



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO
DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA**

Caroline das Neves Mendes Nunes

**Determinantes comportamentais e clínico-bioquímicos
patológicos da concentração da proteína ligadora de
lipopolissacarídeo no plasma de mulheres ingressantes
em um programa para mudança do estilo de vida**

Dissertação apresentada à Faculdade de
Medicina, Universidade Estadual Paulista “Júlio
de Mesquita Filho”, Câmpus de Botucatu, para
obtenção do título de Mestre em Patologia.

Orientador: Prof. Titular Roberto Carlos Burini

**Botucatu
2018**

Caroline das Neves Mendes Nunes

Determinantes comportamentais e clínico-bioquímicos
patológicos da concentração da proteína ligadora de
lipopolissacarídeo no plasma de mulheres ingressantes em
um programa para mudança do estilo de vida

Dissertação apresentada à Faculdade de
Medicina, Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de
Botucatu, para obtenção do título de
Mestre em Patologia.

Orientador: Prof. Titular Roberto Carlos Burini

Botucatu
2018

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSANGELA APARECIDA LOBO-CRB 8/7500

Nunes, Caroline das Neves Mendes.

Determinantes comportamentais e clínico-bioquímicos patológicos da concentração da proteína ligadora de lipopolissacarídeo no plasma de mulheres ingressantes em um programa para mudança do estilo de vida / Caroline das Neves Mendes Nunes. - Botucatu, 2018

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina de Botucatu
Orientador: Roberto Carlos Burini
Capes: 40105008

1. Alimentos - Consumo. 2. Hepatopatia gordurosa não alcoólica. 3. Proteínas de transporte. 4. Lipopolissacarídeos. 5. Síndrome metabólica.

Palavras-chave: consumo alimentar; doença hepática gordurosa não alcoólica; proteína ligadora de lipopolissacarídeo; síndrome metabólica.

DEDICATÓRIA

À minha querida mãe, Graciela Colombo das Neves Silva
Por me dar o presente mais valioso que existe: a vida. E ainda, por educar-me, ensinar-me a amar, a perdoar, a dar sem esperar nada em troca e, principalmente, a acreditar que podemos fazer do mundo um lugar melhor. Obrigada pelas noites em claro, zelando por mim. Obrigada pelas incessantes horas de trabalhado, para que eu tivesse uma vida confortável. E acima de tudo, obrigada pelas inúmeras vezes que deixou os seus sonhos de lado, para que os meus se tornassem realidade. Eu te amo mais que tudo!

À minha adorada avó, Ivone Colombo das Neves
Que sempre me apoiou e me incentivou a seguir os meus sonhos. A senhora sempre foi um exemplo de força e bondade para toda nossa família. Mesmo os piores problemas, tornavam-se pequenos diante da sua presença, pois tamanha era sua coragem. Dedico a ti vó, minha eterna saudade!

Aos meus queridos irmãos, Jonathas, Franciela e Monica
Por todo zelo e carinho que irmãos mais velhos possuem com caçulas. Obrigada pela cumplicidade, amizade e lealdade que sempre me dedicaram em todos esses anos. Obrigada por me darem a honra de ter vocês em minha vida. Amo vocês, minha Ohana!

“Ainda que eu falasse as línguas dos homens e dos anjos, e não tivesse amor, seria como metal que soa ou como o sino que tine”.

(Coríntios 13:1)

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

À Deus

Obrigada por sempre caminhar ao meu lado e nunca me deixar desistir perante as dificuldades. Obrigada por colocar pessoas maravilhosas e vivências incríveis na minha vida. Obrigada, Senhor!

“Ainda que eu andasse pelo vale da sombra da morte, não temeria mal algum, porque tu estás comigo” (Salmos 23:4).

Ao professor Roberto Carlos Burini

Obrigada por todas as oportunidades de ensinamento que me proporcionou e por toda paciência e atenção que me dedicou. Agradeço imensamente por ter despertado em mim a “ânsia pelo conhecimento”, ensinando-me a ser crítica, a entender os processos naturais, a buscar soluções plausíveis e, acima de tudo, a possuir a curiosidade necessária a quem é apaixonado pela ciência.

Obrigada, querido mestre!

“No que diz respeito ao empenho, ao compromisso, ao esforço, à dedicação, não existe meio termo. Ou você faz uma coisa bem feita ou não faz” (Ayrton Senna).

Às equipes do CeMENutri de 2014 a 2017

Muito obrigada pela troca de experiência e por todo suporte científico e prático que obtive durante esses quatro anos. Amadureci como profissional e hoje possuo a segurança necessária para fornecer o melhor cuidado aos indivíduos que buscarem o meu auxílio.

“Eu sei o preço do sucesso: dedicação, trabalho duro e uma incessante devoção às coisas que você quer ver acontecer” (Frank Lloyd Wright).

*Aos meus amigos: Isabella, Bia Cabrini, Mariana e Hugo
Mais do que colegas de trabalho, ao longo dos anos pudemos construir uma amizade maravilhosa. Obrigada pelo companheirismo, pelos conselhos, pelo apoio, sem os quais, minhas atividades, inclusive este trabalho, não teriam se concretizado. Vocês são pessoas incríveis, espero tê-los em minha vida para sempre. Obrigada por existirem!*

“A gente não faz amigos, reconhece-os” (Vinícius de Moraes)

*As minhas amigas de adolescência, Luriany e Marylia
Mesmo distantes, nunca deixaram de se fazerem presentes. Obrigada por toda carinho e incentivo. Vocês são irmãs que a vida me deu!*

“Há pessoas que simplesmente aparecem em nossas vidas e nos marcam para sempre” (Cecília Meireles)

*Ao meu namorado, Rafael André Lunardi
Meu mais fiel amigo e eterno companheiro. Não tenho palavras para descrever a imensa gratidão que tenho pela devoção que você dedica a mim e a minha família. Obrigada por me dar o privilégio de fazer parte da sua vida.*

“Não me lembro mais qual foi nosso começo. Sei que não começamos pelo começo. Já era amor antes de ser” (Clarice Lispector).

AGRADECIMENTOS

A CNPq

Obrigada pelo fornecimento da bolsa de Mestrado.

A Seção de Pós-graduação

Obrigada por toda colaboração no esclarecimento de dúvidas e orientações nas questões burocráticas

As equipes de laboratoristas (Hugo, Layene, Fábio e Ingrid), de nutricionistas (Beatriz C, Isabella, Beatriz e Lorena) e de educadores físicos (Leid, Pauline, Estevão e Rafael) do CeMENutri

Obrigada por todo suporte técnico dado ao trabalho de pesquisa

A Regina Moreto, responsável pelo laboratório de ELISA da UNIPEX

Obrigada por toda paciência em me ensinar e a dedicação que você empenhou para que tivéssemos os melhores resultados

Ao Escritório de Apoio à Pesquisa

Obrigada por contribuírem com análises e por sanarem minhas dúvidas em relação à estatística

Às professoras Adriana Lúcia Mendes e Patrícia Baston Frenhani
Obrigada por aceitarem participar do meu exame de qualificação e de defesa. É uma honra contar com a imensa bagagem profissional de vocês para enriquecer o meu trabalho. Tenho certeza que nosso reencontro será ainda mais proveitoso.

