulante do PYY no período pós-prandial [11].

Considerando que o papel dos lipídeos na modulação da secreção pós-prandial do PYY ainda não está bem estabelecido, o presente estudo teve como objetivo comparar o efeito de gordura monoinsaturada e gordura saturada na secreção aguda de PYY (3-36) através da administração, em ratos Wistar, de sobrecarga oral aguda de óleo contendo predominantemente ácidos graxos monoinsaturados (óleo de oliva) e de gordura fonte ácidos graxos saturados (banha suína).



## **2. Materiais e métodos**

### *2.1 Desenho do estudo*

Foi realizado um experimento controlado em ratos Wistar, distribuídos em 4 grupos de acordo com a sobrecarga oral: grupo MONO (óleo de oliva: fonte de ácidos graxos monoinsaturados); grupo SAT (banha suína: fonte de ácidos graxos saturados); grupo GLI (glicose) e grupo Controle (água), e avaliada a concentração sérica de PYY (3-36) nos tempos: 0, 15, 30, 60 e 120 minutos. Utilizamos a sobrecarga de glicose como um controle positivo e a água como um controle neutro.

### *2.2 Animais*

Para os experimentos foram utilizados 36 ratos Wistar machos adultos (9 por grupo), pesando em média 300g, com idade entre 60 e 72 dias . Três semanas antes do início dos experimentos, os animais passaram por um período de ambientação, sendo mantidos em caixas-moradia (5-6 animais por caixa), em sala de colonização com ciclo claro-escuro de 12 horas, com início às 7h, temperatura de  $22\pm 1^{\circ}\text{C}$  e controle de umidade (65-70%), com livre acesso à água e ração.

O protocolo do trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética para Procedimentos Experimentais do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Brasil (nº do protocolo: 10-224).

### *2.3 Protocolo experimental*

Após o período de ambientação, os animais foram submetidos a jejum de 12-14 horas, ao fim do qual receberam as sobrecargas orais por gavagem. O óleo de oliva, a banha suína e a glicose foram oferecidos em quantidades isocalóricas, fornecendo 0,026 Kcal/g de peso corporal, resultando em uma média de 7,8 Kcal/gavagem. O veículo para os suplementos foi

água pura. O volume total administrado (suplemento + veículo) foi de 0,8% em relação ao peso corporal do animal.

Para o preparo das gavagens, primeiramente a glicose foi dissolvida, em água submetida a leve aquecimento em forno de microondas, em uma quantidade máxima que permitisse a passagem da solução final pela agulha apropriada para o procedimento da gavagem. A partir disso, o conteúdo calórico dos suplementos lipídicos foi calculado, a fim de se manter a equivalência calórica entre as sobrecargas. A banha suína também foi submetida a leve aquecimento para facilitar sua passagem pela agulha da gavagem. A composição de ácidos graxos do óleo de oliva e da banha suína foi obtida através de programa específico para cálculos nutricionais (NutWin<sup>®</sup>) (**Tabela 1**).

Foi coletado sangue pelo plexo retro-orbital antes (0 min) e após 15, 30, 60 e 120 minutos da administração das gavagens (média de 0,6 mL de sangue em cada tempo), com posterior centrifugação e coleta do soro, para análise dos níveis de PYY (3-36). Antes de cada coleta de sangue, os ratos eram anestesiados com isoflurano.

#### *2.4 Análises séricas*

A análise do PYY (3-36) foi feita por meio do Luminex<sup>®</sup> com o kit Milliplex Map Rat Gut Hormone Panel – Millipore/Linco<sup>®</sup>.

#### *2.5 Análises estatísticas*

Os níveis séricos de PYY (3-36) em cada tempo foram analisados por ANOVA e teste de Tukey para múltiplas comparações. O incremento nos níveis séricos de PYY (3-36) entre 0 e 120 minutos foi expresso pela área sob a curva (ASC), calculada por método trapezoidal. Os resultados são apresentados em média  $\pm$  erro padrão, e um valor de  $p < 0,05$  foi considerado

significativo. Foi utilizado o programa SPSS® (IBM Corporation, Somers, NY) versão 17 para as análises estatísticas.

### 3. Resultados

Os níveis basais de PYY (3-36) foram semelhantes entre todos os grupos (**Figura 1**). MONO  $35,47 \pm 8,49$  pg/ml, SAT  $38,38 \pm 9,03$  pg/ml, GLI  $55,73 \pm 9,02$  pg/ml, Controle  $48,51 \pm 8,49$  pg/ml. Houve uma significativa interação tempo x tratamento para os níveis séricos de PYY (3-36) ( $p < 0,05$ ).

Em relação ao grupo Controle, o grupo MONO apresentou níveis séricos de PYY (3-36) significativamente maiores nos tempos 30, 60 e 120 minutos (MONO:  $64,63 \pm 8,81$  pg/ml,  $92,16 \pm 15,99$  pg/ml,  $58,14 \pm 7,34$  pg/ml; Controle:  $34,96 \pm 8,82$  pg/ml,  $30,25 \pm 15,99$  pg/ml,  $26,08 \pm 7,34$  pg/ml, para os respectivos tempos) ( $p < 0,05$ ) (**Figura 1**), e a ASC do grupo MONO ( $8283,07 \pm 1632,76$  pg/ml·min) foi significativamente maior que a ASC do Controle ( $3946,33 \pm 635,78$  pg/ml·min) ( $p < 0,05$ ) (**Figura 2**).

Em relação ao grupo SAT, o grupo MONO apresentou níveis séricos significativamente maiores de PYY (3-36) após 120 minutos (MONO:  $58,14 \pm 7,34$  pg/ml; SAT:  $31,00 \pm 7,8$  pg/ml) ( $p < 0,05$ ), e em relação ao grupo GLI, os níveis séricos foram maiores no tempo 60 minutos (MONO:  $92,16 \pm 15,99$  pg/ml; GLI:  $30,78 \pm 16,98$  pg/ml) ( $p < 0,05$ ) (**Figura 1**).

A sobrecarga oral de glicose promoveu apenas uma tendência à elevação nos níveis séricos de PYY (3-36) no tempo 15 minutos, em relação às outras sobrecargas ( $p = 0,07$ ) (**Figura 1**).

Os níveis séricos de PYY (3-36) do grupo SAT não diferiram do grupo Controle em nenhum tempo da curva (**Figura 1**), assim como não houve diferenças para a ASC desses dois grupos (**Figura 2**).

#### 4. Discussão

O presente estudo mostrou que a sobrecarga oral aguda de óleo de oliva, fonte de ácidos graxos monoinsaturados, foi potente estimuladora da secreção de PYY (3-36) em ratos Wistar, enquanto que a sobrecarga de banha suína, fonte de ácidos graxos saturados, não provocou alteração significativa na secreção desta forma específica do PYY. A sobrecarga oral aguda de glicose apresentou apenas uma tendência para promover aumento de PYY (3-36). Estes resultados mostram que o grau de saturação da gordura é importante modulador da secreção do PYY.

Há poucos estudos comparando diretamente uma sobrecarga de gordura monoinsaturada com gordura saturada e avaliando a resposta do PYY. Um estudo comparando uma sobrecarga de lipídeos saturados, utilizando creme de leite, com uma sobrecarga de glicose mostrou haver maior resposta secretória de PYY com a gordura saturada [16]. Estes resultados diferem em parte, do presente estudo, porém não são totalmente comparáveis, uma vez que a presença de proteínas na composição do creme de leite pode ter promovido estímulo adicional para a secreção de PYY.

