

RESSALVA

Atendendo solicitação da autora, o texto completo desta **TESE** será disponibilizado somente a partir de 28/04/2024.

Universidade Estadual Paulista

“Julio de Mesquita Filho”

Faculdade de Ciências Farmacêuticas

**Efeitos do jejum intermitente e exercício físico
sobre a modulação da microbiota intestinal, a
composição corporal e o processo inflamatório
na obesidade**

Gabriela Batitucci Miranda

Tese apresentada ao Programa
de Pós-graduação em Alimentos
e Nutrição para obtenção do
título de Doutor em Alimentos e
Nutrição.

Área de Concentração: Ciências
Nutricionais

Orientadora: Profa. Dra. Ellen
Cristini de Freitas

Araraquara

2022

Efeitos do jejum intermitente e exercício físico sobre a modulação da microbiota intestinal, a composição corporal e o processo inflamatório na obesidade

Gabriela Batitucci Miranda

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Alimentos e Nutrição para obtenção do título de Doutor em Alimentos e Nutrição.

Área de Concentração: Ciências Nutricionais

Orientadora: Profa. Dra. Ellen Cristini de Freitas

Araraquara

2022

M672e

Miranda, Gabriela Batitucci.

Efeitos do jejum intermitente e exercício físico sobre a modulação da microbiota intestinal, a composição corporal e o processo inflamatório na obesidade / Gabriela Batitucci Miranda. – Araraquara: [S.n.], 2022.
134 f. : il.

Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista. “Júlio de Mesquita Filho”. Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Programa de Pós Graduação em Alimentos e Nutrição. Área de Concentração: Ciências Nutricionais.

Orientadora: Ellen Cristini de Freitas.

1. Obesidade. 2. Microbiota intestinal. 3. Jejum intermitente. 4. Exercício físico. 5. Metataxonômica. I. Freitas, Ellen Cristini de, orient. II. Título.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: Efeitos do jejum intermitente e exercício físico sobre a modulação da microbiota intestinal, a composição corporal e processo inflamatório na obesidade

AUTORA: GABRIELA BATITUCCI MIRANDA

ORIENTADORA: ELLEN CRISTINI DE FREITAS

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em ALIMENTOS E NUTRIÇÃO, área: Ciências Nutricionais pela Comissão Examinadora:

Profa. Dra. ELLEN CRISTINI DE FREITAS (Participação Virtual)
Escola de Educação Física e Esporte de Ribeirão Preto USP

Profa. Dra. HELEN HERMANA MIRANDA HERMSDORFF (Participação Virtual)
Departamento de Nutrição e Saúde / Universidade Federal de Viçosa

Prof. Dr. LÍCIO AUGUSTO VELLOSO (Participação Virtual)
Departamento de Clínica Médica / Faculdade de Ciências Médicas - Unicamp

Profa. Dra. CARLA BARBOSA NONINO (Participação Virtual)
Departamento de Clínica Médica / Faculdade de Medicina do Câmpus de Ribeirão Preto da USP

Araraquara, 28 de abril de 2022

Agradecimentos

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP processo nº 2019/17947-7 e nº 2019/01970-0) pelo apoio financeiro.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES, código 001).

À orientação da Prof^a Dr^a Ellen Cristini de Freitas pela confiança no meu trabalho, na minha pessoa, por tantas oportunidades de desenvolvimento profissional e pessoal. Pela paciência, pela generosidade, pela humildade de me permitir a liberdade de pensar, agir, contribuir, buscar, sempre de mãos dadas em toda minha trajetória.

Aos integrantes do grupo de pesquisa do qual faço parte do Laboratório de Nutrição, Metabolismo e Exercício da Escola de Educação Física e Esporte da USP de Ribeirão Preto, SP, por toda colaboração desde o início, sem medir esforços. À colaboração imprescindível dos alunos de iniciação científica, Eli Faria-Júnior, Alícia Botion, Pedro Moretti, Henrique Figueiredo.

Ao doutorando Otávio Almeida por toda colaboração, parceria, amizade, conhecimento, confiança e paciência. À Prof^a Dr^a Elaine De Martinis, aos técnicos de laboratório, Mônica Meirelles, Simone Sakagute e Emerson Santos por terem sido peças fundamentais nesse processo e por toda amizade construída até aqui. Aos profissionais de Educação Física Jonatas Nogueira e Camila Brandão pelo auxílio teórico-prático e parceria.

A todos os participantes do estudo pela confiança, disponibilidade e empatia. A todos os colaboradores desse trabalho e laboratórios parceiros,

Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto e à Escola de Educação Física e Esporte da USP de Ribeirão Preto, por toda infraestrutura disponibilizada, pela confiança e oportunidades.

Ao programa de Pós-graduação em Alimentos e Nutrição da Faculdade de Ciências Farmacêuticas (UNESP, Campus de Araraquara) e funcionários, por todo auxílio.

Agradecimentos pessoais

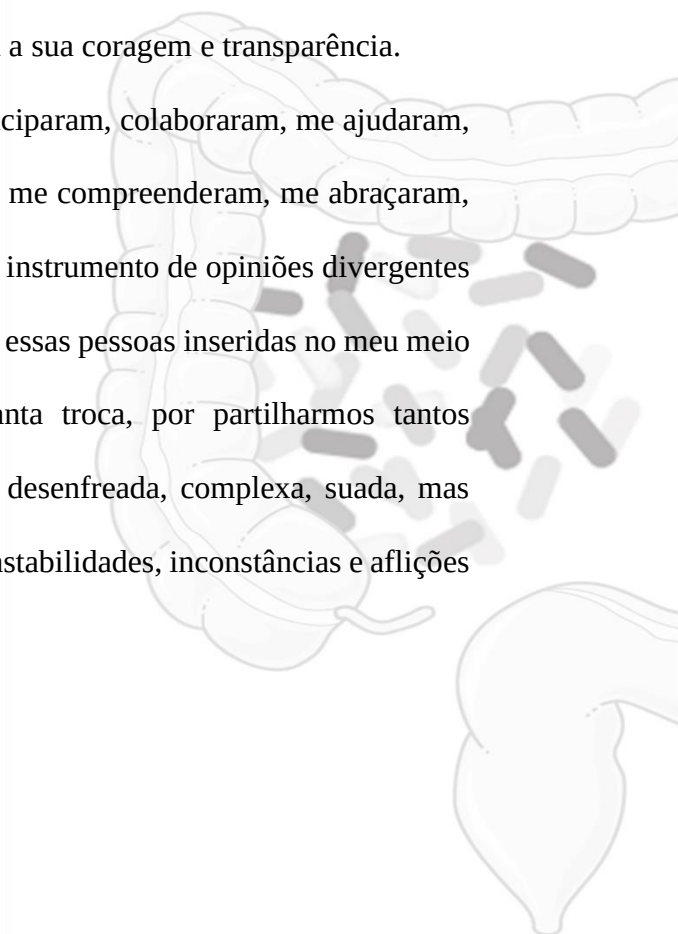
Ninguém disse que seria fácil, essa palavra não existe no dicionário da academia. Imensamente grata por tudo que foi, por tudo como foi. Focada no presente que é a única certeza que tenho, no hoje e no agora, mas também permito abraçar a esperança que tenho no amanhã e a fé que me trouxe até aqui, com medo (muitos), mergulhada em aflições e incertezas, mas jamais sabotando a minha essência e a crença de até onde eu posso chegar. Digo que a centelha da fé, da perseverança, do auto-conhecimento, da auto - aceitação, da auto - confiança, do amor, da empatia, da resiliência, da resignação, da ponderação, da escuta, da confiança e sabedoria divina, são em conjunto, meus maiores agradecimentos hoje e devo isso à Deus, à minha família maravilhosa, aos amigos e à todas as pessoas grandiosas que a vida colocou em meu caminho, nesse contexto profissional. Tudo foi um processo de construção, ganhos e derrotas inerentes da vida, o processo de aprendizado que foi se abrilhando a cada obstáculo, a cada dificuldade, a cada renúncia (seja de uma noite de sono, seja do lazer ou de simplesmente estar na presença das pessoas que amo), de fato, quanto maiores eram as pedras nessa estrada, meu crescimento, amadurecimento, persistência, e conhecimento, cresciam na mesma proporção. Aprendi, me educando espiritualmente, que quanto menos murmurava, mais tudo fluía e que não só de educação em ciência acadêmica se vive um doutorando.