A todos, muitíssimo obrigada!

EPÍGRAFE

“É triste pensar que a natureza fala e que o gênero humano não a ouve”
(Victor Hugo)

“Todas as doenças começam no intestino”
(Hipócrates)

LISTA DE ABREVIATURA E SIGLAS

%GC - percentual de gordura corporal

%MM - percentual de massa muscular

AGCC - ácido graxo de cadeia curta

AGL - ácido graxo livre

AHA - *American Heart Association*

CA - circunferência abdominal

CD14 - grupamento de diferenciação 14

CeMENutri - Centro de Metabolismo em Exercício e Nutrição

CG – carga glicêmica

DAS - diâmetro abdominal sagital

DCV - doença cardiovascular

DGHNA - doença gordurosa hepática não alcoólica

DM - diabetes *mellitus*

ELISA - ensaio imunoadsorvente ligado à enzima

FDA - *Food and Drugs Administration*

GA - gordura absoluta

GET - gasto energético total

GGT - gama-glutamil-transferase

GLUT4 - transportador de glicose 4

HDL-c - lipoproteína de alta densidade ligada ao colesterol

HOMA-IR - modelo homeostático de avaliação da resistência à insulina

Hp2 - pré-haptoglobina 2

IAS-ad – índice de alimentação saudável adaptado

IG - índice glicêmico

IGH - índice de gordura hepática

IL - interleucina

IMC - índice de massa corporal

IMM - índice de massa muscular

IPAQ - questionário internacional de atividade física

IRS - substrato do receptor de insulina

JNK - *c-Jun N-Terminal Kinase*

K - potássio

LBP - proteína ligadora de lipopolissacarídeo

LPS - lipopolissacarídeo

MAPK - proteína quinase ativada por mitógeno

MD2 - proteína de diferenciação mieloide 2

MLCK - quinase da cadeia leve de miosina

MLG - massa livre de gordura

MM – massa muscular

Na - sódio

NAF - nível de atividade física

NF-κB - fator nuclear kappa B

NCEP-ATPIII - *National Cholesterol Program's Adult Treatment Panel III*

NHANES - *National Health and Nutrition Examination Survey*

NHLBI - *National Heart, Lung and Blood Institute*

PA - pressão arterial

PAD - pressão arterial diastólica

PAI-1 - inibidor do ativador de plasminogênio tipo 1

PA - pressão arterial

PAS - pressão arterial sistólica

PCR-us - proteína C-reativa - ultrassensível

PKC - proteína quinase C

PPAR- γ - receptor ativado por proliferador de peroxissoma gama

PTP - proteína tirosina fosfatase

SHR - ratos espontaneamente hipertensos

SM - síndrome metabólica

TER - resistência elétrica transepitelial

TG - triglicerídio

TGO - transaminase glutâmico-oxalacética

TGP - transaminase glutâmico-pirúvica

TLR4 - receptor do tipo *Toll* 4

TNF- α - fator de necrose tumoral α

VET – valor energético total

VLDL – lipoproteína de muito baixa densidade

ZO - zônula de oclusão

SUMÁRIO

Capítulo I – Revisão da Literatura

Resumo	15
Abstract	16
1. Introdução	17
2. Influencia da Dieta Humana na Composição da Microbiota Intestinal.....	18
3. Relações entre a Microbiota Intestinal e a Obesidade	21
4. Regulação da Barreira Epitelial Intestinal.....	22
5. Respostas Patológicas Induzidas pela Permeabilidade Intestinal Aumentada: o Papel da Endotoxemia Metabólica Subclínica.....	26
5.1. <i>Ligações entre a Permeabilidade Intestinal e a Síndrome Metabólica</i>	28
5.2. <i>Ligações entre a Permeabilidade Intestinal e a Doença Hepática Gordurosa não Alcoólica</i>	29
6. Considerações Finais	31
7. Referências Bibliográficas	32

Capítulo II – Artigo Científico

Resumo	46
Abstract	47
1. Introdução	48
2. Objetivos	50
2.1. <i>Objetivo Geral</i>	50
2.2. <i>Objetivos Específicos</i>	50
3. Metodologia.....	50
3.1. Delineamento do Estudo.....	50
3.2. População do Estudo	51
3.3. Caracterização Sociodemográfica e Avaliação Clínica	52
3.4. Medidas Antropométricas e Composição Corporal	52
3.5. Avaliação do Consumo Alimentar	53
3.5.1. <i>Indicadores da Qualidade da Dieta</i>	54
3.5.2. <i>Nível de Processamento da Dieta</i>	54
3.6. Avaliação Bioquímica Padrão	55
3.6.1. <i>Proteína Ligadora de Lipopolissacarídeo</i>	56

3.6.2. Marcador Inflamatório	56
3.6.3. Resistência à Insulina	57
3.7. Diagnóstico de Síndrome Metabólica.....	57
3.8. Índice de Gordura Hepática	57
4. Análise estatística	58
5. Resultados	58
5.1. Caracterização da Amostra.....	58
5.2. Caracterização do Excesso de Peso	59
5.3. Comportamento da Proteína Ligadora de Lipopolissacarídeo	62
6. Discussão.....	66
7. Conclusão	73
8. Considerações Finais.....	73
9. Referências Bibliográficas.....	73
10. Anexos	85

Capítulo I
Revisão da Literatura

RESUMO

Nunes CNM, Burini RC. **Implicações da endotoxemia metabólica subclínica no desenvolvimento das doenças relacionadas ao excesso de peso.** Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2018.

No panorama mundial atual, há o crescimento exponencial dos casos de obesidade e das doenças crônicas que já em 2010 apresentaram alto custo financeiro global estimado em US\$6,3 trilhões e espera-se que duplique até 2030. Com o avanço das tecnologias “ômicas”, bioinformática e abordagens de modelamento houve o sequenciamento do microbioma intestinal e suas ligações com a obesidade e as comorbidades relacionadas têm sido estudadas. Observa-se que a disbiose intestinal, o excesso de peso e o padrão alimentar inadequado são fatores que promovem a perda da função da barreira intestinal com alteração na permeabilidade, provocando aumento da translocação de produtos microbianos, especialmente o lipopolissacarídeo, para o interior do hospedeiro. Uma vez na circulação sistêmica, o lipopolissacarídeo é reconhecido pelos receptores do tipo *Toll* presentes nas células imunes, nos hepatócitos, nos adipócitos e nas células endoteliais, deflagrando respostas oxidativas e inflamatórias. Quando a exposição ao lipopolissacarídeo ocorre de maneira contínua, desenvolve-se o estado inflamatório crônico de baixo grau, ocasionando a resistência à insulina que, conseqüentemente, promove a deposição de gordura ectópica. Tais eventos são importantes na etiologia da síndrome metabólica e da doença hepática gordurosa não alcoólica. Desta forma, a exposição crônica a produtos microbianos exerce papel importante na origem dos distúrbios metabólicos. Neste sentido, a avaliação de fatores que regulam a permeabilidade intestinal, tais como, o excesso de peso e o padrão alimentar, assim como de biomarcadores dos níveis de endotoxemia metabólica devem ser encorajados.

