



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO – UFRJ

PRISCILA DOS SANTOS GOMES OLIVARES

**COMPOSIÇÃO DA MICROBIOTA INTESTINAL E PERFIL METABÓLICO EM
INDIVÍDUOS OBESOS E NÃO OBESOS**

Rio de Janeiro/ RJ

2020

Priscila dos Santos Gomes Olivares

COMPOSIÇÃO DA MICROBIOTA INTESTINAL
E PERFIL METABÓLICO EM INDIVÍDUOS
OBESOS E NÃO OBESOS

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Medicina (Cardiologia) da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como requisito final para obtenção do grau de Mestre em Ciências (área de concentração - Cardiologia).

Orientadoras:

Prof^ª. Dr^ª. Glorimar Rosa

Prof^ª. Dr^ª. Gláucia Maria Moraes de Oliveira

Rio de Janeiro/ RJ
2020

Priscila dos Santos Gomes Olivares

COMPOSIÇÃO DA MICROBIOTA INTESTINAL
E PERFIL METABÓLICO EM INDIVÍDUOS
OBESOS E NÃO OBESOS

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Medicina (Cardiologia) da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como requisito final para obtenção do grau de Mestre em Ciências (área de concentração - Cardiologia).

Aprovada em: ____/____/____

Dr^a Gláucia Maria Moraes de Oliveira
Pós Cardiologia – UFRJ

Dr^a Glorimar Rosa
Instituto de Nutrição Josué de Castro – UFRJ

Professor Dr Roberto Coury Pedrosa
Pós Cardiologia - UFRJ

Professora Dr^a Leila Sicupira Carneiro de Souza Leão
Instituto de Nutrição - UNIRIO

Professora Dr^a Sofia Kimi Uehara
Instituto de Nutrição - UERJ

FICHA CATALOGRÁFICA

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me conceder a dádiva de viver e me permitir alcançar meus sonhos, além de ser meu refúgio nos momentos difíceis.

Aos meus pais por todo cuidado ao longo da minha vida, por serem alicerce e por sempre me apoiarem nas minhas escolhas.

Ao meu filho João Vitor por compreender minha ausência durante os momentos de maior dedicação a pesquisa.

A toda a minha família que sempre torceu por mim, em especial minha irmã Danielle, meu irmão Rodrigo e minha prima Bianca.

Ao meu namorado Jorge Martins por todo apoio e compreensão nesta jornada.

As professoras Glorimar Rosa e Gláucia Moraes por aceitarem ser minhas orientadoras, pela paciência, orientação e estímulo durante esta jornada.

A Bianca Oliveira, companheira de pesquisa e fiel amiga que esta jornada me concedeu, por todas as palavras de apoio e auxílio durante a coleta dos dados e análises laboratoriais.

A Paula Moreira, aluna de iniciação científica, por toda dedicação e ajuda, na coleta dos dados.

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Cardiologia, que muito contribuíram para minha formação.

A secretária da Pós de Cardiologia da UFRJ, em especial ao Henry Ledur, por todo auxílio oferecido nas questões burocráticas.

Aos amigos que conheci na UFRJ e que tanto me apoiaram com palavras de incentivo e carinho nos momentos de desânimo, em especial as amigas Mariana Gomes e Luciana Aranha do CEPENUC, que foram para mim exemplo de esforço e dedicação ao estudo.

Aos membros da banca, pela disponibilidade e por todas as contribuições.

Ao laboratório de Biofísica, por ter aberto as portas para o uso de seus equipamentos, em especial a professora Ana Beatriz Pacheco, por toda atenção, auxílio e ensinamentos durante a pesquisa.

Ao Laboratório de Lípidos da UERJ, em especial ao professor José Firmino pelo auxílio oferecido nas análises bioquímicas.

“É muito melhor lançar-se em busca de conquistas grandiosas, mesmo expondo-se ao fracasso, do que alinhar-se com os pobres de espírito, que nem gozam muito nem sofrem muito, porque vivem numa penumbra cinzenta, onde não conhecem nem vitória, nem derrota.”

Theodore Roosevelt

RESUMO

OLIVARES, Priscila dos Santos Gomes. COMPOSIÇÃO DA MICROBIOTA INTESTINAL E PERFIL METABÓLICO EM INDIVÍDUOS OBESOS E NÃO OBESOS. Rio de Janeiro, 2020. Dissertação (Mestrado em Cardiologia) - Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2020.

INTRODUÇÃO: Alterações metabólicas relacionadas à obesidade variam entre os indivíduos e tentativas de categorizar os indivíduos de acordo com sua saúde metabólica e IMC, deu origem a diferentes fenótipos metabólicos. A combinação de fatores genéticos e do estilo de vida não é capaz de explicar completamente a patogênese da obesidade. Alguns estudos têm sugerido que a microbiota intestinal é um fator importante que pode influenciar o fenótipo do hospedeiro.

OBJETIVO: Investigar a composição da microbiota intestinal e perfil metabólico de indivíduos obesos e não obesos. **MÉTODOS:** Estudo transversal com 109 adultos, de ambos os sexos, classificados de acordo com o estado metabólico, segundo IMC e HOMA. Foram avaliadas as características antropométricas, bioquímicas e pressão arterial. O nível de atividade física foi avaliado por questionário e o consumo alimentar pelo registro alimentar de 3 dias. Uma amostra de fezes foi recebida de cada participante e o perfil da microbiota intestinal analisado por sequenciamento do gene rRNA 16S. Utilizaram-se os testes Kruskal-Wallis e χ^2 , de acordo com a escala de medida das variáveis, no programa estatístico SPSS versão 25, com significância de 5%. **RESULTADOS:** Valores significativamente menores na ingestão de gordura saturada e na glicemia de jejum foram observados em indivíduos com sobrepeso/obesidade metabolicamente saudável em comparação com seu par não saudável. A diversidade e riqueza das comunidades bacterianas foi menor em obesos e no fenótipo não saudável. O gênero *Eubacterium rectale* e gêneros da família *Prevotellaceae*, foram mais abundantes em ObMS e SobMS do que em EutMS, enquanto *Bifidobacterium* foi mais abundante em EutMS. Os gêneros *Coprococcus* e *Ruminococcus* foram mais abundantes em SobMS do que em SobMNS. **CONCLUSÕES:** O intestino de indivíduos com fenótipo não saudável abriga uma microbiota associada à inflamação, com menor potencial de produção de butirato e diversidade bacteriana reduzida.

PALAVRAS CHAVES: Dieta, microbiota intestinal, obesidade, excesso de peso, fenótipo metabolicamente saudável, resistência à insulina.

ABSTRACT

OLIVARES, Priscila dos Santos Gomes. COMPOSITION OF THE GUT MICROBIOTA AND METABOLIC PROFILE IN INDIVIDUALS OBESE AND NON-OBESE. Rio de Janeiro, 2020. Dissertation (Master in Cardiology) - Faculty of Medicine, Federal University of Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2020.

INTRODUCTION: Metabolic changes related to obesity vary between individuals and attempts to categorize individuals according to their metabolic health and BMI, gave rise to different metabolic phenotypes. The combination of genetic and lifestyle factors is not able to fully explain the pathogenesis of obesity. Some studies have suggested that the gut microbiota is an important factor that can influence the host phenotype. **OBJECTIVE:** To investigate the composition of the gut microbiota and metabolic profile of individuals obese and non-obese. **METHODS:** Cross-sectional study with 109 adults, of both sexes, classified according to metabolic status, according to BMI and HOMA. Anthropometric, biochemical and blood pressure characteristics were evaluated. The level of physical activity was assessed using a questionnaire and food consumption was recorded using a 3-day food record. A stool sample was received from each participant and the profile of the gut microbiota was analyzed by sequencing the 16S rRNA gene. The Kruskal-Wallis and χ^2 test were used, according to the scale of measurement of the variables, in the statistical program SPSS version 25, with a significance of 5%. **RESULTS:** Significantly lower values of saturated fat intake and fasting glycemia were observed in metabolically healthy individuals who were overweight/obese, in comparison with their unhealthy pairs. Diversity and richness of bacterial communities were lower in individuals who were obese and in the unhealthy phenotype. The genus *Eubacterium rectale* and genera of the family *Prevotellaceae* were more abundant in the MHO and MHOW groups than in the MHNW one, whereas *Bifidobacterium* was more abundant in the MHNW group. The genera *Coprococcus* and *Ruminococcus* were more abundant in the MHOW group than in the MUHOW one. **CONCLUSIONS:** The intestines of individuals with an unhealthy phenotype hosted inflammation-associated microbiota, with lower butyrate production potential and reduced bacterial diversity.

KEY WORDS: Diet, gut microbiota, obesity, overweight, metabolically healthy phenotype, insulin resistance.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Mecanismos envolvidos na relação entre microbiota intestinal e distúrbios metabólicos	29
Figura 2. O metabolito microbiano intestinal trimetilamina (TMA) e o risco de aterosclerose....	29
Figura 3. Fluxograma de alocação dos voluntários	48
Figura 4. Proporção de indivíduos de acordo com adequação dietética.....	54
Figura 5. Curvas de rarefação para as 24 amostras, mostrando o número de sequências e o número de espécies observadas	55
Figura 6. Boxplots representando as diferenças na diversidade alfa entre os grupos baseado no Número de Espécies Observadas, índices Shannon, Chao1 e Diversidade Filogenética	57
Figura 7. Gráficos de escala multidimensional não métrica (NMDS) em duas dimensões	60
Figura 8. Composição da OTU dos cinco grupos nos níveis (A) Filo, (B) Ordem e (C) Gêneros..	61
Figura 9. Gráficos ternários comparando abundância relativa de grupos taxonômicos nos três grupos metabolicamente saudáveis com peso corporal diferente, (A) filo, (B) classe, (C) ordem, (D) família e (E) gênero.....	63
Figura 10. Contribuição relativa média dos OTUs nas comparações entre grupos metabólicos saudáveis, EutMS x ObMS e EutMS x SobMS.....	64
Figura 11. Diagramas de Venn ilustrando o número de OTUs compartilhadas e exclusivas entre amostras. (A) considerando todos os grupos, (B) SobMN x SobMNS e (C) ObMN x ObMNS..	64
Figura 12. Análise estatística (teste T) para determinar OTUs com variação significativa na abundância relativa entre SobMS x SobMNS ($p < 0,05$) em várias categorias taxonômicas.....	65

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Valores referenciais para perfil lipídico em adultos acima de 20 anos.....	38
Quadro 2. Critérios laboratoriais para diagnóstico de normoglicemia, pré-diabetes e diabetes <i>mellitus</i>	38
Quadro 3. Classificação do estado nutricional segundo IMC - Adultos.....	41
Quadro 4. Perímetro da cintura e risco de complicações metabólicas associadas à Obesidade....	41
Quadro 5. Perímetro do pescoço associado a Risco Cardiovascular	42
Quadro 6. Pontos de corte estratificados por idade do IAV para identificação de disfunção do tecido adiposo	43
Quadro 7. Classificação da pressão arterial de acordo com a medida casual.....	44
Quadro 8. Recomendação de macronutrientes	45

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Características sociodemográficas dos voluntários, segundo fenótipo metabólico	50
Tabela 2. Dados antropométricos, clínicos e bioquímicos, segundo fenótipo metabólico	51
Tabela 3. Dieta atual dos voluntários, segundo fenótipo metabólico	52
Tabela 4. Percentual de adequação das medidas antropométricas, % de gordura e perfil lipídico, segundo fenótipo metabólico.....	53
Tabela 5. Proporção de indivíduos segundo categoria de risco cardiometabólico do IAV.....	53
Tabela 6. Número de espécies observadas (OTUs), índices estimados de Chao1 e Shannon e cobertura amostral estimada para bibliotecas 16S rRNA das 24 amostras	56
Tabela 7. Comparação da diversidade alfa entre os grupos com base no número de espécies observadas, índices de Shannon e Chao1 e diversidade filogenética	58
Tabela 8. Resultados da AMOVA para testar diferenças significativas na estrutura da comunidade microbiana entre os grupos.....	60
Tabela 9. Análise do teste T para determinação de OTUs com variação significativa na abundância relativa entre SobMN x SobMNS e ObMN x ObMNS grupos ($p < 0,05$) em várias categorias taxonômicas.....	66

LISTA DE ANEXOS

ANEXO A - APROVAÇÃO DO CEP	88
ANEXO B - QUESTIONÁRIO INTERNACIONAL DE ATIVIDADE FÍSICA – VERSÃO CURTA	89
ANEXO C - REGISTRO ALIMENTAR DE 3 DIAS	91
ANEXO D - PROTOCOLO DE BIOIMPENDÂNCIA.....	92
ANEXO E - COMPROVANTE DE SUBMISSÃO DO ARTIGO.....	93
ANEXO F - CARTA ACEITE PARA TEMA LIVRE NO 37º CONGRESSO DE CARDIOLOGIA DA SOCERJ.....	94

LISTA DE APÊNDICES

APÊNDICE A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO.....	95
APÊNDICE B - QUESTIONÁRIO PARA COLETA DE INFORMAÇÕES GERAIS.....	97

Sumário

1 INTRODUÇÃO.....	16
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	18
2.1 Doenças Cardiovasculares	18
2.2 Obesidade e Sobrepeso	19
2.3 Características clínicas e antropométricas de diferentes Fenótipos Metabólicos	20
2.5 Microbiota Intestinal.....	21
2.6 Microbiota intestinal e Padrão alimentar	23
2.7 Microbiota Intestinal e doenças cardiometabólicas	25
3 JUSTIFICATIVA.....	30
4 HIPÓTESE	31
5 OBJETIVOS	32
5.1 OBJETIVO GERAL	32
5.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	32
6 MÉTODOS.....	33
6.1 ASPECTOS ÉTICOS.....	33
6.2 LOCAL DO ESTUDO.....	33
6.3 CASUÍSTICA.....	33
6.4 DELINEAMENTO DO ESTUDO	33
6.5 DEFINIÇÃO DOS FENÓTIPOS METABÓLICOS	34
6.6 GRUPO DE ESTUDO.....	35
6.6.1 CRITÉRIOS DE ELEGIBILIDADE	35
6.6.1.1 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO.....	35
6.6.1.2 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO.....	35
6.7 COLETA DE AMOSTRAS	36
6.8 AVALIAÇÃO BIOQUÍMICA	36
6.9 PREPARAÇÃO DE AMOSTRAS, SEQUENCIAMENTO DE DNA E ANÁLISE DE DADOS.....	38
6.10 AVALIAÇÃO ANTROPOMÉTRICA E RISCO CARDIOVASCULAR.....	40
6.11 AVALIAÇÃO DA COMPOSIÇÃO CORPORAL.....	43

6.12 AVALIAÇÃO DA PRESSÃO ARTERIAL.....	43
6.13 AVALIAÇÃO DIETÉTICA	44
6.14 AVALIAÇÃO DO GRAU DE ATIVIDADE FÍSICA	46
6.15 ANÁLISE ESTATÍSTICA	47
7 RESULTADOS.....	48
7.1 VOLUNTÁRIOS	48
7.2 CARACTERIZAÇÃO DA POPULAÇÃO DE ESTUDO	49
8 DISCUSSÃO.....	67
9 LIMITAÇÕES E PONTOS POSITIVOS.....	72
10 CONCLUSÃO.....	72
REFERÊNCIAS	73
ANEXOS.....	88
APÊNDICES	95

1 INTRODUÇÃO

As doenças cardiovasculares (DCV) são a causa mais comum de mortalidade nos países ricos e em desenvolvimento (SIQUEIRA; SIQUEIRA-FILHO; LAND, 2017), e a relação entre hábitos de vida diários e ocorrência de DCV está muito bem estabelecida pela literatura (MANSUR; FAVARATO, 2012). A obesidade é considerada um fator de risco independente para DCV, contribuindo de forma significativa para o aumento da morbidade desta doença (AUNE et al., 2016; LENNON; CLAUSSEN; KUERSTEINER, 2018). No entanto, estudos sugerem uma heterogeneidade da obesidade, pois alguns indivíduos apresentam um perfil metabólico mais favorável, sem resistência à insulina, apesar do peso elevado. Por outro lado, um subconjunto de indivíduos não obesos pode apresentar distúrbios metabólicos característicos da obesidade (DING; CHAN; MAGKOS, 2016; DINIZ et al., 2016; TEIXEIRA et al., 2015; WANG et al., 2015). Essas variações do metabolismo em indivíduos com índice de massa corporal (IMC) semelhante, foram chamadas, fenótipos metabólicos, sendo o termo metabolicamente saudável utilizado para caracterizar um fenótipo que não é acompanhado por disfunção metabólica (BRANDÃO; MARTINS; MONTEIRO, 2020; ECKEL et al., 2018; PIMENTEL et al., 2015; PRIMEAU et al., 2010; TEIXEIRA et al., 2015).

Fatores ambientais, como um padrão alimentar saudável e prática de atividade física, têm sido associados ao fenótipo metabolicamente saudável (BELL; EDWARDS; GRIEGER, 2015; ORTEGA et al., 2018; PEREIRA et al., 2019). E nos últimos anos, evidências crescentes sugeriram o envolvimento da microbiota intestinal no desenvolvimento de distúrbios metabólicos. (CANI et al., 2019; GAO et al., 2018; JANSSEN; KERSTEN, 2015; KARLSSON et al., 2013a; MORAES et al., 2014; MORENO-INDIAS et al., 2014; ORG et al., 2017).

A microbiota intestinal desempenha um papel simbiótico, garantindo várias funções metabólicas essenciais ao hospedeiro (SCHEITHAUER et al., 2016). A estrutura microbiana intestinal pode ser influenciada por diversos fatores, principalmente pela dieta (SHEFLIN et al., 2017; SINGH et al., 2017; SONNENBURG et al., 2016; SONNENBURG; BÄCKHED, 2016). Estudos anteriores revelaram uma associação entre padrões alimentares e diferentes comunidades bacterianas dentro do intestino (ARON-WISNEWSKY; CLÉMENT, 2016; CHRISTENSEN et al., 2018; GORVITOVSKAIA; HOLMES; HUSE, 2016; PRECUP; VODNAR, 2019; WU et al., 2011). Indivíduos com um padrão alimentar caracterizado pelo maior consumo de fibras

apresentaram uma microbiota intestinal mais diversa e associada a saúde (SONNENBURG et al., 2016).

Alterações na composição microbiana intestinal causadas por fatores externos podem levar a alterações importantes na relação simbiótica entre a microbiota intestinal e o hospedeiro, e dessa forma, promover o desenvolvimento de doenças metabólicas (CHASSAING; GEWIRTZ, 2016). Diferenças entre a composição da microbiota intestinal de indivíduos magros e obesos sugerem uma relação entre obesidade e composição da microbiota (BRAHE et al., 2015; KASAI et al., 2015; PETERS et al., 2018; SILVA-JUNIOR et al., 2017), mas os resultados em humanos são inconsistentes, sendo necessários mais estudos para avançar a compreensão.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Doenças Cardiovasculares

As doenças cardiovasculares (DCV) são um grupo de doenças cardíacas e do sistema circulatório, e incluem doença coronariana, doença cerebrovascular, doença arterial periférica, doença cardíaca reumática e outras (WHO, 2017). As DCV são a principal causa de mortalidade em todo o mundo e são responsáveis pelos mais altos custos em assistência médica (ROTH et al., 2017; SIQUEIRA; SIQUEIRA-FILHO; LAND, 2017; WHO, 2014a). Em 2015, 17,7 bilhões de pessoas morreram por doenças cardiovasculares, representando 31% de todos os óbitos ocorridos no ano (WHO, 2018). No Brasil 28% do total de óbitos ocorridos nos últimos anos foram decorrentes de DCV (SIQUEIRA; SIQUEIRA-FILHO; LAND, 2017; WHO, 2018), apesar de uma progressiva redução na mortalidade por estas doenças nas últimas décadas (MANSUR; FAVARATO, 2016a; MARINHO; PASSOS; FRANÇA, 2016). No Rio de Janeiro ocorreu uma redução na mortalidade de 47,9% no período de 1990 a 2015 (MALTA et al., 2017).

O controle dos fatores de risco e a melhoria nos tratamentos são as principais justificativas para a redução da mortalidade por DCV nos países desenvolvidos, enquanto que nos países em desenvolvimento, como o Brasil, tais reduções podem ser atribuídas a melhoria das condições socioeconômicas (SOARES et al., 2015, 2016, 2018) e ao melhor acesso pela população ao sistema de saúde em regiões como Sul e Sudeste (MANSUR; FAVARATO, 2016b). As DCV impõem impactos financeiros e de qualidade de vida significativos em todo o Brasil (STEVENS et al., 2018). Os custos das DCV no país cresceram nos últimos anos, principalmente os custos com medicamentos (88%) e com previdência social (66%) indicando um aumento da população que está convivendo com a doença (SIQUEIRA; SIQUEIRA-FILHO; LAND, 2017).

Os fatores de risco cardiovascular são amplamente conhecidos, e podem ser invariáveis (idade, sexo, história familiar positiva à herança) e variáveis (tabagismo, atividade física inadequada, pressão arterial elevada, excesso de peso, dislipidemia, Diabetes *mellitus*) (FRANCULA-ZANINOVIC; NOLA, 2018). A obesidade e o sobrepeso estão entre os fatores de risco mais importantes no desenvolvimento destas doenças, apresentando impacto significativo na morbidade, mortalidade e no custo dos cuidados de saúde (UPADHYAY et al., 2018), com um

aumento exponencial observado nas últimas décadas (JARDIM, 2019; RIBEIRO et al., 2016). O risco de mortalidade por DCV aumenta significativamente 7% por cada 2 anos vividos com obesidade (ABDULLAH et al., 2011).

2.2 Obesidade e Sobrepeso

A obesidade é definida pela OMS como um acúmulo anormal de gordura, sendo usualmente diagnosticada pela avaliação do IMC (WHO, 2000). A obesidade pode ser caracterizada por um processo inflamatório crônico de baixo grau, relacionado com a infiltração de macrófagos no tecido adiposo e elevação de marcadores inflamatórios e citocinas (FRANCISQUETI; NASCIMENTO; CORREA, 2015), contribuindo para o aparecimento e progressão de distúrbios metabólicos associados à obesidade, como por exemplo, resistência à insulina.

Embora a causa fundamental da obesidade e excesso de peso seja um balanço energético positivo crônico, resultado de um desequilíbrio entre o consumo de energia e gasto energético (GADDE et al., 2018; HEYMSFIELD; WADDEN, 2017), a interação de fatores como estilo de vida inativo, consumo excessivo de alimentos ultraprocessados, genética, alterações hormonais, certos medicamentos, fatores emocionais, idade e redução nas horas de sono (MOHAMMED et al., 2018; UPADHYAY et al., 2018) também estão envolvidos na patogênese desta doença.

O sobrepeso e a obesidade têm aumentado em todos os países, e são considerados um dos problemas de saúde mais importantes que enfrentamos (JARDIM, 2019). A obesidade mundial quase triplicou entre 1975 e 2016. Em 2016, 39% dos adultos com 18 anos ou mais estavam acima do peso e 13% eram obesos (11% dos homens e 15% das mulheres) (WHO, 2014b, 2018). No Brasil, segundo dados da Pesquisa de Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças crônicas por Inquérito Telefônico (VIGITEL), de 2018, houve um crescimento considerável de sobrepeso ($IMC \geq 25 \text{ kg/m}^2$) e obesidade ($IMC \geq 30 \text{ kg/m}^2$) entre a população brasileira. Mais da metade da população adulta (≥ 18 anos) apresentou sobrepeso (55,7%), um aumento de 30% quando comparado com o percentual de 42,6% no ano de 2006. Com relação a obesidade o percentual passou de 11,8% em 2006 para 19,8% em 2018. No Rio de Janeiro o

percentual de adultos com sobrepeso e obesidade foi de 57,7% e 22,4%, respectivamente (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2019).

2.3 Características clínicas e antropométricas de diferentes Fenótipos Metabólicos

Apesar da obesidade ser considerada um importante fator de risco para o desenvolvimento de diversas complicações metabólicas (SCORSATTO et al., 2018), tem sido relatado na literatura que as alterações metabólicas relacionadas à obesidade variam entre os indivíduos (DINIZ et al., 2016; TEIXEIRA et al., 2015; WANG et al., 2015). Alguns indivíduos, apesar do peso elevado, não possuem síndrome metabólica e, portanto, possuem um perfil e prognóstico mais favoráveis quando comparados aos outros indivíduos com excesso de peso, mesmo com IMC e percentual de gordura semelhantes (DOBSON et al., 2016; PIMENTEL et al., 2015). Por outro lado, um subconjunto de indivíduos não obesos, pode apresentar anormalidades metabólicas comumente encontradas em obesos (CONUS; RABASA-LHORET; PÉRONNET, 2007; DING; CHAN; MAGKOS, 2016). A disfunção metabólica em pessoas magras tem sido associada a aumento do tecido adiposo visceral (IAV), aumento da gordura muscular e hepática, redução da massa muscular esquelética, inatividade física e baixa aptidão cardiorrespiratória (DING; CHAN; MAGKOS, 2016).

Nesse sentido, o termo metabolicamente saudável tem sido proposto para caracterizar um fenótipo que não é acompanhado por disfunção metabólica (BRANDÃO; MARTINS; MONTEIRO, 2020; ECKEL et al., 2018; PIMENTEL et al., 2015; PRIMEAU et al., 2010; TEIXEIRA et al., 2015). Tentativas de categorizar os indivíduos de acordo com sua saúde metabólica e índice de massa corporal, deu origem a diferentes fenótipos: peso normal metabolicamente saudável, peso normal metabolicamente não saudável, sobrepeso metabolicamente saudável, sobrepeso metabolicamente não saudável, obeso metabolicamente saudável e obeso metabolicamente não saudável (DINIZ et al., 2016; KIMOKOTI et al., 2015; WILDMAN, 2008).

Baixos marcadores inflamatórios, sensibilidade à insulina preservada, menor quantidade de tecido adiposo visceral e maior aptidão cardiorrespiratória foram apontados como fatores e

condições mais importantes que contribuem para ter um fenótipo obeso metabolicamente saudável (BLÜHER; SCHWARZ, 2014).

Não existem critérios universalmente aceitos para definir fenótipo metabolicamente saudável, mas métodos baseados na sensibilidade à insulina, como o modelo de avaliação da homeostase (HOMA) da resistência à insulina, tem sido utilizados (BEREZINA et al., 2015; CALORI et al., 2011; KIMOKOTI et al., 2015; PIMENTEL et al., 2015).