Em outro estudo, Maljaars et al. [23], observaram que tanto ácidos graxos monoinsaturados (óleo de canola) quanto ácidos graxos saturados (óleo de karité) são capazes de elevar significativamente os níveis de PYY, comparados com controle. Esta observação difere do presente estudo, e uma possível explicação seria que no estudo de Maljaars et al. [23] foram utilizadas emulsões de gorduras enquanto que, no presente estudo, utilizamos gordura semi-sólida. Há estudos mostrando que emulsões melhoram a digestão e a absorção de ácidos graxos, podendo assim expor a célula L a maior contato com o macronutriente, levando a um maior estímulo à secreção de PYY [24]. Outra limitação importante para a comparação direta com o estudo de Maljaars et al. [23] também seria o fato de que estes autores mediram o PYY total e não a forma PYY (3-36).

Um possível mecanismo para explicar o aumento preferencial do PYY pela gordura monoinsaturada seria a regulação indireta da secreção de PYY pela colecistocinina (CCK) [25]. A CCK é um fator importante na estimulação da secreção do PYY [25]. Lipídeos estimulam a secreção de CCK de maneira mais potente do que carboidratos [26], e o grau de saturação dos ácidos graxos também interfere na sua secreção. Um estudo comparou diferentes tipos de ácidos graxos e gorduras e mostrou que a secreção de CCK foi estimulada de forma mais potente pelo ácido oleico (monoinsaturado) em comparação com ácido esteárico (saturado), assim como por óleo de oliva em comparação com banha de carneiro (fonte de ácidos graxos saturados) [27]. Desta forma, o aumento da CCK poderia explicar indiretamente o aumento dos níveis de PYY (3-36) após sobrecarga oral de óleo de oliva no presente estudo.

Outro mecanismo possivelmente importante na secreção de PYY induzido por gordura monoinsaturada seria a taxa de transformação de triacilgliceróis em ácidos graxos livres. A formação de ácidos graxos livres pela hidrólise dos triacilgliceróis é necessária para a estimulação da secreção de PYY [28], sendo que triacilgliceróis constituídos por ácidos graxos insaturados são mais bem hidrolisados e incorporados em micelas do que os constituídos por ácidos graxos saturados [23, 29]. Desta forma, no presente estudo, haveria maior proporção de ácidos graxos monoinsaturados livres entrando em contato com as células L, o que se traduziria em maior estímulo para a secreção de PYY.

Em conclusão, uma sobrecarga oral aguda de ácidos graxos monoinsaturados aumenta a secreção de PYY (3-36), o que não parece ocorrer com ácidos graxos saturados. A repercussão deste aumento de PYY (3-36) na indução de saciedade precisa ser avaliada em futuros estudos.

**Agradecimentos**

Agradecemos ao FIPE/HCPA pelo suporte financeiro e à CAPES e FAPERGS pela concessão de bolsas de pesquisa.

**Tabela 1.** Composição de ácidos graxos do óleo de oliva e da banha suína.

|                               | %             |             |
|-------------------------------|---------------|-------------|
|                               | Óleo de oliva | Banha suína |
| Ácidos graxos saturados       |               |             |
| Ácido cáprico (10:0)          |               | 0,1         |
| Ácido láurico (12:0)          |               | 0,2         |
| Ácido mirístico (14:0)        |               | 1,3         |
| Ácido palmítico (16:0)        | 11,0          | 23,8        |
| Ácido esteárico (18:0)        | 2,2           | 13,5        |
| Ácidos graxos monoinsaturados |               |             |
| Ácido palmitoleico (16:1)     | 0,8           | 2,7         |
| Ácido oleico (18:1)           | 72,5          | 41,2        |
| Ácido gadoleico (20:1)        | 0,3           | 1,0         |
| Ácidos graxos poliinsaturados |               |             |
| Ácido linoleico (18:2)        | 7,9           | 10,2        |
| Ácido linolênico (18:3)       | 0,6           | 1,0         |

## Legendas das figuras

**Figura 1.** Resposta secretória de PYY (3-36) após administração de sobrecarga de óleo de oliva (MONO), banha suína (SAT), glicose (GLI) ou Controle.

\* Diferença significativa entre MONO e Controle ( $p < 0,05$ ).

§ Diferença significativa entre MONO e GLI ( $p < 0,05$ ).

# Diferença significativa entre MONO e SAT ( $p < 0,05$ ). Dados apresentados em média  $\pm$  erro padrão.

**Figura 2.** Área sob a curva de PYY (3-36) sérico (pg/ml), ao longo de 120 minutos, em resposta às diferentes sobrecargas.

\*MONO significativamente diferente de Controle,  $p < 0,05$ . Dados apresentados em média  $\pm$  erro padrão.



Figura 1

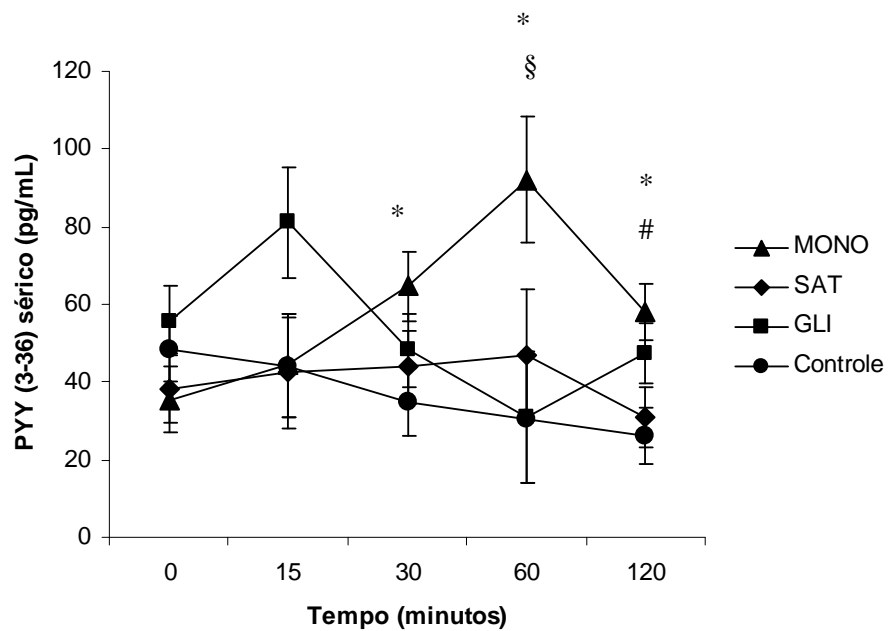
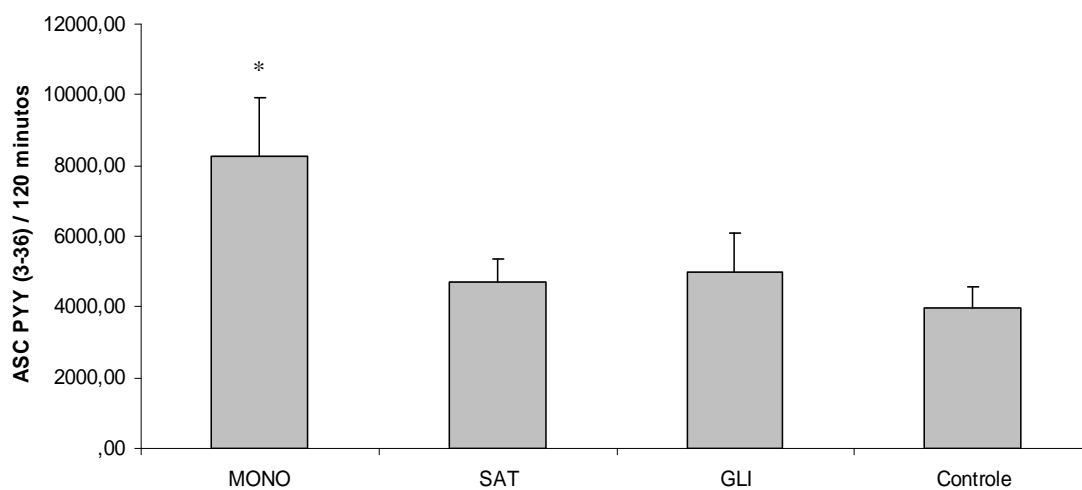