Palavras-chave: doença hepática gordurosa não alcoólica, lipopolissacarídeo, obesidade, permeabilidade intestinal, síndrome metabólica.

ABSTRACT

Nunes CNM, Burini RC. **Implications of subclinical metabolic endotoxemia in the development of diseases related to overweight.** Thesis (Master) – Botucatu Medical School, São Paulo State University, Botucatu, 2018.

In the current world panorama, there is an exponential growth in cases of obesity and chronic diseases, which in 2010 already had a high global financial cost estimated at US \$ 6.3 trillion, and is expected to double by 2030. With the advancement of “omics”, bioinformatics and modeling approaches there was sequencing of the intestinal microbiome and its links with obesity and related comorbidities have been studied. It is observed that intestinal dysbiosis, weight excess and inadequate dietary patterns are factors that promote the loss of intestinal barrier function with altered permeability, causing increased translocation of microbial products, especially lipopolysaccharide, into the host. Once in the systemic circulation, lipopolysaccharide is recognized by Toll-like receptors present in immune cells, hepatocytes, adipocytes and endothelial cells, triggering oxidative and inflammatory responses. When the exposure to lipopolysaccharide occurs continuously, the low-grade chronic inflammatory state develops, leading to insulin resistance, which consequently promotes the deposition of ectopic fat. Such events are important in the etiology of metabolic syndrome and non-alcoholic fatty liver disease. In this way, chronic exposure to microbial products plays an important role in the origin of metabolic disorders. Therefore, the evaluation of factors that regulates the intestinal permeability, such as, weight excess and dietary pattern, as well as biomarkers of metabolic endotoxemia levels should be encouraged.

Keywords: non-alcoholic fatty liver disease, lipopolysaccharide, obesity, intestinal permeability, metabolic syndrome.

1. INTRODUÇÃO

A microbiota é definida pela presença de comunidades de micro-organismos que habitam um ambiente particular. Conseqüentemente, ao longo do corpo humano existem diversas regiões colonizadas por bactérias, *arqueas*, fungos, protistas e vírus. As bactérias são os micro-organismos mais estudados, pois estão em maior quantidade (1). É estimado que o corpo humano contenha cerca de 40 trilhões das mesmas, o que comparado a quantidade de células humanas perfaz a proporção de aproximadamente 1:1 (2). Sendo assim, a constituição humana pode ser caracterizada como superorganismo simbiótico composto de células eucarióticas e procarióticas que interagem em diferentes níveis e com repercussões, muitas vezes, sistêmicas (3).

Especialmente na microbiota intestinal, existem de 500 a 1000 espécies diferentes de bactérias (4), sua composição é altamente específica por hospedeiro e pode ser alterada por estímulos endógenos (genética, estresse e idade) ou exógenos (modo de nascimento, aleitamento materno, dieta, exercício e uso de antibióticos) (5). Apesar da grande variabilidade individual, em contexto saudável, 90% do total das bactérias pertencem aos filos Firmicutes e Bacteroidetes. Além disso, o que torna possível realizar comparações entre indivíduos da mesma ou de diferentes populações é o compartilhamento do conjunto de colonizadores intestinais (o núcleo da microbiota) e os genes (o núcleo do microbioma) (6,7).

Nos últimos 12 anos, o avanço das tecnologias “ômicas”, bioinformática e abordagens de modelamento permitiu o sequenciamento do microbioma intestinal, sendo assim, micro-organismos que até o momento não podiam ser cultivados, foram identificados e suas ligações com diversas doenças têm sido estudadas (8,9). Desta forma, observou-se que junto ao excesso de peso ocorrem alterações na composição e atividade da microbiota intestinal, configurando a disbiose. Tais achados se associaram com a prevalência ou maior risco de desenvolver doenças cardiometabólicas (10), nas quais os fatores destacados como responsáveis por estas ligações foram relacionados ao estilo de vida (8). Contudo, os mecanismos patológicos envolvidos nestes processos ainda não estão totalmente esclarecidos.

No panorama mundial atual, há o crescimento exponencial dos casos de obesidade e das doenças crônicas que já em 2010 apresentaram alto custo financeiro global estimado em US\$6,3 trilhões e espera-se que duplique até 2030

(11). Considerando que os tratamentos disponíveis para tais agravos não oferecem recursos curativos, justificam-se pesquisas com intuito de elucidar as conexões entre a microbiota intestinal e o desenvolvimento das doenças da era moderna; tal qual, a necessidade de identificar novas ferramentas terapêuticas a fim de restabelecer a saúde. Portanto, o objetivo da presente revisão narrativa é discutir evidências científicas que embasam as associações entre a microbiota intestinal, a obesidade e as comorbidades associadas.

2. Influencia da Dieta Humana na Composição da Microbiota Intestinal

Dentre os diversos fatores capazes de influenciar a composição e a funcionalidade da microbiota intestinal, verificou-se que alterações dietéticas podem explicar 57% das variações estruturais da mesma (12). Intervenções alimentares agudas resultam em mudanças sutis e facilmente reversíveis (13,14), enquanto a habilidade metabólica bacteriana pode ser notavelmente modificada por padrões dietéticos em longo prazo (15,16). A dieta tipicamente ocidental provê diariamente à microbiota cerca 50g de substrato fermentável, incluindo as fibras alimentares, e aproximadamente 5 – 10g de proteína e 5 – 10g de gordura escapam da absorção do intestino delgado servindo como substrato dietético à nutrição das bactérias intestinais. Outros componentes consumidos em menor quantidade, especialmente os polifenóis, são capazes de modular a homeostase colônica e, conseqüentemente, de influenciar a saúde humana (17).

Assim, os carboidratos complexos não digeríveis, tais como as fibras alimentares solúveis e o amido resistente, sofrem fermentação no intestino grosso pelos micro-organismos residentes a fim de disponibilizar energia e carbono para o metabolismo próprio. Neste processo, eles são capazes de modificar o ambiente intestinal via estímulo seletivo ao crescimento e a atividade de bactérias específicas (18). Foi observado que dietas ricas em fibras alimentares aumentaram a riqueza genética da microbiota (19). O consumo de grãos integrais e de farelo de trigo foi associado com o crescimento intestinal dos gêneros *Bifidobacterium* e *Lactobacillus* (20, 21). Tais bactérias são capazes de aumentar a síntese dos ácidos graxos de cadeia curta (AGCCs) que funcionam como fonte de energia às células epiteliais colônicas e substrato para gliconeogênese e lipogênese no intestino e no fígado,

melhorar a integridade da barreira epitelial intestinal, diminuir o acúmulo de endotoxina e exercer atividades anti-inflamatórias e anticancerígenas (22-25).