Estudos sugeriram que indivíduos metabolicamente saudáveis (obesos e não obesos) apresentam menor risco de DCV do que indivíduos metabolicamente não saudáveis (obesos e não obesos) (DOBSON et al., 2016; PIMENTEL et al., 2015). No entanto, entre indivíduos com fenótipo saudável, o risco de DCV permaneceu maior para os obesos (CALEYACHETTY et al., 2017; LI et al., 2019; MAGKOS, 2019; ROBERSON et al., 2014; SEO; RHEE, 2014). Em contraste com esta afirmação, outros pesquisadores não observaram diferença no risco de DCV entre indivíduos obesos e com peso adequado metabolicamente saudáveis (ORTEGA et al., 2013). Ortega; Lavie; Blair, (2016), destacaram que a aptidão cardiorrespiratória poderia neutralizar os efeitos adversos da obesidade nas DCV, resultando em nenhuma diferença no prognóstico entre indivíduos com ObMS e EutMS.

Os mecanismos que poderiam explicar o perfil metabólico favorável de alguns indivíduos com excesso de peso são pouco compreendidos. Sabe-se que os fatores genéticos e do estilo de vida contribuem para o desenvolvimento da obesidade e resistência à insulina, no entanto, a combinação desses fatores não é capaz de explicar completamente a patogênese da obesidade. Nos últimos anos, alguns estudos têm sugerido que a microbiota intestinal é um fator importante que pode influenciar o fenótipo do hospedeiro, pelo seu envolvimento na regulação das respostas inflamatórias, homeostase energética e metabolismo da glicose e lipídeos (CANI et al., 2019; GAO et al., 2018; JANSSEN; KERSTEN, 2015; KARLSSON et al., 2013a; MORAES et al., 2014; ORG et al., 2017).

2.5 Microbiota Intestinal

A microbiota intestinal humana é um complexo ecossistema, que inclui micro-organismos

comensais e simbióticos, em sua maioria bactérias, mas também fungos, *archaea* e vírus (ARUMUGAM et al., 2011). A identificação das comunidades bacterianas que habitam o sistema gastrointestinal pode ser realizada por meio da classificação taxonômica que distribui as bactérias em filos, classes, ordem, família, gênero e espécie (LANG; EISEN; ZIVKOVIC, 2014). Acredita-se que na maioria dos indivíduos, cerca de 90% das bactérias pertençam aos filos *Firmicutes* e *Bacteroidetes*, e o restante aos filos *Actinobacteria*, *Proteobacteria*, *Fusobacteria* e *Verrucomicrobia* (HARRIS et al., 2012; HUTTENHOWER et al., 2012).

A microbiota intestinal é caracterizada por sua diversidade microbiana e capacidade funcional. A diversidade alfa explica a riqueza da comunidade, ou seja, a abundância relativa de espécies microbianas em uma amostra, enquanto a diversidade beta explica a diferença de espécies e estrutura da comunidade entre as amostras, e não dentro de uma amostra. Já a capacidade funcional refere-se às atividades das bactérias, como formação de clados, estabelecimento de nichos, resposta a estímulos ambientais, produção de metabólitos e impacto no hospedeiro (MARTINEZ; LEONE; CHANG, 2017). Uma microbiota adulta saudável pode ter inúmeras possibilidades de configuração, que mesmo com diferenças de composição, compartilham um grau comparável de diversidade e uniformidade, e a capacidade de preservar a homeostase do hospedeiro humano. A diversidade é, portanto, a chave para um microbioma intestinal saudável, pois permite redundância, com vários micróbios capazes de desempenhar funções semelhantes. Uma alta diversidade tem sido associada a melhor homeostase e resiliência a perturbações (HUTTENHOWER et al., 2012).

Cada indivíduo possui uma microbiota única, sendo em parte definida geneticamente e em outra determinada por fatores, como tipo de parto, amamentação, idade (ODAMAKI et al., 2016), exercício (CLARKE et al., 2014), hábitos alimentares (LOPEZ-LEGARREA et al., 2014; SINGH et al., 2017), uso de antibióticos (HWANG et al., 2015a; RAYMOND et al., 2016) e localização geográfica (GAULKE; SHARPTON, 2018; YATSUNENKO et al., 2012). Acredita-se que o desenvolvimento da microbiota intestinal se inicie ainda no útero e que a dieta materna na gravidez e na lactação provavelmente afete o conjunto de bactérias capazes de serem transferidas de mãe para filho. Uma redução na abundância de *bacteroides* foi observada no mecônio neonatal exposto a uma dieta rica em gordura durante a gestação (CHU et al., 2016a, 2016b).

Bebês nascidos de parto natural são colonizados por bactérias da vagina da mãe (em geral *Lactobacillus*, *Prevotella*, *Atopobium* ou *Sneathia spp*), enquanto bebês nascidos de cesariana, são colonizados por bactérias típicas da pele da mãe (*Staphylococcus spp*), explicando em parte, a maior suscetibilidade a certos patógenos, em bebês nascidos de cesariana do que em bebês nascidos por via vaginal (DOMINGUEZ-BELLO et al., 2010). A microbiota intestinal torna-se razoavelmente estável e semelhante a de um adulto por volta dos três anos de idade (RODRÍGUEZ et al., 2015), com uma redução considerável na abundância relativa do filo *Actinobactéria*, após o desmame, mudando novamente na velhice. Indivíduos acima de 70 anos, de uma comunidade japonesa, apresentaram aumentos na abundância relativa do filo *Bacteroidetes* e *Proteobactérias* (ODAMAKI et al., 2016). Literatura recente, mostrou que, em geral, indivíduos idosos apresentaram redução na abundância relativa de *Bifidobacterium* (filo *Actinobactéria*) e aumento de *Enterobacteriaceae* (filo *Proteobactéria*), sendo as alterações mais pronunciadas em idosos frágeis ou com comorbidades. Foi sugerido também, que as alterações na microbiota intestinal de indivíduos idosos podem estar relacionadas com o declínio na funcionalidade do trato gastrointestinal, comumente observada nesse grupo (AN et al., 2018).

Embora vários fatores possam influenciar a dinâmica da microbiota intestinal, acredita-se que a dieta possa ser o fator mais importante na composição e na função bacteriana do intestino (SHEFLIN et al., 2017; SINGH et al., 2017; SONNENBURG et al., 2016; SONNENBURG; BÄCKHED, 2016).

2.6 Microbiota intestinal e Padrão alimentar

O aumento da produção de alimentos processados e a mudança de estilo de vida levaram a importantes mudanças nos padrões alimentares. O consumo de produtos alimentícios prontos para comer, beber ou aquecer cresceu rapidamente (MONTEIRO; et al., 2016; OPAS, 2015; WHO, 2015a), enquanto a quantidade de fibra consumida declinou nas sociedades industrializadas. Entre os brasileiros, somado ao aumento do consumo de ultraprocessados, ocorreu uma redução significativa no consumo dos alimentos in natura ou minimamente processados (CANELLA et al., 2014; INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E

ESTATÍSTICA - IBGE, 2019; LOUZADA et al., 2015a; MARTINS et al., 2013).

Estudos recentes revelaram que os padrões alimentares estão associados a diferentes comunidades de espécies bacterianas dentro do intestino. Alguns gêneros, como por exemplo, *Prevotella*, *Bacteroides* e *Bifidobacterium* foram considerados biomarcadores eficazes de dieta e estilo de vida. O gênero *Prevotella* possui enzima especializada na degradação das fibras vegetais, e uma abundância elevada foi geralmente encontrada em indivíduos que consumiam uma dieta não ocidental, rica em carboidratos complexos e fibras, característica de populações agrárias, enquanto o gênero *Bacteroides* tem sido associado a dietas enriquecidas em proteínas animais e gorduras (ARON-WISNEWSKY; CLÉMENT, 2016; CHRISTENSEN et al., 2018; GORVITOVSKAIA; HOLMES; HUSE, 2016; PRECUP; VODNAR, 2019; WU et al., 2011).

Foi sugerido ainda, que a relação *Prevotella/Bacteroides* (filo *Bacteroidetes*) pode afetar a capacidade do indivíduo de perder peso ao seguir uma determinada dieta. Hjorth et al. (2018) verificaram que indivíduos com alta proporção P/B foram mais suscetíveis a perder gordura corporal em dietas ricas em fibras e grãos integrais do que indivíduos com baixa proporção de P/B.

A ingestão reduzida de fibras e elevada de gordura saturada, característica das dietas ocidentais, levou a uma diminuição na abundância dos gêneros *Bifidobacterium* (filo *Actinobacteria*), *Eubacterium rectale* e *Faecalibacterium* (filo *Firmicutes*) (SINGH et al., 2017; WU et al., 2011), enquanto aumentou a abundância do gênero *Alistipes* e *Bacteroides* (filo *Bacteroidetes*) (WAN et al., 2019). Além disso, o consumo reduzido de fibras e elevado de gordura, foi apontado como um importante contribuinte para perda da riqueza e diversidade microbiana (MARTINEZ; LEONE; CHANG, 2017; SONNENBURG et al., 2016).

Embora alterações na composição da microbiota intestinal tenham sido detectadas em intervenções dietéticas de curto prazo, a estabilidade das alterações só foram observadas em dietas de longo prazo (LOUIS et al., 2016; WU et al., 2011). Algumas alterações na microbiota podem, ser revertidas dentro da mesma geração, enquanto outras são irreversíveis. Uma dieta pobre em carboidratos acessíveis à microbiota, ao longo de várias gerações, leva a uma perda progressiva e irreversível da diversidade microbiana (SONNENBURG et al., 2016). As tendências globais da dieta podem levar à extinção de espécies bacterianas importantes para à saúde humana (LOZUPONE et al., 2012). O processamento industrial de alimentos favorece o

surgimento de padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs), que podem contribuir para os processos inflamatórios crônicos por meio da estimulação de TLR2 e TLR4, resultando em resistência à insulina (ERRIDGE, 2011; ZINÖCKER; LINDSETH, 2018).

A disponibilidade de substratos específicos através da dieta, como por exemplo, fibras, gordura e proteína pode favorecer o crescimento de gêneros ou espécies capazes de explorá-los, assim como a modulação das condições físico-químicas no intestino (LOBACH; ROBERTS; ROWLAND, 2019; ZINÖCKER; LINDSETH, 2018). Mudanças na estrutura microbiana intestinal e em seus metabólitos, como ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), ácidos graxos de cadeia ramificada (AGCR), ácidos biliares secundários e produtos de degradação proteica, podem resultar em uma alteração na relação simbiótica entre bactérias intestinais e hospedeiro, e dessa forma, promover o desenvolvimento de doenças metabólicas (CHASSAING; GEWIRTZ, 2016; SHEFLIN et al., 2017).

2.7 Microbiota Intestinal e doenças cardiometabólicas

A microbiota intestinal desempenha funções importantes na fisiologia humana. Ela atua na homeostase do sistema imunológico, confere proteção contra bactérias patogênicas, afeta o metabolismo xenobiótico e modula a proliferação de células epiteliais (SCHEITHAUER et al., 2016). Os AGCC (butirato, acetato e propionato) produzidos principalmente pela fermentação bacteriana de fibra não digerível no cólon, são usados como fonte de energia pelas células da mucosa intestinal, contribuindo para o crescimento e manutenção da microbiota intestinal, ou transferidos para a circulação para gerar uma fonte importante de calorias e energia para o organismo e para atuar como moléculas sinalizadoras, na regulação da sensibilidade à insulina, na lipogênese, na gliconeogênese hepática e intestinal, na regulação do apetite e manutenção da função da barreira intestinal (BRIAL et al., 2018; BYRNE et al., 2015; JUNG et al., 2015; MORRISON; PRESTON, 2016; SCHEITHAUER et al., 2016). O acetato e o propionato são produzidos principalmente por *Bacteroidetes*, enquanto o butirato é normalmente produzido por *Firmicutes* (CHAKRABORTI, 2015). Por outro lado, proteínas não digeridas, após ação da microbiota intestinal dão origem a ácidos graxos de cadeia ramificada, sulfeto de hidrogênio,

compostos fenólicos e indólicos, aminas e poliaminas (BEAUMONT et al., 2017; PORTUNE et al., 2016).

Não existe uma definição clara que caracterize uma microbiota intestinal "saudável" em humanos, mas uma proporção maior de bactérias produtoras de butirato, degradantes de mucina e Bifidobactérias foi mencionada em alguns estudos (KARLSSON et al., 2013b; LE CHATELIER et al., 2013). Diversos estudos revelaram alterações na composição bacteriana intestinal relacionadas a doenças metabólicas (ARON-WISNEWSKY; CLÉMENT, 2016; HANSEN et al., 2015; KARLSSON et al., 2013b; MORENO-INDIAS et al., 2014; PENG et al., 2018; SAAD; SANTOS; PRADA, 2016; WOTING; BLAUT, 2016).

Diferenças entre a composição da microbiota intestinal de indivíduos magros e obesos sugerem uma relação entre obesidade e composição da microbiota (BRAHE et al., 2015; KASAI et al., 2015; PETERS et al., 2018; SILVA-JUNIOR et al., 2017). Estes indivíduos, frequentemente exibem enriquecimento ou depleção de certos grupos bacterianos em sua microbiota residente em comparação com indivíduos saudáveis (MORAN-RAMOS; LÓPEZ-CONTRERAS; CANIZALES-QUINTEROS, 2017). Parece que o número de genes microbianos intestinais se correlaciona positivamente com um estado metabólico saudável, pois indivíduos com baixa diversidade bacteriana apresentaram adiposidade aumentada, resistência à insulina, dislipidemia e um fenótipo inflamatório mais pronunciado quando comparados a indivíduos com alta diversidade bacteriana (LE CHATELIER et al., 2013). Embora o papel da microbiota intestinal alterada como causa ou consequência da obesidade permaneça controverso, estudos com transplante fecal em camundongos, apoiaram um papel causal da microbiota intestinal na obesidade (GOODRICH et al., 2014; VRIEZE et al., 2012).

Alguns mecanismos foram propostos para explicar a relação entre a microbiota intestinal e saúde metabólica, que incluem aumento da colheita de energia, endotoxemia, sinalização alterada de AGCC e metabolismo da colina, ilustrado nas Figuras 1 e 2. Foi sugerido que a microbiota intestinal presente em indivíduos obesos é mais eficiente na extração de energia da dieta, favorecendo assim, a adiposidade no hospedeiro (AGUIRRE et al., 2014; SCHWIERTZ et al., 2010; TURNBAUGH et al., 2006). As bactérias intestinais podem suprimir a expressão do fator adiposo induzido pelo jejum (FIAF), um inibidor da lipoproteína lipase (LPL), levando conseqüentemente, ao aumento da atividade da LPL, que promove maior absorção de ácidos

graxos e acúmulo de triglicerídeos nos adipócitos (BÄCKHED et al., 2004; MORAES et al., 2014; SHEN; OBIN; ZHAO, 2013). Outro mecanismo sugerido é a inibição da enzima 5'-monofosfato-adenosina proteína quinase (AMP-Q), pela microbiota intestinal, ativando processos anabólicos e bloqueando catabólicos, atuando na regulação do apetite, favorecendo a adiposidade corporal e a geração de resistência à insulina (BÄCKHED et al., 2007; KARLSSON et al., 2013a; MORAES et al., 2014).

Por outro lado, os AGCC podem atuar na regulação do peso, através da estimulação de hormônios anorexigênicos, como o peptídeo-1 do tipo glucagon (GLP-1) e peptídeo YY (PYY), através da ligação aos receptores acoplados a proteína G (GPR41 e GRP43), também conhecidas como receptores de ácidos graxos livres (*free fatty acids receptors* - FFAR2 e FFAR3), promovendo assim, aumento da saciedade e consequente redução da ingestão alimentar. (EREJUWA; SULAIMAN; AB WAHAB, 2014; MORAES et al., 2014)

O desequilíbrio microbiano, assim como uma dieta rica em gordura pode alterar a permeabilidade intestinal, levando a translocação de lipopolissacarídeos (LPS) da parede bacteriana de Gram-negativas na circulação sanguínea. Uma vez na circulação, os lipopolissacarídeos se ligam à proteína de ligação a lipopolissacarídeos (LBP), que facilita a interação entre lipopolissacarídeos e vários receptores. A ativação do receptor toll-like 4 (TLR4) (expresso nas células imunes, adipócitos e células endoteliais) pelos LPS, desencadeia cascatas pró-inflamatórias e oxidativas, levando a inflamação de baixo grau, denominada endotoxemia metabólica, resistência à insulina e aumento da massa adiposa (CANI et al., 2007; CHAKRABORTI, 2015; COX; WEST; CRIPPS, 2015).

A metabolização de fosfatidilcolina (presente principalmente em ovos, fígado, carne bovina e suína) ou L-carnitina (presente na carne vermelha) pela microbiota intestinal, produz o metabólito trimetilamina (TMA), que após conversão em N-óxido de trimetilamina (TMAO) é capaz de reduzir o transporte reverso de colesterol e a síntese de ácidos biliares, potencialmente atenuando a via normal de eliminação do colesterol intestinal, contribuindo assim para patogênese da aterosclerose (HEIANZA et al., 2017; KOETH et al., 2013; LI et al., 2017b; PENG et al., 2018; TANG et al., 2013; TRØSEID et al., 2015; WANG et al., 2011; WARRIER et al., 2015).

Os estudos em humanos com relação a microbiota intestinal de indivíduos obesos e

magros e com distúrbios metabólicos, são inconsistentes, e uma assinatura microbiana específica relacionada à obesidade não foi identificada, sendo necessários mais estudos para avançar a compreensão.

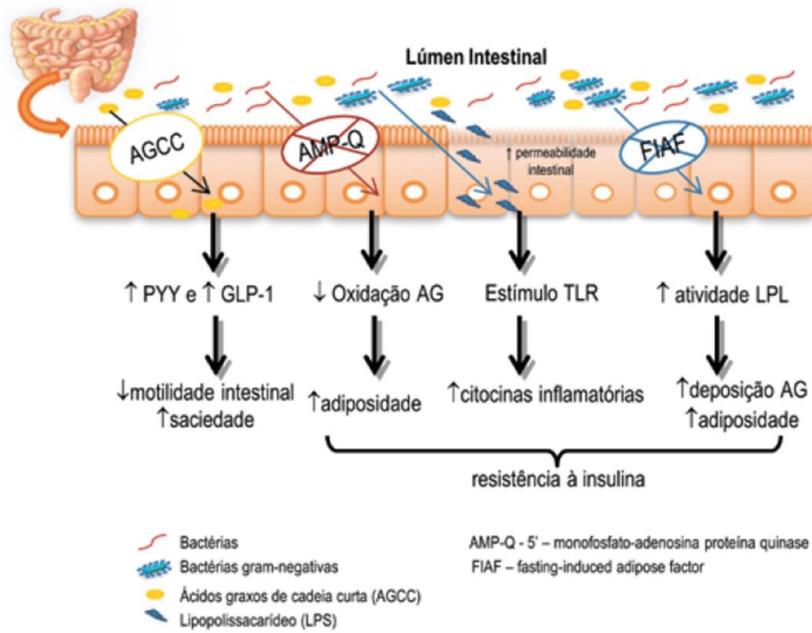


Figura 1. Mecanismos envolvidos na relação entre microbiota intestinal e distúrbios metabólicos

Fonte: Moraes et. Al (2014)

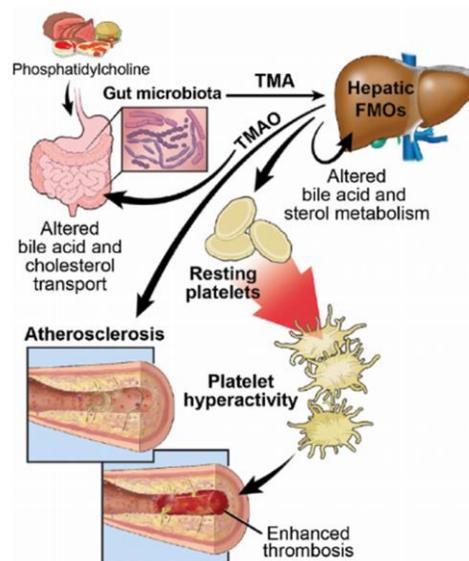


Figura 2. O metabolito microbiano intestinal trimetilamina (TMA) e o risco de aterosclerose.

Fonte: Zhu et. al (2016)

3 JUSTIFICATIVA

As mudanças ocorridas no estilo de vida e nos hábitos alimentares nas últimas décadas, contribuíram para o aumento global da obesidade e sobrepeso, e de distúrbios do metabolismo glicídico e lipídico, que favorecem a ocorrência de DCV. Embora os efeitos metabólicos deletérios da obesidade sejam amplamente reconhecidos, existem diferenças individuais nas respostas metabólicas à obesidade. Conhecer as características do estilo de vida e a composição da microbiota intestinal de indivíduos com diferentes fenótipos metabólicos, pode fornecer uma explicação fisiológica para o motivo pelo qual alguns indivíduos são mais suscetíveis ao ganho de peso e distúrbios metabólicos do que outros e fornecer subsídios para o planejamento de intervenções voltadas para a prevenção e tratamento da obesidade. No entanto, esta distribuição diferencial entre os fenótipos metabólicos foi pouca estudada.

4 HIPÓTESE

A composição da microbiota intestinal está relacionada com o fenótipo metabolicamente saudável de indivíduos obesos e não obesos.

5 OBJETIVOS

5.1 OBJETIVO GERAL

Investigar a composição da microbiota intestinal e o perfil metabólico de indivíduos obesos e não obesos.

5.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Caracterizar o padrão dietético, antropométrico e de atividade física dos indivíduos com fenótipo metabólico saudável e não saudável.
- ✓ Descrever o perfil metabólico de indivíduos obesos e não obesos.
- ✓ Comparar a composição da microbiota intestinal de indivíduos com fenótipo metabólico saudável e não saudável.

6 MÉTODOS

6.1 ASPECTOS ÉTICOS

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) envolvendo seres humanos do Hospital Universitário Clementino Fraga Filho da Universidade Federal do Rio de Janeiro, no dia 07/07/2018 com CAAE 89033118.1.0000.5257 (ANEXO A), em conformidade com a Resolução nº 441 de 12 de maio de 2011, do Conselho Nacional de Saúde (CNS). Todos os participantes foram informados acerca dos procedimentos aos quais seriam submetidos durante o estudo, sendo seu consentimento formalizado por meio de assinatura em Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (APÊNDICE A).

6.2 LOCAL DO ESTUDO

Centro de Pesquisa e Extensão em Nutrição Clínica do Instituto de Nutrição Josué de Castro e do Hospital Universitário Clementino Fraga Filho – da Universidade Federal do Rio de Janeiro – RJ.

6.3 CASUÍSTICA

Trata-se de estudo transversal com indivíduos de ambos os sexos, com idade de 20 até 59 anos, obesos e não obesos, que faz parte de um projeto maior envolvendo indivíduos onívoros e vegetarianos.

6.4 DELINEAMENTO DO ESTUDO

A Divulgação da pesquisa foi feita por meio de cartazes no HUCFF/UFRJ e no Centro de Ciências da Saúde - CCS, postagem em redes sociais (Facebook e Instagram) e *Whatsapp*. Os

indivíduos foram selecionados no Centro de Extensão e Pesquisa em Nutrição Clínica do HUCFF. Os interessados em participar da pesquisa receberam um kit para coleta de fezes, composto de saco plástico com fecho hermético e colher descartável, cuja amostra de fezes deveria ser entregue congelada, no dia agendado para a coleta dos dados. Os voluntários também foram orientados a comparecer em jejum de 12 horas e seguir o protocolo informado para realização da bioimpedância (ANEXO D).

No dia agendado foi feita a leitura e assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido (APÊNDICE A) pelo participante. Em seguida, foi realizada a aferição do peso e estatura para o cálculo do IMC, avaliação antropométrica, avaliação da composição corporal por bioimpedância, aferição da pressão arterial, coleta de amostra de sangue em jejum de 12 horas para realização das análises laboratoriais, e o recolhimento da amostra fecal do participante. Através de questionários foi realizada a coleta de informações gerais, sobre história de doença atual e pregressa, terapia medicamentosa atual e hábitos de vida (APÊNDICE B), nível de atividade física (MATSUDO et al., 2001) (

ANEXO B) e registro alimentar de 3 dias (ANEXO C). Foi explicado ao voluntário como deve ser realizado o registro alimentar e então solicitado que anotasse o registro de 3 dias não consecutivos (sendo 1 dia de final de semana e 2 dias durante a semana), e enviasse por e-mail posteriormente. A coleta dos dados se deu de janeiro de 2019 a dezembro de 2019.

Os indivíduos foram divididos em 5 grupos, de acordo com o IMC (WHO, 2000) (Quadro 3) e o índice HOMA, sendo considerados metabolicamente saudáveis aqueles com $HOMA \leq 2,78$ e metabolicamente não saudáveis se $HOMA \geq 2,78$ (PIMENTEL et al., 2015). Os grupos foram identificados como eutróficos metabolicamente saudáveis (EutMS), sobrepesos metabolicamente saudáveis (SobMS), obesos metabolicamente saudáveis (ObMS), sobrepesos metabolicamente não saudáveis (SobMNS) e obesos metabolicamente não saudáveis (ObMNS).

6.5 DEFINIÇÃO DOS FENÓTIPOS METABÓLICOS

Os fenótipos metabólicos foram definidos com base na consideração combinada da

categoria de IMC (WHO, 2000) (Quadro 3) e ter ou não resistência à insulina, segundo modelo de avaliação da homeostase (HOMA). Foram considerados metabolicamente saudáveis aqueles com $HOMA \leq 2,78$ e metabolicamente não saudáveis se $HOMA \geq 2,78$ (PIMENTEL et al., 2015).

6.6 GRUPO DE ESTUDO

A amostra foi composta por todos os voluntários que atenderam ao chamado da pesquisa e cumpriram todos os critérios de elegibilidade do estudo.

6.6.1 CRITÉRIOS DE ELEGIBILIDADE

6.6.1.1 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

Foram selecionados para compor os grupos de estudo, indivíduos adultos de ambos os sexos e qualquer etnia, com idade de 20 até 59 anos, $IMC \geq 18,5\text{kg/m}^2$.