Meus agradecimentos são tantos ... talvez eu me esquecesse de muita gente aqui, por isso, na tentativa de não esquecer principalmente de mim mesma, eu contextualizei a gratidão que tenho por meus próprios méritos. Mas, ninguém chega a lugar algum sozinho e comigo não foi diferente porque nessa etapa da minha vida tudo que mais me preenche é saber o quanto pude contar com tantos braços, com tantos

cérebros, com tantos olhares, com tantos sorrisos em dias bons ou ruins (eu sempre procurei ser assim também) ... na realidade se tem uma pessoa que eu sempre subestimei qualquer espécie de agradecimento, foi a mim mesma (mas isso é passado).

Ellen, professora, orientadora, parceira ... eternamente grata a você, principalmente por nunca ter soltado minhas mãos, nunca! Você me aceitou como eu sou, isso é raro, é algo que transcende hierarquias, intelectualidade, egos, intolerâncias... eu traduziria em respeito e humildade (para mim é sinônimo de “aceitação”). Mais do que isso, foi possível ver em você que as minhas qualidades acabavam se sobressaindo aos meus defeitos e isso é o que você priorizava. Obrigada por tanto, precisávamos nos cruzar há 8 anos e de lá pra cá, é um orgulho muito grande ter tido a oportunidade de presenciar suas várias fases, o quanto foi lapidando cada um da sua história e se lapidando também, mas o mais importante, jamais perdendo ou diluindo a sua essência nas “coisas” fugazes da vida ou do mundo acadêmico. Me identifico com a sua fortaleza, me identifico com a sua coragem e transparência.

A todos que direta ou indiretamente, participaram, colaboraram, me ajudaram, me apoiaram, me fortaleceram, me estimularam, me compreenderam, me abraçaram, me fizeram pensar, respirar, acreditar, que foram instrumento de opiniões divergentes também auxiliaram no meu crescimento...à todas essas pessoas inseridas no meu meio pessoal e profissional, muito obrigada por tanta troca, por partilharmos tantos momentos, por estarmos juntos nessa trajetória desenfreada, complexa, suada, mas grandiosamente gratificante, apesar de todas as instabilidades, inconstâncias e aflições que esse término de ciclo traz.



EPÍGRAFE



“Determinação, coragem e autoconfiança são fatores decisivos para o sucesso. Se estamos possuídos por uma inabalável determinação, conseguiremos superá-los. Independentemente das circunstâncias, devemos ser sempre humildes, recatados e despidos de orgulho”

Dalai Lama

Resumo

Introdução: A obesidade é uma condição fisiopatológica crônica que avança progressivamente de forma acelerada. Apesar de grandes esforços, o tratamento da obesidade ainda é um campo obscuro e os impactos dessa doença sobre a perspectiva clínica e de saúde pública são emergenciais. Estudos tem demonstrado um papel fundamental da microbiota intestinal na patogênese da obesidade e discutem os impactos da dieta e do exercício físico sobre o perfil do microbioma. No entanto, os mecanismos envolvidos nesses processos, referente a estratégias como o jejum intermitente (JI) associado ao treinamento físico (HIIT), ainda não foram explorados. Acredita-se que o jejum intermitente aliado ao exercício físico possam promover um remodelamento da composição e função da microbiota e que a presente investigação possa culminar em maiores esclarecimentos clínicos sobre o uso dessas estratégias para mitigar o dismetabolismo da obesidade mediado pela microbiota. **Objetivo:** Investigar se o jejum intermitente associado ou não ao treinamento físico de alta intensidade promoverá alterações na composição e função da microbiota intestinal em mulheres com obesidade. **Métodos:** Participaram do estudo 36 mulheres com obesidade, sedentárias e sem comorbidades, com idade entre 18 a 40 anos e que aleatoriamente foram distribuídas em 3 grupos: 1) grupo jejum intermitente associado ao exercício físico (IF+EX, n = 15); 2) grupo exercício físico (EX, n = 11); e 3) grupo jejum intermitente (IF, n = 10). Todas as voluntárias realizaram as coletas e avaliações pré e pós intervenção, sendo antropometria, consumo alimentar, calorimetria indireta para avaliar o gasto energético de repouso (GER), composição corporal por *BodPod®*, coleta de sangue para análises bioquímicas e inflamatórias (Multiplex), coleta de fezes para as análises de sequenciamento do gene *16S rRNA* da microbiota intestinal e das concentrações fecais de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) e testes físicos (*Shuttle Walking Test*, repetição múltipla e de força funcional) para os grupos com exercício físico. Os resultados foram expressos em média $\pm$ desvio padrão e aplicada a ANOVA *two way* medida repetida modelo misto para constatar as diferenças estatísticas ($p < 0,05$), além das análises de bioinformática e correlações de Spearman. **Resultados:** Houve redução de medidas antropométricas e na gordura corporal e ganho de massa livre de gordura somente nos grupos IF+EX e EX. Estes também apresentaram melhora na capacidade aeróbia e de força muscular, sem mudanças nos parâmetros inflamatórios em todos os grupos. O GER reduziu no grupo IF. O exercício elevou as concentrações fecais de acetato, porém não houve mudanças na composição e perfil funcional da microbiota, mas esta se correlacionou com AGCC, biomarcadores metabólicos e inflamatórios. **Conclusões:** Diferenças sutis foram observadas nos parâmetros metabólicos somente nos grupos que realizaram o exercício físico, sendo que o JI isolado não exibiu resultados promissores. As intervenções não alteraram a composição da microbiota intestinal, mas o exercício pode exercer um papel modulador sobre a produção de acetato. O IF+EX não acarretou em mudanças substanciais na microbiota, porém, avaliar essas intervenções por um período mais longo pode contribuir para esclarecimentos adicionais.

Palavras-chave: Obesidade, microbiota intestinal, jejum intermitente, exercício físico, metataxonômica.