Por outro lado, as proteínas dietéticas representam a principal fonte de nitrogênio, essencial à fermentação de carboidratos e a produção dos AGCCs (17). Na literatura, a interação das proteínas com a microbiota intestinal apresenta resultados contraditórios, ressaltando a importância do equilíbrio nutricional. Dietas ricas em proteínas podem induzir a maior perda de peso, porém causam efeitos prejudiciais à saúde colônica e cardiovascular, quando combinadas com a baixa ingestão de fibra alimentar (17, 26, 27). Além disso, o maior conteúdo de proteína de origem animal aumentou a quantidade de micro-organismos tolerantes à bile (*Alistipes spp*, *Bilophila spp* e *Bacteroides*) (18, 28, 29) e diminuiu os Firmicutes, principais bactérias que metabolizam os polissacarídeos vegetais (*Roseburia spp*, *Eubacterium rectale* e *Ruminococcus bromii*) (30). À medida que a ingestão do extrato de proteína da ervilha e do soro do leite expandiu a contagem de comensais (*Bifidobacterium* e *Lactobacillus*), adicionalmente, a proteína do soro do leite reduziu algumas espécies patogênicas (*Bacteroides fragilis* e *Clostridium perfringens*) (31-33).

Diversos estudos em humanos têm sugerido que a dieta rica em gordura induziu ao crescimento da microflora anaeróbica total e a quantidade de *Bacteroides* (13, 29, 34, 35), bactérias que ativam os linfócitos T CD4+, estimulando o desenvolvimento da resposta imune na mucosa intestinal (36-39). A gordura dietética (saturada e insaturada) pode modular indiretamente a microbiota por meio da síntese e composição dos ácidos biliares que possuem atividade antimicrobiana seletiva. Concentrações reduzidas de sais biliares foram associadas com supercrescimento bacteriano, particularmente de espécies Gram-negativas, incluindo patógenos que contêm o lipopolissacarídeo (LPS) (40), endotoxina responsável pelo aumento na produção de citocinas pró-inflamatórias e pela resistência à insulina (41-43). Em contrapartida, elevações nos níveis de sais biliares desencadearam em aumento de bactérias Gram-positivas, tais como os membros do filo Firmicutes (40), relacionados com o maior peso corporal e a adiposidade total (44, 45).

Os polifenóis estão presentes de maneira inativa em alimentos de origem vegetal (chá, café e vinho) como derivados glicosilados, ligados a açúcares do tipo: glicose, galactose, ramnose, ribulose, arabinopiranosose e arabinofuranose (4).

Somente 5 a 10% dos polifenóis dietéticos são absorvidos no intestino delgado, o restante se acumula no intestino grosso, onde ocorre a biotransformação em componentes ativos após a remoção da fração de açúcar por ação bacteriana (46, 47). A especificidade estrutural do polifenol e a riqueza individual da microbiota intestinal determinam o nível de biotransformação (4). Como efeito mútuo desta interação, os polifenóis agem como substrato energético para bactérias benéficas e inibem o crescimento das patogênicas (47). Desta forma, acredita-se que os efeitos positivos dos polifenóis na obesidade e na síndrome metabólica (SM), reduzindo o índice de massa corporal (IMC), a circunferência abdominal (CA), a pressão arterial (PA), a glicemia; e melhorando o metabolismo lipídico, são mediados pela microbiota intestinal (48, 49).

Sabe-se que os aditivos alimentares amplamente utilizados na indústria alimentícia atuam como moduladores negativos da microbiota intestinal. Observou-se em camundongos que o consumo de adoçantes artificiais não calóricos (sacarina, sucralose e aspartame) em doses recomendadas pela *Food and Drugs Administration* (FDA) por 10 semanas levou à intolerância à glicose provocada pela disbiose intestinal, a qual incluiu aumento na quantidade de *Bacteroides spp* e diminuição de *Lactobacillus reuteri*. Após transplante fecal, estes efeitos foram totalmente transferíveis a animais *germ-free*, os quais não possuem nenhum micro-organismo residente e são criados em ambiente isento de exposições a patógenos, sendo reproduzidos na microbiota incubada anaerobicamente junto aos adoçantes. Tais complicações foram prevenidas pelo tratamento com antibióticos, evidenciando o papel central das bactérias intestinais na homeostase glicêmica. De modo similar, a disbiose e a intolerância à glicose induzidas pelo uso de adoçantes artificiais foram verificadas em participantes saudáveis (50).

Os emulsificantes são moléculas semelhantes a detergentes e seu emprego em preparações culinárias melhora a textura e estende a vida de prateleira do produto final. Camundongos tratados com concentrações relativamente baixas de emulsificantes (polissorbato 80 e carboximetilcelulose) apresentaram inflamação de baixo grau, obesidade e SM mediados pela disbiose intestinal. Houve reduções na diversidade microbiana e na quantidade de *Bacteroidales*, e crescimento de *Ruminococcus gnavus*, *Akkermansia muciniphila* e *Proteobacteria* (bactérias mucolíticas). Estas mudanças na composição da microbiota intestinal foram capazes

de provocar inflamação de baixo grau e SM em camundongos *germ-free* transplantados com as fezes dos animais que receberam emulsificantes (51).

3. Relações entre a Microbiota Intestinal e a Obesidade

Estudos pioneiros a demonstrar o papel da microbiota intestinal na regulação do peso corporal utilizaram camundongos *germ-free*. Tais animais foram alimentados com dieta rica em gordura e apesar do consumo calórico aumentado junto ao gasto energético diminuído, ao final do experimento, eles apresentaram adiposidade reduzida, comparado aos animais criados convencionalmente sob as mesmas condições. No entanto, após a colonização dos camundongos *germ-free* com conteúdo fecal dos animais criados convencionalmente, o primeiro rapidamente ganhou peso e aumentou a massa de gordura sem qualquer alteração na ingestão energética (52-54).

O efeito da modulação do peso corporal no hospedeiro pela microbiota intestinal pôde ainda ser verificado em outro estudo marco, onde se realizou transplante de fezes de gêmeos humanos, sendo um eutrófico e outro obeso, em camundongos *germ-free*. Os animais que receberam as fezes do gêmeo obeso desenvolveram alterações metabólicas e ganharam mais peso comparado àqueles que foram colonizados pelas fezes do gêmeo eutrófico (55). Quando ambos os grupos de camundongos foram alojados conjuntamente, ocorreu transferência microbiana por coprofagia e os animais que receberam fezes do gêmeo obeso somente demonstraram mudanças positivas na composição da microbiota com melhorias no fenótipo metabólico frente ao consumo de dieta rica em fibra alimentar e pobre em gordura saturada.