Figura 2



## Referências

- [1] Konturek SJ, Konturek JW, Pawlik T, Brzozowski T. Brain-gut axis and its role in the control of food intake. *J Physiol Pharmacol* 2004;55:137-54.
- [2] Cummings DE, Overduin J. Gastrointestinal regulation of food intake. *J Clin Invest* 2007;117:13-23.
- [3] Ueno H, Yamaguchi H, Mizuta M, Nakazato M. The role of PYY in feeding regulation. *Regul Pept* 2008;145:12-6.
- [4] Ballantyne GH. Peptide YY(1-36) and peptide YY(3-36): Part I. Distribution, release and actions. *Obes Surg* 2006;16:651-8.
- [5] Onaga T, Zabielski R, Kato S. Multiple regulation of peptide YY secretion in the digestive tract. *Peptides* 2002;23:279-90.
- [6] Eberlein GA, Eysselein VE, Schaeffer M, Layer P, Grandt D, Goebell H, Niebel W, Davis M, Lee TD, Shively JE. A new molecular form of PYY: structural characterization of human PYY(3-36) and PYY(1-36). *Peptides* 1989;10:797-803.
- [7] Mentlein R. Dipeptidyl-peptidase IV (CD26)--role in the inactivation of regulatory peptides. *Regul Pept* 1999;85:9-24.
- [8] Batterham RL, Cowley MA, Small CJ, Herzog H, Cohen MA, Dakin CL, Wren AM, Brynes AE, Low MJ, Ghatei MA, Cone RD, Bloom SR. Gut hormone PYY(3-36) physiologically inhibits food intake. *Nature* 2002;418:650-4.
- [9] Moran TH, Smedh U, Kinzig KP, Scott KA, Knipp S, Ladenheim EE. Peptide YY(3-36) inhibits gastric emptying and produces acute reductions in food intake in rhesus monkeys. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2005;288:R384-8.
- [10] Grandt D, Schimiczek M, Beglinger C, Layer P, Goebell H, Eysselein VE, Reeve JR. Two molecular forms of peptide YY (PYY) are abundant in human blood: characterization of a radioimmunoassay recognizing PYY 1-36 and PYY 3-36. *Regul Pept* 1994;51:151-9.
- [11] Maas MI, Hopman WP, Katan MB, Jansen JB. Release of peptide YY and inhibition of gastric acid secretion by long-chain and medium-chain triglycerides but not by sucrose polyester in men. *Eur J Clin Invest* 1998;28:123-30.

- [12] Fu-Cheng X, Anini Y, Chariot J, Voisin T, Galmiche JP, Rozé C. Peptide YY release after intraduodenal, intraileal, and intracolonic administration of nutrients in rats. *Pflugers Arch* 1995;431:66-75.
- [13] Burdyga G, de Lartigue G, Raybould HE, Morris R, Dimaline R, Varro A, Thompson DG, Dockray GJ. Cholecystokinin regulates expression of Y2 receptors in vagal afferent neurons serving the stomach. *J Neurosci* 2008;28:11583-92.
- [14] Steinert R, Gerspach A, Gutmann H, Asarian L, Drewe J, Beglinger C. The functional involvement of gut-expressed sweet taste receptors in glucose-stimulated secretion of glucagon-like peptide-1 (GLP-1) and peptide YY (PYY). *Clinical Nutrition* 2011;30:524-32.
- [15] Raybould HE, Glatzle J, Freeman SL, Whited K, Darcel N, Liou A, Bohan D. Detection of macronutrients in the intestinal wall. *Auton Neurosci* 2006;125:28-33.
- [16] Adrian TE, Ferri GL, Bacarese-Hamilton AJ, Fuessl HS, Polak JM, Bloom SR. Human distribution and release of a putative new gut hormone, peptide YY. *Gastroenterology* 1985;89:1070-7.
- [17] Batterham RL, Heffron H, Kapoor S, Chivers JE, Chandarana K, Herzog H, Le Roux CW, Thomas EL, Bell JD, Withers DJ. Critical role for peptide YY in protein-mediated satiation and body-weight regulation. *Cell Metab* 2006;4:223-33.
- [18] Essah PA, Levy JR, Sistrun SN, Kelly SM, Nestler JE. Effect of macronutrient composition on postprandial peptide YY levels. *J Clin Endocrinol Metab* 2007;92:4052-5.
- [19] Lindqvist A, Baelemans A, Erlanson-Albertsson C. Effects of sucrose, glucose and fructose on peripheral and central appetite signals. *Regul Pept* 2008;150:26-32.
- [20] Dailey MJ, Tamashiro KL, Terrillion CE, Moran TH. Nutrient specific feeding and endocrine effects of jejunal infusions. *Obesity (Silver Spring)* 2010;18:904-10.
- [21] Adrian TE, Savage AP, Sagor GR, Allen JM, Bacarese-Hamilton AJ, Tatemoto K, Polak JM, Bloom SR. Effect of peptide YY on gastric, pancreatic, and biliary function in humans. *Gastroenterology* 1985;89:494-9.
- [22] Feltrin KL, Little TJ, Meyer JH, Horowitz M, Rades T, Wishart J, Feinle-Bisset C. Comparative effects of intraduodenal infusions of lauric and oleic acids on antropyloroduodenal motility, plasma cholecystokinin and peptide YY, appetite, and energy intake in healthy men. *Am J Clin Nutr* 2008;87:1181-7.

- [23] Maljaars J, Romeyn EA, Haddeman E, Peters HP, Masclee AA. Effect of fat saturation on satiety, hormone release, and food intake. *Am J Clin Nutr* 2009;89:1019-24.
- [24] Jones AE, Stolinski M, Smith RD, Murphy JL, Wootton SA. Effect of fatty acid chain length and saturation on the gastrointestinal handling and metabolic disposal of dietary fatty acids in women. *Br J Nutr* 1999;81:37-43.
- [25] Lin HC, Chey WY, Zhao X. Release of distal gut peptide YY (PYY) by fat in proximal gut depends on CCK. *Peptides* 2000;21:1561-3.
- [26] Karhunen LJ, Juvonen KR, Huotari A, Purhonen AK, Herzig KH. Effect of protein, fat, carbohydrate and fibre on gastrointestinal peptide release in humans. *Regul Pept* 2008;149:70-8.
- [27] Beard Shall K, Morarji Y, Bloom S, Frost G, Domin J, Calam J. Saturation of fat and cholecystokinin release: implications for pancreatic carcinogenesis. *The Lancet* 1989;334:1008-10.
- [28] Feinle-Bisset C, Patterson M, Ghatei MA, Bloom SR, Horowitz M. Fat digestion is required for suppression of ghrelin and stimulation of peptide YY and pancreatic polypeptide secretion by intraduodenal lipid. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2005;289:E948-53.
- [29] Elliott JP, Drackley JK, Beaulieu AD, Aldrich CG, Merchen NR. Effects of saturation and esterification of fat sources on site and extent of digestion in steers: digestion of fatty acids, triglycerides, and energy. *J Anim Sci* 1999;77:1919-29.