6.6.1.2 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

Os critérios de exclusão foram:

- ✓ Índice de massa corporal (IMC) $< 18,5\text{ kg/m}^2$;
- ✓ Indivíduos com diagnóstico de diabetes *mellitus*, insuficiência hepática, câncer, doenças inflamatórias intestinais, doença tireoidiana e insuficiência renal;
- ✓ Mulheres em período de gestação/lactação;
- ✓ Indivíduos com episódio recente (últimos 2 meses) de diarreia;
- ✓ Vegetarianos;
- ✓ Uso de hipolipemiantes;
- ✓ Uso de hipoglicemiantes;

- ✓ Uso de suplementos alimentares, pré e/ou probióticos (últimos 2 meses);
- ✓ Uso de antibióticos (últimos 2 meses);
- ✓ Uso de laxantes;
- ✓ Consumo de álcool maior que 30g/ dia, que equivale a consumir acima de 700 mL de cerveja/chope ou 300 mL de vinho ou 90 mL de destilados por dia.
- ✓ Uso de substâncias corticoides, por interferir no metabolismo dos glicídios.

6.7 COLETA DE AMOSTRAS

Foram coletadas amostras de sangue, no CEPENUC-HUCFF, por profissional habilitado, no período da manhã, após jejum mínimo de 12 horas e máximo de 14 horas. O sangue foi coletado em 03 tubos com gel. Após 30 minutos da coleta, os tubos contendo sangue foram centrifugados (4000 rpm, 15 min) com uso de centrífuga de bancada da marca Spinlab, para a obtenção de soro. Alíquotas de 1 mL de soro foram separadas e armazenadas a 4° C por no máximo 7 dias e posteriormente enviada ao Laboratório de Lípidos da Universidade do Estado do Rio de Janeiro - Lablip, coordenado pelo Prof. Dr. José Firmino Neto, para análise de perfil lipídico e glicemia.

As amostras fecais foram coletadas pelos participantes em sua própria residência e transportadas congeladas em saco plástico com fecho hermético (fornecido e financiado pela responsável pela pesquisa), até o CEPENUC-HUCFF e imediatamente armazenadas em freezer - 20°C até o momento da análise.

6.8 AVALIAÇÃO BIOQUÍMICA

Todas as análises bioquímicas foram realizadas por meio dos kits comerciais *BioSystems SA* e a leitura realizada com um analisador bioquímico automatizado A15 marca *BioSystems AS* (Labtest Diagnostica SA, Brasil), seguindo informações abaixo:

- ✓ Triglicerídios – pelo método Glicerol Fosfato Oxidase/Peroxidase (FOSSATI; PRENCIPE, 1982) ajustando a leitura para comprimento de onda de 500nm. Foram considerados valores adequados quando $<150\text{mg/dL}$.
- ✓ Colesterol total – pelo método Colesterol Oxidase/Peroxidase (ALLAIN et al., 1974) ajustando a leitura para comprimento de onda de 500nm. Foram considerados valores adequados quando $<190\text{ mg/dL}$.
- ✓ HDL-colesterol direto – pelo método Detergente Direto (WARNICK; NAUCK; RIFAI, 2001) ajustando a leitura para comprimento de onda de 600/700nm. Foram considerados valores adequados quando $\text{HDL-c} \geq 40\text{ mg/dL}$.
- ✓ O LDL-c e VLDL-c foram calculados segundo a fórmula de FRIEDEWALD; LEVY; FREDRICKSON, (1972) válida somente se triglicerídeos $<400\text{mg/dL}$. Foram considerados valores adequados quando $<130\text{ mg/dL}$.
- ✓ Glicemia – pelo método Glicose Oxidase/Peroxidase (TRINDER, 1969) ajustando a leitura para comprimento de onda de 500nm. Foram considerados valores adequados quando $<100\text{ mg/dL}$.
- ✓ Insulina – Obtido pelo soro e analisado pelo método ELISA (*Ultra Sensitive Insulin* ELISA Kit, DRG) no aparelho BRIO 2 Radim.
- ✓ A resistência à insulina (RI) foi estimada pelo método HOMA-IR (*Homeostasis Model Assessment Insulin Resistance*) (RADZIUK, 2014) multiplicando-se a glicose em jejum (mmol/L) pela insulina de jejum ($\mu\text{IU/mL}$) e dividindo-se por 22,5. Considerou-se RI valores de HOMA-IR maiores que 2,78 (PIMENTEL et al., 2015)
- ✓ Índice de Castelli I = Colesterol Total / Colesterol HDLc. Foram considerados valores adequados quando $< 4,4$ (CASTELLI; ABBOTT; MCNAMARA, 1983).

- ✓ Índice de Castelli II = Colesterol LDLc / Colesterol HDLc. Foram considerados valores adequados quando < 2,9 (CASTELLI; ABBOTT; MCNAMARA, 1983).

Os pontos de corte para perfil lipídico foram baseados nas diretrizes da Sociedade Brasileira de Cardiologia de 2019 (SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA, 2019) e para o perfil glicídico foram consideradas as diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes de 2018 (SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES, 2018), conforme **Quadro 1** e **Quadro 2**, respectivamente:

Quadro 1. Valores referenciais para perfil lipídico em adultos acima de 20 anos

Lipídeos (mg/dL)	Categoria de risco – Desejável
Colesterol total	< 190
HDL-c	> 40
Triglicerídeos	< 150
LDL-c	< 160

Fonte: Adaptado de SBC (2019)

Quadro 2. Critérios laboratoriais para diagnóstico de normoglicemia, pré-diabetes e diabetes *mellitus*

	Glicemia de jejum (mg/dL)
Normoglicemia	< 100
Pré-diabetes	≥ 100 e < 126
Diabetes	≥ 126

Fonte: Adaptado de SBD (2018)

6.9 PREPARAÇÃO DE AMOSTRAS, SEQUENCIAMENTO DE DNA E ANÁLISE DE DADOS

O DNA bacteriano foi extraído de 200 mg de amostra fecal usando o *DNA stool kit*

(Norgen), seguindo as instruções do fabricante. A quantificação do DNA extraído foi obtida com um equipamento *NanoDrop (Thermo Scientific)* e a qualidade do material genético foi avaliada por eletroforese em gel de agarose a 1%. Em seguida, as amostras foram armazenadas a -80 °C. Para a análise de sequenciamento, massas iguais de DNA de amostras de 3 indivíduos de um mesmo grupo foram organizadas em pool. Cinco pools de cada grupo foram sequenciados pela *GenOne Biotechnologies* (Rio de Janeiro, Brasil). Resumidamente, a região variável V3-V4 do gene rRNA da pequena subunidade 16S foi amplificada usando iniciadores específicos (341F 5'-CCTAYGGGRBGCASCAG-3') e 806r (5'-GGACTACNNGGGTATCTAAT-3') gerando 466 *amplicons* de pares de bases. As reações de PCR foram realizadas com o *Phusion High-Fidelity PCR Master Mix (New England Biolabs)*. Os produtos de PCR foram purificados, quantificados e misturados em proporções equimolares. As bibliotecas de sequenciamento foram geradas usando o *NEBNext Ultra DNA Prep Kit* para Illumina, seguindo as recomendações do fabricante e os códigos de índice foram adicionados. A qualidade da biblioteca foi avaliada no fluorômetro *Qubit 2.0 (Thermo Scientific)* e a biblioteca foi sequenciada em uma plataforma *Illumina HiSeq 2500*, gerando leituras de 250 pares de bases em pares. As sequências foram submetidas ao depósito no banco de dados do NCBI (*National Center for Biotechnology Information*) sob o número de acesso PRJNA631293.

A partir dos arquivos de saída resultantes (arquivos.fastq), as sequências foram mescladas como leituras de extremidade de par usando FLASH (V1.2.7, <http://ccb.jhu.edu/software/FLASH/>) (MAGOČ; SALZBERG, 2011). A filtragem da qualidade foi realizada de acordo com o processo de controle de qualidade QIIME (V1.7.0) (BOKULICH et al., 2013; CAPORASO et al., 2010). As leituras restantes foram comparadas com o banco de dados de referência (banco de dados Gold) usando o algoritmo UCHIME (EDGAR et al., 2011) para detectar sequências quiméricas, que foram removidas (HAAS et al., 2011). Para *clustering* (OTU) e análise de anotação foi utilizado o *software* Uparse (Uparse v7.0.1001) (EDGAR, 2013). Sequências com $\geq 97\%$ de similaridade foram atribuídas à mesma OTU. Uma sequência representativa para cada OTU foi rastreada para atribuição taxonômica usando o Banco de dados *GreenGene* (DESANTIS et al., 2006), baseado no classificador RDP (versão 2.2). A abundância de OTUs foi normalizada usando um número de sequência correspondente à amostra com menos sequências. A composição das comunidades microbianas foi avaliada de acordo com a

abundância relativa de seus táxons, considerando apenas as OTUs que contribuíram com mais de 1% para o total de sequências. Análises subsequentes da diversidade alfa e beta foram realizadas com base em dados normalizados.

A diversidade de alfa foi analisada estimando-se os índices de diversidade (espécies observadas, Shannon e *Good's coverage*) e riqueza (Chao1), calculados com QIIME (versão 1.7.0) e exibidos no software R (versão 2.15.3), também utilizado para gerar curvas de rarefação. Os testes de *Wilcoxon* foram aplicados para determinar diferenças significativas ($p < 0,05$) nos valores dos índices de diversidade alfa entre os grupos experimentais.

A análise da diversidade beta foi usada para avaliar diferenças de amostras na estrutura da comunidade e foi calculada usando o software QIIME (Versão 1.7.0). As abundâncias relativas de OTU nas amostras foram usadas para gerar um gráfico de ordenação por nMDS (escala multidimensional não métrica) com base nos coeficientes de similaridade de *Bray-Curtis*. A AMOVA foi executada para determinar se a diferença na estrutura da comunidade microbiana entre os grupos era significativa. O teste t foi utilizado para determinar diferenças significativas ($p < 0,05$) na abundância relativa de grupos taxonômicos específicos (em diferentes níveis taxonômicos) entre SobMS x SobMNS e ObMS x ObMNS.

6.10 AVALIAÇÃO ANTROPOMÉTRICA E RISCO CARDIOVASCULAR

A avaliação antropométrica foi realizada por meio da aferição das seguintes medidas:

- ✓ Massa corporal (Kg): aferida utilizando-se uma balança eletrônica, com capacidade de 150 kg e precisão de 100 g. O indivíduo foi posicionado no centro, em pé, descalço e com roupas leves.
- ✓ Estatura (m): aferida utilizando-se um antropômetro vertical milimetrado (GIBSON, 2005). O indivíduo estava de pé, descalço, com calcanhares juntos, costas retas e os braços estendidos ao longo do corpo. A cabeça ereta, com os olhos fixos à frente ou no plano horizontal de Frankfurt. O indivíduo inspira profundamente, enquanto a haste horizontal do estadiômetro é abaixada até o ponto mais alto da sua cabeça.

- ✓ Índice de massa corporal (IMC): foi calculado por meio da fórmula: $IMC = MC \text{ (kg)} / E \text{ (m}^2\text{)}$, sendo os indivíduos classificados conforme os pontos de cortes estabelecidos pela Organização Mundial de Saúde (**Quadro 3**).

Quadro 3. Classificação do estado nutricional segundo IMC - Adultos

Categorias	IMC (Kg/m²)
Eutrofia	18,5 – 24,9
Sobrepeso	25,0 – 29,9
Obesidade	≥ 30,0

Fonte: adaptado de (WHO, 2000).

- ✓ Perímetro da cintura (cm): foi aferida no ponto médio entre a última costela e a crista ilíaca, utilizando-se a fita métrica inelástica, estando o indivíduo em posição ortostática, abdômen relaxado, braços ao lado do corpo e os pés juntos (WHO, 1995).

O **Quadro 4** mostra valores de limite de perímetro da cintura associados ao desenvolvimento de complicações relacionadas à obesidade.

Quadro 4. Perímetro da cintura e risco de complicações metabólicas associadas à Obesidade

Sexo	Elevado
Homens	≥ 94 cm
Mulheres	≥ 80 cm

Fonte: (WHO, 2000)

- ✓ Perímetro do quadril (cm): foi aferido na porção maior da região glúteo-femoral, utilizando-se a fita métrica inelástica, estando o indivíduo em posição ortostática, abdômen relaxado, braços ao lado do corpo e os pés juntos (WHO, 1995).

- ✓ Relação cintura-estatura (RCE): obtida pela razão do perímetro da cintura (cm) dividido pela medida da estatura (cm) (HAUN; PITANGA; LESSA, 2009). Utilizou-se o ponto de corte 0,50 para homens e mulheres (ABESO, 2016).
- ✓ Relação Cintura-Quadril (RCQ): obtida pela razão do perímetro da cintura (cm) dividido pelo perímetro do quadril (cm). Uma relação superior à 1 para os indivíduos do sexo masculino e 0,85 para os do sexo feminino representa risco aumentado de doenças relacionadas com a obesidade (WHO, 2000).
- ✓ Perímetro do pescoço: foi mensurado com o indivíduo em pé, com a cabeça posicionada no plano horizontal, circundando o pescoço com fita métrica inelástica no ponto médio, ao nível da cartilagem cricotireoidea, entre ponto médio da coluna cervical até ao meio-anterior do pescoço. Em homens a medida foi realizada abaixo da proeminência laríngea e aplicada perpendicular ao longo eixo do pescoço (ALMEIDA-PITITTO et al., 2018).

O ponto de corte para risco cardiovascular encontra-se no **Quadro 5**:

Quadro 5. Perímetro do pescoço associado a Risco Cardiovascular

Sexo	Elevado
Homens	$\geq 39,5$ cm
Mulheres	≥ 34 cm

Fonte: (ALMEIDA-PITITTO et al., 2018)

Índice de adiposidade Visceral: O índice de adiposidade visceral (IAV) estima a adiposidade visceral com base nos perfis antropométricos e lipídicos. Foi obtido através da equação proposta por AMATO; GIORDANO (2014) para avaliação do risco cardiometabólico e calculado a partir da fórmula:

Em Homens: $IAV = PC / (39,68 + (1,88 \times IMC)) \times (TG/1,03) \times (1,31/HDL-c)$

Em Mulheres: $IAV = PC / (36,58 + (1,89 \times IMC)) \times (TG/0,81) \times (1,52/HDL-c)$

Onde:

PC= Perímetro da cintura (cm)

IMC= Índice de Massa Corporal

TG= Triglicérides em mmol/L (fator de conversão: TG mg/dL/88,57)

HDL-c lipoproteína de alta densidade em mmol/L (fator de conversão: HDL-c mg/dL/38,67)

Quadro 6. Pontos de corte estratificados por idade do IAV para identificação de disfunção do tecido adiposo

Faixa de idade	Ausente	Leve	Moderada	Severa
<30 anos	$\leq 2,52$	2,53-2,58	2,59-2,73	$> 2,73$
≥ 30 <42 anos	$\leq 2,23$	2,24-2,53	2,54-3,12	$> 3,12$
≥ 42 <52 anos	$\leq 1,92$	1,93-2,16	2,17-2,77	$> 2,77$
≥ 52 <66 anos	$\leq 1,93$	1,94-2,32	2,33-3,25	$> 3,25$
≥ 66 anos	≤ 2	2,01-2,41	2,42-3,17	$> 3,17$

Fonte: Amato & Giordano (2014).

6.11 AVALIAÇÃO DA COMPOSIÇÃO CORPORAL

Para avaliação da composição corporal os voluntários foram submetidos ao exame de Bioimpedância tetrapolar (BIODYNAMICS 310e) e para classificação do percentual de gordura foram utilizadas as referências de (SAMPAIO, 2012), que aponta como saudável o percentual < 25% para homens e < 32% para mulheres.

6.12 AVALIAÇÃO DA PRESSÃO ARTERIAL

Foi aferida a pressão arterial sistêmica (PA) utilizando-se o esfigmomanômetro (Premium) adulto, com manguito 38 x 16 cm. A PA foi aferida após cinco minutos de repouso na posição sentada, com pernas descruzadas, pés apoiados no chão, dorso recostado na cadeira e relaxado, com braço direito posicionado na altura do átrio esquerdo, livre de roupas, apoiado, com a palma da mão voltada para cima e o cotovelo ligeiramente fletido. Para a ausculta foi

utilizado o estetoscópio marca Premium[®], cujo diafragma foi posicionado, sem compressão excessiva, sobre a artéria braquial, na fossa cubital. O **Quadro 7** apresenta a classificação da pressão arterial de acordo com a medida casual, conforme a 7ª Diretriz de Hipertensão Arterial da Sociedade Brasileira de Cardiologia (SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA, 2016).

Quadro 7. Classificação da pressão arterial de acordo com a medida casual

Classificação	PAS (mmHg)	PAD (mmHg)
Normal	≤ 120	≤ 80
Pré – hipertensão	121 – 139	81 – 89
Hipertensão estágio 1	140 – 159	90 – 99
Hipertensão estágio 2	160 – 179	100 – 109
Hipertensão estágio 3	≥ 180	≥ 110
Quando a PAS e a PAD situam-se em categorias diferentes, a maior deve ser utilizada para classificação da PA.		
Considera-se hipertensão sistólica isolada se PAS ≥ 140 mm Hg e PAD < 90 mm Hg, devendo a mesma, ser classificada em estágios 1,2 e 3.		

Fonte: (SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA, 2016)

6.13 AVALIAÇÃO DIETÉTICA

O consumo alimentar foi analisado por meio do registro alimentar de 3 dias não consecutivos (sendo 1 dia de final de semana e 2 dias durante a semana). No dia do atendimento, o voluntário foi orientado em como realizar o registro alimentar, sendo solicitado que o mesmo, fosse enviado por e-mail posteriormente. Os registros tiveram as medidas caseiras identificadas e convertidas para gramatura segundo Tabela de Equivalentes, Medidas Caseiras e Composição Química dos Alimentos (PACHECO, 2006). Algumas receitas foram padronizadas e convertidas para a quantidade em gramas de cada ingrediente por medida caseira consumida, por exemplo: estrogonofe, sopa de legumes etc. Em seguida esses dados foram inseridos no programa *Food Processor* versão 7.2 (EshaResearch, Salem, EUA, 1998).

Foram estimados o consumo de calorias, proteínas, carboidratos, gorduras totais, gorduras saturadas, colesterol, ômega 3 e 6, fibra alimentar, açúcares, sódio, potássio, magnésio, zinco,

ferro, cálcio, ácido fólico, vitamina C, vitamina A, Vitamina E, vitamina D e vitamina B12. A avaliação da adequação de macronutrientes e do consumo de açúcares foi baseada na recomendação da OMS (WHO, 2003, 2015b), conforme **Quadro 8**. A avaliação da adequação de micronutrientes foi baseada nas *Dietary Reference Intakes* (INSTITUTE OF MEDICINE, 2006) utilizando as *Estimated Average Requirement* (EAR), e na sua falta, a *Adequate Intake* (AI).

Os alimentos foram considerados na sua versão em que eram consumidos; cru ou cozidos. Deve ser ressaltado que os alimentos incluídos na análise foram selecionados de acordo com a realidade brasileira, visto que o programa se baseia na tabela de composição de alimentos da USDA, a qual possui muitos alimentos enriquecidos com vitaminas e minerais, então foram selecionadas as versões dos alimentos semelhantes aos consumidos no Brasil.

Para identificação dos alimentos e bebidas ultraprocessados, foi utilizado o sistema NOVA de classificação de alimentos com base na natureza, extensão e finalidade do processamento de alimentos. Este sistema categoriza os alimentos em quatro grupos: não processados ou alimentos minimamente processados, ingredientes de alimentos processados, alimentos processados e alimentos ultra processados. Os alimentos ultra processados são definidos como formulações feitas principalmente com fontes industriais baratas de calorias, nutrientes e aditivos, usando uma série de processos e contendo alimentos integrais em mínima quantidade (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014; MONTEIRO et al., 2017).

Quadro 8. Recomendação de macronutrientes

Nutriente	Recomendação
Carboidratos	55 a 75% do VET
Proteínas	10 a 15% do VET
Gordura total	10 a 30% do VET
Gordura Saturada % VET	< 10% VET
Fibra alimentar (g)	>25g/dia
Açúcares % VET	< 10% VET

Fonte: Adaptado de (WHO, 2003)

6.14 AVALIAÇÃO DO GRAU DE ATIVIDADE FÍSICA

O grau de atividade física foi avaliado por meio da aplicação do Questionário Internacional de Atividade Física (IPAQ), em sua versão curta. As perguntas do questionário são relacionadas às atividades realizadas durante a última semana e a classificação do nível de atividade dividida conforme as seguintes categorias (MATSUDO et al., 2001).

- ✓ Irregularmente ativo A – Realiza 10 minutos contínuos de atividade física, seguindo pelo menos um dos critérios citados: frequência de 5 dias/semana ou duração de 150 minutos/semana;
- ✓ Irregularmente ativo B – Não atinge nenhum dos critérios da recomendação citada nos indivíduos insuficientemente ativos A;
- ✓ Ativo – Cumpre as seguintes recomendações: a) atividade física vigorosa ≥ 3 dias/semana e ≥ 20 minutos/sessão; b) moderada ou caminhada ≥ 5 dias/semana e ≥ 30 minutos/sessão; c) qualquer atividade somada ≥ 5 dias/semana e ≥ 150 min/semana;
- ✓ Muito ativo – Cumpre as seguintes recomendações: a) vigorosa ≥ 5 dias/semana e ≥ 30 min/sessão; b) vigorosa ≥ 3 dias/semana e ≥ 20 min/sessão + moderada e ou caminhada ≥ 5 dias/semana e ≥ 30 min/sessão.
- ✓ Sedentário - Aquele que não realizou nenhuma atividade física por pelo menos 10 minutos contínuos durante a semana.

A fim de melhor apresentação dos resultados, optou-se pelo agrupamento dos indivíduos em apenas duas categorias: Sedentários (incluindo os irregularmente ativos e sedentários) e Ativos (incluindo os ativos e muito ativos).

6.15 ANÁLISE ESTATÍSTICA

O teste de normalidade empregado foi o Shapiro-Wilk. Os resultados foram expressos como mediana e intervalo interquartil ou porcentagem. Para comparação entre os grupos utilizou-se o teste Kruskal-Wallis, com *post hoc* Bonferroni, e o teste χ^2 , de acordo com a escala de medida das variáveis. As análises foram conduzidas usando o pacote estatístico SPSS versão 25.0 (SPSS, Chicago, IL, USA). Foram considerados resultados estatisticamente significativos aqueles com valores de $p < 0,05$.

7 RESULTADOS

7.1 VOLUNTÁRIOS

Um total de 119 voluntários foram recrutados, onde 109 foram selecionados e 10 foram excluídos por não atenderem aos critérios de inclusão. Os selecionados foram inicialmente estratificados de acordo com o IMC **Quadro 3**. Após avaliação da resistência à insulina pelo método HOMA, os indivíduos foram classificados em metabolicamente saudáveis e não saudáveis, dentro de cada categoria de IMC.

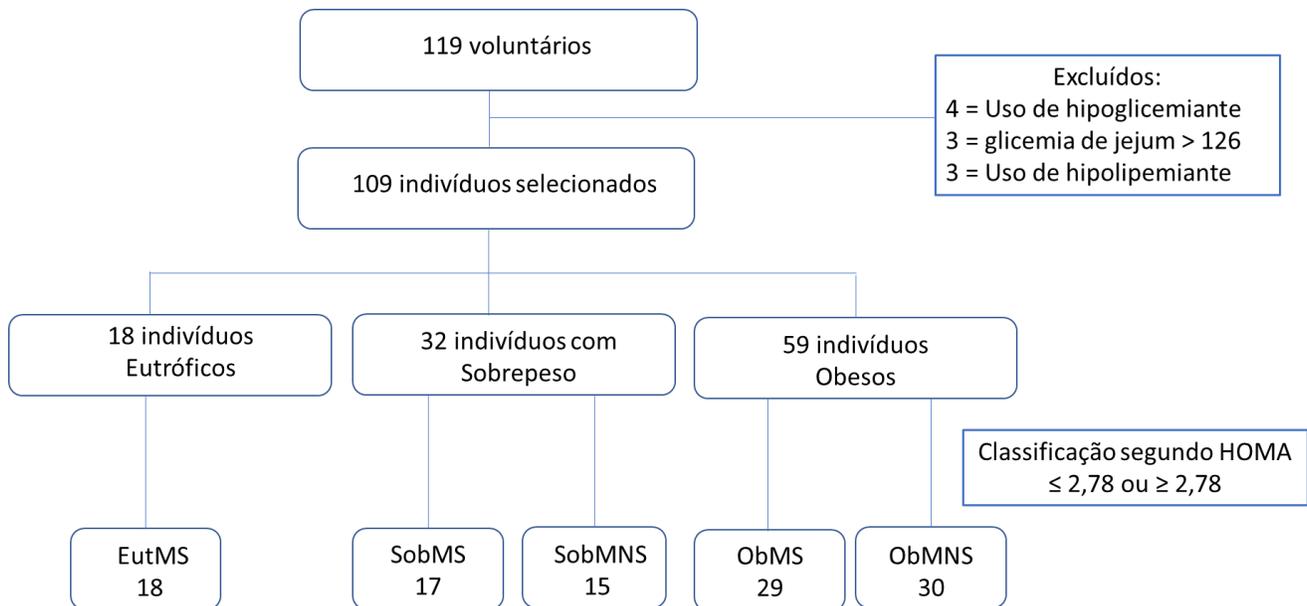


Figura 3. Fluxograma de alocação dos voluntários

7.2 CARACTERIZAÇÃO DA POPULAÇÃO DE ESTUDO

Dados de 109 indivíduos foram avaliados, sendo a maioria mulheres (85%), com mediana de idade média de 39 anos. A amostra foi constituída predominantemente por indivíduos com mais de 12 anos de escolaridade (83%), com residência própria (73%), não brancos (64%), sem companheiro (54%) e com nível socioeconômico baixo (64%). Bebedores sociais e fumantes corresponderam a 41% e 8%, respectivamente, enquanto o percentual de sedentários correspondeu a 62%. Dos participantes do estudo classificados como metabolicamente saudáveis, 18 eram eutróficos (100% dos indivíduos eutróficos), 17 tinham sobrepeso (53% dos indivíduos com sobrepeso) e 29 eram obesos (49% dos indivíduos obesos).

As características sociodemográficas e os dados antropométricos, clínicos e bioquímicos dos grupos estudados, podem ser verificados nas **Tabela 1** e **Tabela 2**, respectivamente. Foi observado diferença significativa no nível socioeconômico, ingestão de álcool, níveis de triglicérides entre os grupos EutMS x ObMS ($p < 0,05$) e EutMS x ObMNS ($p < 0,001$), glicose entre os grupos ObMS x ObMNS ($p < 0,005$) e insulina entre os grupos ObMS x ObMNS ($p < 0,001$) e SobMS x SobMNS ($p < 0,01$). ObMS apresentaram valores significativamente menores ($p < 0,05$) nas medidas de perímetro da cintura, perímetro do pescoço e RCE. A **Tabela 3** descreve a dieta atual dos participantes. Foi observado diferença significativa apenas na ingestão de gordura saturada, entre os grupos ObMS x ObMNS ($p < 0,05$), SobMS x SobMNS ($p < 0,05$), EutMS x SobMNS ($p < 0,05$) e EutMS x ObMNS ($p < 0,01$).