Abstract

Introduction: Obesity is a chronic pathophysiological condition that progressively advances at an accelerated rate. Despite great efforts, the treatment of obesity is still an obscure field and the impacts of this disease on the clinical and public health perspective are urgent. Studies have demonstrated a fundamental role of the gut microbiota in the pathogenesis of obesity and discuss the impacts of diet and physical exercise on the microbiome profile. However, the mechanisms involved in these processes, referring to strategies such as intermittent fasting (IF) associated with physical training (HIIT), have not yet been explored. It is believed that intermittent fasting combined with physical exercise can promote a remodeling of the composition and function of the microbiota and that the present investigation may culminate in greater clinical clarification on the use of these strategies to mitigate the dysmetabolism of obesity mediated by the microbiota. **Objective:** Investigate whether or not intermittent fasting associated or not with high-intensity physical training will promote changes in the composition and function of the intestinal microbiota in women with obesity. **Methods:** Thirty-six obese, sedentary women with no comorbidities, aged between 18 and 40 years, participated in the study and were randomly assigned to 3 groups: 1) intermittent fasting group associated with physical exercise (IF+EX, n = 15); 2) physical exercise group (EX, n = 11); and 3) intermittent fasting group (IF, n = 10). All volunteers performed pre and post-intervention collections and assessments, including anthropometry, food consumption, indirect calorimetry to assess resting energy expenditure (REE), body composition by BodPod®, blood collection for biochemical and inflammatory analyzes (Multiplex), stool collection for the sequencing analysis of the 16S *rRNA* gene of the intestinal microbiota and the faecal concentrations of short-chain fatty acids (SCFA) and physical tests (Shuttle Walking Test, multiple repetition and functional strength) for the groups with physical exercise. Results were expressed as mean $\pm$ standard deviation and two-way repeated measure ANOVA mixed model was applied to verify statistical differences ($p < 0.05$), in addition to bioinformatics analysis and Spearman correlations. **Results:** There was a reduction in anthropometric measurements and in body fat and a gain in fat-free mass only in the IF+EX and EX groups. These also showed improvement in aerobic capacity and muscle strength, with no changes in inflammatory parameters in all groups. The REE reduced in the IF group. Exercise increased fecal acetate concentrations, but there were no changes in the composition and functional profile of the microbiota, but this was correlated with SCFA, metabolic and inflammatory biomarkers. **Conclusions:** Subtle differences were observed in metabolic parameters only in groups that performed physical exercise, and IF alone did not show promising results. The interventions did not change the composition of the gut microbiota, but exercise may exert a modulating role on acetate production. IF+EX did not lead to substantial changes in the microbiota, however, evaluating these interventions over a longer period may contribute to further clarification.

Keywords: Obesity, Gut microbiota, Intermittent fasting, Physical exercise, Metataxonomics.

INTRODUÇÃO

Globalmente, a prevalência de sobrepeso e obesidade aumentou de forma substancial nas últimas três décadas, alcançando mais de 2 bilhões de indivíduos, com destaque para uma maior proporção entre as mulheres. Mais de 50% dos 693 milhões de obesos vivem em apenas dez países, sendo que o Brasil ocupa a quinta posição (1). Diante dessa situação, os impactos da obesidade sobre as perspectivas clínica e de saúde pública são emergenciais e refletem no aumento dos riscos para doenças cardiovasculares, hipertensão, câncer, diabetes, osteoartrite e doença renal crônica (2).

A obesidade é uma condição fisiopatológica de etiologia complexa e multifatorial, capaz de ocasionar alterações metabólicas que incluem a produção anormal de adipocinas e ativação de vias pró-inflamatórias no tecido adiposo e resistência à insulina (3). Do ponto de vista da termodinâmica, o ganho de peso reflete em um desequilíbrio energético oriundo de uma maior captação de energia de alimentos com elevada densidade calórica e um gasto energético reduzido, levando à um balanço energético positivo (4).

O fato é que se tratando de uma condição predominantemente multifatorial, é preciso identificar as causas que envolvem desde aspectos ambientais, estilo de vida, genéticos, como também novos paradigmas que investigam o papel da microbiota intestinal na patogênese da obesidade (5).

A microbiota intestinal é um complexo ecossistema de microrganismos comensais, patogênicos e simbiotes, o qual está susceptível a alterações composicionais em virtude da influência conjunta de diversos aspectos

relacionados à dieta, *status* imunológico do hospedeiro, estilo de vida e fatores genéticos (6). A existência de uma complexa interação entre a microbiota intestinal e o metabolismo do hospedeiro repercute na capacidade que essas bactérias intestinais apresentam ao contribuir com a produção de metabólitos e outras substâncias, se comunicando com diferentes órgãos e tecidos. A atividade e a composição, ou seja, os tipos de microrganismos que colonizam o intestino, podem ser responsáveis pela proteção ou gatilho para doenças, como a obesidade e comorbidades associadas (7), conforme ilustrado na figura 1.



Figura 1. Interação entre a microbiota intestinal e o metabolismo do hospedeiro - Adaptado (7).

Bäckhed et al. (8), investigaram o papel do microbioma em camundongos *germ-free* e observaram que 60% dos animais que receberam a microbiota de ratos geneticamente obesos, apresentaram ganho de peso e resistência à insulina, quando comparado ao grupo com o microbioma inalterado. Os autores concluíram que a composição da microbiota intestinal afeta a homeostase energética e pode contribuir com o acúmulo de gordura.

Nesse contexto, o excesso de peso e a obesidade caracterizam uma microbiota intestinal de baixa diversidade, com uma riqueza de espécies microbianas reduzida e essa alteração na composição da microbiota caracteriza o fenômeno denominado disbiose, ou seja, instala-se um desequilíbrio na população de microrganismos com uma maior proporção de espécies mais patogênicas. Consequentemente, o epitélio intestinal torna-se um ambiente hiperpermeável, há uma disfunção da barreira intestinal representada por uma camada mais fina da mucosa e uma ruptura das proteínas *tight junction*, responsáveis por manter a integridade do epitélio intestinal frente à ameaça de patógenos. Portanto, é disparada uma resposta inflamatória que sinaliza a translocação de lipopolissacarídeos (LPS) presentes na membrana celular de bactérias gram-negativas, e ativação dos receptores do tipo *Toll-like 4* (TLR4), comprometendo uma resposta imunológica normal do hospedeiro e instalando a chamada endotoxemia metabólica (9,10), conforme ilustrado na figura 2. Essa condição demonstrou diminuir os mecanismos centrais de saciedade e reduzir a expressão de receptores anorexígenos de leptina e peptídicos no nervo vago e hipotálamo.

São mecanismos envolvendo a remodelação da microbiota intestinal que consequentemente favorece a cascata de sinalização obesogênica (11,12).

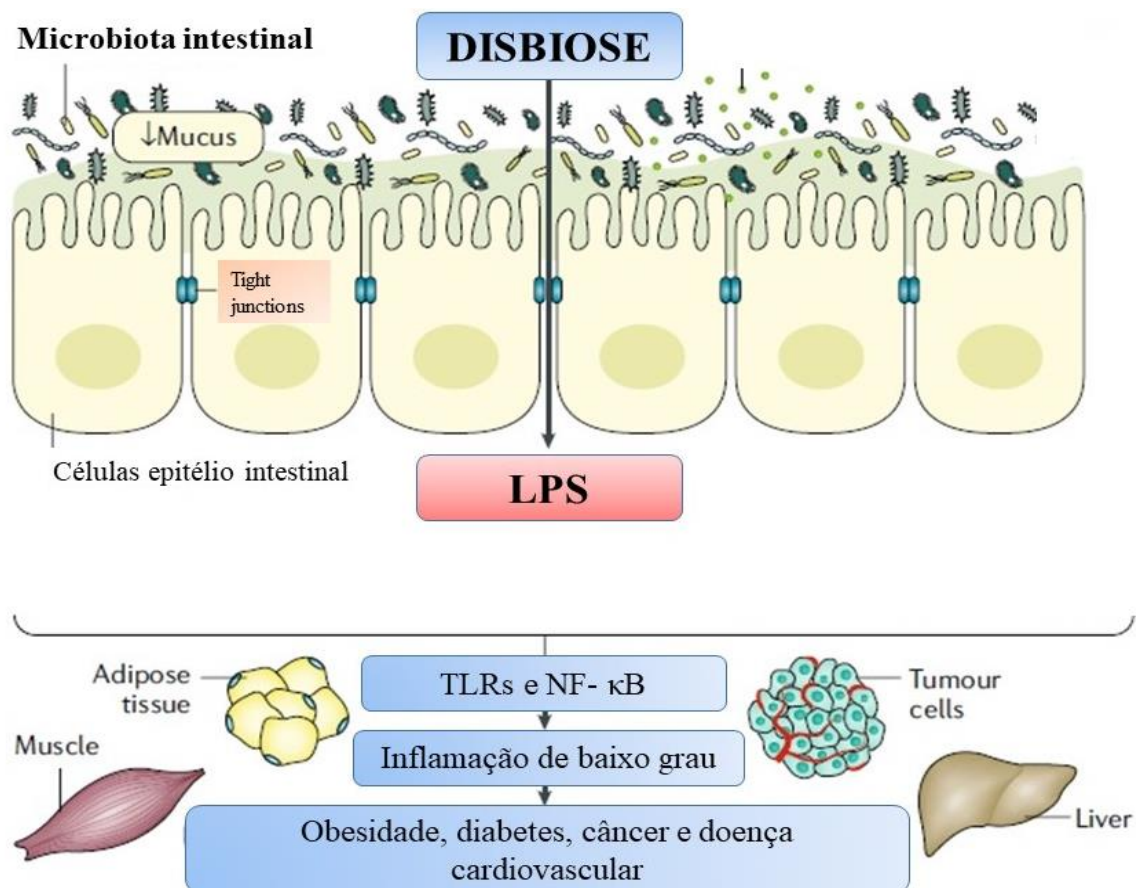


Figura 2. Disfunção da barreira intestinal e processo inflamatório. Adaptado (10).