## 6 CONCLUSÕES

A pesquisa e os experimentos conduzidos neste trabalho, somados à revisão de literatura, levam à conclusão de que a secreção de PYY é modulada de forma importante pelos componentes da dieta.

Avaliando o efeito de macronutrientes com potencial obesogênico na secreção de PYY, nossos resultados mostram que a forma PYY 3-36 é estimulada de forma mais potente por lipídeos fonte de ácidos graxos monoinsaturados, em comparação com lipídeos fonte de ácidos graxos saturados, ao passo que carboidratos (glicose) apresentam fraco estímulo na secreção dessa forma específica do PYY.

Sendo a forma PYY 3-36 associada a efeitos sacietógenos, futuros estudos são necessários para avaliar se a potente estimulação de sua secreção por fontes de ácidos graxos insaturados associa-se a efeitos inibitórios no apetite. Tal associação também deve ser avaliada em estudos com indivíduos obesos, pois existem controvérsias quanto à relação entre níveis plasmáticos de PYY e peso corporal.

**ANEXO A - Legenda para abreviações de aminoácidos do PYY**

A – Ala – alanina  
D – Asp – ácido aspártico  
E – Glu – ácido glutâmico  
G – Gly – glicina  
H – His – histidina  
I – Ile – isoleucina  
K – Lys – lisina  
L – Leu – leucina  
M – Met – metionina  
N – Asn – asparagina  
P – Pro – prolina  
Q – Gln – glutamina  
R – Arg – arginina  
S – Ser – serina  
T – Thr – treonina  
V – Val – valina  
Y – Tyr – tirosina

Fonte: IUPAC-IUB (1984).

## APÊNDICE A – Normas da revista Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia

### INSTRUÇÕES PARA AUTORES

#### Sumário

- Autoria
- Conflito de interesse
- Submissão dos artigos
- Processo de avaliação
- Decisão editorial
- Manuscrito aceito
- Direito Autoral
- Elaboração dos Manuscritos

- Artigo original

- Artigo de revisão

- Perspectiva e atualização

- Apresentação de caso clínico

- Caso especial

- Cartas ao editor

- Memórias

- Editoriais

A revista ABE&M publica contribuições originais de pesquisa básica, clínica e epidemiológica na área da Endocrinologia e Metabologia no formato de 1) artigo original, 2) revisão, perspectiva e atualização 3) apresentação de caso clínico e caso especial e 4) carta ao editor. Contempla ainda seção de memória e editorial.

O manuscrito (MS) deve ser redigido preferencialmente em inglês e estar de acordo com as instruções do Comitê Internacional dos Editores de Revistas Médicas - International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE), também conhecidas como Normas de Vancouver.

#### **Autoria**

Todos os profissionais designados como autores devem responder pela autoria do MS e ter participado suficientemente do trabalho para assumir responsabilidade pública pelo seu conteúdo.

O crédito de autoria deve ser baseado apenas por contribuições substanciais durante: (i) concepção, planejamento, execução, análise e interpretação dos resultados, (ii) redação ou revisão do MS de forma intelectualmente importante, e (iii) aprovação final da versão a ser publicada.

A participação limitada a obtenção de fundos, coleta de dados, supervisão geral ou chefia de um grupo de pesquisa não justifica autoria. Os Editores podem solicitar justificativa para a inclusão de autores durante o processo de revisão, especialmente se o total de autores exceder a seis.

Os conceitos e os fundamentos epistemológicos, os dados, as experiências, as fontes de pesquisa e as conclusões emitidos nos trabalhos assinados são da inteira responsabilidade dos autores. Os trabalhos submetidos aos ABE&M serão passíveis de revisão linguística por revisores e relatores qualificados pelo Conselho Editorial, sem perda do crédito de autoria e do vínculo de responsabilidade do autor em relação à obra de criação intelectual.

### **Conflito de interesse**

Em todos os artigos deve ser incluída a informação quanto a potencial conflito de interesse científico de cada um dos autores. Descrever as colaborações financeiras que possam representar potencial conflito de interesse ou declarar que não há conflito de interesse que possa interferir na imparcialidade do trabalho científico.

### **Submissão dos artigos**

Toda a submissão de MS deverá ser realizada por meio eletrônico pelo endereço <http://www.abem-sbem.org.br> ou pelo <http://www.scielo.br/abem>, utilizando preferencialmente o acesso em língua inglesa.

O autor-correspondente deverá criar um *login* de acesso e incluir todas as informações solicitadas. Um MS único (formato .doc ou .pdf) contendo texto, figuras e tabelas deve ser inserido no campo correspondente. O artigo deverá ser submetido exclusivamente para a revista ABE&M e não ter sido publicado previamente em meio impresso e eletrônico.

### **Processo de avaliação**

O MS submetido aos ABE&M será analisado em duas etapas: 1) pelo conselho editorial, que realizará a primeira análise de acordo com a política editorial, originalidade, mérito científico e formato; e, se aprovado nesta fase, 2) o MS é encaminhado aos avaliadores de reconhecida competência no assunto para seu parecer (*peer review*).

### **Decisão editorial**



Os critérios maiores para aceitação são a originalidade do trabalho e a relevância dos resultados. Um procedimento metodológico satisfatório não garante a aceitação do MS. A decisão final de aceitação ou rejeição do MS é de responsabilidade dos Editores.

### **Manuscrito aceito**

Quando aceito o MS, os autores podem ser solicitados a enviar uma versão de texto e de figuras no formato adequado para a editoração gráfica. Ao ter o seu trabalho aceito para publicação, os autores transferem seus direitos aos ABE&M, termo aceito pelos autores durante o processo de submissão eletrônica. Antes da impressão gráfica, os autores receberão a prova editorial para avaliação, que deverá ser realizada dentro do prazo estabelecido.

### **Direito autoral**

Todo o MS publicado torna-se propriedade da revista ABE&M e não poderá ser reproduzido, republicado ou divulgado por meio eletrônico sem permissão.

### **Elaboração dos manuscritos**

Todo MS deverá apresentar uma página título com: (a) título do MS (em português e inglês), (b) nome e filiação institucional de todos os autores, (c) nome e endereço completo (incluindo e-mail) do autor-correspondente, (d) "título abreviado", de até 40 caracteres com espaço. Todo o MS deve incluir informação referente a conflito de interesse. As referências devem estar formatadas no estilo Vancouver e ser numeradas consecutivamente em ordem de aparecimento no texto e identificadas por numerais arábicos entre parênteses.

### **1. Artigo Original**

É uma contribuição científica destinada a divulgar resultados de pesquisa original que não tenha sido publicada ou submetida em outros meios de divulgação.

O MS deve ser digitado em espaço duplo, arial 10, com no máximo 25 páginas A4/carta e organizado em um único arquivo contendo: (a) página título, (b) resumo e descritores, (c) abstract (resumo em inglês) e keywords, (d) texto completo, (e) declaração de conflito de interesse (indispensável), (f) agradecimentos, (g) referências, (h) tabelas com título, (i) figuras e legendas.

As páginas devem ser numeradas consecutivamente começando com a página título e não devem ultrapassar 25 páginas. O resumo do artigo original deve ser estruturado, especificando: objetivo, métodos, resultados, conclusão. Deve conter no máximo 1.000 caracteres (inclui espaço) para o resumo em português e para o resumo em inglês, e um máximo de 40 referências. Mencionar a fonte e/ou solicitar autorização para utilização de figuras previamente publicadas.