A proporção de indivíduos com medidas antropométricas e perfil lipídico adequado foi representada na **Tabela 4**. Observamos que, em geral, a proporção de adequação foi similar entre os grupos. Particularmente, apenas entre indivíduos obesos, o percentual de adequação, das concentrações séricas de colesterol total foram reduzidas. Na **Tabela 5** está representada a proporção de indivíduos em cada categoria de risco metabólico do IAV. Os grupos SobMNS e ObMNS apresentaram maior percentual de indivíduos na categoria risco severo, em comparação com os outros grupos, porém sem significância estatística.

Tabela 1. Características sociodemográficas dos voluntários, segundo fenótipo metabólico

Variáveis	Total (n=109)	EutMS (n=18)	SobMS (n=17)	ObMS (n=29)	SobMNS (n=15)	ObMNS (n=30)	p valor
Idade (anos)	39 (32-50)	34 (27,75-38,5)	44 (38-51)	41 (32-49)	34 (27-47,5)	41 (31,75-51,25)	*0,100
Homens	15 % (16)	11,1% (2)	11,8% (2)	10,3% (3)	13,3% (2)	23,3% (7)	**0,601
Mulheres	85% (93)	88,9% (16)	88,2% (15)	89,7% (26)	86,7% (13)	76,7% (23)	
Não brancos % (n)	64% (70)	66,6% (12)	64,7% (11)	58,6% (17)	60% (9)	70% (21)	**0,623
Sem companheiro % (n)	54% (59)	55,5% (10)	64,7% (11)	41,4% (12)	66,6% (10)	53,3% (16)	**0,620
Escolaridade ≥ 12a % (n)	83% (90)	94,4% (17)	100% (17)	89,6% (26)	77,8% (7)	80% (23)	**0,468
Bebedores sociais % (n)	41% (45)	44,4% (8)	41,2% (7)	62,1% (18)	33,3% (5)	23,3% (7)	**0,035
Tabagistas % (n)	8% (9)	5,6% (1)	11,8% (2)	10,3% (3)	13,3% (2)	3,3% (1)	**0,507
Sedentários % (n)	62% (68)	38,9% (7)	47,1% (8)	69% (20)	66,7% (10)	76,7% (23)	**0,058
Hipertensão % (n)	18% (20)	5,6% (1)	17,6% (3)	24,1% (7)	13,33% (2)	23,3% (7)	**0,490
Dislipidemia % (n)	1,8% (2)	0	0	0	0	6,7% (2)	**0,464
Residência própria % (n)	74% (80)	89% (16)	76,5% (13)	69% (20)	89% (13)	63,3% (19)	**0,268
Renda per capita ≤ 2 SM % (n)	64% (70)	66,6% (12)	76,5% (13)	75,8% (22)	20% (3)	66,6 (20)	**0,010

Valores expressos em mediana e intervalo interquartil ou frequência (n). *Teste de Kruskal Wallis. **Teste χ^2 para variáveis categóricas. SM=salário mínimo R\$998.

Em negrito, valores considerados significativos.

Tabela 2. Dados antropométricos, clínicos e bioquímicos, segundo fenótipo metabólico

Variáveis	EutMS (n=18)	SobMS (n=17)	ObMS (n=29)	SobMNS (n=15)	ObMNS (n=30)
Peso (Kg)	58,05 (52,25-66,27)	70,5 (69,6-82,45) ^a	86,55 (80,27-97,65) ^b	75,5 (70,35-80,1) ^a	101,2 (90,85-122,97) ^{b e}
IMC (Kg/m²)	21,38 (20,57-23,40)	27,85 (26,47-28,98) ^a	32,97 (31,05-36,24) ^b	28,37 (27,65-28,85)	36,55 (33,87-46,42) ^b
Perímetro da cintura (cm)	74 (66,75-79,25)	85 (82-96) ^a	99 (90,5-102,5) ^b	85,5 (83,8-88,75) ^a	106 (97-121,75) ^{b e}
Perímetro do pescoço (cm)	31,75 (31-32,73)	34 (32-38,25) ^a	36 (34,5-37,75) ^b	35 (34,25-37,86) ^a	38,2 (36,38-42,63) ^{b e}
Razão cintura-altura	0,43 (0,41-0,47)	0,53 (0,50-0,58) ^a	0,60 (0,57-0,64) ^b	0,54 (0,51-0,59) ^a	0,65 (0,59 -0,74) ^{b e}
Razão cintura-quadril	0,74 (0,71-0,79)	0,82 (0,77-0,92) ^a	0,82 (0,77-0,85) ^a	0,78 (0,77-0,79)	0,88 (0,79-0,92) ^b
Massa gorda (%)	21,3 (17,47-24,25)	31,2 (24,6-38,4) ^a	38,6 (34,8-41,55) ^b	30,9 (26,9-34,55)	41,35 (37,3-44,33) ^b
Massa magra (%)	78,2 (74,9-82,35)	68,8 (61,6-75,4) ^a	61,4 (58,45-65,2) ^b	69,1 (65,45-73,1)	58,35 (54,83-62,48) ^b
PA sistólica (mmHg)	117,5 (100-120)	120 (110-120)	120 (110-130) ^a	120 (117,5-125)	120 (120-130) ^b
PA diastólica (mmHg)	80 (70-80)	80 (72,5-80)	80 (70-80)	80 (80-80)	80 (80-80)
IAV	0,88 (0,59-1,18)	1,45 (0,77-1,72)	1,44 (0,98-2,11)	1,42 (1,13-1,5)	1,73 (1,24-2,24)
Colesterol total (mg/dL)	183,5 (156,75-215,25)	196 (159-239)	199 (171-215,5)	215 (206,5-236)	206 (187,25-237,5)
LDL-c (mg/dL)	107,5 (85,5-135,75)	107 (83,5-164)	119 (90-131,5)	144 (122,5-170,5)	126 (105,5-149,5)
HDL-c (mg/dL)	62 (53,75-70)	53 (47,5-67)	59 (50-64)	50 (43-61)	53 (48,75-62,25)
Triglicerídeos (mg/dL)	67 (50,75-97,5)	90 (70-122)	108 (69,5-135,5) ^a	106 (73,5-118,5)	118,5 (86,5-162) ^b
Glicemia jejum (mg/dL)	75 (67,5-80,5)	78 (73,5-86)	79 (75-87)	84 (75,5-89)	90 (81,25-96) ^{b e}
Insulina de jejum (μUI/ml)	6,5 (2,5-12,5)	7 (4,5-9,5)	8,5 (5-11,25)	16 (15-22) ^{b d}	19,5 (16,75-27,5) ^{b f}
HOMA-IR	1,46 (0,5-2,23)	1,31 (0,89-1,93)	1,74 (1,03-2,35)	3,40 (3,24-4,16) ^{b d}	4,16 (3,43-6,75) ^{b f}

Valores expressos em mediana e intervalo interquartil. Teste de Kruskal Wallis com post hoc foi feito para analisar o nível de significância. IMC: índice de massa corporal. PA: pressão arterial; IAV: índice de adiposidade visceral; LDL-c: lipoproteína de baixa densidade; HDL-c: lipoproteína de alta densidade; HOMA: *homeostasis model assessment*.

^a p <0,05 entre EutMS e outros

^b p <0,001 entre EutMS e outros

^c p <0,05 entre SobMS e SobMNS

^d p <0,001 entre SobMS e SobMNS

^e p <0,05 entre ObMS e ObMNS

^f p <0,001 entre ObMS e ObMNS

Tabela 3. Dieta atual dos voluntários, segundo fenótipo metabólico

Variáveis	EutMS (18)	SobMS (17)	ObMS (29)	SobMNS (15)	ObMNS (30)
Calorias (Kcal)	1682 (1566-1847)	1795 (1585-1886)	1583 (1650-1794)	1821 (1629-1891)	1645 (1783-1891)
Ultraprocessados (%VET)	21 (11,4-22,7)	15 (11,7-27,6)	27 (13,6-29,6)	28 (23,4-38,8)	28 (20-33,8)
Proteínas (%VET)	17 (15-18)	17 (16-20)	17 (15-18)	16 (16-17)	17 (17-18)
Carboidratos (%VET)	55 (55-58)	54 (53-55)	54 (53-56)	55 (53-56)	54 (53-56)
Gorduras (%VET)	27 (25-28)	28 (26-29)	28 (26-29)	28 (26-29)	28 (26-29)
G. Saturada (%VET)	9 (7-10)	9 (8-10)	9 (8-11)	10 (9-11) ^{a c}	10 (10-11) ^{b d}
Colesterol (mg)	249 (185-275)	194 (173-279)	196 (138-222)	216 (170-320)	218 (174-266)
Fibra alimentar (g)	19 (13-23)	16 (13-19)	16 (12-20)	14 (13-17)	15 (11-18)
Açúcares (%VET)	9 (3-13)	9 (6-15)	8 (6-16)	14 (6-18)	9 (7-15)
Relação w6/w3	5 (3-9)	5 (3-8)	6 (5-12)	10 (3-11)	6 (5-7)
Ferro (mg)	12 (10-12)	13 (3-16)	8 (9-13)	11 (10-11)	12 (11-14)
Cálcio (mg)	549 (281-654)	368 (260-479)	283 (259-529)	297 (253-317)	278 (256-355)
Zinco (mg)	9 (6-11)	6 (3-11)	7 (3-8)	6 (3-11)	7 (6-9)
Potássio (mg)	1507 (1315-1688)	1427 (1285-1576)	1381 (1245-1563)	1368 (1246-1637)	1330 (1245-1439)
Sódio (mg)	1577 (1394-2266)	1850 (1481-2655)	1390 (1120-1708)	1823 (1283-2082)	1982 (1548-2139)
Magnésio (mg)	188 (143-253)	181 (137 -191)	136 (122-212)	157 (135-200)	166 (143-226)
Ácido fólico (mµg)	254 (222-389)	255 (175-297)	258 (137-375)	226 (191-314)	305 (263-461)
Vitamina E (mg)	1,43 (0,96-2,57)	1,20 (0,59-1,71)	1,48 (1,05-1,99)	0,98 (0,73-2,13)	1,05 (0,81-1,69)
Vitamina C (mg)	23 (15-90)	28 (16-70)	21 (12-40)	55 (17-97)	20 (13-49)
Vitamina A (UI)	6049 (2098-9042)	3470 (1468-7395)	2511 (1238-7139)	3762 (1834-6375)	1454 (996-5389)
Vitamina D (mµg)	12 (7-18)	12 (5-21)	11 (8-16)	8 (5-11)	12 (6-14)
Vitamina B₁₂ (mµg)	2,51 (1,74-3,14)	2,09 (1,62 -2,97)	1,80 (1,56-2,76)	1,92 (1,11-2,77)	1,81 (1,48-2,19)

Valores expressos em mediana e intervalo interquartil. Teste de Kuskal Wallis com post hoc foi feito para analisar o nível de significância. VET: valor energético total. ^a p <0,05 entre EutMS e outros; ^b p <0,001 entre EutMS e outros; ^c p <0,05 entre SobMS e SobMNS; ^d p <0,05 entre ObMS e ObMNS

Tabela 4. Percentual de adequação das medidas antropométricas, % de gordura e perfil lipídico, segundo fenótipo metabólico

Variáveis	EutMS (n=18)	SobMS (n=17)	ObMS (n=29)	SobMNS (n=15)	ObMNS (n=30)
Perímetro da cintura (cm)	88,9%	11,1%	0	25%	0
Perímetro do pescoço (cm)	88,9%	55,6%	17,2%	12,5%	6,7%
Razão cintura-altura	100%	22,2%	3,4%	25%	0
Razão cintura-quadril	94,4%	66,7%	86,2%	100%	56,7%
Massa gorda (%)	100%	61,1%	6,9%	50%	3,3%
Colesterol total (mg/dL)	66,7%	44,4%	37,9%	0	26,7%
LDL-c (mg/dL)	83,3%	66,7%	89,7%	75%	86,7%
HDL-c (mg/dL)	94,4%	94,4%	96,6%	100%	96,7%
Triglicerídeos (mg/dL)	100%	94,4%	79,3%	87,5%	70%

Valores expressos em frequência. LDL-c: lipoproteína de baixa densidade; HDL-c: lipoproteína de alta densidade;

Tabela 5. Proporção de indivíduos segundo categoria de risco cardiometabólico do IAV

IAV	EutMS (n=18)	SobMS (n=17)	ObMS (n=29)	SobMNS (n=15)	ObMNS (n=30)
Ausente	94,4%	88,9%	79,3%	87,5%	70%
Leve	0	11,1%	0	0	10%
Moderado	5,6%	0	13,8%	0	6,7%
Severo	0	0	6,9%	12,5%	13,3%

Valores expressos em frequência. IAV: índice de adiposidade visceral

A Figura 4 descreve o percentual de adequação na ingestão dietética de macro e micronutrientes.

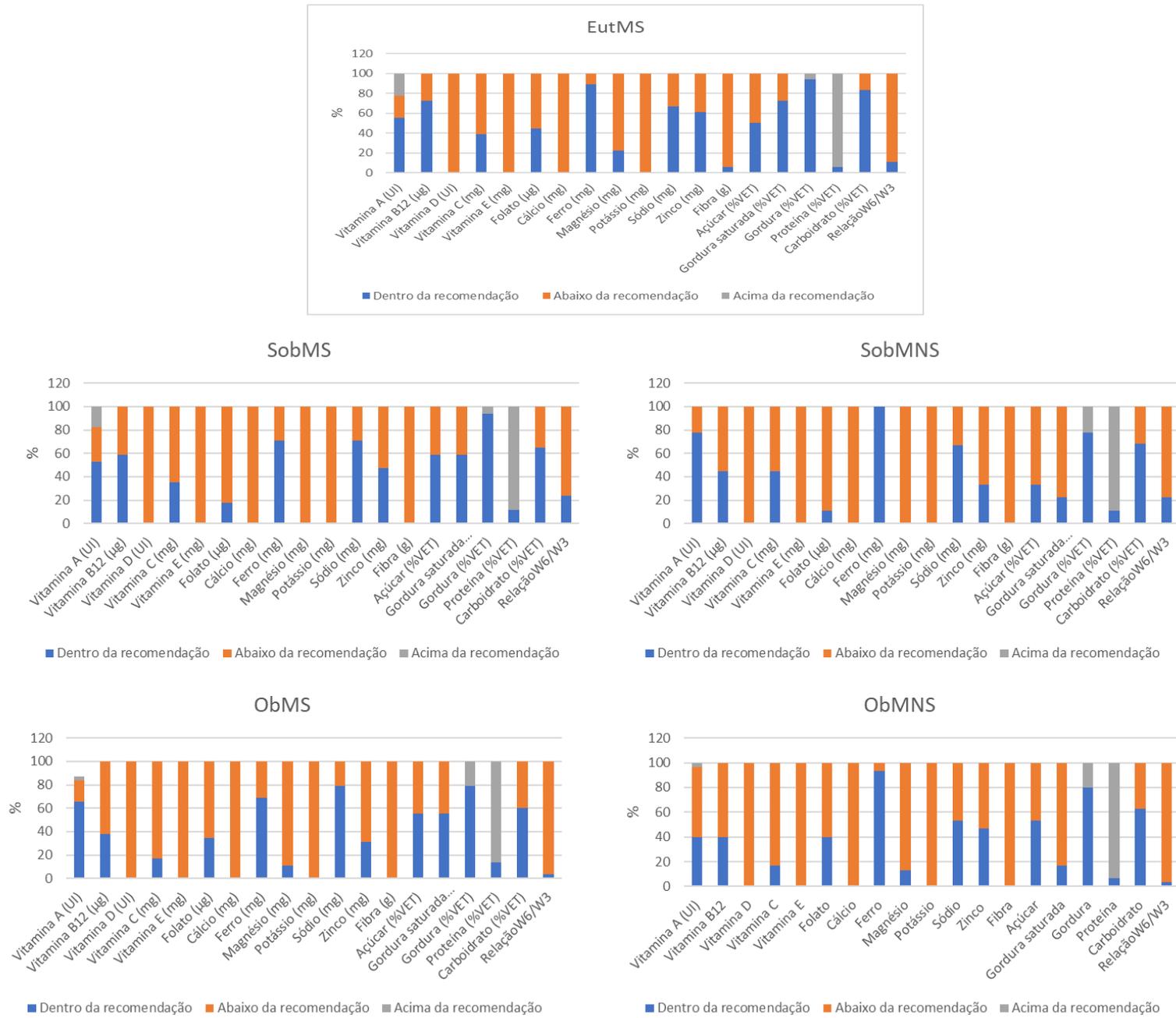


Figura 4. Proporção de indivíduos de acordo com adequação dietética.

Para a análise da composição da microbiota intestinal por metagenômica, cada grupo foi representado por 5 amostras, exceto o grupo EutMS com 4 amostra, pois uma não apresentou quantidade de DNA suficiente para análise. Cada amostra correspondeu a um pool de DNA extraído de 3 indivíduos. Após a análise do controle de qualidade, as amostras foram normalizadas para um número igual de sequências para comparação e 30079 leituras foram consideradas em cada amostra, com um comprimento médio de 412 pb. O número de sequências resultante foi suficiente para caracterizar as comunidades bacterianas, conforme ilustrado pelas curvas de rarefação que se aproximavam da saturação e pelos valores de Good's coverage > 99% (**Figura 5 e Tabela 6**). Cada amostra continha em média 608 OTUs.

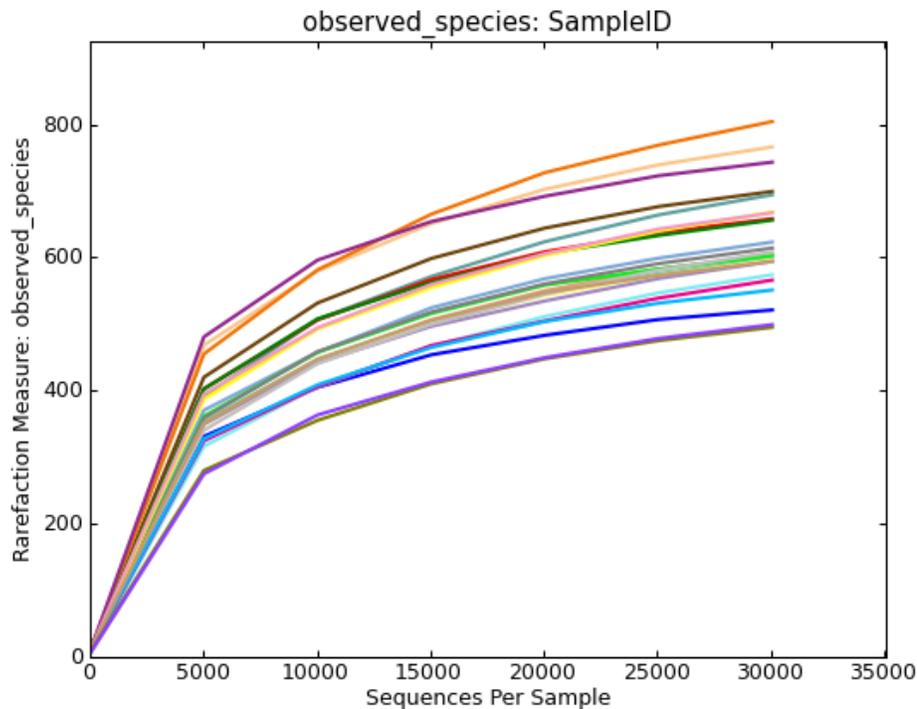


Figura 5. Curvas de rarefação para as 24 amostras, mostrando o número de sequências e o número de espécies observadas.

Tabela 6. Número de espécies observadas (OTUs), índices estimados de Chao1 e Shannon e cobertura amostral estimada para bibliotecas 16S rRNA das 24 amostras representando 5 grupos.

Grupo	Nome da amostra	Observed Species	Shannon	Chao1	Goods Coverage
EutMS	A1	658	6.81	714	0.996
	A2	521	6.46	569	0.997
	A3	804	6.96	929	0.994
	A5	656	6.71	721	0.996
SobMS	A6	743	7.07	788	0.997
	A7	668	6.51	770	0.995
	A8	574	6.19	782	0.995
	A9	667	6.88	773	0.995
	A10	694	6.65	799	0.995
SobMNS	A11	699	6.79	754	0.996
	A12	614	6.59	690	0.996
	A13	603	6.32	659	0.997
	A14	603	6.35	665	0.996
	A15	623	6.76	694	0.996
ObMS	A16	766	7.09	850	0.995
	A17	599	5.86	657	0.996
	A18	594	6.01	682	0.996
	A19	596	6.46	653	0.996
	A20	608	6.44	740	0.995
ObMNS	A21	566	6.21	729	0.995
	A22	551	6.39	631	0.996
	A23	594	6.53	648	0.997
	A24	495	4.84	543	0.997
	A25	499	4.45	548	0.997

Comparando os índices de diversidade alfa segundo todos os parâmetros avaliados, o grupo ObMNS apresentou menor diversidade/riqueza que os grupos EutMS e SobMS. Além disso, considerando espécies observadas, ObMNS teve valores menores que todos os grupos. A riqueza foi significativamente menor para o grupo SobMNS (Chao1, $p < 0,05$) que para o grupo SobMS, e significativamente menor (Chao1, $p < 0,05$) para o grupo ObMS que para o grupo SobMS (**Figura 6 e Tabela 7**)

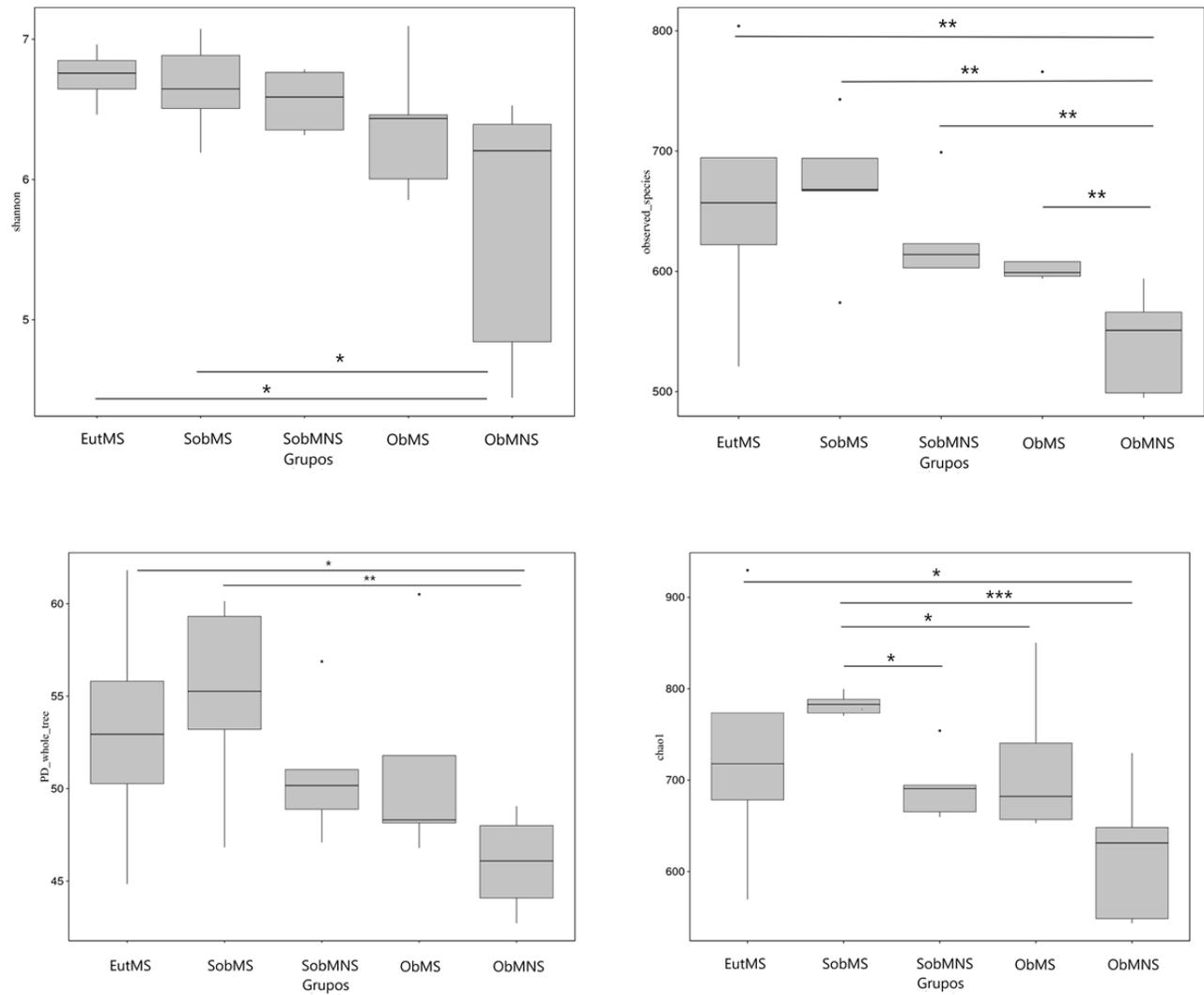


Figura 6. Boxplots representando as diferenças na diversidade alfa entre os grupos baseado no Número de Espécies Observadas, índices Shannon, Chao1 e Diversidade Filogenética.