Alguns pesquisadores acreditam que a microbiota intestinal de indivíduos obesos apresenta diminuição da razão entre os filos Bacteroidetes e Firmicutes, resultando em extração energética da dieta mais eficiente, por meio da maior produção dos AGCCs, com subsequente promoção do estoque de gordura no hospedeiro e menor teor de resíduos calóricos nas fezes (56). Contudo, os achados ainda são controversos, pois, estudos posteriores encontraram proporções distintas entre os principais filos na microbiota de obesos (57). Deve ser considerado que existem muitas espécies diferentes num mesmo filo e nem todas apresentam efeitos prejudiciais à saúde, especialmente as Firmicutes.

Além disso, foi verificado que a microbiota de indivíduos magros, em alguns casos, pode sintetizar mais AGCCs, sem perder calorias nas fezes de maneira acentuada (58). O papel paradoxal dos AGCCs na patogênese da obesidade, ora contribuindo para lipogênese no fígado, ora reduzindo a inflamação, sensibilizando os tecidos periféricos à insulina e promovendo a saciedade, pode ser relacionado à categorização dos mesmos de modo generalista, quando cada metabólito possui efeitos distintos (59). O acetato desempenha papel potencialmente obesogênico, uma vez que age como substrato primário para lipogênese nos hepatócitos e adipócitos. Enquanto, o propionato e o butirato servem como substratos para outros processos metabólicos (44).

Desta forma, os mecanismos patológicos que permeiam a relação entre microbiota intestinal e obesidade podem ser atribuídos a outros eventos importantes, como a comunicação entre as bactérias comensais e a resposta imune-inflamatória do hospedeiro, a qual afeta a sinalização dos sensores metabólicos e hormonais que controlam o metabolismo energético (60). Foi observado que a diversidade bacteriana reduzida foi associada com adiposidade (7). No estudo *Metagenomics of the Human Intestinal Tract (MetaHIT)*, o qual incluiu 292 dinamarqueses, encontrou-se que 23% da população amostral apresentava baixa diversidade microbiana, com contagem de genes reduzida em 40%. Curiosamente, estes indivíduos foram caracterizados por possuir inflamação de baixo grau, resistência à insulina, dislipidemia e maior adiposidade total (61).

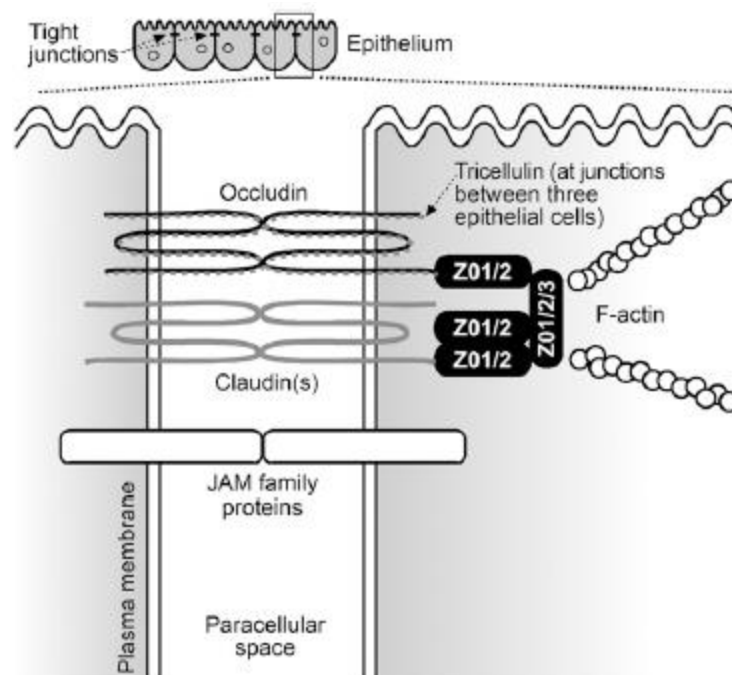
4. Regulação da Barreira Epitelial Intestinal

A barreira epitelial intestinal é uma entidade funcional que separa o lúmen do interior do hospedeiro, organizada em sistema multicamadas e constituída por elementos mecânicos (muco e camada epitelial), humorais (defensinas e imunoglobulina A), imunológicos (linfócitos e células do sistema imune inato), musculares e neurológicos. Apresenta o propósito de proteger o hospedeiro contra invasões por micro-organismos ou impedir a translocação de fragmentos bacterianos, desenvolver e manter o sistema imune intestinal, e auxiliar na digestão pelo fornecimento de suporte enzimático (62).

Neste sentido, a permeabilidade intestinal pode ser entendida como característica mensurável da funcionalidade da barreira epitelial intestinal,

relacionada às propriedades de membrana que regulam a passagem de moléculas através do lúmen. Tal evento é conhecido como transporte transepitelial, formado pelas vias transcelular (através da célula) e paracelular (entre as células) (62, 63). O tamanho e a solubilidade das partículas são fatores que determinam a rota de permeação, assim como a regulação das junções intercelulares de oclusão ou *tight junctions* (**Figura 1**). As mesmas são compostas por complexo de proteínas transmembranas (claudina, ocludina, tricelulina e moléculas de adesão juncional), proteínas citosólicas (zônula de oclusão - ZO e cingulina) e moléculas regulatórias (quinases). A interação destas proteínas entre si mantém a integridade da barreira e controla a passagem de partículas através do espaço paracelular (64, 65).

Figura 1. Representação esquemática das proteínas das junções de oclusão responsáveis por regular a permeabilidade paracelular nas células epiteliais intestinais



JAM: molécula de adesão juncional; ZO: zônula de oclusão. **Nota.** Fonte: Ulluwishewa D, Anderson RC, McNabb WC, Moughan PJ, Wells JM, Roy NC. Regulation of tight junction permeability by intestinal bacteria and dietary components. *J Nutr.* 2011 May;141(5):769-76.

Apesar das informações serem limitadas, têm sido observado que diversos fatores dietéticos participam da regulação das junções de oclusão. Interações entre intestino e nutrientes são analisadas por meio de ensaios baseados em células. Especialmente, a cultura primária de células epiteliais intestinais funcionalmente

completas apresenta dificuldades devido à taxa de crescimento baixa e a falta de informações para o controle dos processos de diferenciação celular (66). Desta forma, linhagens de células derivadas do intestino humano, incluindo tecido de câncer de cólon têm sido amplamente utilizadas. Apesar de sua origem, alguns modelos como a Caco-2, a HT-29 e a T84 se tornaram útil em metodologias científicas por conta de suas características morfológicas e funcionais (67-69), demonstrando boa correlação entre a permeabilidade da célula cultivada e o processo de absorção em humanos (70).

Recente revisão da literatura destacou o papel de componentes nutricionais que atuam diretamente nas vias de transdução de sinais envolvendo a regulação das junções de oclusão e indiretamente por influenciar a sinalização de citocinas implicadas nesta modulação. Observou-se que alguns nutrientes exercem efeitos protetores na permeabilidade intestinal, diferentemente de outros compostos que articulam negativamente os complexos proteicos e os elementos do citoesqueleto. Danos à barreira epitelial intestinal geralmente são causados por perturbações na expressão e na distribuição das proteínas das junções de oclusão (71). Um dos parâmetros mais comum para avaliar a permeabilidade intestinal é a resistência elétrica transepitelial (TER) que mede o fluxo paracelular de íons (72).