## 2. Artigo de Revisão

Constitui uma avaliação crítica ampliada e sistematizada da literatura sobre determinado assunto, devendo conter os procedimentos adotados, esclarecendo a delimitação e os limites do tema, e finalizando com conclusões do autor. Os artigos desta categoria são encomendados pelos editores a autores com experiência comprovada na área ou, ainda, quando a proposta direcionada pelos autores em contato prévio receber a aprovação do conselho editorial.

O MS deve ser digitado em espaço duplo, arial 10, com no máximo 30 páginas A4/carta e organizado em um único arquivo contendo: (a) página título, (b) sumário e descritores, (c) *summary* e *keywords*, (d) texto completo, especificando subtítulos (e) declaração de conflito de interesse (indispensável), (f) agradecimentos, (g) referências, (h) tabelas com título, (i) figuras e legendas.

As revisões não devem ultrapassar 30 páginas, incluindo o máximo de 60 referências, e as minirrevisões não devem ultrapassar 15 páginas com no máximo 20 referências. O sumário e o *summary*, sem estruturação, deverão ter um máximo de 1.000 caracteres. A menção de artigos previamente publicados na literatura nacional, incluindo ABE&M, deve ser considerada. Mencionar a fonte e/ou solicitar autorização para utilização de figuras previamente publicadas.

## 3. Perspectiva e Atualização

Na seção perspectiva, o propósito é servir como veículo de divulgação de novas ideias e conceitos em Endocrinologia, tanto na área básica como na aplicada ou, ainda, na que trata de ensino e treinamento. Em atualização incluiremos os MS de consenso elaborados por grupos de pesquisadores especialistas no assunto. Os autores devem estabelecer contato prévio com o editor expondo a proposta para o artigo de perspectiva e de atualização. O preparo do MS segue as instruções referidas em revisão.

## 4. Apresentação de Caso Clínico

Esta seção destina-se à publicação de casos clínicos interessantes e que apresentem alguma originalidade, curiosidade ou aspecto não convencional. O MS não deve ultrapassar 20 páginas e deve conter: (a) página título, (b) sumário e *summary*, cada um com no máximo 1.000 caracteres com espaço, (c) texto, (d) declaração de conflito de interesse, (e) agradecimentos, (f) referências (máximo de 20) e (g) tabela/figura.

## 5. Caso Especial

Nesta seção, são contemplados casos de interesse didático especial, que tenham sido devidamente estudados e apresentados em reuniões clínicas de centros ou serviços de Endocrinologia reconhecidos nacionalmente. O MS deve incluir, necessariamente, o sumário do caso e a discussão

geral do público presente naquela reunião, com nomes completos dos autores e vínculo institucional. O material deverá ser previamente editorado por um responsável e a autoria do MS deve limitar-se aos apresentadores e discutidores do caso, devendo constar a data e o local da apresentação, assim como o nome e o endereço e e-mail do autor-responsável pelo MS. O MS não deve ultrapassar 20 páginas e deve conter: (a) página título, (b) sumário e *summary*, cada um com no máximo 1.000 caracteres com espaço, (c) texto, (d) declaração de conflito de interesse, (e) agradecimentos, (f) referências (máximo de 20) e (g) tabela/figura.

## **6. Cartas ao Editor**

Esta seção inclui cartas que visam comentar ou discutir artigos recentes publicados na revista ou relatar resumidamente pesquisas originais ou achados científicos significativos. Não deve ultrapassar 8 páginas e deve conter: (a) página título, (b) texto, (c) declaração de conflito de interesse, (d) referências (máximo de 15), (e) figura/tabela.

## **7. Memórias**

Esta seção visa lembrar e homenagear pessoas, instituições e situações que foram importantes ou historicamente relevantes para a Endocrinologia, especialmente a brasileira. O MS pode ser submetido espontaneamente ou encomendado pelos editores aos autores que tenham tido maior convivência com a referida pessoa, lugar ou situação. Não deve ultrapassar 8 páginas e deve conter: (a) página título, (b) texto, (c) declaração de conflito de interesse, (d) referências (máximo de 15), (e) figura/tabela.

## **8. Editoriais**

Os editoriais são escritos ou encomendados pelos Editores, abordando temas diversos da especialidade e/ou relativos à revista, ou discutindo um ou mais artigos publicados na revista ABE&M, e que apresentem interesse especial para os leitores. Os editoriais não devem ultrapassar 4 páginas e o máximo de 10 referências.

## APÊNDICE B – Normas da revista *Regulatory Peptides*

### Guide for authors



### Introduction

*Regulatory Peptides* provides a medium for the rapid publication of interdisciplinary studies on the physiology and pathology of peptides of the gut, endocrine and nervous systems which regulate cell or tissue function. Articles emphasizing these objectives may be based on either fundamental or clinical observations obtained through the disciplines of morphology, cytochemistry, biochemistry, physiology, pathology, pharmacology or psychology.

### Types of Paper

1. **Original research papers:** high quality, novel, original papers on laboratory and clinical experimental studies.
2. **Rapid communications:** describing important and exciting data. These will only be accepted if minor or no revisions are requested and will undergo an accelerated publishing procedure.
3. **Reviews** of current areas of research are generally by invitation but suggestions are most welcome.
4. **Letters:** Comments on reports and reviews

### Page charges

This journal has no page charges.



### Before You Begin

#### Ethics in publishing

For information on Ethics in publishing and Ethical guidelines for journal publication see <http://www.elsevier.com/publishingethics> and <http://www.elsevier.com/ethicalguidelines>.

#### Policy and ethics

The work described in your article must have been carried out in accordance with *The Code of Ethics of the World Medical Association (Declaration of Helsinki) for experiments involving humans* ⇨ <http://www.wma.net/en/30publications/10policies/b3/index.html>; *EU Directive 2010/63/EU for animal experiments* ⇨ [http://ec.europa.eu/environment/chemicals/lab\\_animals/legislation\\_en.htm](http://ec.europa.eu/environment/chemicals/lab_animals/legislation_en.htm); *Uniform Requirements for manuscripts submitted to Biomedical journals* ⇨ <http://www.icmje.org>. This must be stated at an appropriate point in the article.

#### Conflict of interest

All authors are requested to disclose any actual or potential conflict of interest including any financial, personal or other relationships with other people or organizations within three years of beginning the submitted work that could inappropriately influence, or be perceived to influence, their work. See also <http://www.elsevier.com/conflictsofinterest>.

#### Submission declaration

Submission of an article implies that the work described has not been published previously (except

in the form of an abstract or as part of a published lecture or academic thesis), that it is not under consideration for publication elsewhere, that its publication is approved by all authors and tacitly or explicitly by the responsible authorities where the work was carried out, and that, if accepted, it will not be published elsewhere including electronically in the same form, in English or in any other language, without the written consent of the copyright-holder.

### **Contributors**

Each author is required to declare his or her individual contribution to the article: all authors must have materially participated in the research and/or article preparation, so roles for all authors should be described. The statement that all authors have approved the final article should be true and included in the disclosure.

### ***Addition, deletion, or rearrangement of author names in the authorship of accepted manuscripts***

*Before the accepted manuscript is published in an online issue*

Requests to add or remove an author, or to rearrange the author names, must be sent to the Journal Manager from the corresponding author of the accepted manuscript and must include:

- The reason the name should be added or removed or the author names rearranged.
- Written confirmation (email, fax, letter) from all authors that they agree with the addition, removal or rearrangement. In the case of addition or removal of authors, this includes confirmation from the author being added or removed.

Requests that are not sent by the corresponding author will be forwarded by the Journal Manager to the corresponding author, who must follow the procedure as described above. Note that:

- Journal Managers will inform the Journal Editors of any such requests.
- Publication of the accepted manuscript in an online issue is suspended until authorship has been agreed.