Evidências moleculares demonstram que existe uma diferença importante entre avaliar a composição e aspectos funcionais da microbiota, uma vez que, uma análise filogenética corresponde à composição, à diversidade de microrganismos com tecnologias de metataxonômica, sequenciamento do gene *16S rRNA* capazes de aprimorar essas análises. Por outro lado, o perfil funcional da microbiota está atrelado às técnicas de metagenômica (13,14).

O sequenciamento do gene *16S rRNA* é uma das técnicas mais empregadas no campo da ecologia microbiana, visando uma ou mais regiões hipervariáveis pertencentes ao gene *16S rRNA*, composto por 9 regiões (15), afim de obter resultados precisos da composição de comunidades bacterianas (16). A tecnologia pode sequenciar leituras de 600 bp (pares de base) de alta qualidade, permitindo leituras com melhores atribuições taxonômicas, especialmente quando são baseadas em variantes de sequências de amplicon (ASVs), ao invés de atribuições de unidades taxonômicas operacionais (OTUs) (17). Além disso, Bukin et al. (15) mostraram que as regiões V2-V3 e V3-V4 do gene *16S* apresentaram elevada resolução para estimar a diversidade da comunidade microbiana.

Os filos dominantes que compõem a microbiota intestinal são os Firmicutes, Bacteroidetes, Proteobacteria, Actinobacteria e Verrucomicrobia, sendo que os Firmicutes e Bacteroidetes correspondem a 90% das bactérias intestinais (18). A literatura tem apontado que algumas bactérias que habitam o nosso intestino, especialmente aquelas pertencentes ao filo Firmicutes são frequentemente encontradas em maior proporção em indivíduos obesos e possuem a capacidade de aumentar a captação de monossacarídeos, exacerbando a captura de energia dos alimentos, podendo favorecer o ganho de peso e aumento do apetite via eixo-microbiota-cérebro, com maior liberação de hormônios orexigênicos (relacionados à fome), comprometendo a sinalização de saciedade. Esse processo pode desencadear um aumento da lipogênese hepática de forma descompensada, interferindo na homeostase energética e no aumento do peso corporal do indivíduo (19,20). Arumugam et

al. (21) sugeriram que a análise de biomarcadores funcionais derivados da metagenômica poderiam ser uma valiosa ferramenta em associação com as análises filogenéticas (metataxonômica), pois dessa forma foi possível encontrar uma correlação importante entre o papel funcional de bactérias e um maior índice de massa corporal (IMC) do hospedeiro, apoiando a possível ação de alguns grupos de bactérias no aumento da captação de energia oriunda do alimento em indivíduos com obesidade.

Estudos já demonstraram que a composição da microbiota de indivíduos obesos é diferente de indivíduos magros, sendo que na obesidade há uma proporção maior do filo Firmicutes que apresenta características mais patogênicas, do que Bacteroidetes com atividade simbiótica, conferindo assim uma menor diversidade do perfil microbiano (19,22,23).

Alguns mecanismos têm sido propostos para explicar o papel da microbiota na patogênese da obesidade, como a capacidade de modular o balanço energético do hospedeiro, fazendo com que haja uma maior captação de energia do alimento e produção de metabólitos como os ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) que podem estar envolvidos com o processo de lipogênese, ácidos biliares secundários e sinalização de LPS. Tais metabólitos e produtos microbianos atuam como moléculas sinalizadoras que interferem no apetite, na permeabilidade intestinal e na captação, armazenamento e gasto energético (24).

As respostas inflamatórias do hospedeiro podem ser designadas por meio da produção de AGCC. Microrganismos que residem no intestino metabolizam carboidratos complexos indigeríveis por processos de

fermentação, resultando na produção de AGCCs (acetato, propionato e butirato), os quais podem atuar na captação de energia oriunda do alimento ingerido (24), mas também como moléculas sinalizadoras, ao se ligarem aos seus receptores acoplados à proteína G, GPR43 e GPR41 no epitélio intestinal (14,25).

Sabe-se que uma série de fatores podem influenciar a composição da microbiota intestinal, como o estresse, o envelhecimento, o uso crônico de antibióticos, a gestação, entre outros, com destaque para a dieta e o exercício físico que são as variáveis mais exploradas nessa temática, porém muitos mecanismos e como esses gatilhos se comunicam com a microbiota do hospedeiro, ainda foram pouco desvendados (26).

É evidente que a dieta é um fator ambiental capaz de disparar sinais inflamatórios responsáveis pelo desenvolvimento da obesidade. Muito se discute acerca da influência de uma alimentação altamente calórica, rica em açúcares e gordura, induzindo modulações na microbiota intestinal e consequentemente no processo de ganho de peso (27). O fato é que a dieta afeta fortemente a composição da microbiota e é capaz de determinar os tipos de metabólitos a serem sintetizados (24,28).

Dessa forma, a maioria das abordagens para perda de peso concentram-se em estratégias baseadas na restrição calórica e aumento do gasto energético por meio do exercício físico (29). É notório que o gerenciamento eficaz do peso é desafiador, uma vez que dentre as inúmeras ferramentas disponíveis para perda de peso, muitas resultam na recuperação do mesmo, o que significa que as dificuldades no processo de manutenção

dos resultados conquistados têm despertado vários questionamentos frente às novas abordagens dietéticas (30).

Nos últimos anos, o jejum intermitente (JI) ganhou popularidade por mostrar ser uma alternativa promissora de restrição calórica com efeitos sobre a perda de peso e saúde cardiometabólica na obesidade (31–33). Ao contrário dos paradigmas tradicionais de restrição dietética, o JI apresenta diferentes protocolos, sendo o mais tipicamente utilizado, o jejum de dias alternados que consiste na combinação entre períodos de jejum, que variam de 16 a 20 horas, um consumo de apenas 25% das necessidades energéticas diárias do indivíduo, com dias de alimentação sem restrições, *ad libitum*. (34,35).

O JI tem demonstrado benefícios metabólicos com desfechos na perda de peso, gordura corporal, melhora no perfil lipídico e resistência à insulina (33,35). Entretanto, apesar dos efeitos promissores sobre os parâmetros metabolicamente alterados na obesidade, alguns autores posicionam o JI como uma abordagem válida, porém aparentemente, não superior à restrição energética contínua (36).

Foi demonstrado que uma dieta de JI apresentou efeitos benéficos na obesidade ao estimular o efeito *browning* no tecido adiposo branco de camundongos e de forma interessante, esses resultados foram relacionados às modulações na microbiota intestinal e aumento do conteúdo de AGCC. Os autores demonstraram que o JI pode otimizar o metabolismo energético por uma possível comunicação com a microbiota, porém os mecanismos envolvidos ainda são pouco esclarecidos (37). Parece que as alterações provocadas pelo JI no ciclo circadiano, o qual se refere aos horários das

refeições, podem afetar as funções gastrointestinais, modulando o perfil microbiano (38).