De modo geral, antígenos dietéticos como a gliadina (subunidade da proteína glúten que pode ser encontrada no trigo, no centeio e na cevada), tipos específicos de ácidos graxos, metabólitos do etanol e aditivos alimentares aumentaram a permeabilidade intestinal por diferentes mecanismos: alteração na distribuição e redução do conteúdo celular de ocludina, modificação na distribuição celular de claudina, inibição da atividade da proteína tirosina fosfatase (PTP) que induz a fosforilação em tirosina da ZO-1 e da ocludina, promovendo suas dissociações do complexo juncional, ativação da proteína quinase C (PKC), levando a polimerização da actina e subsequente desarranjo das proteínas das junções de oclusão, deslocamento das proteínas da ZO e ativação da quinase da cadeia leve de miosina (MLCK), resultando em contração dos filamentos de actina e de miosina II com abertura do espaço paracelular (71).

Por outro lado, alguns aminoácidos, peptídeos do leite e do queijo, polifenóis, vitaminas e minerais contribuíram para o fortalecimento do sistema de barreira epitelial intestinal pelas seguintes vias: aumento do conteúdo celular de ocludina, de claudina e das proteínas da ZO, restauração da organização entre a ZO-1 e a

occludina, e inibição da atividade da MLCK (71). Abaixo estão representados os principais compostos relacionados à regulação das junções de oclusão, seus efeitos na permeabilidade paracelular e os mecanismos de ação (**Tabela 1**).

Tabela 1. Efeitos de componentes dietéticos na permeabilidade intestinal paracelular

Antígenos dietéticos	Efeito na permeabilidade	Medida da TER	Mecanismos de ação	Modelos de estudo	Referências
AMINOÁCIDOS					
Gln	Diminuiu	Aumentou	Desconhecido	Caco2	(73)
Privação de Gln	Aumentou	ND	Reduziu a ocludina, a claudina-1 e a ZO-1 Redistribuiu a claudina-1 e a ocludina	Caco2	(74)
Trp	Diminuiu	Aumentou	Desconhecido	Caco2	(75)
PEPTÍDEOS					
β -caseína	Diminuiu	Aumentou	Aumentou a expressão da ocludina	Caco2	(76)
β -lactoglobulina	Diminuiu	Aumentou	Provocou modificações estruturais no citoesqueleto	Caco2	(77)
Gladina	Aumentou	ND	Estimulou a liberação de zonulina dependente do MyD88	Camundongos C57BL6 e CXCR3 ^{-/-}	(78)
VITAMINAS					
Vitamina D	Diminuiu	Aumentou	Aumentou a expressão da claudina-1, da ZO-1 e da E-caderina	Caco2-SW480 em camundongos C57BL6 VDR ^{+/+} e VDR ^{-/-}	(79)
Retinol (vitamina A)	Diminuiu	Aumentou	Neutralizou a toxina A do <i>Clostridium difficile</i>	Caco2	(80)
POLIFENÓIS					
Quercitina	Diminuiu	Aumentou	Aumentou a expressão de claudina-4 e a organização de ZO-2, ocludina e claudina-1	Caco2	(81, 82)
Kaempferol	Diminuiu	Aumentou	Promoveu a associação citoesquelética entre a ZO-1/2, a ocludina e a claudina-1/3/4	Caco2	(83)
Genisteína	Diminuiu	Aumentou	Inibiu a redistribuição e a dissociação do complexo ZO-1/occludina Inibiu os efeitos mediados pelo TNF- α	Caco2 HT29/B6	(84, 85) (86)
EGCG	Diminuiu	Aumentou	Inibiu os efeitos mediados pelo INF- γ	T84	(87)
Curcumina	Diminuiu	Aumentou	Inibiu os efeitos mediados pelo TNF- α e pela IL-1 β	Caco2	(88, 89)
GLICOSÍDEO DITERPENO					
Capsianosídeo	Aumentou	Diminuiu	Alterou a razão actina-F/G	Caco2	(90)
AGCL					
EPA/DHA	Aumentou Diminuiu	Diminuiu Aumentou	Atuou na regulação da PKC/desconhecido Ambos reduziram a permeabilidade mediada pela IL-4	Caco2 T84	(91, 92) (93)
AGCM					
Ácido cáprico	Aumentou	Diminuiu	Redistribuiu a ocludina e a ZO-1/ativou a MLCK	Caco2	(94)
Ácido láurico	Aumentou	Diminuiu	Ativou a MLCK	Caco2	(95)
AGCC					
Butirato de sódio	Diminuiu	Aumentou	Aumentou a síntese da ZO-1/2 e da cingulina	Fibroblastos de ratos	(96)
Ácidos acético e propiônico	Diminuiu	Aumentou	Ativaram a PI3K	Caco2/T84	(97)
MINERAIS					
Depleção de Zn	Aumentou	Diminuiu	Redistribuiu a ocludina, a ZO-1, a E-caderina, a β -catenina e a actina-F	Caco2	(98)
ÁLCOOIS					
Etanol	Aumentou	Diminuiu	Redistribuiu a ocludina e a ZO-1/ativou a MLCK	Caco2	(99)
Acetaldeído	Aumentou	Diminuiu	Ocasionalmente a perda da interação entre ocludina/ZO-1 e β -catenina/E-caderina pela fosforilação em tirosina	Caco2/ratos Sprague-Dawley e camundongos C3H/He	(85, 100-103)
Quitosana	Aumentou	Diminuiu	Redistribuiu a ZO-1 e a actina-F	Caco2	(104)
ADITIVOS ALIMENTARES					
Monoéster de sacarose (surfactante)	Aumentou	Diminuiu	Reorganizou as proteínas das junções de oclusão	Caco2	(105)
Caprato de sódio (surfactante)	Aumentou	Diminuiu	Desconhecido	Ratos Wistar	(106)
Carboximetilcelulose e polissorbato-80 (emulsificantes)	Aumentou	ND	Desconhecido	Camundongos tipo selvagem e IL-10 ^{-/-}	(51)

Gln: glutamina; Trp: triptofano, EGCG: epigallocatequina-3-galato, AGCL: ácido graxo de cadeia longa, EPA: eicosapentaenoico, DHA: docosahexaenóico, AGCM: ácido graxo de cadeia média, AGCC: ácido graxo de cadeia curta, Zn: zinco, TER: resistência elétrica transepitelial, ND: não determinado, ZO: zônula de oclusão, MyD88: gene de resposta primária a diferenciação mieloide, TNF- α : fator de necrose tumoral alfa, IFN- γ : interferon gama, IL: interleucina, MLCK: quinase da cadeia leve de miosina, PI3K: fosfatidilinositol-3quinase. **Nota.** Adaptado de De Santis S, Cavalcanti E, Mastronardi M, Jirillo E, Chieppa M. Nutritional Keys for Intestinal Barrier Modulation. *Front Immunol.* 2015 Dec 7;6:612.