After the accepted manuscript is published in an online issue Any requests to add, delete, or rearrange author names in an article published in an online issue will follow the same policies as noted above and result in a corrigendum.

### **Changes to authorship**

This policy concerns the addition, deletion, or rearrangement of author names in the authorship of accepted manuscripts:

*Before the accepted manuscript is published in an online issue:* Requests to add or remove an author, or to rearrange the author names, must be sent to the Journal Manager from the corresponding author of the accepted manuscript and must include: (a) the reason the name should be added or removed, or the author names rearranged and (b) written confirmation (e-mail, fax, letter) from all authors that they agree with the addition, removal or rearrangement. In the case of addition or removal of authors, this includes confirmation from the author being added or removed. Requests that are not sent by the corresponding author will be forwarded by the Journal Manager to the corresponding author, who must follow the procedure as described above. Note that: (1) Journal Managers will inform the Journal Editors of any such requests and (2) publication of the accepted manuscript in an online issue is suspended until authorship has been agreed.

*After the accepted manuscript is published in an online issue:* Any requests to add, delete, or rearrange author names in an article published in an online issue will follow the same policies as noted above and result in a corrigendum.

### **Copyright**

Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete a 'Journal Publishing Agreement' (for more information on this and copyright see <http://www.elsevier.com/copyright>). Acceptance of the agreement will ensure the widest possible dissemination of information. An e-mail will be sent to the corresponding author confirming receipt of the manuscript together with a 'Journal Publishing Agreement' form or a link to the online version of this agreement. Subscribers may reproduce tables of contents or prepare lists of articles including abstracts for

internal circulation within their institutions. Permission of the Publisher is required for resale or distribution outside the institution and for all other derivative works, including compilations and translations (please consult <http://www.elsevier.com/permissions>). If excerpts from other copyrighted works are included, the author(s) must obtain written permission from the copyright owners and credit the source(s) in the article. Elsevier has preprinted forms for use by authors in these cases: please consult <http://www.elsevier.com/permissions>.

### **Retained author rights**

As an author you (or your employer or institution) retain certain rights; for details you are referred to: <http://www.elsevier.com/authorsrights>.

### **Role of the funding source**

You are requested to identify who provided financial support for the conduct of the research and/or preparation of the article and to briefly describe the role of the sponsor(s), if any, in study design; in the collection, analysis and interpretation of data; in the writing of the report; and in the decision to submit the article for publication. If the funding source(s) had no such involvement then this should be stated. Please see <http://www.elsevier.com/funding>.

### **Funding body agreements and policies**

Elsevier has established agreements and developed policies to allow authors whose articles appear in journals published by Elsevier, to comply with potential manuscript archiving requirements as specified as conditions of their grant awards. To learn more about existing agreements and policies please visit <http://www.elsevier.com/fundingbodies>.

### **Open access**

This journal offers you the option of making your article freely available to all via the ScienceDirect platform. To prevent any conflict of interest, you can only make this choice after receiving notification that your article has been accepted for publication. The fee of \$3,000 excludes taxes and other potential author fees such as color charges. In some cases, institutions and funding bodies have entered into agreement with Elsevier to meet these fees on behalf of their authors. Details of these agreements are available at <http://www.elsevier.com/fundingbodies>. Authors of accepted articles, who wish to take advantage of this option, should complete and submit the order form (available at <http://www.elsevier.com/locate/openaccessform.pdf>). Whatever access option you choose, you retain many rights as an author, including the right to post a revised personal version of your article on your own website. More information can be found here: <http://www.elsevier.com/authorsrights>.

### **Language and language services**

Please write your text in good English (American or British usage is accepted, but not a mixture of these). Authors who require information about language editing and copyediting services pre- and post-submission please visit <http://webshop.elsevier.com/languageservices> or our customer support site at <http://support.elsevier.com> for more information.

### **Submission**

Submission to this journal proceeds totally online and you will be guided stepwise through the creation and uploading of your files. The system automatically converts source files to a single PDF file of the article, which is used in the peer-review process. Please note that even though manuscript source files are converted to PDF files at submission for the review process, these source files are needed for further processing after acceptance. All correspondence, including notification of the Editor's decision and requests for revision, takes place by e-mail removing the need for a paper trail.

Please submit your article via <http://ees.elsevier.com/regpep/>

Should authors have any queries regarding submission, they can contact the Editor-in-Chief, Professor Wolfgang E. Schmidt: [Wolfgang.E.Schmidt@ruhr-uni-bochum.de](mailto:Wolfgang.E.Schmidt@ruhr-uni-bochum.de)

## **Additional information**

*US National Institutes of Health (NIH) voluntary posting ("Public Access") policy* Elsevier facilitates author response to the NIH voluntary posting request (referred to as the NIH "Public Access Policy"; see <http://www.nih.gov/about/publicaccess/index.htm> by posting the peer-reviewed author's manuscript directly to PubMed Central on request from the author, 12 months after formal publication. Upon notification from Elsevier of acceptance, we will ask you to confirm via e-mail (by e-mailing us at [NIHauthorrequest@elsevier.com](mailto:NIHauthorrequest@elsevier.com)) that your work has received NIH funding and that you intend to respond to the NIH policy request, along with your NIH award number to facilitate processing. Upon such confirmation, Elsevier will submit to PubMed Central on your behalf a version of your manuscript that will include peer-review comments, for posting 12 months after formal publication. This will ensure that you will have responded fully to the NIH request policy. There will be no need for you to post your manuscript directly with PubMed Central, and any such posting is prohibited.



## **Preparation**

### **Use of wordprocessing software**

It is important that the file be saved in the native format of the wordprocessor used. The text should be in single-column format. Keep the layout of the text as simple as possible. Most formatting codes will be removed and replaced on processing the article. In particular, do not use the wordprocessor's options to justify text or to hyphenate words. However, do use bold face, italics, subscripts, superscripts etc. When preparing tables, if you are using a table grid, use only one grid for each individual table and not a grid for each row. If no grid is used, use tabs, not spaces, to align columns. The electronic text should be prepared in a way very similar to that of conventional manuscripts (see also the Guide to Publishing with Elsevier: <http://www.elsevier.com/guidepublication>). Note that source files of figures, tables and text graphics will be required whether or not you embed your figures in the text. See also the section on Electronic artwork.

To avoid unnecessary errors you are strongly advised to use the 'spell-check' and 'grammar-check' functions of your wordprocessor.

### **Article structure**

#### ***Subdivision - numbered sections***

Divide your article into clearly defined and numbered sections. Subsections should be numbered 1.1 (then 1.1.1, 1.1.2, ...), 1.2, etc. (the abstract is not included in section numbering). Use this numbering also for internal cross-referencing: do not just refer to 'the text'. Any subsection may be given a brief heading. Each heading should appear on its own separate line.

#### ***Introduction***

State the objectives of the work and provide an adequate background, avoiding a detailed literature survey or a summary of the results.

#### ***Material and methods***

Provide sufficient detail to allow the work to be reproduced. Methods already published should be indicated by a reference: only relevant modifications should be described.

#### ***Results***

Results should be clear and concise.

#### ***Discussion***

This should explore the significance of the results of the work, not repeat them. A combined Results and Discussion section is often appropriate. Avoid extensive citations and discussion of published literature.

#### ***Conclusions***

The main conclusions of the study may be presented in a short Conclusions section, which may stand alone or form a subsection of a Discussion or Results and Discussion section.