O fato é que a ritmicidade circadiana afeta tanto o comportamento alimentar quanto as múltiplas funções intestinais, bem como a composição e as interações do microbioma com o intestino (39). Evidências indicam que o aspecto temporal da ingestão alimentar pode ser determinante para a predisposição à doenças crônicas (40), é inegável que a alimentação de forma geral está confinada a períodos pré definidos, nos quais a fase inativa (sono) do indivíduo está alinhada a períodos curtos de jejum, enquanto que a fase de vigília contempla refeições diluídas ao longo do dia e é justamente nessa perspectiva que entra em cena o jejum intermitente ou a alimentação restrita por tempo determinado, podendo ser instrumentos de reestruturação metabólica (41).

Nesse contexto, é saliente o papel que a microbiota intestinal desempenha na regulação de muitos processos fisiológicos, a detecção microbiana rítmica por células epiteliais intestinais foi considerada essencial para a homeostase epitelial. Os horários em que o indivíduo se alimenta influenciam nas oscilações diárias da composição microbiana e na abundância de bactérias comensais e patogênicas (42). A ilustração da Figura 3 exemplifica esses processos.

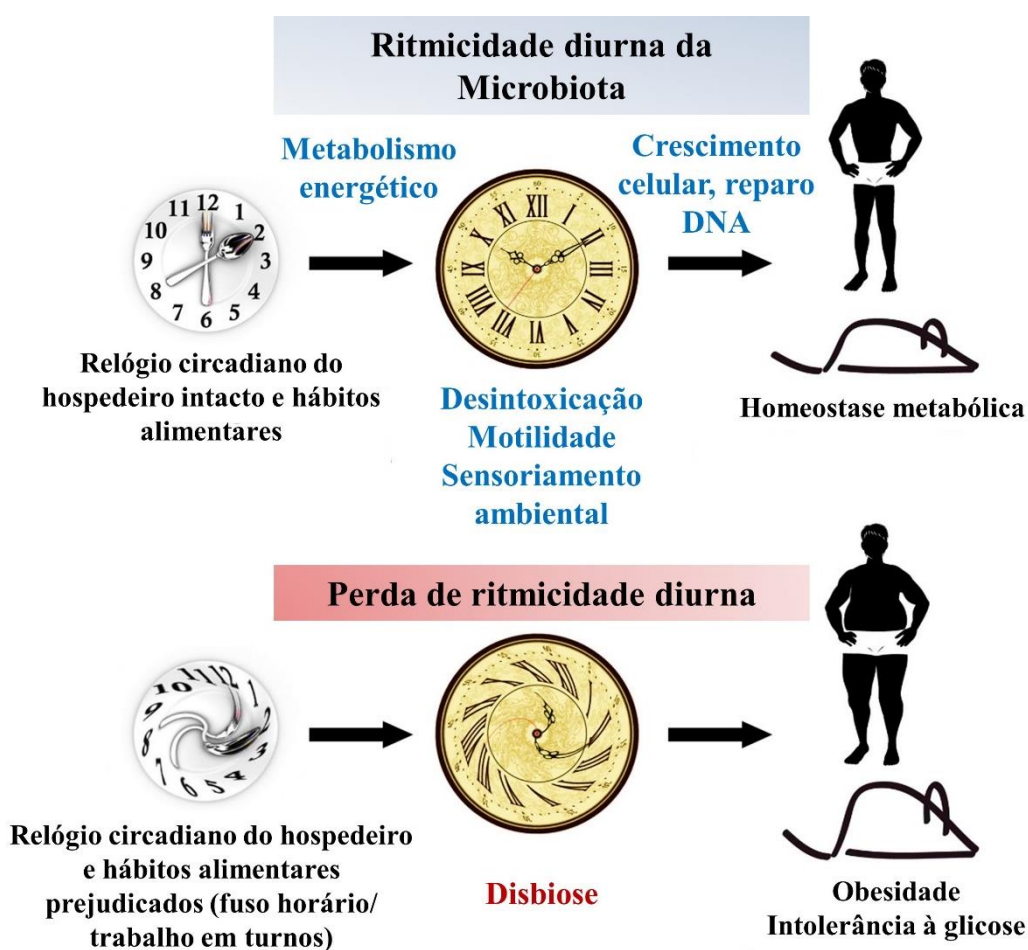


Figura 3. Oscilações da microbiota intestinal sob influência da ritmicidade dos hábitos alimentares (42). – Adaptado.

Wang et al (43) questionaram se os efeitos benéficos da restrição calórica são causa ou consequência do papel da microbiota intestinal e foi possível observar um rearranjo estrutural da microbiota em função da restrição energética, com redução do filo Firmicutes e leve aumento dos Bacteroidetes, em estudos com animais. Além disso, os autores elucidaram um papel protetor da microbiota contra distúrbios metabólicos e a forte influência na perda de peso, uma vez que camundongos com uma microbiota

depletada após tratamento com antibióticos, apresentaram-se resistentes à perda de peso induzida por restrição calórica.

No tocante ao referencial teórico do exercício físico, uma recente revisão sistemática posiciona a comunidade científica quanto à necessidade de mais estudos bem conduzidos capazes de informar a aplicabilidade clínica de intervenções dietéticas com desfechos na microbiota intestinal e ainda destaca o número reduzido de evidências que reportam os efeitos do exercício físico sobre a microbiota (44). No entanto, um trabalho pioneiro de Clarke et al. (45) encontraram mudanças na composição da microbiota intestinal de atletas em resposta ao exercício físico combinado com dieta, evidenciando aumento na diversidade microbiana no intestino humano. O trabalho abriu perspectivas para estudos futuros com foco no delineamento de estratégias que combinem a prescrição dietética com o exercício físico, a fim de traçar novos paradigmas de intervenção terapêutica e preventiva na obesidade, além de compreender melhor a relação da microbiota intestinal na saúde e doença.

Posteriormente, outro grupo de pesquisadores relacionaram o *fitness* cardiorrespiratório com a composição microbiana intestinal. Os autores perceberam que o aumento no preparo físico de indivíduos saudáveis associado a uma dieta rica em proteína modelou a composição da diversidade microbiana no intestino, evidenciando que o exercício físico impacta a saúde do hospedeiro (46).

Corroborando com esses achados, o exercício físico parece não só estar associado a composição, mas também à função da microbiota intestinal

tanto em indivíduos magros como em obesos. No entanto, o perfil modificado da microbiota parece não se manter após interrupção da prática de exercícios físicos (47). Além disso, Scheiman et al. (48) inovaram as investigações acerca da relação entre a microbiota e o exercício físico, ao encontrarem um comportamento determinante do microbioma na melhora do desempenho de atletas por meio do metabolismo de lactato.

Aqui evidenciamos algumas investigações relevantes envolvendo o impacto do exercício físico sobre a microbiota de atletas, com ou sem a influência da dieta. No entanto, até o momento, não há estudos clínicos que envolvam juntamente um tipo de intervenção dietética específica, como o jejum intermitente, com um protocolo de treinamento físico específico, como o treinamento intervalado de alta intensidade (do inglês o *High Intensity Interval Training - HIIT*), sobre a microbiota intestinal de indivíduos obesos. O presente estudo inclina suas investigações sobre esses desfechos e pondera o uso de um treinamento em HIIT capaz de melhor atender à baixa adesão à prática de exercícios físicos por parte da população estudada.