A zonulina é a pré-haptoglobina 2 (Hp2), uma pró-proteína de Hp2 antes da clivagem enzimática na sua forma madura, considerada como modulador fisiológico das junções de oclusão e sintetizada no intestino humano mediante exposição a bactérias patogênicas e a gliadina (65). Há evidências de que a zonulina é capaz de acentuar a permeabilidade intestinal por meio da ativação do receptor do fator de crescimento epidérmico que modula os filamentos de actina do citoesqueleto, promovendo desarranjo reversível das proteínas das junções de oclusão (107). Foi observado que o IMC contribuiu de maneira independente para as variações nas concentrações de zonulina, onde o aumento dos níveis circulantes deste marcador foi associado com maior peso corporal e com alterações nos parâmetros metabólicos (108). Também se verificou que a disbiose intestinal induzida pela obesidade modulou a distribuição das proteínas das junções de oclusão, especialmente as ocludinas e as proteínas da ZO, ressaltando a permeabilidade intestinal paracelular (109).

Como consequência da perda da integridade da barreira epitelial intestinal, ocorre a translocação de bactérias e seus produtos, iniciando respostas inflamatórias e resistência à insulina no tecido adiposo e no fígado. Atualmente, esta cascata patofisiológica é reconhecida no desenvolvimento da SM e da doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) (62, 63).

5. Respostas Patológicas Induzidas pela Permeabilidade Intestinal Aumentada: o Papel da Endotoxemia Metabólica Subclínica

Alterações na permeabilidade intestinal desencadeiam a endotoxemia metabólica subclínica, a qual se caracteriza pelo aumento leve a moderado das concentrações plasmáticas de LPS, principal componente da parede celular de bactérias Gram-negativas, devido a estímulo não infeccioso (41). Uma vez na circulação sistêmica, o reconhecimento do LPS por meio do receptor do tipo *Toll* 4 (TLR4) é mediado pela proteína ligadora de lipopolissacarídeo (LBP), pelo grupamento de diferenciação 14 (CD14) e pela proteína de diferenciação mieloide 2

(MD2). O TLR4 está presente na superfície da membrana das células imune (monócitos, macrófagos e células de *Kupffer*), nos adipócitos, nos hepatócitos e nas células endoteliais. Após oligomerização do TLR4, ocorre ativação das vias do fator nuclear kappa B (NF- κ B) e da proteína quinase ativada por mitógeno (MAPK) (110).

A translocação do NF- κ B para o núcleo da célula promove a transcrição de genes que codificam proteínas envolvidas na resposta inflamatória, particularmente, o fator de necrose tumoral- α (TNF- α) e a Interleucina (IL) 6. Tais citocinas são capazes de atenuar a transmissão adequada do sinal da insulina, alterando a fosforilação das proteínas do substrato do receptor de insulina (IRS), o que impede a translocação do transportador de glicose tipo 4 (GLUT4) para membrana da célula, comprometendo a entrada de glicose (111). Além disso, as vias de sinalização ativadas pela MAPK incluem *c-Jun N-Terminal Kinase* (JNK), MAPK p38 e quinases reguladas por sinal extracelular que podem induzir a resistência à insulina por diferentes mecanismos (42, 109, 112, 113).

Sabe-se que durante a hipertrofia do tecido adiposo ocorre liberação de ácidos graxos livres (AGLs) ou não esterificados que são capazes de ativar os TLR4s, resultando na infiltração por macrófagos, na síntese de citocinas pró-inflamatórias e na resistência à insulina (114), desfechos semelhantes são induzidos pelo LPS. Portanto, a exposição contínua a esta endotoxina é relevante na manifestação das doenças metabólicas, especialmente naquelas onde a inflamação crônica e a resistência à insulina configuram eventos centrais das suas patofisiologias. Em camundongos que receberam baixas doses de LPS durante quatro semanas, observou-se aumento do peso corporal total e do fígado, e da glicemia de jejum e pós-prandial; tais respostas foram mediadas por elevação nos marcadores inflamatórios no fígado, no músculo e no tecido adiposo visceral e subcutâneo (41).

Em humanos, a administração aguda de LPS aumentou a produção de marcadores oxidativos e inflamatórios nas células imunes, no plasma e no tecido adiposo, e promoveu alterações na sensibilidade à insulina (43, 115, 116). Estudo de coorte prospectivo observou que concentrações séricas elevadas desta endotoxina, avaliadas no momento inicial do acompanhamento, foram capazes de prever eventos relacionados à doença cardíaca coronariana em indivíduos saudáveis de meia idade após 10 anos de seguimento (117). Também se verificou risco aumentado para o desenvolvimento da SM e seus componentes, especialmente, a

obesidade abdominal, com a elevação dos níveis plasmáticos de LBP em mulheres chinesas de 50 a 70 anos (118).

5.1. Ligações entre a Permeabilidade Intestinal e a Síndrome Metabólica

A SM é caracterizada pelo estado de inflamação crônica de baixo grau, como consequência da interação complexa entre fatores genéticos e ambientais, sendo diagnosticada pela presença de três ou mais condições metabólicas, incluindo a obesidade abdominal, os níveis de lipídios alterados (triglicerídio - TG elevado e/ou lipoproteína de alta densidade ligada ao colesterol - HDL-c reduzido), a hipertensão arterial e a hiperglicemia (119, 120), que aumentam o risco de agravos agudos ou crônicos, como: infarto do miocárdio, acidente vascular encefálico e diabetes *mellitus* (DM) tipo 2 (121). Foi verificado que mulheres obesas apresentaram permeabilidade intestinal alterada, a qual se correlacionou com os componentes da SM, especialmente a CA aumentada e o HDL-c diminuído (122).

Dentre os fatores associados à etiologia da SM, destaca-se o acúmulo de gordura na região do tronco (subcutânea e visceral), fortemente relacionado com a resistência à insulina (123-128), uma vez que este tecido é caracterizado pela excessiva liberação de adipocinas ou metabólitos biologicamente ativos (AGLs, TNF- α , proteína C-reativa - PCR, IL-6, inibidor do ativador de plasminogênio tipo 1- PAI-1 e leptina) (129). Resumidamente, estas substâncias integram cascata de sinalização endócrina, autócrina e parácrina, mediando múltiplos processos: inibição da captação de glicose, redução da sensibilidade à insulina, aumento da síntese de lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL) no fígado e das concentrações plasmáticas das lipoproteínas ricas em TGs, estímulo para o depósito ectópico de gordura no músculo e no fígado, elevação do risco de aterosclerose e maior ativação do sistema nervoso simpático (121, 130).