## Essential title page information

- **Title.** Concise and informative. Titles are often used in information-retrieval systems. Avoid abbreviations and formulae where possible.
- **Author names and affiliations.** Where the family name may be ambiguous (e.g., a double name), please indicate this clearly. Present the authors' affiliation addresses (where the actual work was done) below the names. Indicate all affiliations with a lower-case superscript letter immediately after the author's name and in front of the appropriate address. Provide the full postal address of each affiliation, including the country name and, if available, the e-mail address of each author.
- **Corresponding author.** Clearly indicate who will handle correspondence at all stages of refereeing and publication, also post-publication. **Ensure that telephone and fax numbers (with country and area code) are provided in addition to the e-mail address and the complete postal address. Contact details must be kept up to date by the corresponding author.**
- **Present/permanent address.** If an author has moved since the work described in the article was done, or was visiting at the time, a 'Present address' (or 'Permanent address') may be indicated as a footnote to that author's name. The address at which the author actually did the work must be retained as the main, affiliation address. Superscript Arabic numerals are used for such footnotes.

## Abstract

A concise and factual abstract is required. The abstract should state briefly the purpose of the research, the principal results and major conclusions. An abstract is often presented separately from the article, so it must be able to stand alone. For this reason, References should be avoided, but if essential, then cite the author(s) and year(s). Also, non-standard or uncommon abbreviations should be avoided, but if essential they must be defined at their first mention in the abstract itself.

## Graphical abstract

A Graphical abstract is optional and should summarize the contents of the article in a concise, pictorial form designed to capture the attention of a wide readership online. Authors must provide images that clearly represent the work described in the article. Graphical abstracts should be submitted as a separate file in the online submission system. Image size: Please provide an image with a minimum of 531 × 1328 pixels (h × w) or proportionally more. The image should be readable at a size of 5 × 13 cm using a regular screen resolution of 96 dpi. Preferred file types: TIFF, EPS, PDF or MS Office files. See <http://www.elsevier.com/graphicalabstracts> for examples. Authors can make use of Elsevier's Illustration and Enhancement service to ensure the best presentation of their images also in accordance with all technical requirements: [Illustration Service](#).

## Highlights

Highlights are mandatory for this journal. They consist of a short collection of bullet points that convey the core findings of the article and should be submitted in a separate file in the online submission system. Please use 'Highlights' in the file name and include 3 to 5 bullet points (maximum 85 characters, including spaces, per bullet point). See <http://www.elsevier.com/highlights> for examples.

## Keywords

Immediately after the abstract, provide a maximum of 6 keywords, using British spelling and avoiding general and plural terms and multiple concepts (avoid, for example, 'and', 'of'). Be sparing with abbreviations: only abbreviations firmly established in the field may be eligible. These keywords will be used for indexing purposes.

## Abbreviations

Define abbreviations that are not standard in this field in a footnote to be placed on the first page of the article. Such abbreviations that are unavoidable in the abstract must be defined at their first mention there, as well as in the footnote. Ensure consistency of abbreviations throughout the article.



## Acknowledgements

Collate acknowledgements in a separate section at the end of the article before the references and do not, therefore, include them on the title page, as a footnote to the title or otherwise. List here those individuals who provided help during the research (e.g., providing language help, writing assistance or proof reading the article, etc.).

## Units

Follow internationally accepted rules and conventions: use the international system of units (SI). If other units are mentioned, please give their equivalent in SI.










## Database linking and Accession numbers

Elsevier aims at connecting online articles with external databases which are useful in their respective research communities. If your article contains relevant unique identifiers or accession numbers (bioinformatics) linking to information on entities (genes, proteins, diseases, etc.) or structures deposited in public databases, then please indicate those entities according to the standard explained below.

Authors should explicitly mention the *database abbreviation (as mentioned below) together with the actual database number*, bearing in mind that an error in a letter or number can result in a dead link in the online version of the article.

Please use the following format: **Database ID: xxxx**

Links can be provided in your online article to the following databases (examples of citations are given in parentheses):

-  [GenBank](#): Genetic sequence database at the National Center for Biotechnical Information (NCBI) (GenBank ID: BA123456)
-  [PDB](#): Worldwide Protein Data Bank (PDB ID: 1TUP)
-  [CCDC](#): Cambridge Crystallographic Data Centre (CCDC ID: AI631510)
-  [TAIR](#): The Arabidopsis Information Resource database (TAIR ID: AT1G01020)
-  [NCT](#): ClinicalTrials.gov (NCT ID: NCT00222573)
-  [OMIM](#): Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM ID: 601240)
-  [MINT](#): Molecular INTERactions database (MINT ID: 6166710)
-  [MI](#): EMBL-EBI OLS Molecular Interaction Ontology (MI ID: 0218)
-  [UniProt](#): Universal Protein Resource Knowledgebase (UniProt ID: Q9H0H5)

## Footnotes

Footnotes should be used sparingly. Number them consecutively throughout the article, using superscript Arabic numbers. Many wordprocessors build footnotes into the text, and this feature may be used. Should this not be the case, indicate the position of footnotes in the text and present the footnotes themselves separately at the end of the article. Do not include footnotes in the Reference list.

*Table footnotes*

Indicate each footnote in a table with a superscript lowercase letter.

## Artwork

### **Electronic artwork**

*General points*

- Make sure you use uniform lettering and sizing of your original artwork.
- Save text in illustrations as 'graphics' or enclose the font.
- Only use the following fonts in your illustrations: Arial, Courier, Times, Symbol.
- Number the illustrations according to their sequence in the text.
- Use a logical naming convention for your artwork files.
- Provide captions to illustrations separately.
- Produce images near to the desired size of the printed version.
- Submit each figure as a separate file.

A detailed guide on electronic artwork is available on our website:

<http://www.elsevier.com/artworkinstructions>

**You are urged to visit this site; some excerpts from the detailed information are given here.**

### *Formats*

Regardless of the application used, when your electronic artwork is finalised, please 'save as' or convert the images to one of the following formats (note the resolution requirements for line drawings, halftones, and line/halftone combinations given below):

EPS: Vector drawings. Embed the font or save the text as 'graphics'.

TIFF: Color or grayscale photographs (halftones): always use a minimum of 300 dpi.

TIFF: Bitmapped line drawings: use a minimum of 1000 dpi.

TIFF: Combinations bitmapped line/half-tone (color or grayscale): a minimum of 500 dpi is required.

If your electronic artwork is created in a Microsoft Office application (Word, PowerPoint, Excel) then please supply 'as is'.

#### **Please do not:**

- Supply files that are optimised for screen use (e.g., GIF, BMP, PICT, WPG); the resolution is too low;
- Supply files that are too low in resolution;
- Submit graphics that are disproportionately large for the content.

### **Color artwork**

Please make sure that artwork files are in an acceptable format (TIFF, EPS or MS Office files) and with the correct resolution. If, together with your accepted article, you submit usable color figures then Elsevier will ensure, at no additional charge, that these figures will appear in color on the Web (e.g., ScienceDirect and other sites) regardless of whether or not these illustrations are reproduced in color in the printed version. **For color reproduction in print, you will receive information regarding the costs from Elsevier after receipt of your accepted article.** Please indicate your preference for color: in print or on the Web only. For further information on the preparation of electronic artwork, please see <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>.

Please note: Because of technical complications which can arise by converting color figures to 'gray scale' (for the printed version should you not opt for color in print) please submit in addition usable black and white versions of all the color illustrations.

### **Figure captions**

Ensure that each illustration has a caption. Supply captions separately, not attached to the figure. A caption should comprise a brief title (**not** on the figure itself) and a description of the illustration. Keep text in the illustrations themselves to a minimum but explain all symbols and abbreviations used.