Denou et al. (49) demonstraram interesse em compreender melhor as influências do HIIT sobre as características taxonômicas e metagenômicas da microbiota intestinal de ratos com obesidade induzida por dieta hiperlipídica e observaram que o HIIT foi capaz de aumentar a diversidade de microrganismos modulando a composição da microbiota, independente de mudanças na massa corporal e concluem que o exercício pode contrabalancear muitos processos metabólicos do hospedeiro durante a obesidade. Mailing, et al. (50), corroboraram de forma salutar com essa

temática ao abordarem a importância de aprofundar as investigações quanto aos efeitos de diferentes intensidades, frequência e tipos de exercício com implicações na microbiota intestinal do hospedeiro e levantam uma série de possíveis mecanismos que poderão auxiliar na compreensão das alterações induzidas pelo exercício na microbiota com desfecho benéfico à saúde humana. Ademais, Aya et al. (51) sistematizaram as questões envolvendo diferentes intensidades de exercício e os impactos sobre a modulação da microbiota, os autores relataram que a progressão do treinamento físico de fato tem potencial modulador sobre a comunidade microbiana, podendo aumentar a diversidade (Figura 4).

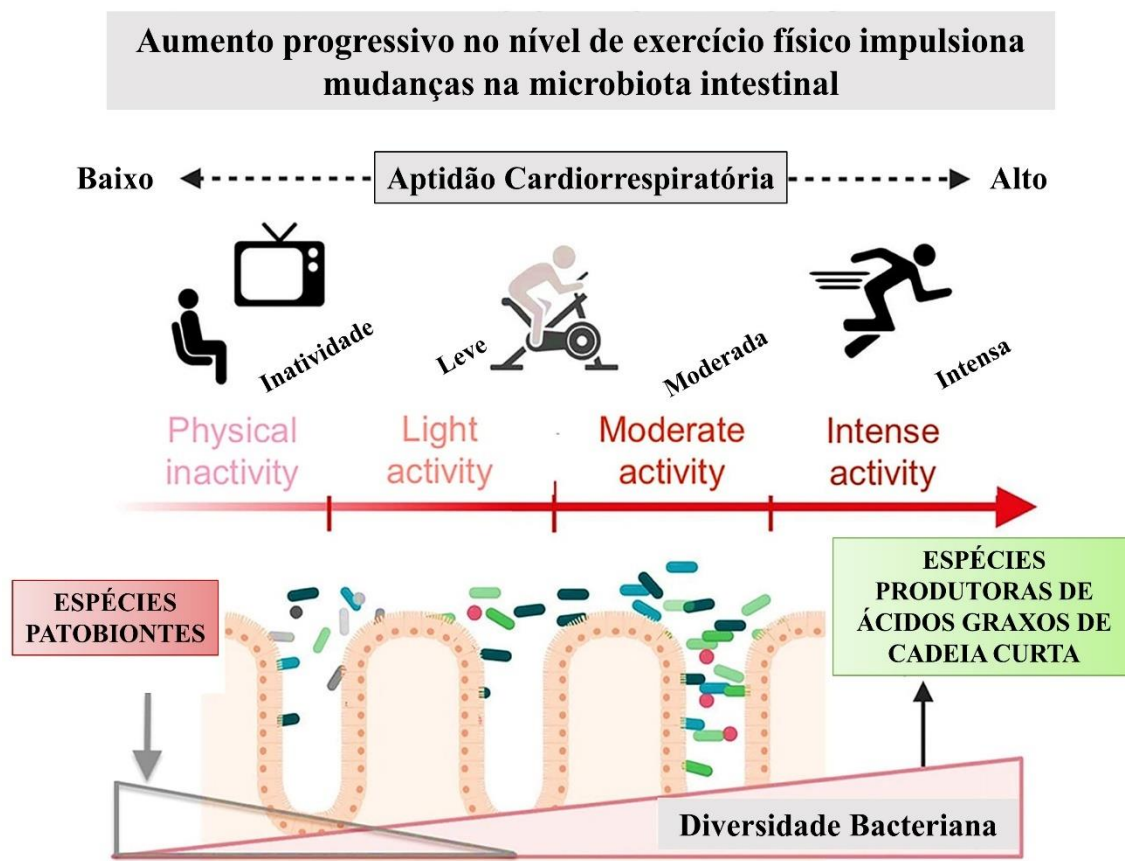


Figura 4. Diferentes intensidades do exercício físico modulam a microbiota intestinal (51). Adaptado.

Frente à essa abordagem, o treinamento HIIT envolve exercícios vigorosos breves e intermitentes, intercalados por períodos de descanso ativo ou passivo (52). Estudos demonstram que o HIIT requer menos tempo do que as opções convencionais de exercícios de intensidade moderada para obter benefícios de saúde (53), incluindo aumento da aptidão aeróbica (54–56), melhora da pressão arterial, glicose e gordura visceral (52), bem como redução do risco de mortalidade (57).

O HIIT permite ampla variação de protocolos com diferentes relações entre o trabalho e o descanso; e a distribuição da intensidade do treinamento.

Além disso, o HIIT requer menos tempo que o treinamento de baixa intensidade e alto volume, sendo considerado atraente, pois a falta de tempo parece ser um dos principais motivos para não realizar exercícios físicos (58). Ao contrário do tradicional HIIT baseado em resistência aeróbia, o Circuito Intervalado de Alta Intensidade (Circuito HIIT), incorpora treinamento de alta intensidade em circuito, utilizando múltiplas articulações e recrutando múltiplos músculos esqueléticos (59). Além disso, o Circuito HIIT pode ser um atrativo para indivíduos com excesso de peso e promover maior aderência à intervenção, além de conferir melhora sobre a composição corporal e parâmetros de força muscular (59).

No presente estudo, foi utilizado o Circuito HIIT em mulheres com obesidade sendo cuidadosos na escolha dos exercícios para evitar lesões ósseas, ligamentares ou musculares. Embora haja menção quanto aos exercícios de alta intensidade em indivíduos obesos, aumentando o risco de lesões musculoesqueléticas, injúrias e complicações ortopédicas devido ao alto impacto da natureza do exercício (60) existem vários estudos que elucidam os benefícios metabólicos e funcionais do treinamento de alta intensidade, com destaque para o HIIT em que os benefícios parecem superar os riscos e ser eficaz na redução e controle do peso corporal a longo prazo, melhora do balanço energético, metabolismo muscular e perfil lipídico, desempenho físico, fatores de riscos associados à obesidade, além da melhora na composição corporal independente de alterações no peso (61,62). Além disso, a liberação médica é de extrema importância para que o indivíduo esteja mais assegurado quanto à prática das atividades físicas (63). É

importante mencionar a importância de intervenções de exercício físico de alta intensidade para indivíduos obesos tendo a supervisão de um instrutor experiente, pois teoricamente aumentam as chances de adesão aos programas de exercícios prescritos (63).

Visto que tanto uma dieta de JI como o exercício físico se comunicam direta ou indiretamente com a microbiota intestinal, isso apoia a ideia de que uma ação sinérgica de ambas as abordagens, possa melhorar a microbiota e parâmetros metabólicos da obesidade.

Diante do exposto e da importância em compreender os processos que sustentam a microbiota intestinal funcionando como um gatilho que liga o ambiente e o hospedeiro à obesidade, acredita-se que o estudo da influência do jejum intermitente aliado ao exercício físico em mulheres obesas jovens, possa ser considerado uma investigação promissora capaz de ampliar nosso entendimento sobre as funções e efeitos da microbiota em condições de obesidade e traçar estratégias de intervenção clínica unindo a dietoterapia com exercício físico na tentativa de alterar o perfil microbiano intestinal, conferindo melhorias na saúde de indivíduos obesos. Além disso, a maioria dos achados nesse campo de pesquisa, são estudos com animais, o que implica grande relevância do presente estudo com seres humanos, buscando ampliar os conhecimentos na área.