Tabela 7. Comparação da diversidade alfa entre os grupos com base no número de espécies observadas, índices de Shannon e Chao1 e diversidade filogenética. Resultados do teste de Wilcoxon para comparação dos índices de diversidade alfa entre os grupos experimentais

Observed species					
Grupos	Diferença	p valor	sig	LCL	UCL
EutMS - ObMNS	11,1	0,0098	**	3,009340	19,1906598
EutMS - ObMS	2,5	0,5255		-5,590660	10,5906598
EutMS - SobMNS	0,4	0,9187		-7,690660	8,4906598
EutMS - SobMS	-2,0	0,6109		-10,090660	6,0906598
ObMNS - ObMS	-8,6	0,0291	*	-16,227947	-0,9720528
ObMNS - SobMNS	-10,7	0,0085	**	-18,327947	-3,0720528
ObMNS - SobMS	-13,1	0,0019	**	-20,727947	-5,4720528
ObMS - SobMNS	-2,1	0,5712		-9,727947	5,5279472
ObMS - SobMS	-4,5	0,2320		-12,127947	3,1279472
SobMNS - SobMS	-2,4	0,5181		-10,027947	5,2279472
Shannon					
Grupos	Diferença	p valor	sig	LCL	UCL
EutMS - ObMNS	11,35	0,0161	*	2.356.564	203.434.363
EutMS - ObMS	7,35	0,1034		-1.643.436	163.434.363
EutMS - SobMNS	4,35	0,3241		-4.643.436	13,3434363
EutMS - SobMS	2,15	0,6226		-6.843.436	11,1434363
ObMNS - ObMS	-4	0,3359		12.479.093	4,4790931
ObMNS - SobMNS	-7	0,1002		15.479.093	1,4790931
ObMNS - SobMS	-9,2	0,035	*	-17.679.093	0,7209069
ObMS - SobMNS	-3	0,468		-11.479.093	5,4790931
ObMS - SobMS	-5,2	0,2147		-13.679.093	3,2790931
SobMNS - SobMS	-2,2	0,5934		-10.679.093	6,2790931
Chao1					
Grupos	Diferença	p valor	sig	LCL	UCL
EutMS - ObMNS	8,1	0,0458	*	0,1666817	16,0333183
EutMS - ObMS	1,1	0,7748		6,8333183	9,0333183
EutMS - SobMNS	2,1	0,586		-5,8333183	10,0333183
EutMS - SobMS	-6,5	0,1026		-14,4333183	1,4333183
ObMNS - ObMS	-7	0,065		-14,4796042	0,4796042
ObMNS - SobMNS	-6	0,1095		-13,4796042	1,4796042
ObMNS - SobMS	-14,6	0,0006	***	-22,0796042	-7,1203958
ObMS - SobMNS	1	0,7826		-6,4796042	8,4796042
ObMS - SobMS	-7,6	0,0468	*	-15,0796042	-0,1203958
SobMNS - SobMS	-8,6	0,0264	*	-16,0796042	-1,1203958

Continuação da tabela 7

Diversidade filogenética					
Grupos	Diferença	p valor	sig	LCL	UCL
EutMS - ObMNS	9,85	0,0320	*	0,9400151	18,7599849
EutMS - ObMS	2,85	0,5112		-6,0599849	11,7599849
EutMS - SobMNS	2,25	0,6032		-6,6599849	11,1599849
EutMS - SobMS	-1,75	0,6856		-10,6599849	7,1599849
ObMNS - ObMS	-7,00	0,0973		-15,4004143	1,4004143
ObMNS - SobMNS	-7,60	0,0736		-16,0004143	0,8004143
ObMNS - SobMS	-11,60	0,0094	**	-20,0004143	-3,1995857
ObMS - SobMNS	-0,60	0,8827		-9,0004143	7,8004143
ObMS - SobMS	-4,60	0,2660		-13,0004143	3,8004143
SobMNS - SobMS	-4,00	0,3315		-12,4004143	4,4004143

Sig: significância; LCL: limite inferior; UCL: limite superior * p <0,05 ** p <0,001 *** p <0,05

A similaridade das comunidades microbianas dos cinco grupos foi avaliada com uma análise NMDS baseada na distribuição de OTUs bacterianas (dissimilaridade de 3%) (**Figura 7**). A diferença entre os grupos (EutMS-ObMNS-ObMS-SobMNS-SobMS) foi apoiada pela AMOVA (F 2.19, p 0.03), bem como as diferenças entre os pares: EutMS-SobMS (F 2.04, p 0.046), ObMNS-SobMNS (F 3,54, p 0,048), EutMS-ObMNS (F 3,97, p 0,028) (**Tabela 8**).

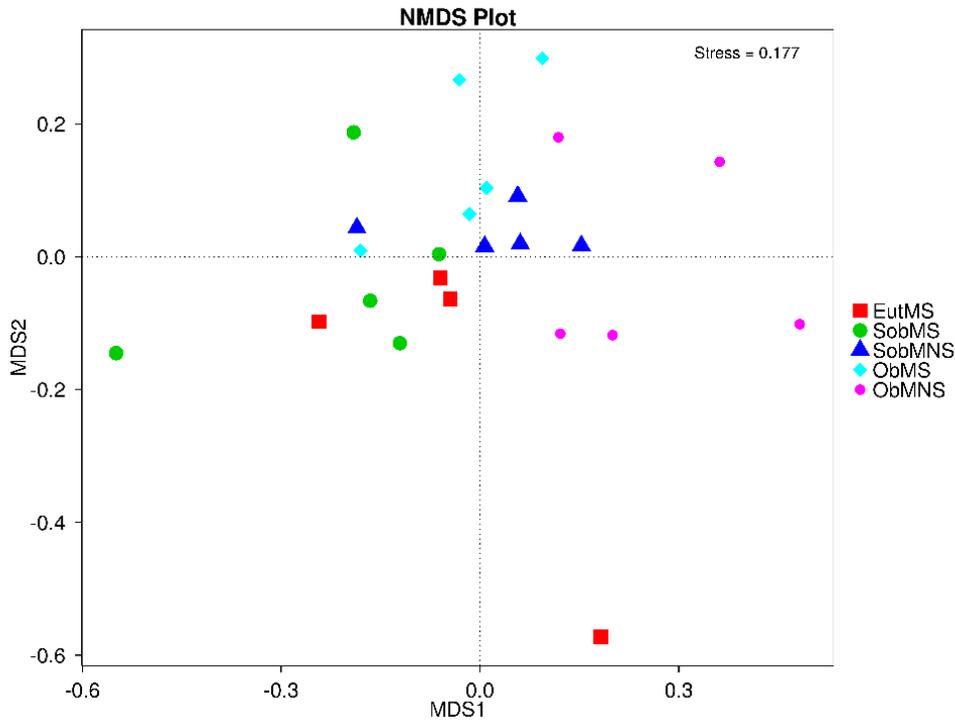


Figura 7. Gráficos de escala multidimensional não métrica (NMDS) em duas dimensões, mostrando a distribuição de amostras replicadas dos cinco grupos de acordo com a composição das comunidades bacterianas. As parcelas foram baseadas na distância da matriz de Bray-Curtis como similaridade métrica de 97%.

Tabela 8. Resultados da AMOVA para testar diferenças significativas na estrutura da comunidade microbiana entre os grupos.

Grupos	ss	df	MS	F	p valor
EutMS-SobMNS	0.036	1	0.036	1.214	0.31
EutMS-ObMS	0.127	1	0.127	2.668	0.078
ObMNS-SobMS	0.157	1	0.157	2.390	0.103
EutMS-SobMS	0.636	1	0.064	0.204	0.046
SobMNS-SobMS	0.435	1	0.043	1.352	0.244
ObMNS-ObMS	0.790	1	0.079	0.988	0.318
EutMS-ObMNS-ObMS-SobMNS-SobMS	0.454	4	0.113	2.196	0.030
ObMNS-SobMNS	0.229	1	0.229	3.544	0.048
ObMS-SobMS	0.391	1	0.039	0.825	0.518
ObMS-SobMNS	0.922	1	0.092	1.993	0.093
EutMS-ObMNS	0.271	1	0.271	3.970	0.028

A composição de todas as comunidades bacterianas foi dominada por *Firmicutes* e *Bacteroidetes*, que juntos representaram 78-91% de toda a composição da comunidade. A abundância relativa de *Actinobacteria* correspondeu a 4-11% e a de *Proteobacteria* variou de 3-8% (**Figura 8A**). Dentro de *Firmicutes*, a Ordem mais abundante foi *Clostridiales*, com uma abundância relativa de 43 a 58% de todas as sequências em todos os grupos, e dentro de *Bacteroidetes*, a Ordem mais representada foi *Bacteroidales*, representando 14-43% de todas as sequências em todos os grupos (**Figura 8B**). Os gêneros mais representados foram *Prevotella_9* (*Prevotellaceae*, *Bacteroidales*), *Bacteroides* (*Bacteroidaceae*, *Bacteroidales*), seguidos pelo grupo *Eubacterium rectale* e *Blautia* (*Lachnospiraceae*, *Clostridiales*). *Dialister* (*Veillonellaceae*, *Selenomonadales*, *Firmicutes*) foi mais abundante no grupo SobMNS, enquanto a contribuição relativa de *Bifidobacterium* (*Bifidobacteriaceae*, *Bifidobacteriales*, *Actinobacteria*) foi maior no grupo EutMS, em comparação com os outros grupos (**Figura 8C**).

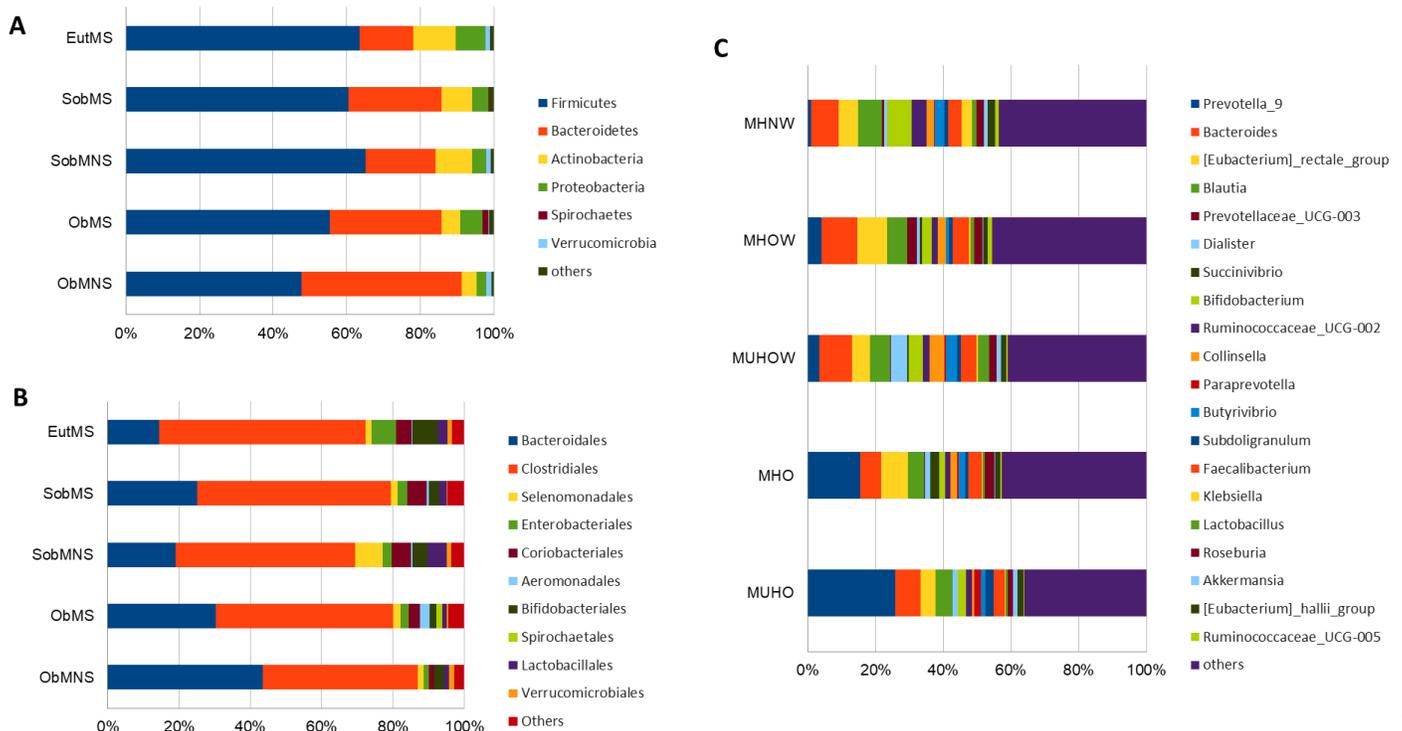


Figura 8. Composição da OTU dos cinco grupos nos níveis (A) Filo, (B) Ordem e (C) Gêneros. Para Filo e Ordem, apenas os principais grupos taxonômicos que contribuíram com uma abundância relativa superior a 1% estão representados. Para o gênero, apenas os 20 principais grupos taxonômicos que contribuíram com uma abundância relativa superior a 1% estão representados, juntos esses gêneros contribuíram com > 50% da abundância relativa na comunidade bacteriana.

Comparando os grupos com fenótipo saudável (EutMS, SobMS e ObMS), não foi observada diferença na abundância relativa do filo *Firmicutes* e nos níveis taxonômicos correspondentes, Classe *Clostridia*, Ordem *Clostridiales*, Famílias *Lachnospiraceae* e gênero *Ruminococcaceae* (**Figura 9**). O filo *Bacteroidetes* e os níveis taxonômicos relacionados, classe *Bacteroidia*, ordem *Bacteroidales* e família *Prevotellaceae*, foram mais abundantes em ObMS e SobMS do que em EutMS. Uma análise mais detalhada revelou os principais contribuintes da OTU para a distinção entre EutMS x SobMS e ObMS, estimada pela análise SIMPER (**Figura 10**). Os gêneros *Prevotella 9*, *Prevotellaceae UCG003*, *Succinivibrio* e *Eubacterium retale* foram mais abundantes em ObMS em comparação com EutMS. Os gêneros *Prevotellaceae UCG003*, *Faecalibacterium* e *Eubacterium retale* foram mais abundantes em SobMS em comparação com EutMS. *Bifidobacterium*, *Klebsiella* e *Butyrivibrio* foram gêneros mais abundantes em EutMS do que em SobMS e ObMS.

A proporção de OTUs compartilhadas e exclusivas atribuídas a cada grupo está representada na **Figura 11**, assim como as comparações entre SobMS x SobMNS e ObMS x ObMNS. Considerando todos os grupos, 34% dos todos os OTUs designados foram compartilhados entre eles e entre 5 e 9% eram exclusivos para cada grupo. Para SobMS x SobMNS, das 1401 OTUs consideradas, 60% foram compartilhadas, enquanto 23% e 17% eram exclusivas para SobMS e SobMNS, respectivamente. Comparando ObMS x ObMNS, 60% das 1313 OTUs foram compartilhadas e 16% e 24% eram exclusivas para ObMNS e ObMS, respectivamente. As OTUs únicas correspondiam a grupos taxonômicos com menor contribuição relativa à composição da comunidade (<1%).

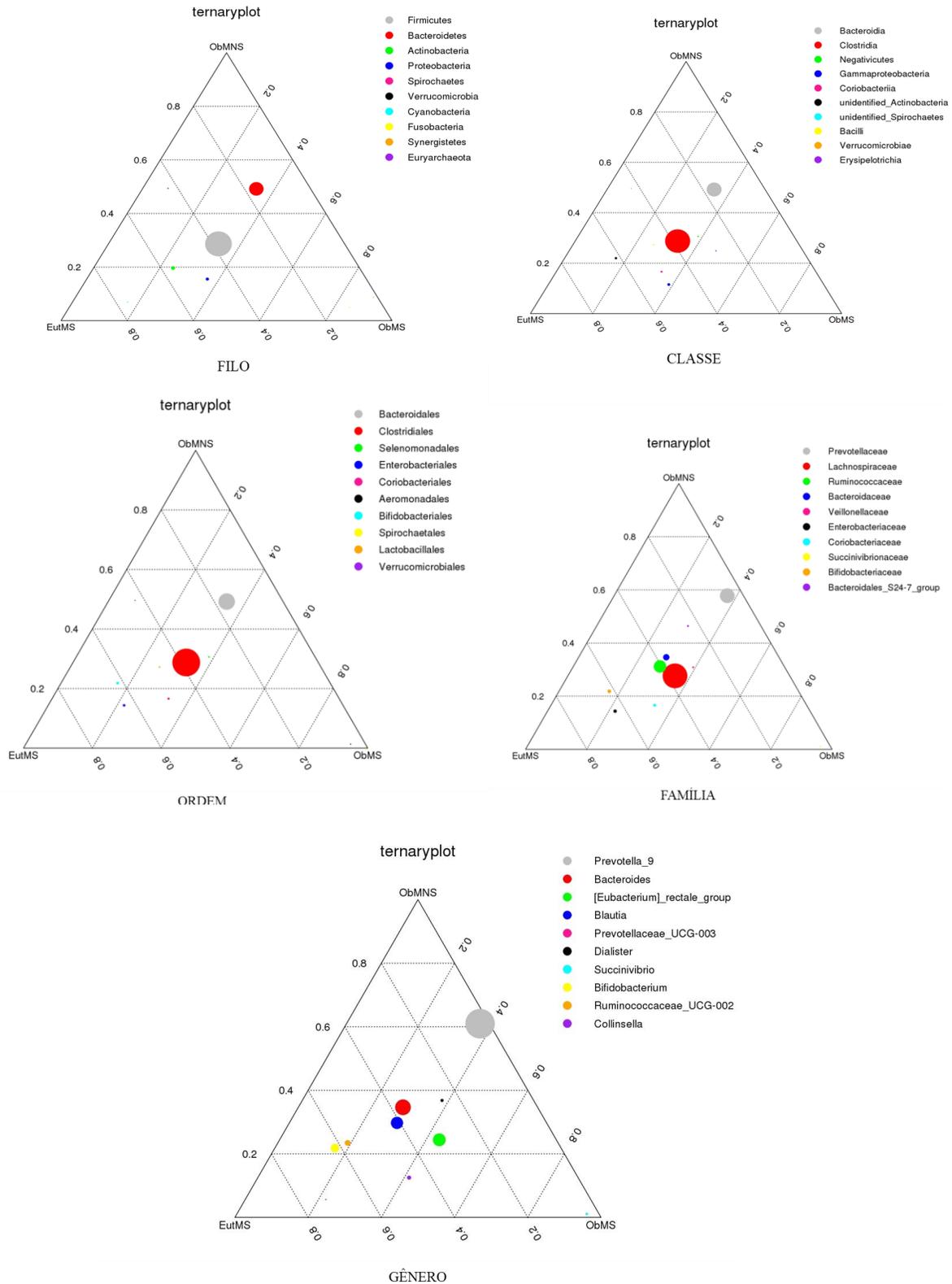


Figura 9. Gráficos ternários comparando abundância relativa de grupos taxonômicos nos três grupos metabolicamente saudáveis com peso corporal diferente, (A) filo, (B) classe, (C) ordem, (D) família e (E) gênero. Os círculos representam taxa dominantes (considerando os dez taxa mais abundantes), e o tamanho dos círculos é proporcional à abundância relativa. A proximidade do círculo em relação a cada vértice representa uma abundância maior nesse grupo.

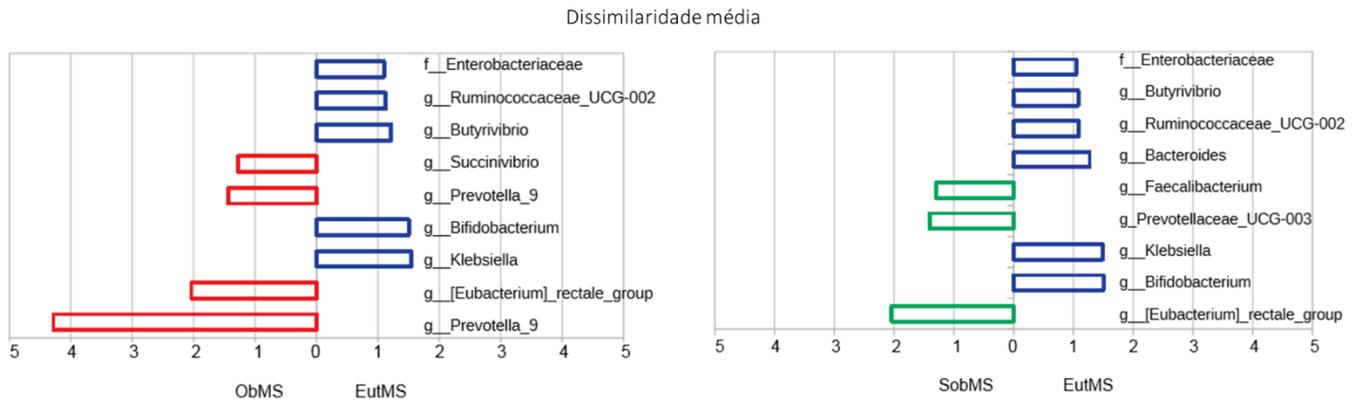


Figura 10. Contribuição relativa média dos OTUs nas comparações entre grupos metabólicos saudáveis, EutMS x ObMS e EutMS x SobMS. As OTUs selecionadas contribuíram com pelo menos 1% para a diferenciação entre os grupos (análise SIMPER).

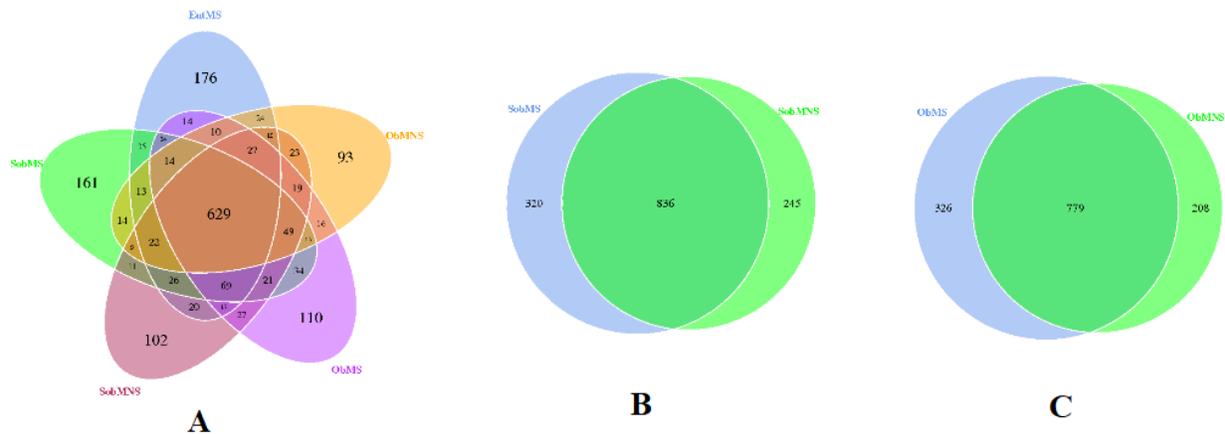


Figura 11. Diagramas de Venn ilustrando o número de OTUs compartilhadas e exclusivas entre amostras. (A) considerando todos os grupos, (B) SobMN x SobMNS e (C) ObMN x ObMNS.

Uma análise do teste T revelou grupos taxonômicos que apresentaram diferenças significativas na contribuição relativa ($p < 0,05$) entre SobMS x SobMNS e entre ObMS x ObMNS, em várias categorias taxonômicas (**Figura 12 e Tabela 9**). Os táxons que apresentaram maior abundância no SobMNS quando comparado ao SobMS foram: a Classe *Bacilli*, a Ordem *Lactobacillales* e os Gêneros *Paraprevotella* (Família *Prevotellaceae*, Ordem *Bacteroidales*) e

Ruminococcaceae UCG-010 (Família *Ruminococcaceae*, Ordem *Clostridiales*) e a Espécie *Bacteroides* *eggerthii* (família *Bacteroidaceae*). Os táxons com níveis mais altos no SobMS incluíram a Ordem *D8A-2* (Classe *Clostridia*), a Família *Comamonadaceae* (Ordem *Burkholderiales*, Classe *Proteobacteria*) e os Gêneros *Coprococcus* (Família *Lachnospiraceae*, Ordem *Clostridiales*) e *Ruminococcus* (Família *Ruminococcaceae*, Ordem *Clostridiales*). Entre os obesos, os táxons que diferiram entre MS e MNS foram minoritários e contribuíram com menos de 1% na abundância relativa. Os táxons enriquecidos em ObMNS foram: a Família *Vibrionaceae*, a Ordem *Vibrionales* (Classe *Gammaproteobacteria*) e o Gênero não identificado *Erysipelotrichaceae* (Família *Erysipelotrichaceae*, Ordem *Erysipelotrichales*), *Ruminococcaceae*_UCG-007 (Família *Ruminococcaceae*, Ordem *Clostridiales*) e *Serratia* (família *Enterobacteria*, Ordem *Enterobacteriales*). No OBMS, maiores abundâncias relativas foram registradas para os Gêneros *Oribacterium* (Família *Lachnospiraceae*, Ordem *Clostridiales*) e *Candidatus*_ *Arthromitus* (Família *Clostridiaceae*, Ordem *Clostridiales*).

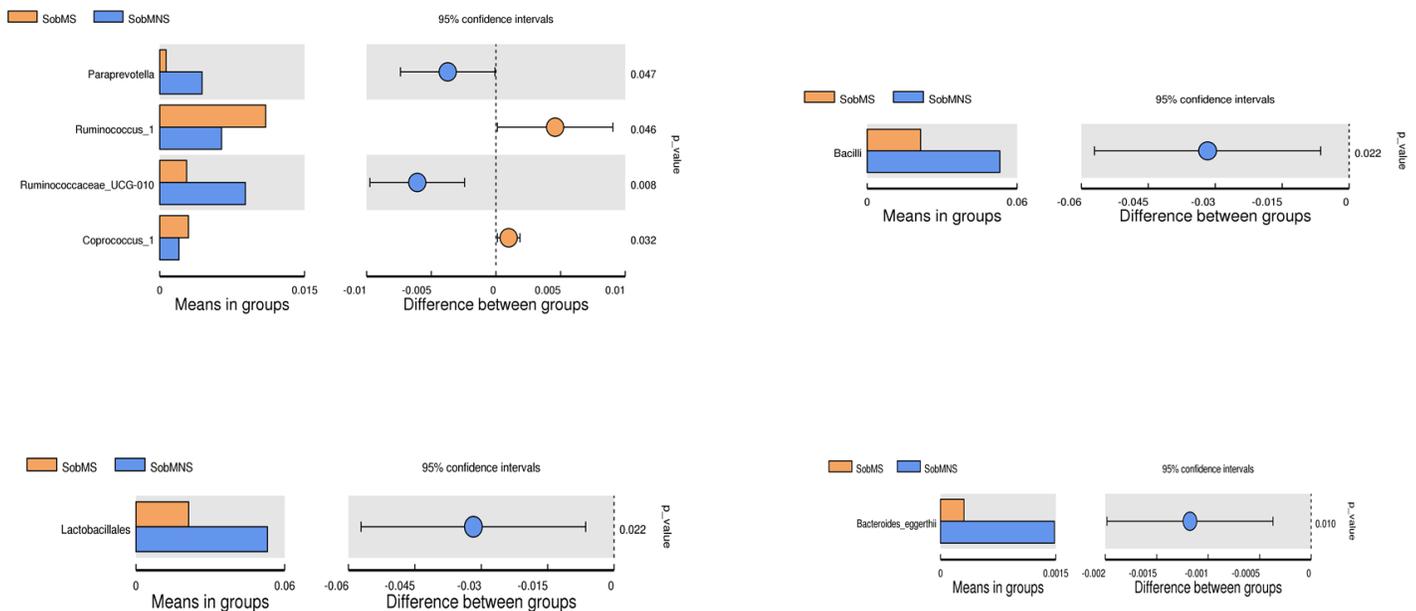


Figura 12. Análise estatística (teste T) para determinar OTUs com variação significativa na abundância relativa entre SobMS x SobMNS ($p < 0,05$) em várias categorias taxonômicas. As barras representam valores médios de abundância de OTU em cada grupo. À direita médios de abundância de OTU em cada grupo. À direita, valores p médios de significância para a variação entre os grupos e intervalos de confiança de 95% com limites inferiores e superiores.