### **Tables**

Number tables consecutively in accordance with their appearance in the text. Place footnotes to tables below the table body and indicate them with superscript lowercase letters. Avoid vertical rules. Be sparing in the use of tables and ensure that the data presented in tables do not duplicate results described elsewhere in the article.

### **References**

#### **Citation in text**

Please ensure that every reference cited in the text is also present in the reference list (and vice versa). Any references cited in the abstract must be given in full. Unpublished results and personal communications are not recommended in the reference list, but may be mentioned in the text. If these references are included in the reference list they should follow the standard reference style of the journal and should include a substitution of the publication date with either 'Unpublished results' or 'Personal communication'. Citation of a reference as 'in press' implies that the item has been accepted for publication.

#### **Web references**

As a minimum, the full URL should be given and the date when the reference was last accessed. Any further information, if known (DOI, author names, dates, reference to a source publication, etc.), should also be given. Web references can be listed separately (e.g., after the reference list) under a different heading if desired, or can be included in the reference list.

#### **References in a special issue**

Please ensure that the words 'this issue' are added to any references in the list (and any citations in the text) to other articles in the same Special Issue.

### Reference style

*Text:* Indicate references by number(s) in square brackets in line with the text. The actual authors can be referred to, but the reference number(s) must always be given.

Example: '..... as demonstrated [3,6]. Barnaby and Jones [8] obtained a different result ....'

*List:* Number the references (numbers in square brackets) in the list in the order in which they appear in the text.

*Examples:*

Reference to a journal publication:

[1] J. van der Geer, J.A.J. Hanraads, R.A. Lupton, The art of writing a scientific article, *J. Sci. Commun.* 163 (2010) 51–59.

Reference to a book:

[2] W. Strunk Jr., E.B. White, *The Elements of Style*, fourth ed., Longman, New York, 2000.

Reference to a chapter in an edited book:

[3] G.R. Mettam, L.B. Adams, How to prepare an electronic version of your article, in: B.S. Jones, R.Z. Smith (Eds.), *Introduction to the Electronic Age*, E-Publishing Inc., New York, 2009, pp. 281–304.

### Journal abbreviations source

Journal names should be abbreviated according to

Index Medicus journal abbreviations: ➔ <http://www.nlm.nih.gov/tsd/serials/lji.html>;

List of title word abbreviations: ➔ <http://www.issn.org/2-22661-LTWA-online.php>;

CAS (Chemical Abstracts Service): ➔ <http://www.cas.org/sent.html>.

### Video data

Elsevier accepts video material and animation sequences to support and enhance your scientific research. Authors who have video or animation files that they wish to submit with their article are strongly encouraged to include these within the body of the article. This can be done in the same way as a figure or table by referring to the video or animation content and noting in the body text where it should be placed. All submitted files should be properly labeled so that they directly relate to the video file's content. In order to ensure that your video or animation material is directly usable, please provide the files in one of our recommended file formats with a preferred maximum size of 50 MB. Video and animation files supplied will be published online in the electronic version of your article in Elsevier Web products, including ScienceDirect: ➔ <http://www.sciencedirect.com>. Please supply 'stills' with your files: you can choose any frame from the video or animation or make a separate image. These will be used instead of standard icons and will personalize the link to your video data. For more detailed instructions please visit our video instruction pages at <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>. Note: since video and animation cannot be embedded in the print version of the journal, please provide text for both the electronic and the print version for the portions of the article that refer to this content.

### Supplementary data

Elsevier accepts electronic supplementary material to support and enhance your scientific research. Supplementary files offer the author additional possibilities to publish supporting applications, high-resolution images, background datasets, sound clips and more. Supplementary files supplied will be published online alongside the electronic version of your article in Elsevier Web products, including ScienceDirect: ➔ <http://www.sciencedirect.com>. In order to ensure that your submitted material is directly usable, please provide the data in one of our recommended file formats. Authors should submit the material in electronic format together with the article and supply a concise and descriptive caption for each file. For more detailed instructions please visit our artwork instruction pages at <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>.

### Submission checklist

The following list will be useful during the final checking of an article prior to sending it to the journal for review. Please consult this Guide for Authors for further details of any item.

#### Ensure that the following items are present:

One author has been designated as the corresponding author with contact details:

- E-mail address
- Full postal address
- Telephone and fax numbers

All necessary files have been uploaded, and contain:

- Keywords

- All figure captions
- All tables (including title, description, footnotes)

Further considerations

- Manuscript has been 'spell-checked' and 'grammar-checked'
- References are in the correct format for this journal
- All references mentioned in the Reference list are cited in the text, and vice versa
- Permission has been obtained for use of copyrighted material from other sources (including the Web)
- Color figures are clearly marked as being intended for color reproduction on the Web (free of charge) and in print, or to be reproduced in color on the Web (free of charge) and in black-and-white in print
- If only color on the Web is required, black-and-white versions of the figures are also supplied for printing purposes

For any further information please visit our customer support site at <http://support.elsevier.com>.



### After Acceptance

#### Use of the Digital Object Identifier

The Digital Object Identifier (DOI) may be used to cite and link to electronic documents. The DOI consists of a unique alpha-numeric character string which is assigned to a document by the publisher upon the initial electronic publication. The assigned DOI never changes. Therefore, it is an ideal medium for citing a document, particularly 'Articles in press' because they have not yet received their full bibliographic information. The correct format for citing a DOI is shown as follows (example taken from a document in the journal *Physics Letters B*):

doi:10.1016/j.physletb.2010.09.059

When you use the DOI to create URL hyperlinks to documents on the web, the DOIs are guaranteed never to change.

#### Proofs

One set of page proofs (as PDF files) will be sent by e-mail to the corresponding author (if we do not have an e-mail address then paper proofs will be sent by post) or, a link will be provided in the e-mail so that authors can download the files themselves. Elsevier now provides authors with PDF proofs which can be annotated; for this you will need to download Adobe Reader version 7 (or higher) available free from <http://get.adobe.com/reader>. Instructions on how to annotate PDF files will accompany the proofs (also given online). The exact system requirements are given at the Adobe site: <http://www.adobe.com/products/reader/tech-specs.html>.

If you do not wish to use the PDF annotations function, you may list the corrections (including replies to the Query Form) and return them to Elsevier in an e-mail. Please list your corrections quoting line number. If, for any reason, this is not possible, then mark the corrections and any other comments (including replies to the Query Form) on a printout of your proof and return by fax, or scan the pages and e-mail, or by post. Please use this proof only for checking the typesetting, editing, completeness and correctness of the text, tables and figures. Significant changes to the article as accepted for publication will only be considered at this stage with permission from the Editor. We will do everything possible to get your article published quickly and accurately – please let us have all your corrections within 48 hours. It is important to ensure that all corrections are sent back to us in one communication: please check carefully before replying, as inclusion of any subsequent corrections cannot be guaranteed. Proofreading is solely your responsibility. Note that Elsevier may proceed with the publication of your article if no response is received.

#### Offprints

The corresponding author, at no cost, will be provided with a PDF file of the article via e-mail. For an extra charge, paper offprints can be ordered via the offprint order form which is sent once the article is accepted for publication. The PDF file is a watermarked version of the published article and includes a cover sheet with the journal cover image and a disclaimer outlining the terms and conditions of use.



## Author Inquiries

For inquiries relating to the submission of articles (including electronic submission) please visit this journal's homepage. Contact details for questions arising after acceptance of an article, especially those relating to proofs, will be provided by the publisher. You can track accepted articles at <http://www.elsevier.com/trackarticle>. You can also check our Author FAQs (<http://www.elsevier.com/authorFAQ>) and/or contact Customer Support via <http://support.elsevier.com>.