Portanto, acredita-se que uma relação consistente entre o jejum intermitente associado ao treinamento físico apresente efeitos benéficos sobre a microbiota intestinal humana, em termos de diversidade, função e

aumento na produção de metabólitos; bem como possa melhorar o processo inflamatório, a composição corporal e o metabolismo energético.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estudo dos efeitos do jejum intermitente combinado ou não ao exercício físico HIIT, sobre a modulação da microbiota intestinal, a composição corporal e o processo inflamatório na obesidade, apresentou como produto final dois manuscritos, um em fase de revisão para publicação e o outro em fase final de preparação para posterior submissão em periódico. A presente tese de doutorado elaborou a priori, o enunciado do problema, evidenciando a hipótese a ser respondida e as lacunas do conhecimento sobre a temática abordada. No geral, o presente estudo mostrou que o exercício físico de alta intensidade combinado ou não com o jejum intermitente, melhorou parâmetros metabólicos, de composição corporal e aptidão física, independente de alterações na microbiota intestinal. Mas também, embora as intervenções não tenham modulado a composição e a diversidade da microbiota, elucidamos que após 8 semanas, o exercício elevou as concentrações fecais de acetato, a abundância de integrantes do filo Firmicutes foi predominante em todos os grupos e que a microbiota intestinal não apresentou diferenças funcionais relevantes nas vias metabólicas, porém se correlacionou com biomarcadores metabólicos e inflamatórios.

REFERÊNCIAS

1. Ng M, Fleming T, Robinson M, Thomson B, Graetz N, Margono C, et al. Global, regional, and national prevalence of overweight and obesity in children and adults during 1980–2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *Lancet*. 2014;384(9945):766–81.
2. Lim SS, Vos T, Flaxman AD, Danaei G, Shibuya K, Adair-Rohani H, et al. A comparative risk assessment of burden of disease and injury

- attributable to 67 risk factors and risk factor clusters in 21 regions, 1990-2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet* (London, England). 2012; 15;380 (9859):2224–60.
3. Goossens GH. The role of adipose tissue dysfunction in the pathogenesis of obesity-related insulin resistance. *Physiol Behav.* 2008;94(2):206–18.
 4. Laurens C, de Glisezinski I, Larrouy D, Harant I, Moro C. Influence of Acute and Chronic Exercise on Abdominal Fat Lipolysis: An Update. *Front Physiol.* 2020; 7;11.
 5. Parekh PJ, Arusi E, Vinik AI, Johnson DA. The role and influence of gut microbiota in pathogenesis and management of obesity and metabolic syndrome. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2014;5(APR):1–7.
 6. Sommer F, Anderson JM, Bharti R, Raes J. The resilience of the intestinal microbiota influences health and disease. *Nat Publ Gr.* 2017;15(10):630–8.
 7. Rastelli M, Knauf C, Cani PD. Gut Microbes and Health: A Focus on the Mechanisms Linking Microbes, Obesity, and Related Disorders. *Obesity.* 2018;26(5):792–800.
 8. Bäckhed F, Ding H, Wang T, Hooper L V., Gou YK, Nagy A, et al. The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004;101(44):15718–23.
 9. Cani PD, Amar J, Iglesias MA, Poggi M, Knauf C, Bastelica D, et al. Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance. *Diabetes.* 2007;56(7):1761–72.
 10. Cani PD, Jordan BF. Gut microbiota-mediated inflammation in obesity: a link with gastrointestinal cancer. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2018;15(11):671–82.
 11. Larraufie P, Doré J, Lapaque N, Blottière HM. TLR ligands and butyrate

- increase Pyy expression through two distinct but inter-regulated pathways. *Cell Microbiol.* 2017;19(2):e12648.
12. Qin Y, Roberts JD, Grimm SA, Lih FB, Deterding LJ, Li R, et al. An obesity-associated gut microbiome reprograms the intestinal epigenome and leads to altered colonic gene expression. *Genome Biol.* 2018; 23;19(1):7.
 13. Ley RE, Bäckhed F, Turnbaugh P, Lozupone CA, Knight RD, Gordon JI. Obesity alters gut microbial ecology. *Proc Natl Acad Sci.* 2005 2;102(31):11070–5.
 14. Tilg H, Kaser A. Gut microbiome, obesity, and metabolic dysfunction. *J Clin Invest.* 2011;121(6):2126–32.
 15. Bukin YS, Galachyants YP, Morozov I V., Bukin S V., Zakharenko AS, Zemskaya TI. The effect of 16s rRNA region choice on bacterial community metabarcoding results. *Sci Data.* 2019;6:1–14.
 16. Walker SP, Barrett M, Hogan G, Flores Bueso Y, Claesson MJ, Tangney M. Non-specific amplification of human DNA is a major challenge for 16S rRNA gene sequence analysis. *Sci Rep.* 2020;10(1):1–7.
 17. Shahi SK, Zarei K, Guseva N V., Mangalam AK. Microbiota analysis using two-step pcr and next-generation 16s rrna gene sequencing. *J Vis Exp.* 2019;2019(152).
 18. Eckburg PB, Bik EM, Bernstein CN, Purdom E, Dethlefsen L, Sargent M, et al. Diversity of the human intestinal microbial flora. *Science.* 2005; 10;308(5728):1635–8.
 19. Turnbaugh PJ, Ley RE, Mahowald MA, Magrini V, Mardis ER, Gordon JI. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. 2006;444:1027–31.
 20. Krajmalnik-Brown R, Ilhan ZE, Kang DW, DiBaise JK. Effects of gut microbes on nutrient absorption and energy regulation. *Nutr Clin Pract.*

2012;27(2):201–14.

21. Arumugam M, Raes J, Pelletier E, Le Paslier D, Yamada T, Mende DR, et al. Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature*. 2011; 12;473(7346):174–80.
22. Ley RE, Turnbaugh PJ, Klein S, Gordon JI. Microbial ecology: human gut microbes associated with obesity. *Nature*. 2006; 21;444(7122):1022–3.
23. Turnbaugh PJ, Gordon JI. The core gut microbiome , energy balance and obesity. 2009;17:4153–8.
24. Heiss CN, Olofsson LE. Gut Microbiota-Dependent Modulation of Energy Metabolism. *J Innate Immun*. 2018;10(3):163–71.
25. Brown AJ, Goldsworthy SM, Barnes AA, Eilert MM, Tcheang L, Daniels D, et al. The Orphan G Protein-coupled Receptors GPR41 and GPR43 Are Activated by Propionate and Other Short Chain Carboxylic Acids. *J Biol Chem*. 2003;278(13):11312–9.
26. Cerdá B, Pérez M, Pérez-Santiago JD, Tornero-Aguilera JF, González-Soltero R, Larrosa M. Gut microbiota modification: Another piece in the puzzle of the benefits of physical exercise in health? *Front Physiol*. 2016;7:1–11.
27. Turnbaugh PJ. Microbes and Diet-Induced Obesity: Fast, Cheap, and Out of Control. *Cell Host Microbe*. 2017; 8;21(3):278–81.
28. Tremaroli V, Bäckhed F. Functional interactions between the gut microbiota and host metabolism. *Nature*. 2012; 12;489(7415):242–9.
29. Jebb SA, Kopelman P, Butland B. Executive Summary: Foresight ?Tackling Obesities: Future Choices? project. *Obes Rev*. 2007;8(s1):vi–ix.
30. Laddu D, Dow C, Hingle M, Thomson C, Going S. A review of evidence-based strategies to treat obesity in adults. *Nutr Clin Pract*.

2011;26(5):512–25.