Tabela 9. Análise do teste T para determinação de OTUs com variação significativa na abundância relativa entre SobMN x SobMNS e ObMN x ObMNS grupos ($p < 0,05$) em várias categorias taxonômicas.

Maior abundância			
	ObMS	ObMNS	p valor
Ordem	D8A-2 (Clostridia)		0.037
Familia		Vibrionales	0.040
Gênero	Oribacterium		0.038
		unidentified_Erysipelotrichaceae	0.049
		Ruminococcaceae_UCG-007	0.024
		Serratia	0.037
	Candidatus_Arthromitus		0.039
	SobMS	SobMNS	
Classe		Bacilli	0.022
Ordem		Lactobacillales	0.022
	D8A-2		0.010
Família	Comamonadaceae		0.009
Gênero	Ruminococcus_1		0.046
		Paraprevotella	0.047
		Ruminococcaceae_UCG-010	0.008
	Coprococcus_1		0.032

8 DISCUSSÃO

As prevalências do fenótipo metabolicamente saudável neste estudo foram maiores que as relatadas em outros estudos brasileiros (DINIZ et al., 2016; PIMENTEL et al., 2015; ROBERSON et al., 2014). Essas diferenças de prevalência entre os estudos podem ser atribuídas a idade, etnia, tamanho da amostra, fatores ambientais e genéticos e definição inconsistente de saúde metabólica. Em geral, os indivíduos com fenótipo metabolicamente saudável apresentaram menores medidas antropométricas em comparação com seu par não saudável.

Uma análise post hoc revelou diferenças significativas na glicemia de jejum e insulina sérica entre ObMS e ObMNS. No entanto, nenhuma diferença na glicemia de jejum foi observada entre SobMS e SobMNS. Estes resultados foram semelhantes aos observados por outros pesquisadores (JAMKA et al., 2019; PIMENTEL et al., 2015; SILVA et al., 2017), mas diferiram do resultado de Hwang et al. (2015b) que não observaram diferenças nos níveis de glicose em jejum. A maioria dos participantes do estudo apresentaram risco cardiometabólico leve, segundo índice de adiposidade visceral. Dentre os que apresentaram risco severo, o percentual foi maior no fenótipo não saudável, consistente com a literatura existente (BLÜHER; SCHWARZ, 2014). Concentrações séricas de HDL-c significativamente maiores e de triglicerídeos significativamente menores foram relatadas em ObMS em comparação com ObMNS (JAMKA et al., 2019; EFTEKHARZADEH et al., 2017). De forma semelhante, embora não significativo, identificamos que os grupo ObMS e SobMS apresentaram maiores concentrações de HDL-c e menores concentrações de triglicerídeos, em comparação com ObMNS e SobMNS, respectivamente. Isto pode estar relacionado, com a maior ingestão de álcool (TABARA et al., 2017) e maior nível de atividade física observado nestes grupos (NIEMELÄ et al., 2019). Slagter et al. (2018) também constataram que ObMS eram mais frequentemente consumidores moderados de álcool, discordando de estudos anteriores que mostraram que ObMS eram menos propensos a beber (GODAY et al., 2016; KANG et al., 2017; WANG et al., 2015).

O percentual de fumantes foi maior no grupo SobMNS em comparação com o grupo SobMS, enquanto entre obesos, foi maior no grupo ObMS, ambos sem diferença significativa. Outros pesquisadores relataram que indivíduos metabolicamente saudáveis eram menos propensos a fumar (CUESTA-ZULUAGA et al., 2018; KANG et al., 2017; WANG et al., 2015; WILDMAN, 2008). O tabagismo foi descrito com uma das principais causas da redução da

função cardiorrespiratória (FCR) em adultos (DE BORBA et al., 2014) e a maior função cardiorrespiratória foi apontada fator que contribui para ter um fenótipo obeso metabolicamente saudável (BLÜHER; SCHWARZ, 2014).

Outros fatores como a prática de atividade física e hábitos alimentares saudáveis, como maior ingestão de peixe, frutas e vegetais e menor ingestão de gordura saturada e açúcares, foram associados com um fenótipo mais saudável em estudos anteriores (CAMHI et al., 2015; GODAY et al., 2016; MATTA et al., 2016; ORTEGA et al., 2018; PEREIRA et al., 2019; SLAGTER et al., 2018) e a maior probabilidade de transição do fenótipo não saudável para o saudável em indivíduos obesos (MARTINEZ-GOMEZ et al., 2019).

Em nosso estudo, observamos uma proporção menor de sedentários entre os indivíduos com fenótipo saudável, bem como maior ingestão de fibras e menor ingestão de açúcares e gordura saturada, embora apenas este último foi significativamente diferente. Em geral, todos os grupos apresentaram ingestão adequada de macronutrientes, segundo recomendações da WHO (2003), com exceção da ingestão de proteína, que foi maior que a recomendação. A ingestão de fibras estava abaixo das recomendações principalmente entre indivíduos com sobrepeso e obesos com fenótipo não saudável, e a ingestão de açúcar foi maior que 10% apenas no grupo SobMNS. Todos os grupos apresentaram ingestão inadequada de micronutrientes, principalmente, vitamina D, E potássio, magnésio e cálcio. Estes resultados concordam em parte, com os resultados apresentados por Louzada et al. (2015a), que concluíram que a dieta da população brasileira ultrapassa as recomendações de consumo para densidade energética, proteína, açúcar livre, gordura *trans* e sódio, além de apresentar baixos teores de fibras e potássio (LOUZADA et al., 2015a).

O consumo de ultraprocessados representou 15 a 28% das calorias consumidas pelos participantes do estudo, sendo maior nos grupos SobMNS e ObMNS, porém sem diferença significativa. Dados da Pesquisa de Orçamento Familiar do Brasil em 2008-2009, revelaram que os alimentos ultraprocessados, representaram um total de 20,5% do total de calorias consumidas pela população brasileira (LOUZADA et al., 2015a). Fato preocupante, pois estudos anteriores mostraram que um aumento na proporção de alimentos ultraprocessados na dieta está inversa e significativamente associado ao consumo de vegetais (CANELLA et al., 2018) e níveis mais baixos de vitaminas B₁₂, D e E, niacina, piridoxina, cobre, ferro, fósforo, magnésio, selênio e zinco (LOUZADA et al., 2015b).

Foi demonstrado que reduções na ingestão de 25 e 75% em ultraprocessados e ingredientes culinários processados, com um aumento proporcional na ingestão de alimentos não processados ou minimamente processados, podem gerar uma redução de 5,5% e 29% na mortalidade por DCV, respectivamente (MOREIRA et al., 2018).

De forma semelhante, alguns estudos não revelaram diferenças significativas no nível de atividade física e na ingestão dietética entre adultos com sobrepeso/obesidade metabolicamente saudável e não saudável (DE WINTER et al., 2018; FUNG et al., 2015; HANKINSON et al., 2013; HWANG et al., 2015b; JURADO-FASOLI et al., 2019; KIMOKOTI et al., 2015)

Ao analisar a microbiota intestinal dos voluntários, nossos resultados revelaram uma redução na riqueza e diversidade bacteriana com o aumento do peso corporal, e menor diversidade nos grupos com fenótipo não saudável em relação a saudáveis, consistente com estudos anteriores, que mostram que indivíduos com maior risco metabólico têm microbiotas menos diversas (CHEN et al., 2020; CUESTA-ZULUAGA et al., 2018; GAO et al., 2018; LE CHATELIER et al., 2013; MENNI et al., 2017). Esta diminuição da diversidade pode modificar o perfil funcional da microbiota. Além disso, foi sugerido que a restrição alimentar em indivíduos com sobrepeso ou obesidade é mais eficiente naqueles com maior riqueza bacteriana, em termos de melhoria dos parâmetros metabólicos (COTILLARD et al., 2013; LE CHATELIER et al., 2013).

Analisando os dois filos dominantes, nenhuma diferença na abundância relativa de *Firmicutes* foi observada entre os grupos, enquanto, o filo *Bacteroidetes* foi mais abundante entre indivíduos com sobrepeso e obesos, em comparação com eutróficos. Alguns estudos relataram uma proporção aumentada de F/B na microbiota de indivíduos obesos (CHEN et al., 2020; KASAI et al., 2015; KOLIADA et al., 2017; MARVASTI et al., 2020; TURNBAUGH et al., 2009) em comparação com indivíduos magros, enquanto outros estudos não observaram diferença (ARUMUGAM et al., 2011; FINUCANE et al., 2014; ORG et al., 2017; PETERS et al., 2018) ou observaram uma associação oposta, com aumento de *Bacteroidetes* em indivíduos com sobrepeso e obesos (SCHWIERTZ et al., 2010), e aumento de *Firmicutes* em indivíduos magros (REYES et al., 2016). Dessa forma, a razão F/B parece não funcionar como um recurso para distinguir entre microbiota intestinal humana obesa e magra. Por outro lado, MORENO-NAVARRETE et al. (2018), observaram menor relação F/B em indivíduos obesos resistentes à insulina, em comparação com os indivíduos sensíveis à insulina. Em nosso estudo, não

encontramos diferenças significativas nos marcadores microbianos no nível do filo entre os fenótipos metabólicos. Inconsistências entre os estudos podem ser resultado da heterogeneidade de grupos, histórico genético, localização geográfica, estilo de vida habitual, dieta e metodologia utilizada (MAGNE et al., 2020; MORAN-RAMOS; LÓPEZ-CONTRERAS; CANIZALES-QUINTEROS, 2017; THINGHOLM et al., 2019). Elevada abundância relativa de bactérias gram-negativas (*Bacteroidetes*), que expressam lipossacarídeos (LPS), é coerente com a hipótese de endotoxemia metabólica, com inflamação de baixo grau, característica da obesidade (CHAKRABORTI, 2015).

Foi sugerido que *Bacteroidetes* são regulados principalmente por fatores ambientais, enquanto *Firmicutes* dependem da composição genética do hospedeiro (GOODRICH et al., 2014). Reyes et al. (2016) descobriram que a abundância de *Bacteroidetes* estava correlacionada à ingestão de fibras, coerente com nossos resultados. O consumo reduzido de fibras também foi apontado como um importante contribuinte para perda da riqueza e diversidade microbiana (SONNENBURG et al., 2016), assim como o consumo elevado de gordura saturada (MARTINEZ; LEONE; CHANG, 2017).

O gênero *Bifidobacterium* foi mais abundante no grupo EutMS em comparação com SobMS e ObMS, consistente com a literatura existente (GAO et al., 2018; MARVASTI et al., 2020; REYES et al., 2016; SCHWIERTZ et al., 2010). A abundância de Bifidobactérias tem sido associada à redução de marcadores inflamatórios, à melhora na homeostase da glicose e metabolismo lipídico (HIDALGO-CANTABRANA et al., 2017), e a maior ingestão de fibras (REYES et al., 2016).

Outro achado interessante deste estudo foi o aumento observado nos gêneros da família *Prevotellaceae*, e nos gêneros *Eubacterium rectale* e *Faecalibacterium prausnitzii* nos grupos SobMS e ObMS em comparação com EutMS. Apesar de maior abundância de Prevotella ter sido frequentemente associada à saúde (KOVATCHEVA-DATCHARY et al., 2015) e a uma dieta rica em fibras (PRECUP; VODNAR, 2019), uma associação com inflamação crônica (LARSEN, 2017), resistência à insulina (MORENO-INDIAS et al., 2016), hipertensão arterial (LI et al., 2017a), DCV (KELLY et al., 2017) e obesidade também foi relatada. Foi sugerido que este gênero é mais eficiente na extração de energia de polissacarídeos complexos (DE FILIPPO et al., 2010), contribuindo para o desenvolvimento da obesidade na dieta ocidental bastante calórica (DURBÁN et al., 2013).

Eubacterium rectale e *Faecalibacterium prausnitzii* são importantes produtores de butirato e embora um grande conjunto de evidências tenha sugerido potenciais benefícios à saúde, em indivíduos obesos os resultados são contraditórios e inconclusivos (KIM; YAO; JU, 2019; LIU et al., 2018). Marvasti et al. (2020) encontraram maior abundância de *Faecalibacterium prausnitzii* em indivíduos obesos comparados a indivíduos magros, enquanto Feng et al. (2014) não observaram diferença significativa entre os obesos e os magros.

Comparando os grupos SobMS x SobMNS, identificamos táxons que mostraram diferença significativa na abundância relativa. Entre essas bactérias, algumas, são particularmente interessantes porque estão ligadas à saúde humana, como por exemplo os gêneros *Coprococcus* e *Ruminococcus*, conhecidos produtores de butirato. O butirato possui propriedades anti-inflamatórias, melhorando sensibilidade à insulina (CANFORA; JOCKEN; BLAAK, 2015; VITAL; KARCH; PIEPERA, 2017; VRIEZE et al., 2012), além de aumentar a produção de muco e contribuir para integridade da barreira intestinal (JUNG et al., 2015). Org et al. (2017) verificaram que o aumento na abundância do gênero *Coprococcus* estava associado a níveis menores de triglicerídeos (ORG et al., 2017). Coerente com este resultado, observamos que o grupo SobMS apresentou níveis mais baixos de triglicerídeos.

Uma barreira de junção intestinal disfuncional permite a entrada na corrente sanguínea, de componentes derivados da microbiota intestinal, como o lipossacarídeo (LPS), que podem exacerbar a inflamação do tecido adiposo (CHASSAING; GEWIRTZ, 2016).

O fenótipo não saudável apresentou maior abundância relativa de bactérias patogênicas que podem prejudicar a função da barreira intestinal, semelhante ao observado por de La Cuesta-Zuluaga et al. (2018). No entanto, entre os obesos, estes táxons contribuíram com menos de 1% na abundância relativa em ambos os grupos, provavelmente representando membros transitórios das comunidades. Em geral a ordem *Lactobacillales* e a classe *Bacili*, bactérias produtoras de ácido lático, são consideradas benéficas, mas uma abundância aumentada desses táxons também foi observada em indivíduos com doença arterial coronariana (YAMASHITA et al., 2016) e indivíduos diabéticos (LARSEN et al., 2010), e obesos (GAO et al., 2018; PETERS et al., 2018).

Em estudos anteriores, a elevada abundância de *Akkermansia Muciniphila* foi associada a um estado metabólico mais saudável em indivíduos com excesso de peso (DAO et al., 2016), enquanto os gêneros *Pseudomonas*, *Prevotella*, *Veillonella* e *Fusobacterium* foram mais abundantes em indivíduos obesos resistentes à insulina (MORENO-INDIAS et al., 2016), no

entanto, nenhuma diferença nestes táxons foi observada em nosso estudo.

Alguns táxons, que diferiram na abundância entre os grupos em nosso estudo, foram pouco estudados em humanos, sendo seu papel funcional ainda não esclarecido. Em comum com outros estudos, identificamos uma redução nos microrganismos produtores de butirato e um aumento de patógenos oportunistas.

9 LIMITAÇÕES E PONTOS POSITIVOS

O presente estudo apresenta limitações que podem influenciar nos resultados, como o pequeno tamanho da amostra e o reduzido número de homens. Mais estudos são necessários com maior número de indivíduos para confirmar nossos resultados. Apesar das limitações, este estudo é um dos pioneiros no Brasil a comparar a microbiota intestinal de indivíduos obesos e não obesos metabolicamente saudáveis e não saudáveis e com isso pode servir como base para a realização de outros estudos.

10 CONCLUSÃO

Indivíduos com fenótipo metabolicamente saudável apresentaram menores medidas antropométricas e menores níveis glicêmicos, além de apresentarem menor ingestão de gordura saturada. Embora não significativo, também observamos que estes indivíduos eram mais ativos. No entanto, a ingestão dietética e a atividade física não foram capazes de explicar sozinhos o fenótipo metabólico dos indivíduos do estudo. Observamos características distintas na microbiota intestinal dos diferentes fenótipos metabólicos. Verificamos que o intestino de indivíduos com sobrepeso/obesos com distúrbios metabólicos abriga uma microbiota associada à inflamação, com menor potencial de produção de butirato e diversidade bacteriana reduzida, juntamente com um aumento de patógenos oportunistas.

REFERÊNCIAS

- ABDULLAH, A. et al. The number of years lived with obesity and the risk of all-cause and cause-specific mortality. **International Journal of Epidemiology**, v. 40, n. 4, p. 985–996, 2011.
- ABESO. Diretrizes brasileiras de obesidade 2016. **VI Diretrizes Brasileiras de Obesidade**, v. 4 edição, p. 7–186, 2016.
- AGUIRRE, M. et al. In Vitro Characterization of the Impact of Different Substrates on Metabolite Production , Energy Extraction and Composition of Gut Microbiota from Lean and Obese Subjects. **PLoS ONE**, v. 9, n. 11, p. 1–23, 2014.
- ALLAIN, C. C. et al. Enzymatic Determination of Total Serum Cholesterol. **Clin. Chem.**, v. 20, n. 4, p. 470–475, 1974.
- ALMEIDA-PITITTO, B. et al. Neck circumference is associated with non-traditional cardiovascular risk factors in individuals at low-to-moderate cardiovascular risk: Cross-sectional analysis of the Brazilian Longitudinal Study of Adult Health (ELSA-Brasil). **Diabetology and Metabolic Syndrome**, v. 10, n. 1, p. 1–10, 2018.
- AMATO, M. C.; GIORDANO, C. Visceral adiposity index: An indicator of adipose tissue dysfunction. **International Journal of Endocrinology**, v. 3, p. 730827, 2014.
- AN, R. et al. Age-dependent changes in GI physiology and microbiota: Time to reconsider? **Gut**, v. 67, n. 12, p. 2213–2222, 2018.
- ARON-WISNEWSKY, J.; CLÉMENT, K. The gut microbiome, diet, and links to cardiometabolic and chronic disorders. **Nature Reviews Nephrology**, v. 12, n. 3, p. 169–181, 2016.
- ARUMUGAM, M. et al. Enterotypes of the human gut microbiome. **Nature**, v. 473, n. 12, p. 174–180, 2011.
- AUNE, D. et al. Body mass index, abdominal fatness, and heart failure incidence and mortality: A systematic review and dose-response meta-analysis of prospective studies. **Circulation**, v. 133, n. 7, p. 639–649, 2016.
- BÄCKHED, F. et al. The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 101, n. 44, p. 15718–23, 2004.
- BÄCKHED, F. et al. Mechanisms underlying the resistance to diet-induced obesity in germ-free mice. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 104, n. 3, p. 979–984, 2007.
- BEAUMONT, M. et al. Quantity and source of dietary protein influence metabolite production by gut microbiota and rectal mucosa gene expression: a randomized, parallel, double-blind trial in overweight humans. **The American journal of clinical nutrition**, v. 106, n. 4, p. 1005–1019, 1 out. 2017.

- BELL, L. K.; EDWARDS, S.; GRIEGER, J. A. The relationship between dietary patterns and metabolic health in a representative sample of adult Australians. **Nutrients**, v. 7, n. 8, p. 6491–6505, 2015.
- BEREZINA, A. et al. Prevalence, Risk Factors, and Genetic Traits in Metabolically Healthy and Unhealthy Obese Individuals. **BioMed Research International**, v. 2015, p. 1–9, 2015.
- BLÜHER, S.; SCHWARZ, P. Metabolically healthy obesity from childhood to adulthood - Does weight status alone matter? **Metabolism: Clinical and Experimental**, v. 63, n. 9, p. 1084–1092, 2014.
- BOKULICH, N. A. et al. Quality-filtering vastly improves diversity estimates from Illumina amplicon sequencing. **Nat Methods**, v. 10, n. 1, p. 57–59, 2013.
- BRAHE, L. K. et al. Specific gut microbiota features and metabolic markers in postmenopausal women with obesity. **Nutrition and Diabetes**, v. 5, n. 6, p. e159-7, 2015.
- BRANDÃO, I.; MARTINS, M. J.; MONTEIRO, R. Metabolically healthy obesity—Heterogeneity in definitions and unconventional factors. **Metabolites**, v. 10, n. 2, p. 1–29, 2020.
- BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Atenção à Saúde. **Guia Alimentar para a População Brasileira**. 2. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2014. 156p.
- BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Análise em Saúde e Vigilância de Doenças não Transmissíveis. **Vigitel Brasil 2018: Vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico: estimativas sobre frequência e distribuição sociodemográfica de fatores de risco e proteção para doenças crônicas nas capitais dos 26 estados brasileiros e no Distrito Federal**. 1. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2019. 132p.
- BRIAL, F. et al. Implication of gut microbiota metabolites in cardiovascular and metabolic diseases. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 75, n. 21, p. 3977–3990, 2018.
- BYRNE, C. S. et al. The role of short chain fatty acids in appetite regulation and energy homeostasis. **International Journal of Obesity**, v. 39, n. 9, p. 1331–1338, 2015.
- CALEYACHETTY, R. et al. Metabolically Healthy Obese and Incident Cardiovascular Disease Events Among 3.5 Million Men and Women. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 70, n. 12, p. 1429–1437, 2017.
- CALORI, G. et al. Prevalence, Metabolic features, and prognosis of metabolically healthy obese italian individuals: The cremona study. **Diabetes Care**, v. 34, n. 1, p. 210–215, 2011.
- CAMHI, S. M. et al. Lifestyle behaviors in metabolically healthy and unhealthy overweight and obese women: A preliminary study. **PLoS ONE**, v. 10, n. 9, p. 1–12, 2015.
- CANELLA, D. S. et al. Ultra-processed food products and obesity in Brazilian households (2008–2009). **PLoS ONE**, v. 9, n. 3, p. 1–6, 2014.

- CANELLA, D. S. et al. Consumption of vegetables and their relation with ultra-processed foods in Brazil. **Revista de Saude Publica**, v. 52, p. 1–11, 2018.
- CANFORA, E. E.; JOCKEN, J. W.; BLAAK, E. E. Short-chain fatty acids in control of body weight and insulin sensitivity. **Nature Reviews Endocrinology**, v. 11, n. 10, p. 577–591, 2015.
- CANI, P. D. et al. Metabolic Endotoxemia Initiates Obesity and Insulin Resistance. **Diabetes**, v. 56, n. July, p. 1761–1772, 2007.
- CANI, P. D. et al. Microbial regulation of organismal energy homeostasis. **Nature Metabolism**, v. 1, n. 1, p. 34–46, 2019.
- CAPORASO, J. G. et al. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. **Nature methods**, v. 7, n. 5, p. 335–336, 2010.
- CASTELLI, W. P.; ABBOTT, R. D.; MCNAMARA, P. M. Summary estimates of cholesterol used to predict coronary heart disease. **Circulation**, v. 67, n. 4, p. 730–734, 1983.
- CHAKRABORTI, C. K. New-found link between microbiota and obesity. **World Journal of Gastrointestinal Pathophysiology**, v. 6, n. 4, p. 110–119, 2015.
- CHASSAING, B.; GEWIRTZ, A. T. Has provoking microbiota aggression driven the obesity epidemic? **BioEssays**, v. 38, n. 2, p. 122–128, 2016.
- CHEN, X. et al. Alteration of the gut microbiota associated with childhood obesity by 16S rRNA gene sequencing. **PeerJ**, v. 2020, n. 1, p. 1–26, 2020.
- CHRISTENSEN, L. et al. Microbial enterotypes in personalized nutrition and obesity management. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 108, n. 4, p. 645–651, 2018.
- CHU, D. M. et al. The early infant gut microbiome varies in association with a maternal high-fat diet. **Genome Medicine**, v. 8, n. 1, p. 77, 2016a.
- CHU, D. M. et al. Impact of maternal nutrition in pregnancy and lactation on offspring gut microbial composition and function. **Gut Microbes**, v. 7, n. 6, p. 459–470, 2016b.
- CLARKE, S. F. et al. Exercise and associated dietary extremes impact on gut microbial diversity. **Gut**, v. 63, n. 12, p. 1913–1920, 2014.
- CONUS, F.; RABASA-LHORET, R.; PÉRONNET, F. Characteristics of metabolically obese normal-weight (MONW) subjects. **Applied Physiology, Nutrition and Metabolism**, v. 32, n. 1, p. 4–12, 2007.
- COTILLARD, A. et al. Dietary intervention impact on gut microbial gene richness. **Nature**, v. 500, n. 7464, p. 585–588, 2013.
- COX, A. J.; WEST, N. P.; CRIPPS, A. W. Obesity, inflammation, and the gut microbiota. **The Lancet Diabetes and Endocrinology**, v. 3, n. 3, p. 207–215, 2015.

- CUESTA-ZULUAGA, J. DE LA et al. Body size phenotypes comprehensively assess cardiometabolic risk and refine the association between obesity and gut microbiota. **International Journal of Obesity**, v. 42, n. 3, p. 424–432, 2018.
- DAO, M. C. et al. Akkermansia muciniphila and improved metabolic health during a dietary intervention in obesity: Relationship with gut microbiome richness and ecology. **Gut**, v. 65, n. 3, p. 426–436, 2016.
- DE BORBA, A. T. et al. The influence of active and passive smoking on the cardiorespiratory fitness of adults. **Multidisciplinary Respiratory Medicine**, v. 9, n. 1, p. 1–8, 2014.
- DE FILIPPO, C. et al. Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 107, n. 33, p. 14691–14696, 2010.
- DE WINTER, M. et al. Physical activity and sedentary patterns among metabolically healthy individuals living with obesity. **Journal of Diabetes Research**, v. 2018, p. 1–8, 2018.
- DESANTIS, T. Z. et al. Greengenes, a chimera-checked 16S rRNA gene database and workbench compatible with ARB. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 72, n. 7, p. 5069–5072, 2006.
- DING, C.; CHAN, Z.; MAGKOS, F. Lean, but not healthy: The “metabolically obese, normal-weight” phenotype. **Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care**, v. 19, n. 6, p. 408–417, 2016.
- DINIZ, M. DE F. H. S. et al. Factors associated with metabolically healthy status in obesity, overweight, and normal weight at baseline of ELSA-Brasil. **Medicine**, v. 95, n. 27, p. 1–9, 2016.
- DOBSON, R. et al. Metabolically healthy and unhealthy obesity: Differential effects on myocardial function according to metabolic syndrome, rather than obesity. **International Journal of Obesity**, v. 40, n. 1, p. 153–161, 2016.
- DOMINGUEZ-BELLO, M. G. et al. Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 107, n. 26, p. 11971–11975, 2010.
- DURBÁN, A. et al. Effect of Dietary Carbohydrate Restriction on an Obesity-Related Prevotella-Dominated Human Fecal Microbiota. **Metagenomics**, v. 2, p. 1–4, 2013.
- ECKEL, N. et al. Transition from metabolic healthy to unhealthy phenotypes and association with cardiovascular disease risk across BMI categories in 90 257 women (the Nurses’ Health Study): 30 year follow-up from a prospective cohort study. **The Lancet Diabetes and Endocrinology**, v. 6, n. 9, p. 714–724, 2018.
- EDGAR, R. C. et al. UCHIME improves sensitivity and speed of chimera detection. **Bioinformatics**, v. 27, n. 16, p. 2194–2200, 2011.