31. Harvie M, Wright C, Pegington M, McMullan D, Mitchell E, Martin B, et al. The effect of intermittent energy and carbohydrate restriction v. daily energy restriction on weight loss and metabolic disease risk markers in overweight women. *Br J Nutr.* 2013;110(8):1534–47.
32. Barnosky AR, Hoddy KK, Unterman TG, Varady KA. Intermittent fasting vs daily calorie restriction for type 2 diabetes prevention: A review of human findings. *Transl Res.* 2014;164(4):302–11.
33. Mattson MP, Longo VD, Harvie M. Impact of intermittent fasting on health and disease processes. *Ageing Res Rev.* 2017;39:46–58.
34. Varady KA, Bhutani S, Klempel MC, Kroeger CM, Trepanowski JF, Haus JM, et al. Alternate day fasting for weight loss in normal weight and overweight subjects: a randomized controlled trial. *Nutr J.* 2013;12;12(1):146.
35. Tinsley GM, La Bounty PM. Effects of intermittent fasting on body composition and clinical health markers in humans. *Nutr Rev.* 2015;73(10):661–74.
36. Seimon R V., Roekenes JA, Zibellini J, Zhu B, Gibson AA, Hills AP, et al. Do intermittent diets provide physiological benefits over continuous diets for weight loss? A systematic review of clinical trials. *Mol Cell Endocrinol.* 2015; 418:153–72.
37. Li G, Xie C, Lu S, Nichols RG, Tian Y, Li L, et al. Intermittent Fasting Promotes White Adipose Browning and Decreases Obesity by Shaping the Gut Microbiota. *Cell Metab.* 2017; 3;26(4):672-685.e4.
38. Ekmekcioglu C, Touitou Y. Chronobiological aspects of food intake and metabolism and their relevance on energy balance and weight regulation. *Obes Rev.* 2011;12(1):14–25.
39. Frank LD, Adhikari B, White KR, Dummer T, Sandhu J, Demlow E, et al.

- Chronic disease and where you live: Built and natural environment relationships with physical activity, obesity, and diabetes. *Environ Int.* 2022;158:106959.
40. Mattson MP, Allison DB, Fontana L, Harvie M, Longo VD, Malaisse WJ, et al. Meal frequency and timing in health and disease. *Proc Natl Acad Sci.* 2014; 25;111(47):16647–53.
 41. Longo VD, Panda S, Adamello V, Jolla L. Fasting Circadian Rhythms Time restricted eating. *Cell Metab.* 2017;23(6):1048–59.
 42. Thaiss CA, Zeevi D, Levy M, Zilberman-Schapira G, Suez J, Tengeler AC, et al. Transkingdom control of microbiota diurnal oscillations promotes metabolic homeostasis. *Cell.* 2014;159(3):514–29.
 43. Wang S, Huang M, You X, Zhao J, Chen L, Wang L, et al. Gut microbiota mediates the anti- obesity effect of calorie restriction in mice. *Sci Rep.* 2018;2–15.
 44. Houghton D, Hardy T, Stewart C, Errington L, Day CP, Trenell MI, et al. Systematic review assessing the effectiveness of dietary intervention on gut microbiota in adults with type 2 diabetes. *Diabetologia.* 2018;61(8):1700–11.
 45. Clarke SF, Murphy EF, O'Sullivan O, Lucey AJ, Humphreys M, Hogan A, et al. Exercise and associated dietary extremes impact on gut microbial diversity. *Gut.* 2014;63(12):1913–20.
 46. Estaki M, Pither J, Baumeister P, Little JP, Gill SK, Ghosh S, et al. Cardiorespiratory fitness as a predictor of intestinal microbial diversity and distinct metagenomic functions. *Microbiome.* 2016;4:1–13.
 47. Allen JM, Mailing LJ, Niemi GM, Moore R, Cook MD, White BA, et al. Exercise Alters Gut Microbiota Composition and Function in Lean and Obese Humans. *Med Sci Sports Exerc.* 2018;50(4):747–57.
 48. Scheiman J, Lubert JM, Chavkin TA, MacDonald T, Tung A, Pham LD,

- et al. Meta-omics analysis of elite athletes identifies a performance-enhancing microbe that functions via lactate metabolism. *Nat Med*. 2019;25(7):1104–9.
49. Denou E, Marcinko K, Surette MG, Steinberg GR, Schertzer JD. High-intensity exercise training increases the diversity and metabolic capacity of the mouse distal gut microbiota during diet-induced obesity. *Am J Physiol - Endocrinol Metab*. 2016;310(11):E982–93.
 50. Mailing LJ, Allen JM, Buford TW, Fields CJ, Woods JA. Exercise and the Gut Microbiome: A Review of the Evidence, Potential Mechanisms, and Implications for Human Health. *Exerc Sport Sci Rev*. 2019;47(2):75–85.
 51. Aya V, Flórez A, Perez L, Ramírez JD. Association between physical activity and changes in intestinal microbiota composition: A systematic review. *PLoS One*. 2021;16:1–21.
 52. Gibala MJ, Little JP, Macdonald MJ, Hawley JA. Physiological adaptations to low-volume, high-intensity interval training in health and disease. *J Physiol*. 2012;590(5):1077–84.
 53. Gillen JB, Gibala MJ. Is high-intensity interval training a time-efficient exercise strategy to improve health and fitness? *Appl Physiol Nutr Metab*. 2014;39(3):409–12.
 54. Sloth M, Sloth D, Overgaard K, Dalgas U. Effects of sprint interval training on VO₂max and aerobic exercise performance: A systematic review and meta-analysis. *Scand J Med Sci Sport*. 2013;23(6):341–52.
 55. Milanović Z, Sporiš G, Weston M. Effectiveness of High-Intensity Interval Training (HIT) and Continuous Endurance Training for VO₂max Improvements: A Systematic Review and Meta-Analysis of Controlled Trials. *Sport Med*. 2015;45(10):1469–81.
 56. Gist NH, Fedewa M V., Dishman RK, Cureton KJ. Sprint interval training effects on aerobic capacity: A systematic review and meta-analysis. *Sport Med*. 2014;44(2):269–79.

57. O'Donovan G, Lee I-M, Hamer M, Stamatakis E. Association of "Weekend Warrior" and Other Leisure Time Physical Activity Patterns With Risks for All-Cause, Cardiovascular Disease, and Cancer Mortality. *JAMA Intern Med.* 2017;1;177(3):335.
58. Roy M, Williams SM, Brown RC, Meredith-Jones KA, Osborne H, Jospe M, et al. High-Intensity Interval Training in the Real World: Outcomes from a 12-Month Intervention in Overweight Adults. *Med Sci Sports Exerc.* 2018;50(9):1818–26.
59. Sperlich B, Wallmann-Sperlich B, Zinner C, Von Stauffenberg V, Losert H, Holmberg HC. Functional high-intensity circuit training improves body composition, peak oxygen uptake, strength, and alters certain dimensions of quality of life in overweight women. *Front Physiol.* 2017;8:1–9.
60. Fletcher GF, Froelicher VF, Hartley LH, Haskell WL, Pollock ML. Exercise standards. A statement for health professionals from the American Heart Association. *Circulation.* 1990;82(6):2286–322.
61. Wewege M, van den Berg R, Ward RE, Keech A. The effects of high-intensity interval training vs. moderate-intensity continuous training on body composition in overweight and obese adults: a systematic review and meta-analysis. *Obes Rev.* 2017;18(6):635–46.
62. Petridou A, Siopi A, Mougios V. Exercise in the management of obesity. *Metabolism.* 2019;92:163–9.
63. Garber CE, Blissmer B, Deschenes MR, Franklin BA, Lamonte MJ, Lee I-M, et al. Quantity and Quality of Exercise for Developing and Maintaining Cardiorespiratory, Musculoskeletal, and Neuromotor Fitness in Apparently Healthy Adults. *Med Sci Sport Exerc.* 2011;43(7):1334–59.