EDGAR, R. C. UPARSE: Highly accurate OTU sequences from microbial amplicon reads. **Nature Methods**, v. 10, n. 10, p. 996–998, 2013.

EFTEKHARZADEH, A. et al. Predictors of incident obesity phenotype in non-obese healthy adults. **European Journal of Clinical Investigation**, v. 47, n. 5, p. 357–365, 2017.

EREJUWA, O. O.; SULAIMAN, S. A.; AB WAHAB, M. S. Modulation of gut microbiota in the management of metabolic disorders: The prospects and challenges. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 15, n. 3, p. 4158–4188, 2014.

FENG, J. et al. The abundance of fecal *Faecalibacterium prausnitzii* in relation to obesity and gender in Chinese adults. **Archives of Microbiology**, v. 196, n. 1, p. 73–77, 2014.

FINUCANE, M. M. et al. A taxonomic signature of obesity in the microbiome? Getting to the guts of the matter. **PLoS ONE**, v. 9, n. 1, p. 1–5, 2014.

FOSSATI, P.; PRENCIPE, L. Serum triglycerides determined colorimetrically with an enzyme that produces hydrogen peroxide. **Clinical Chemistry**, v. 28, n. 10, p. 2077–2080, 1982.

FRANCISQUETI, F. V.; NASCIMENTO, A. F. DO; CORREA, C. R. Obesidade, inflamação e complicações metabólicas. **Nutrire**, v. 40, n. 1, p. 81–89, 2015.

FRANCULA-ZANINOVIC, S.; NOLA, I. A. Management of Measurable Variable Cardiovascular Disease' Risk Factors. **Current Cardiology Reviews**, v. 14, n. 3, p. 153–163, 2018.

FRIEDEWALD, W. T.; LEVY, R. I.; FREDRICKSON, D. S. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. **Clinical Chemistry**, v. 18, n. 6, p. 499–502, 1972.

FUNG, M. D. T. et al. Lifestyle and weight predictors of a healthy overweight profile over a 20-year follow-up. **Obesity**, v. 23, n. 6, p. 1320–1325, 2015.

GADDE, K. M. et al. Obesity: Pathophysiology and Management. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 71, n. 1, p. 69–84, 2018.

GAO, R. et al. Dysbiosis Signatures of Gut Microbiota Along the Sequence from Healthy, Young Patients to Those with Overweight and Obesity. **Obesity**, v. 26, n. 2, p. 351–361, 2018.

GAULKE, C. A.; SHARPTON, T. J. The influence of ethnicity and geography on human gut microbiome composition. **Nature Medicine**, 2018.

GIBSON, R. S. **Principles of Nutritional Assessment by Rosalind S. Gibson**. [s.l: s.n.]. v. 5

GODAY, A. et al. Prevalence and clinical characteristics of metabolically healthy obese individuals and other obese / non-obese metabolic phenotypes in a working population : results from the Icaria study. **BMC Public Health**, v. 16, p. 248–262, 2016.

GOODRICH, J. et al. Human genetics shape the gut microbiome . PubMed Commons. **Cell**, v.

159, n. 4, p. 789–799, 2014.

GORVITOVSKAIA, A.; HOLMES, S. P.; HUSE, S. M. Interpreting Prevotella and Bacteroides as biomarkers of diet and lifestyle. **Microbiome**, v. 4, n. 15, p. 1–12, 2016.

HAAS, B. J. et al. Chimeric 16S rRNA sequence formation and detection in Sanger and 454-pyrosequenced PCR amplicons. **Genome Research**, v. 21, n. 3, p. 494–504, 2011.

HANKINSON, A. L. et al. Diet composition and activity level of at risk and metabolically healthy obese American adults. **Obesity**, v. 21, n. 3, p. 637–643, 2013.

HANSEN, T. H. et al. The gut microbiome in cardio-metabolic health. **Genome Medicine**, v. 7, n. 33, p. 1–16, 2015.

HARRIS, K. et al. Is the gut microbiota a new factor contributing to obesity and its metabolic disorders? **Journal of Obesity**, v. 2012, n. 782920, p. 1–14, 2012.

HAUN, D. R.; PITANGA, F. J. G.; LESSA, I. Razão cintura/estatura comparado a outros indicadores antropométricos de obesidade como preditor de risco coronariano elevado. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 55, n. 6, p. 705–711, 2009.

HEIANZA, Y. et al. Gut microbiota metabolites and risk of major adverse cardiovascular disease events and death: A systematic review and meta-analysis of prospective studies. **Journal of the American Heart Association**, v. 6, n. 7, p. pii: e004947, 2017.

HEYMSFIELD, S. B.; WADDEN, T. A. Mechanisms, pathophysiology, and management of obesity. **New England Journal of Medicine**, v. 376, n. 3, p. 254–266, 2017.

HIDALGO-CANTABRANA, C. et al. Bifidobacteria and Their Health-Promoting Effects. **Microbiology Spectrum**, v. 5, n. 3, p. 1–19, 2017.

HJORTH, M. F. et al. Pre-treatment microbial Prevotella-to-Bacteroides ratio, determines body fat loss success during a 6-month randomized controlled diet intervention. **International Journal of Obesity**, v. 42, n. 3, p. 580–583, 2018.

HUTTENHOWER, C. et al. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. **Nature**, v. 486, n. 7402, p. 207–214, 2012.

HWANG, I. et al. Alteration of gut microbiota by vancomycin and bacitracin improves insulin resistance via glucagon-like peptide 1 in diet-induced obesity. **FASEB Journal**, v. 29, n. 6, p. 2397–2411, 2015a.

HWANG, Y. C. et al. Visceral abdominal fat accumulation predicts the conversion of metabolically healthy obese subjects to an unhealthy phenotype. **International Journal of Obesity**, v. 39, n. 9, p. 1365–1370, 2015b.

INSTITUTE OF MEDICINE. **Dietary reference intakes: The Essential Guide to Nutrient Requirements (2006)**. [s.l.: s.n.]. v. 55

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. **Pesquisa de Orçamentos Familiares 2017 - 2018 - Primeiros Resultados**. [s.l.: s.n.]. v. 46

JAMKA, M. et al. No Difference in Lactoferrin Levels between Metabolically Healthy and Unhealthy Obese Women. **Nutrients**, v. 11, n. 9, p. 1976–1987, 2019.

JANSSEN, A. W. F.; KERSTEN, S. The role of the gut microbiota in metabolic health. **FASEB Journal**, v. 29, n. 8, p. 3111–3123, 2015.

JARDIM, P. C. B. V. Overweight, the Cardiovascular Risk of the Century. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 113, n. 2, p. 185–187, 2019.

JUNG, T. H. et al. Butyrate modulates bacterial adherence on LS174T human colorectal cells by stimulating mucin secretion and MAPK signaling pathway. **Nutrition Research and Practice**, v. 9, n. 4, p. 343–349, 2015.

JURADO-FASOLI, L. et al. Dietary differences between metabolically healthy overweight-obese and metabolically unhealthy overweight-obese adults. **British Journal of Nutrition**, v. 122, n. 10, p. 113–119, 2019.

KANG, Y. M. et al. Visceral adiposity index predicts the conversion of metabolically healthy obesity to an unhealthy phenotype. **PLoS ONE**, v. 12, n. 6, p. 1–14, 2017.

KARLSSON, F. et al. Assessing the human gut microbiota in metabolic diseases. **Diabetes**, v. 62, n. 10, p. 3341–3349, 2013a.

KARLSSON, F. H. et al. Gut metagenome in European women with normal, impaired and diabetic glucose control. **Nature**, v. 498, n. 7452, p. 99–103, 2013b.

KASAI, C. et al. Comparison of the gut microbiota composition between obese and non-obese individuals in a Japanese population, as analyzed by terminal restriction fragment length polymorphism and next-generation sequencing. **BMC Gastroenterology**, v. 15, n. 1, p. 1–10, 2015.

KELLY, T. N. et al. Gut Microbiome Associates With Lifetime Cardiovascular Disease Risk Profile Among Bogalusa Heart Study Participants. **Circulation Research**, v. 119, n. 8, p. 956–964, 2017.

KIM, K. N.; YAO, Y.; JU, S. Y. Short chain fatty acids and fecal microbiota abundance in humans with obesity: A systematic review and meta-analysis. **Nutrients**, v. 11, n. 10, 2019.

KIMOKOTI, R. W. et al. Metabolically Healthy Obesity Is Not Associated with Food Intake in White or Black Men. **The Journal of Nutrition**, v. 145, n. 11, p. 2551–2561, 2015.

KOETH, R. A et al. NIH Public Access. **Nat med**, v. 19, n. 5, p. 576–585, 2013.

KOLIADA, A. et al. Association between body mass index and Firmicutes/Bacteroidetes ratio in an adult Ukrainian population. **BMC Microbiology**, v. 17, n. 1, p. 1–9, 2017.

- KOVATCHEVA-DATCHARY, P. et al. Dietary Fiber-Induced Improvement in Glucose Metabolism Is Associated with Increased Abundance of *Prevotella*. **Cell Metabolism**, v. 22, n. 6, p. 971–982, 2015.
- LANG, J. M.; EISEN, J. A.; ZIVKOVIC, A. M. The microbes we eat: abundance and taxonomy of microbes consumed in a day's worth of meals for three diet types. **PeerJ**, v. 2, n. e659, p. 2–39, 2014.
- LARSEN, J. M. The immune response to *Prevotella* bacteria in chronic inflammatory disease. **Immunology**, v. 151, n. 4, p. 363–374, 2017.
- LARSEN, N. et al. Gut microbiota in human adults with type 2 diabetes differs from non-diabetic adults. **PLoS ONE**, v. 5, n. 2, p. e9085, 2010.
- LE CHATELIER, E. et al. Richness of human gut microbiome correlates with metabolic markers. **Nature**, v. 500, n. 7464, p. 541–546, 2013.
- LENNON, R. P.; CLAUSSEN, K. A.; KUERSTEINER, K. A. State of the Heart: An Overview of the Disease Burden of Cardiovascular Disease from an Epidemiologic Perspective. **Primary Care - Clinics in Office Practice**, v. 45, n. 1, p. 1–15, 2018.
- LI, H. et al. Metabolically healthy obese phenotype and risk of cardiovascular disease: Results from the China Health and Retirement Longitudinal Study. **Archives of Gerontology and Geriatrics**, v. 82, n. 10, p. 1–7, 2019.
- LI, J. et al. Gut microbiota dysbiosis contributes to the development of hypertension. **Microbiome**, v. 5, n. 1, p. 1–19, 2017a.
- LI, X. S. et al. Gutmicrobiota-dependent trimethylamine N-oxide in acute coronary syndromes: A prognostic marker for incident cardiovascular events beyond traditional risk factors. **European Heart Journal**, v. 38, n. 11, p. 814–824, 2017b.
- LIU, H. et al. Butyrate: A double-edged sword for health? **Advances in Nutrition**, v. 9, n. 1, p. 21–29, 2018.
- LOBACH, A. R.; ROBERTS, A.; ROWLAND, I. R. Assessing the in vivo data on low/no-calorie sweeteners and the gut microbiota. **Food and Chemical Toxicology**, v. 124, p. 385–399, 2019.
- LOPEZ-LEGARREA, P. et al. The influence of Mediterranean, carbohydrate and high protein diets on gut microbiota composition in the treatment of obesity and associated inflammatory state. **Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition**, v. 23, n. 3, p. 360–368, 2014.
- LOUIS, S. et al. Characterization of the gut microbial community of obese patients following a weight-loss intervention using whole metagenome shotgun sequencing. **PLoS ONE**, v. 11, n. 2, p. 1–18, 2016.
- LOUZADA, M. L. DA C. et al. Alimentos ultraprocessados e perfil nutricional da dieta no Brasil Ultra-processed foods and the nutritional dietary profile in Brazil. **Rev Saúde Pública**, v. 49, n.

38, p. 1–11, 2015a.

LOUZADA, M. L. DA C. et al. Impact of ultra-processed foods on micronutrient content in the Brazilian diet. **Revista de Saude Publica**, v. 49, 2015b.

LOZUPONE, C. A. et al. Diversity, stability and resilience of the human gut microbiota. **Nature**, v. 489, n. 7415, p. 220–230, 2012.

MAGKOS, F. Metabolically healthy obesity: What's in a name? **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 110, n. 3, p. 533–537, 2019.

MAGNE, F. et al. The firmicutes/bacteroidetes ratio: A relevant marker of gut dysbiosis in obese patients? **Nutrients**, v. 12, n. 5, p. 1474–1491, 2020.

MAGOČ, T.; SALZBERG, S. L. FLASH: Fast length adjustment of short reads to improve genome assemblies. **Bioinformatics**, v. 27, n. 21, p. 2957–2963, 2011.

MALTA, D. C. et al. Mortality due to noncommunicable diseases in Brazil, 1990 to 2015, according to estimates from the Global Burden of Disease study. **Sao Paulo Medical Journal**, v. 135, n. 3, p. 213–221, 2017.

MANSUR, A. DE P.; FAVARATO, D. Trends in Mortality Rate from Cardiovascular Disease in Brazil, 1980-2012. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 107, n. 1, p. 20–25, 2016a.

MANSUR, A. DE P.; FAVARATO, D. Mortality due to cardiovascular diseases in women and men in the five Brazilian regions, 1980-2012. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 107, n. 2, p. 137–146, 2016b.

MARINHO, F.; PASSOS, V. M. DE A.; FRANÇA, E. B. Novo século, novos desafios: mudança no perfil da carga de doença no Brasil de 1990 a 2010. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 25, n. 4, p. 713–724, 2016.

MARTINEZ-GOMEZ, D. et al. Physical Activity and Risk of Metabolic Phenotypes of Obesity: A Prospective Taiwanese Cohort Study in More Than 200,000 Adults. **Mayo Clinic Proceedings**, v. 94, n. 11, p. 2209–2219, 2019.

MARTINEZ, K. B.; LEONE, V.; CHANG, E. B. Western diets, gut dysbiosis, and metabolic diseases: Are they linked? **Gut Microbes**, v. 8, n. 2, p. 130–142, 2017.

MARTINS, A. P. B. et al. Increased contribution of ultra-processed food products in the Brazilian diet (1987-2009). **Revista de Saude Publica**, v. 47, n. 4, p. 656–665, 2013.

MARVASTI, F. E. et al. The first report of differences in gut microbiota composition between obese and normal weight iranian subjects. **Iranian Biomedical Journal**, v. 24, n. 3, p. 148–154, 2020.

MATSUDO, S. et al. Questionario internacional de atividade fisica (IPAQ): estudo de validade e reprodutibilidade no brasil. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 6, n. 2, p. 6–18,

2001.

MATTA, J. et al. Metabolically healthy overweight and obesity is associated with higher adherence to a traditional dietary pattern: A cross-sectional study among adults in Lebanon. **Nutrients**, v. 8, n. 7, p. 1–11, 2016.

MENNI, C. et al. Gut microbiome diversity and high-fibre intake are related to lower long-term weight gain. **International Journal of Obesity**, v. 41, n. 7, p. 1099–1105, 2017.

MOHAMMED, M. S. et al. Systems and WBANs for controlling obesity. **Journal of Healthcare Engineering**, v. 2018, p. 1–21, 2018.

MONTEIRO, C. A. et al. Nasce a estrela NOVA. **World Nutrition**, v. 7, n. 7, p. 1–3, 2016.

MONTEIRO, C. A. et al. The un Decade of Nutrition, the NOVA food classification and the trouble with ultra-processing. **Public Health Nutrition**, v. 21, n. 1, p. 5–17, 2017.

MORAES, A. C. F. DE et al. Microbiota intestinal e risco cardiometabólico: mecanismos e modulação dietética. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 58, n. 4, p. 317–327, 2014.

MORAN-RAMOS, S.; LÓPEZ-CONTRERAS, B. E.; CANIZALES-QUINTEROS, S. Gut Microbiota in Obesity and Metabolic Abnormalities: A Matter of Composition or Functionality? **Archives of Medical Research**, v. 48, n. 8, p. 735–753, 2017.

MOREIRA, P. V. L. et al. Effects of reducing processed culinary ingredients and ultra-processed foods in the Brazilian diet: A cardiovascular modelling study. **Public Health Nutrition**, v. 21, n. 1, p. 181–188, 2018.

MORENO-INDIAS, I. et al. Impact of the gut microbiota on the development of obesity and type 2 diabetes mellitus. **Gut microbiota and obesity**, v. 5, n. APR, p. 1–10, 2014.

MORENO-INDIAS, I. et al. Insulin resistance is associated with specific gut microbiota in appendix samples from morbidly obese patients. **American Journal of Translational Research**, v. 8, n. 12, p. 5672–5684, 2016.

MORENO-NAVARRETE, J. M. et al. Gut microbiota interacts with markers of adipose tissue browning, insulin action and plasma acetate in morbid obesity. **Mol Nutr Food Res**, v. 62, n. 3, p. 1–30, 2018.

MORRISON, D. J.; PRESTON, T. Formation of short chain fatty acids by the gut microbiota and their impact on human metabolism. **Gut Microbes**, v. 7, n. 3, p. 189–200, 2016.

NIEMELÄ, M. et al. Intensity and temporal patterns of physical activity and cardiovascular disease risk in midlife. **Preventive Medicine**, v. 124, n. March, p. 33–41, 2019.

ODAMAKI, T. et al. Age-related changes in gut microbiota composition from newborn to centenarian: A cross-sectional study. **BMC Microbiology**, v. 16, n. 1, p. 1–12, 2016.

ORGANIZAÇÃO PANAMERICANA DE SAÚDE. **Ultra-processed food and drink products in Latin America: Trends, impact on obesity, policy implications** Organization, Pan American Health, 2015. Disponível em:

<http://iris.paho.org/xmlui/bitstream/handle/123456789/7699/9789275118641_eng.pdf>

ORG, E. et al. Relationships between gut microbiota, plasma metabolites, and metabolic syndrome traits in the METSIM cohort. **Genome Biology**, v. 18, n. 1, p. 1–14, 2017.

ORTEGA, F. B. et al. The intriguing metabolically healthy but obese phenotype: Cardiovascular prognosis and role of fitness. **European Heart Journal**, v. 34, n. 5, p. 389–397, 2013.

ORTEGA, F. B. et al. Role of Physical Activity and Fitness in the Characterization and Prognosis of the Metabolically Healthy Obesity Phenotype: A Systematic Review and Meta-analysis. **Progress in Cardiovascular Diseases**, v. 61, n. 2, p. 190–205, 2018.

ORTEGA, F. B.; LAVIE, C. J.; BLAIR, S. N. Obesity and cardiovascular disease. **Circulation Research**, v. 118, n. 11, p. 1752–1770, 2016.

PENG, J. et al. Interaction between gut microbiome and cardiovascular disease. **Life Sciences**, v. 214, p. 153–157, 2018.

PEREIRA, D. L. M. et al. Dietary patterns and metabolic phenotypes in Brazilian adults: A population-based cross-sectional study. **Public Health Nutrition**, v. 22, n. 18, p. 3377–3383, 2019.

PETERS, B. A. et al. A taxonomic signature of obesity in a large study of American adults. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 1–13, 2018.

PIMENTEL, A. DE C. et al. Characterization of metabolically healthy obese Brazilians and cardiovascular risk prediction. **Nutrition**, v. 31, n. 6, p. 827–833, 2015.

PORTUNE, K. J. et al. Gut microbiota role in dietary protein metabolism and health-related outcomes: The two sides of the coin. **Trends in Food Science and Technology**, v. 57, p. 213–232, 2016.

PRECUP, G.; VODNAR, D. C. Gut Prevotella as a possible biomarker of diet and its eubiotic versus dysbiotic roles: A comprehensive literature review. **British Journal of Nutrition**, v. 122, n. 2, p. 131–140, 2019.

PRIMEAU, V. et al. Characterizing the profile of obese patients who are metabolically healthy. **International Journal of Obesity**, v. 35, n. 7, p. 971–81, 2010.

RADZIUK, J. Homeostatic model assessment and insulin sensitivity/resistance. **Diabetes**, v. 63, n. 6, p. 1850–1854, 2014.

RAYMOND, F. et al. The initial state of the human gut microbiome determines its reshaping by antibiotics. **The ISME Journal**, v. 10, n. 3, p. 707–720, 2016.

- REYES, L. M. et al. Correlation between diet and gut bacteria in a population of young adults. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 67, n. 4, p. 470–478, 2016.
- RIBEIRO, A. L. P. et al. Cardiovascular Health in Brazil Trends and Perspectives. **Circulation**, v. 133, n. 4, p. 422–433, 2016.
- ROBERSON, L. L. et al. Beyond BMI: The “Metabolically healthy obese” phenotype & its association with clinical/ subclinical cardiovascular disease and all-cause mortality – a systematic review. **BMC Public Health**, v. 14, p. 1471–2458, 2014.
- RODRÍGUEZ, J. M. et al. The composition of the gut microbiota throughout life, with an emphasis on early life. **Microbial Ecology in Health & Disease**, v. 26, n. 0, p. 1–17, 2015.
- ROTH, G. A. et al. Global, Regional, and National Burden of Cardiovascular Diseases for 10 Causes, 1990 to 2015. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 70, n. 1, p. 1–25, 2017.
- SAAD, M. J. A.; SANTOS, A.; PRADA, P. O. Linking gut microbiota and inflammation to obesity and insulin resistance. **Physiology**, v. 31, n. 4, p. 283–293, 2016.
- SAMPAIO, L. R. **Avaliação Nutricional**. Salvador: [s.n.].
- SCHEITHAUER, T. P. M. et al. Causality of small and large intestinal microbiota in weight regulation and insulin resistance. **Molecular Metabolism**, v. 5, n. 9, p. 759–770, 2016.
- SCHWIERTZ, A. et al. Microbiota and SCFA in lean and overweight healthy subjects. **Obesity**, v. 18, n. 1, p. 190–195, 2010.
- SCORSATTO, M. et al. Is it possible to easily identify metabolically healthy obese women? **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 111, n. 5, p. 733–737, 2018.
- SEO, M. H.; RHEE, E. J. Metabolic and cardiovascular implications of a metabolically healthy obesity phenotype. **Endocrinology and Metabolism**, v. 29, n. 4, p. 427–434, 2014.
- SHEFLIN, A. M. et al. Linking dietary patterns with gut microbial composition and function. **Gut Microbes**, v. 8, n. 2, p. 113–129, 2017.
- SHEN, J.; OBIN, M. S.; ZHAO, L. The gut microbiota, obesity and insulin resistance. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 34, n. 1, p. 39–58, 2013.
- SILVA-JUNIOR, V. L. DA et al. Obesity and gut microbiota - what do we know so far? **Medical Express**, v. 4, n. 4, p. 1–11, 2017.
- SILVA, B. E. C. DA et al. Perfil de indivíduos com excesso de peso metabolicamente saudáveis e metabolicamente não saudáveis. **HU Revista**, v. 43, n. 4, p. 317–323, 2017.
- SINGH, R. K. et al. Influence of diet on the gut microbiome and implications for human health. **Journal of Translational Medicine**, v. 15, n. 1, p. 1–17, 2017.

SIQUEIRA, A. DE S. E.; SIQUEIRA-FILHO, A. G. DE; LAND, M. G. P. Analysis of the Economic Impact of Cardiovascular Diseases in the Last Five Years in Brazil. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 109, n. 1, p. 39–46, 2017.

SLAGTER, S. N. et al. Dietary patterns and physical activity in the metabolically (un)healthy obese: The Dutch Lifelines cohort study. **Nutrition Journal**, v. 17, n. 1, p. 1–14, 2018.

SOARES, G. P. et al. Evolution of Cardiovascular Diseases Mortality in the Counties of the State of Rio de Janeiro from 1979 to 2010. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 104, n. 5, p. 356–365, 2015.

SOARES, G. P. et al. Progression of Mortality due to Diseases of the Circulatory System and Human Development Index in Rio de Janeiro Municipalities. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, p. 314–322, 2016.

SOARES, G. P. et al. Evolução da Mortalidade por Doenças do Aparelho Circulatório e do Produto Interno Bruto per Capita nos Municípios do Estado do Rio de Janeiro. **International Journal of Cardiovascular Sciences**, v. 31, n. 2, p. 123–132, 2018.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA. 7ª Diretriz Brasileira De Hipertensão Arterial. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 107, n. 3, p. 1–92, 2016.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA. Atualização da Diretriz de Prevenção Cardiovascular da Sociedade Brasileira de Cardiologia – 2019. **Arquivos brasileiros de cardiologia**, v. 110, n. 4, p. 1–105, 2019.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES. **DIRETRIZES DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES 2017-2018**. São Paulo: Editora Clannad, 2017.

SONNENBURG, E. D. et al. Diet-induced extinctions in the gut microbiota compound over generations. **Nature**, v. 529, n. 7585, p. 212–215, 2016.

SONNENBURG, J. L.; BÄCKHED, F. Diet-microbiota interactions as moderators of human metabolism. **Nature**, v. 535, n. 7610, p. 56–64, 2016.

STEVENS, B. et al. The economic burden of heart conditions in Brazil. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 111, n. 1, p. 29–36, 2018.

TABARA, Y. et al. The causal effects of alcohol on lipoprotein subfraction and triglyceride levels using a Mendelian randomization analysis: The Nagahama study. **Atherosclerosis**, v. 257, p. 22–28, 2017.

TANG, W. H. W. et al. Intestinal Microbial Metabolism of Phosphatidylcholine and Cardiovascular Risk. **New England Journal of Medicine**, v. 368, n. 17, p. 1575–1584, 2013.

TEIXEIRA, T. F. S. et al. Main characteristics of metabolically obese normal weight and metabolically healthy obese phenotypes. **Nutrition Reviews**, v. 73, n. 3, p. 175–190, 2015.

THINGHOLM, L. B. et al. Obese Individuals with and without Type 2 Diabetes Show Different Gut Microbial Functional Capacity and Composition. **Cell Host and Microbe**, v. 26, n. 2, p. 252-264.e10, 2019.

TRINDER, P. Determination of blood glucose using an oxidase-peroxidase system with a non-carcinogenic chromogen. **Journal of Clinical Pathology**, v. 22, n. 2, p. 158–161, 1969.

TRØSEID, M. et al. Microbiota-dependent metabolite trimethylamine-N-oxide is associated with disease severity and survival of patients with chronic heart failure. **Journal of Internal Medicine**, v. 277, n. 6, p. 717–726, 2015.

TURNBAUGH, P. J. et al. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. **Nature**, v. 444, n. 7122, p. 1027–1031, 2006.

TURNBAUGH, P. J. et al. A core gut microbiome between lean and obesity twins. **Nature**, v. 457, n. 7228, p. 480–484, 2009.

UPADHYAY, J. et al. Obesity as a Disease. **Medical Clinics of North America**, v. 102, n. 1, p. 13–33, 2018.

VITAL, M.; KARCH, A.; PIEPERA, D. H. Colonic Butyrate-Producing Communities in Humans: an Overview Using Omics Data. **mSystems**, v. 2, n. 6, p. 1–18, 2017.

VRIEZE, A. et al. Transfer of intestinal microbiota from lean donors increases insulin sensitivity in individuals with metabolic syndrome. **Gastroenterology**, v. 143, n. 4, p. 913- 916.e7, 2012.

WAN, Y. et al. Effects of dietary fat on gut microbiota and faecal metabolites, and their relationship with cardiometabolic risk factors: a 6-month randomised controlled-feeding trial. **Gut**, v. 0, p. 1–13, 2019.

WANG, B. et al. Prevalence of Metabolically Healthy Obese and Metabolically Obese but Normal Weight in Adults Worldwide: A Meta-Analysis. **Hormone and Metabolic Research**, v. 47, n. 11, p. 839–845, 2015.

WANG, Z. et al. Gut flora metabolism of phosphatidylcholine promotes cardiovascular disease. **Nature**, v. 472, n. 7341, p. 57–63, 2011.

WARNICK, G. R.; NAUCK, M.; RIFAI, N. Evolution of methods for measurement of HDL-cholesterol: From ultracentrifugation to homogeneous assays. **Clinical Chemistry**, v. 47, n. 9, p. 1579–1596, 2001.

WARRIER, M. et al. The TMAO Generating Enzyme Flavin Monooxygenase 3 is a Central Regulator of Cholesterol Balance. **Cell Rep**, v. 10, n. 3, p. 326–338, 2015.

World Health Organization (WHO). Physical status: the use and interpretation of anthropometry. Report of a WHO Expert Committee. Geneva: World Health Organization. Technical Report Series, 894. 1995.

World Health Organization (WHO). Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation. Geneva:World Health Organization. Technical Report Series, 894, 2000.

World Health Organization (WHO). Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases. Report of the joint WHO/FAO expert Consultation. Geneva:World Health Organization, 2003, 150p.

World Health Organization (WHO). Global status report on noncommunicable diseases 2014. World Health Organization, p. 176, 2014b.

World Health Organization (WHO). Healthy diet fact sheet number 394. WHO, 2015a.

World Health Organization (WHO). Information note about intake of sugars recommended in the WHO guideline for adults and children. Geneva: World Health Organization, 2015b.

World Health Organization (WHO). Cardiovascular Diseases [Internet]. Disponível em: <[http://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-\(cvds\)](http://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-(cvds))>. Acesso em: 4 jan. 2020.

World Health Organization (WHO). NONCOMMUNICABLE DISEASES COUNTRY PROFILES 2018. Geneva: World Health Organization, 2018.

WILDMAN, R. P. The Obese Without Cardiometabolic Risk Factor Clustering and the Normal Weight With Cardiometabolic Risk Factor Clustering. **Archives of Internal Medicine**, v. 168, n. 15, p. 1617–1624, 2008.

WOTING, A.; BLAUT, M. The intestinal microbiota in metabolic disease. **Nutrients**, v. 8, n. 4, p. 202, 2016.

WU, G. D. et al. Linking Long-Term Dietary Patterns with. **Science (New York, N.Y.)**, v. 334, n. October, p. 105–109, 2011.

YAMASHITA, T. et al. Analysis of Gut Microbiota in Coronary Artery Disease Patients: a Possible Link between Gut Microbiota and Coronary Artery Disease. **journal of atherosclerosis and thrombosis**, v. 23, n. 8, p. 908–921, 2016.

YATSUNENKO, T. et al. Human gut microbiome viewed across age and geography. **Nature**, v. 486, n. 7402, p. 222–227, 2012.

ZINÖCKER, M. K.; LINDSETH, I. A. The western diet–microbiome–host interaction and its role in metabolic disease. **Nutrients**, v. 10, n. 3, p. 1–15, 2018.

ANEXOS

ANEXO A - APROVAÇÃO DO CEP

UFRJ - HOSPITAL
UNIVERSITÁRIO CLEMENTINO
FRAGA FILHO DA



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: ASSOCIAÇÃO ENTRE A MICROBIOTA INTESTINAL, PERFIS LIPÍDICO E GLICÍDICO DE INDIVÍDUOS COM CONSUMO HABITUAL DE ADOÇANTES ARTIFICIAIS, PRODUTOS DIETÉTICOS E DIFERENTES PADRÕES ALIMENTARES

Pesquisador: BIANCA DA SILVA OLIVEIRA

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 89033118.1.0000.5257

Instituição Proponente: Instituto do Coração Edson Saad/UFRJ

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.682.506

Apresentação do Projeto:

Protocolo 129-18, do grupo III, recebido em 05/05/2018.

As informações colocadas nos campos denominados "Apresentação do Projeto", "Objetivo da Pesquisa" e "Avaliação dos Riscos e Benefícios" foram retiradas do documento intitulado "PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1121210.pdf" (submetido na Plataforma Brasil em 05/05/2018).

LISTA DE PROJETOS DE PESQUISA:

07/07/2018

Tipo	CAAE	Versão	Pesquisador Responsável	Comitê de Ética	Instituição	Origem	Última Apreciação	Situação	Ação
P	89033118.1.0000.5257	2	BIANCA DA SILVA OLIVEIRA	5257 - UFRJ - Hospital Universitário Clementino Fraga Filho da Universidade Federal do Rio de Janeiro / HUCFF- UFRJ		PO	PO	Aprovado	

ANEXO B - QUESTIONÁRIO INTERNACIONAL DE ATIVIDADE FÍSICA – VERSÃO
CURTA

Nome: _____

Data: ____/____/____ Idade: _____ Sexo: F () M ()

Nós estamos interessados em saber que tipos de atividade física as pessoas fazem como parte do seu dia a dia. Este projeto faz parte de um grande estudo que está sendo feito em diferentes países ao redor do mundo. Suas respostas nos ajudarão a entender que tão ativos nós somos em relação a pessoas de outros países. As perguntas estão relacionadas ao tempo que você gasta fazendo atividade física na ÚLTIMA semana. As perguntas incluem as atividades que você faz no trabalho, para ir de um lugar a outro, por lazer, por esporte, por exercício ou como parte das suas atividades em casa ou no jardim. Suas respostas são MUITO importantes. Por favor, responda cada questão mesmo que considere que não seja ativo. Obrigado pela sua participação!

Para responder as questões lembre-se que:

- atividades físicas VIGOROSAS são aquelas que precisam de um grande esforço físico e que fazem respirar MUITO mais forte que o normal.
- atividades físicas MODERADAS são aquelas que precisam de algum esforço físico e que fazem respirar UM POUCO mais forte que o normal.

Para responder as perguntas pense somente nas atividades que você realiza por pelo menos 10 minutos contínuos de cada vez.

1a. Em quantos dias da última semana você CAMINHOU por pelo menos 10 minutos contínuos em casa ou no trabalho, como forma de transporte para ir de um lugar para outro, por lazer, por prazer ou como forma de exercício?
dias ____ por SEMANA () Nenhum

1b. Nos dias em que você caminhou por pelo menos 10 minutos contínuos quanto tempo no total você gastou caminhando por dia? horas: _____ Minutos: _____

2a. Em quantos dias da última semana, você realizou atividades MODERADAS por pelo menos 10 minutos contínuos, como por exemplo, pedalar leve na bicicleta, nadar, dançar, fazer ginástica aeróbica leve, jogar vôlei recreativo, carregar pesos leves, fazer serviços domésticos na casa, no quintal ou no jardim como varrer, aspirar, cuidar do jardim, ou qualquer atividade que fez aumentar moderadamente sua respiração ou batimentos do coração (POR FAVOR NÃO INCLUA CAMINHADA).
dias ____ por SEMANA () Nenhum

2b. Nos dias em que você fez essas atividades moderadas por pelo menos 10 minutos contínuos, quanto tempo no total você gastou fazendo essas atividades por dia?
horas: _____ Minutos: _____

3a. Em quantos dias da última semana, você realizou atividades VIGOROSAS por pelo menos 10 minutos contínuos, como por exemplo correr, fazer ginástica, aeróbica, jogar futebol, pedalar rápido na bicicleta, jogar basquete, fazer serviços domésticos pesados em casa, no quintal ou cavoucar no jardim, carregar pesos elevados ou qualquer atividade que fez aumentar MUITO sua respiração ou batimentos do coração. dias _____ por SEMANA () Nenhum

3b. Nos dias em que você fez essas atividades vigorosas por pelo menos 10 minutos contínuos quanto tempo no total você gastou fazendo essas atividades por dia?
horas: _____ Minutos: _____

Estas últimas questões são sobre o tempo que você permanece sentado todo dia, no trabalho, na escola ou faculdade, em casa e durante seu tempo livre. Isto inclui o tempo sentado estudando, sentado enquanto descansa, fazendo lição de casa visitando um amigo, lendo, sentado ou deitado assistindo TV. Não inclua o tempo gasto sentado durante o transporte em ônibus, trem, metrô ou carro.

4a. Quanto tempo no total você gasta sentado durante um dia de semana?
horas: _____ Minutos: _____

4b. Quanto tempo no total você gasta sentado durante em um dia de final de semana?
horas: _____ Minutos: _____

CENTRO COORDENADOR DO IPAQ NO BRASIL– CELAFISCS - INFORMAÇÕES
ANÁLISE, CLASSIFICAÇÃO E COMPARAÇÃO DE RESULTADOS NO BRASIL
Tel-Fax: – 011-42298980 ou 42299643. E-mail: celafiscs@celafiscs.com.br
Home Page: www.celafiscs.com.br IPAQ Internacional: www.ipaq.ki.se

ANEXO C - REGISTRO ALIMENTAR DE 3 DIAS

Nome: _____ Código: _____
 Data: ____/____/____ Dia da semana: _____ Foi um dia: () típico () atípico
 Acorda: _____ h Dorme: _____ h

DESJEJUM	COLAÇÃO	ALMOÇO
LANCHE	JANTAR	CEIA

Observação: Devem ser anotados os tipos de preparações, ingredientes e as quantidades em medidas caseiras.

ANEXO D - PROTOCOLO DE BIOIMPEDÂNCIA

Protocolo para o uso do aparelho de bioimpedância Biodynamics Modelo 310e e 450

Atenção O aparelho **não deve** ser usado nas seguintes pessoas: portadores de marcapasso e gestantes.

Orientações que deverão ser repassadas ao avaliado para a análise da composição corporal (Heyward & Stolarczyk, 2000)

- Não comer ou beber a menos de 4 horas do teste;
- Não fazer exercícios a menos de 12 horas do teste;
- Urinar a menos de 30 minutos do teste;
- Não consumir álcool a menos de 48 horas do teste;
- Não tomar medicamentos diuréticos a menos de 7 dias do teste;
- Mulheres, durante o estágio de seu ciclo menstrual, não devem realizar o teste.

Orientações que deverão ser repassadas ao avaliado para a análise da composição corporal (segundo instruções do equipamento)

- Não consumir álcool e cafeína (chá preto, chá e chocolate) 24 horas antes do teste;
- Não realizar atividade física intensa 4 horas antes do teste;
- Não comer ou beber 4 horas antes do teste.
- Suspender medição diurética 24 horas antes do teste, exceto no caso de indivíduos hipertensos que devem estar sob rigoroso controle médico.

ANEXO E - COMPROVANTE DE SUBMISSÃO DO ARTIGO

05/08/2020

Gmail - Track your recent Co-Authored submission to NUT



Priscila Olivares <priscilalolivares@gmail.com>

Track your recent Co-Authored submission to NUT

eesserver@eesmail.elsevier.com <eesserver@eesmail.elsevier.com>

30 de julho de 2020 19:48

Responder a: nutrition@elsevier.com

Para: priscilalolivares@gmail.com

*** Automated email sent by the system ***

Dear Dr. Priscila Gomes Olivares,

You have been listed as a Co-Author of the following submission:

Journal: Nutrition

Title: GUT MICROBIOTA OF ADULTS WITH DIFFERENT METABOLIC PHENOTYPES

Corresponding Author: glaucia oliveira

Co-Authors: Priscila S Gomes Olivares, MsC; Ana Beatriz F Pacheco, PhD; Luciana N Aranha; Bianca S Oliveira, MsC; Allan A Santos, MsC; Paula Cristina M Santos, undergraduate; José F Nogueira Neto, PhD; Glorimar Rosa, PhD;

To be kept informed of the status of your submission, register or log in (if you already have an Elsevier profile).

Register here: [https://ees.elsevier.com/nut/default.asp?acw=&pg=preRegistration.asp&user=coauthor&fname=Priscila&lname=Gomes Olivares&email=priscilalolivares@gmail.com](https://ees.elsevier.com/nut/default.asp?acw=&pg=preRegistration.asp&user=coauthor&fname=Priscila&lname=Gomes%20Olivares&email=priscilalolivares@gmail.com)Or log in: <https://ees.elsevier.com/nut/default.asp?acw=&pg=login.asp&email=priscilalolivares@gmail.com>If you did not co-author this submission, please do not follow the above link but instead contact the Corresponding Author of this submission at glauciamoraesoliveira@gmail.com; glauciam@cardiol.br.

Thank you,

Nutrition

ANEXO F - CARTA ACEITE PARA TEMA LIVRE NO 37º CONGRESSO DE CARDIOLOGIA DA SOCERJ

Carta aceite Temas Livres 37º Congresso de Cardiologia da Socerj

SOCERJ <congressocardiologia@socerj.org.br>
Para: priscilalolivares@gmail.com

11 de julho de 2020 12:28



Rio de Janeiro, 11 de julho de 2020

Prezado(a)

A Sociedade de Cardiologia do Estado do Rio de Janeiro (**SOCERJ**) tem a honra de informar que seu Tema Livre - ID **57145** - título **Prevalência e características clínicas de fenótipos metabólicos em adultos**, foi **APROVADO** na Jornada de **Nutrição** pela Comissão Julgadora de Temas Livres do **37º CONGRESSO DE CARDIOLOGIA DA SOCERJ**.

Por conta do estado de Emergência de Saúde Pública de Importância Nacional e Internacional, declarados pelo Ministério da Saúde e pela Organização Mundial da Saúde, fomos obrigados a adiar nosso evento para 16 a 19 de setembro, conforme previamente comunicado. Face aos riscos reais e potenciais da pandemia em curso, a Diretoria, após ter ouvido a Comissão Executiva e o Conselho Consultivo, deliberou em transformar nosso **37º Congresso de Cardiologia da SOCERJ num evento virtual**. Estamos programando um evento excepcional, que acontecerá nas noites de quarta (16 de setembro), quinta (17), sexta (18) e na manhã de sábado (19). Faremos o possível para transpor as atividades tradicionais do congresso presencial para o virtual. Teremos atividades da grade, cursos, simpósios satélites, temas livres, stands e interatividade.

Informações importantes:

APÊNDICES

APÊNDICE A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO



Universidade Federal do Rio de Janeiro
Faculdade de Medicina
Programa de Pós-Graduação em Medicina-Cardiologia

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Associação do consumo habitual de adoçantes artificiais e produtos dietéticos com alterações na microbiota intestinal e fatores de risco cardiovasculares

Versão 2017

O Sr. (a) está convidado a participar de um estudo que tem por objetivo verificar se existe alguma associação do consumo de adoçantes artificiais com fatores de risco para doença cardiovascular, como por exemplo, a elevação dos níveis de açúcar e gordura no sangue. A segurança e real efeito dos adoçantes artificiais no organismo há muito tempo vem sendo discutida. Acredita-se que os adoçantes, apesar de não serem digeridos por completo, sejam capazes de modificar o tipo de bactérias que residem no intestino, provocando alterações no organismo, que poderiam influenciar no desenvolvimento de certas doenças.

Este estudo está sendo realizado pela Professora Dr^a Glorimar Rosa do Instituto de Nutrição da UFRJ, pela Professora Dr^a Glaucia Maria Moraes de Oliveira da Faculdade de Medicina e pela nutricionista Priscila dos Santos Gomes Olivares, candidata ao mestrado do Programa de Pós-Graduação em Medicina-Cardiologia da UFRJ. Os resultados desse estudo irão auxiliar no esclarecimento dos efeitos dos adoçantes artificiais no nosso organismo e orientar no tratamento nutricional da Obesidade e das doenças cardiovasculares;

Para realizar este estudo faremos uma análise das bactérias do seu intestino (microbiota intestinal), através da coleta de uma amostra pequena de fezes. As fezes deverão ser entregues em saco plástico com fecho hemético, que será previamente fornecido pela responsável pela pesquisa. Também pediremos para o Sr. (a) responder alguns questionários contendo perguntas para obtenção de informações gerais (nome, sexo, idade, escolaridade, endereço, telefone de contato, história familiar de doenças, uso de medicamentos etc.), perguntas sobre sua alimentação e seu estilo de vida. Além disso, avaliaremos sua pressão arterial, peso, estatura, circunferência da cintura, circunferência do quadril, circunferência do pescoço. Coletaremos 5 tubos de sangue (4 mL ou 1 colher de sobremesa cada), após jejum de 12 horas. As amostras de sangue serão armazenadas temporariamente no Laboratório do Centro de Pesquisa e Extensão em Nutrição Clínica do Hospital Universitário Clementino Fraga Filho/HUCFF/UFRJ para avaliar os exames de sangue, como a glicose, colesterol, triglicerídeos, LDL-colesterol, HDL-colesterol, insulina.

Todas as amostras de sangue e fezes coletadas durante esta pesquisa, conforme descrito acima, serão utilizadas apenas para os propósitos descritos neste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Ao final da pesquisa ou depois que todos os resultados dos exames ficarem prontos, se tiver sobrado alguma quantidade de sangue, estas amostras serão destruídas. O laboratório não irá guardar suas amostras biológicas.

O sangue será coletado na veia de seu antebraço, por profissional capacitado, seguindo todas as normas de segurança, utilizando material descartável. O Sr. (a) não sofrerá nenhum risco ao participar do estudo. Os desconfortos são aqueles associados à coleta de sangue, dor e hematomas no local da punção.

A participação neste estudo não contempla recompensa de qualquer natureza. O Sr. (a) não pagará pelo exame de sangue, análise das fezes e pelas outras avaliações. Após a coleta de sangue, o Sr. (a) receberá um lanche, garantindo suas despesas decorrentes com a alimentação

É garantida a liberdade de se recusar a participar ou retirar o seu consentimento, em qualquer etapa da pesquisa, sem penalização alguma. Garantimos sigilo absoluto quanto aos dados pessoais coletados e resultados obtidos. Após o término da pesquisa, as informações serão transcritas dos questionários para arquivos no computador e mantidos em local reservado. Todos os resultados de exames realizados serão fornecidos ao participante da pesquisa no final do estudo. Os resultados serão divulgados no meio científico e na instituição onde os dados foram obtidos e os participantes terão acesso a estes, após a conclusão das análises.

Em qualquer etapa do estudo, você terá acesso ao profissional responsável que poderá ser encontrado através do telefone: (21) 994681786 (Priscila dos Santos Gomes Olivares). Se você tiver alguma dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do Hospital Universitário Clementino Fraga Filho/HUCFF/UFRJ – R. Prof. Rodolpho Paulo Rocco, n.º 255 – Cidade Universitária/Ilha do Fundão – sala 01D-46/1º andar – pelo telefone 3938-2480, de segunda a sexta-feira, das 8 às 16 horas, ou através do e-mail: cep@hucff.ufrj.br. O Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) é o órgão que tem como objetivo defender os interesses dos participantes da pesquisa no Brasil, além de contribuir no desenvolvimento da pesquisa de padrões éticos.

CONSENTIMENTO

“Acredito ter sido suficientemente informado (a) a respeito das informações sobre o estudo acima citado que li ou que foram lidas para mim, ficando claros os objetivos da pesquisa, os procedimentos a serem realizados, assim como os riscos e sigilo dos dados fornecidos. Ficou claro que não receberei recompensa de qualquer natureza e que não terei de pagar pelo exame realizado. Poderei retirar meu consentimento, antes ou durante o estudo, sem penalidades ou prejuízo a mim. Estou ciente de que receberei os resultados somente no final dos estudo. Eu receberei um via desse Termo de Consentimento Livre Esclarecido (TCLE) e a outra ficará com a pesquisadora responsável por essa pesquisa. Além disso, estou ciente de que eu (ou meu representante legal) e o pesquisador responsável por essa pesquisa deveremos rubricar todas as folhas desse Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE e assinar a última”.

_____ Data ____/____/____
(Nome do (a) participante da pesquisa)

_____ Data ____/____/____
(Nome do (a) Pesquisador Responsável)

(Assinatura do (a) Pesquisador Responsável)

APÊNDICE B - QUESTIONÁRIO PARA COLETA DE INFORMAÇÕES GERAIS

Data da consulta: ____/____/____ **Entrevistador:** _____

I. Dados Pessoais

Nome: _____ Código: _____

Endereço: _____

CEP: _____ Telefone: _____ celular: _____ E-Mail: _____

Data de nascimento: ____/____/____

Idade: _____ Cor da pele (auto-relatado): _____

Estado civil: () Solteiro(a) () Casado(a) () Divorciado(a) () Viúvo(a)

() Tem companheiro(a)

Naturalidade: _____ Nacionalidade: _____

Profissão: _____ Tem filhos? () Sim () Não Quantos: _____

Renda familiar (salário-mínimo): _____ Nº de residentes: _____

Renda per capita: _____

Moradia: () imóvel próprio () imóvel alugado () imóvel cedido

() outros _____

Seu bairro (sua casa) recebe água encanada? () Sim () Não

Sua casa está ligada à rede pública de coleta de esgoto? () Sim () Não

Escolaridade:

() **Analfabeto**

() **Ensino Fundamental** () Completo () Incompleto

() **Ensino Médio** () Completo () Incompleto

() **Ensino Superior** () Completo () Incompleto Anos de estudo _____

II. História da Doença Atual

() Doenças cardiovasculares	Há quanto tempo?
() Diabetes	Há quanto tempo?
() HAS	Há quanto tempo?
() Dislipidemia	Há quanto tempo?

Outros: _____

III. História Familiar (citar o grau de parentesco)

() Obesidade: _____ () Hipertensão: _____

() Dislipidemia: _____ () Diabetes Mellitus 2: _____

() Doenças Cardiovasculares: _____

Outras: _____

IV. História Social

Tabagismo: () Fuma () Não fuma () Ex-fumante

Por quanto tempo fuma ou fumou? _____. Quantos cigarros/dia? _____.

Se parou, há quanto tempo parou? _____

Etilismo: () Bebe () Não bebe () Ex-etilista Há quanto tempo? _____
 Frequência de Consumo? () nunca ou menos de 1x/mês () 1 a 3x/mês () 1x/sem () 2 a 4x/sem
 () 1x/dia () > 1x/dia. Quantidade de consumo por vez? _____ Tipo de
 bebida: _____

Qual tipo de parto você nasceu? () cesária () normal
 Foi amamentado ao seio? () não () Sim () exclusivo até os 6 meses?

V. Anamnese Alimentar

Orientação Prévia Nutricional? () Sim () Não
 Caso positivo, qual o profissional que orientou? _____
 Qual objetivo da dieta? _____
 Atualmente está fazendo algum tipo de dieta? () Sim () Não
 Apresenta alergia/intolerância a algum alimento? () Sim () Não
 Qual? _____
 Apresenta aversão a algum alimento? () Sim () Não
 Qual? _____
 Como considera seu apetite? () Normal () Reduzido () Aumentado
 Alteração da função intestinal () Sim () Não
 Frequência das evacuações: _____
 Alterações gastrointestinais: () Diarréia () Constipação () Flatulência () Náuseas ()
 Vômitos () azia () refluxo () eructação
 Quantidade de água ingerida/dia: _____
 Usa algum suplemento alimentar: () Sim () Não Qual? _____
 Por indicação de algum profissional _____
 Qual o consumo mensal de açúcar (tipo) na sua residência? _____
 Qual o consumo familiar mensal de óleo/azeite? _____ Qual tipo? _____
 Qual o consumo mensal de sal (tipo) na sua residência _____
 Usa outros temperos industrializados/ervas? () Sim () Não
 Quais _____

VI. Medicações atuais e nos últimos 3 meses:

Medicações	Dose/dia

Se mulher, utiliza contraceptivo: () Sim () Não
 Qual? _____
 Faz reposição hormonal? () Sim () Não Qual? _____
 Alterou a medicação ao longo do estudo? () Sim () Não
 Qual? _____

VII. Pressão arterial	
PA (mmHg)	
VIII. Avaliação Antropométrica	
Menstruação	() Sim () Não
Estatura (m)	
MC (Kg)	
IMC (Kg/m ²)	
PC (cm)	
PP (cm)	
PQ (cm)	
Razão Cint/Quadril	
Razão Cint/Estatura	

IX. Dados Laboratoriais

Glicose (mg/dL)	
Insulina (μmol/L)	
Colesterol Total (mg/dL)	
HDL- Colesterol (mg/dL)	
LDL-Colesterol (mg/dL)	
VLDL- Colesterol(mg/dL)	
Triglicérides (mg/dL)	
Índice de Castelli I	
Índice de Castelli II	