Acredita-se que a morte celular dos adipócitos seguida por necrose e infiltração de macrófagos no tecido adiposo seja responsável pela deflagração dos mecanismos patofisiológicos da obesidade (131) e da SM (121). Algumas evidências sugerem que a hipóxia se desenvolve à medida que o tecido é expandido e que a redução da tensão de oxigênio provocada pela hipoperfusão ou pelo metabolismo aumentado pode ser o evento precursor da inflamação (132). No entanto, foi observado que a exposição contínua de LPS, assim como dos AGLs, produz

estímulo aumentado à síntese de novas moléculas de TLR4 no retículo endoplasmático que não é compatível com o número de chaperonas, induzindo ao estresse do retículo endoplasmático, que se não for resolvido, ocasiona a ativação de genes que conduzem a apoptose (133, 134). Desta forma, supõe-se que o LPS seja um dos agentes colaboradores para o desenvolvimento do fenótipo da SM por meio da indução do estresse oxidativo e inflamatório no tecido adiposo.

A LBP é proteína de fase aguda sintetizada principalmente pelo fígado e importante na monomerização dos multímeros de LPS, formados após a liberação do mesmo no fluxo sanguíneo, permitindo que moléculasceptoras (CD14, MD-2 e TLR4) reconheçam esta endotoxina (135). Portanto, a LBP é considerada como medida da quantidade de LPS efetiva e biomarcador confiável da carga de endotoxina (136, 137), visto que o LPS apresenta meia-vida curta, concentrações séricas baixas e susceptibilidade considerável às substâncias interferentes (138).

Estudo realizado com 420 espanhóis encontrou maiores concentrações plasmáticas de LBP em indivíduos com SM; dentre os componentes, foi observado que a LBP se associou de maneira independente com a obesidade abdominal e com os baixos níveis de HDL-c, além de se correlacionar positivamente com citocinas pró-inflamatórias (IL-6 e IL-8), CD14 solúvel e enzimas hepáticas (transaminase glutâmico-pirúvica - TGP e gama-glutamil-transferase - GGT) (139). Ao passo que, maiores concentrações plasmáticas de LBP, avaliadas no momento inicial, foram associadas com o aumento longitudinal do percentual de gordura no tronco e com o modelo homeostático de avaliação da resistência à insulina (HOMA-IR) em 580 homens africanos idosos. Naqueles normoglicêmicos, os níveis basais de LBP se relacionaram ao maior risco de possuir a glicemia de jejum comprometida. Tal achado foi atenuado somente após ajuste à gordura do tronco, sugerindo que as associações observadas foram mediadas pela adiposidade central (140).

5.2. Ligações entre a Permeabilidade Intestinal e a Doença Hepática Gordurosa não Alcoólica

Evidências científicas associam o fígado e o intestino em múltiplos níveis de interdependência, nos quais distúrbios neste eixo são implicados em diversas complicações da obesidade, destacando-se a DHGNA (141). A mesma é a causa mais comum de doença hepática no mundo (142), sendo definida pela presença de

acúmulo intracelular de gordura ou esteatose igual ou superior a 5% sem lesões hepáticas na forma de degeneração em balão ou evidências de fibrose (143). A prevalência de DHGNA na população global se altera entre 13,48 a 31,79% dependendo da região, sendo que os maiores valores foram encontrados no Oriente Médio e na América do Sul (144). Na grande maioria dos pacientes, a DHGNA é associada com comorbidades metabólicas, como a obesidade, DM tipo 2 e dislipidemia (143).

O diagnóstico geralmente é dado por meio dos exames de imagem ou histológicos. No entanto, sabe-se que a ultrassonografia leva ao resultado incorreto em 10 a 30% dos casos e não é capaz de distinguir entre esteatose e esteatohepatite (145). Já a biópsia hepática é considerada método padrão ouro, porém é invasiva, dispendiosa e com considerável índice de resultados falso-negativos (146). Neste sentido, foi desenvolvido o índice de gordura hepática (IGH), baseado em algoritmo que considera as variáveis CA, IMC, TGs e GGT para indicar o teor do acúmulo intracelular de gordura hepática (147). O IGH foi validado com o ultrassom em pacientes com e sem suspeita de DGHNA em estudos de coorte ocidentais e orientais (148-150).

O fígado está exposto às substâncias potencialmente prejudiciais (bactérias translocadas, LPS e citocinas secretadas) uma vez que recebe seu suprimento sanguíneo do intestino por meio da veia porta. A principal função deste órgão é remover estes compostos da circulação sistêmica (151). Logo, os mecanismos propostos para explicar a habilidade da microbiota intestinal de influenciar o desenvolvimento da DHGNA incluem disbiose com supercrescimento bacteriano, particularmente das espécies Gram-negativas, alterações na permeabilidade intestinal, elevadas concentrações plasmáticas de LPS que ativam as células inflamatórias hepáticas por meio dos TLRs e ocasionam em resistência à insulina, e redução na disponibilidade hepática de colina (152-154).

Indivíduos com DHGNA apresentaram a permeabilidade intestinal aumentada em relação àqueles sem a doença (155). Outro estudo que realizou comparações entre pacientes saudáveis, portadores de doença celíaca não tratada e indivíduos com DHGNA diagnosticados por biópsia encontrou resultados semelhantes, nos quais os últimos possuíam permeabilidade intestinal aumentada comparada ao grupo saudável, porém foi menor do que a observada em celíacos não tratados. Além disso, foi verificado que tanto a permeabilidade intestinal quanto o

supercrescimento bacteriano na DHGNA correlacionaram-se com a gravidade da doença (156).

Foi observado que obesos mórbidos não diabéticos com DHGNA moderada e grave, diagnosticados por ultrassom e pelo IGH, demonstraram permeabilidade intestinal aumentada, diferente daqueles sem doença. Após a participação em programa para a perda de peso com 12 meses de duração ($- 23,5 \pm 12,3$ kg), notou-se melhora na integridade da barreira intestinal e redução dos níveis circulantes de IL-6. A análise de regressão múltipla encontrou que as variáveis determinantes do IGH foram o IMC, a CA e o marcador de permeabilidade intestinal (teste da lactulose:manitol), sugerindo que a barreira intestinal *leaky* (vazante) está associada a DHGNA (157).

A colina, componente das vitaminas do complexo B e constituinte das membranas celulares, pode ser obtida de maneira exógena na alimentação, com o consumo de carnes vermelhas e ovos; ou pode ser sintetizada endogenamente (158). No fígado, a colina é utilizada na produção da VLDL; nos casos de deficiência deste nutriente, a síntese e a excreção de VLDL se tornam comprometidas, levando ao acúmulo hepático de TGs (153). Em pacientes com grau avançado da DHGNA foi verificado depleção de colina associada com metabolismo aumentado da mesma no intestino e elevadas taxas de *Erysipelotrichia* (filó Firmicutes) (159). Tal gênero é conhecido por catabolizar a colina e produzir a trimetilamina, substância tóxica capaz de causar agressão hepática (159, 160).

6. Considerações Finais

Inúmeras evidências embasam a importância da composição saudável e da função adequada da microbiota intestinal no metabolismo do hospedeiro. O menor sinal de desequilíbrio microbiano acarreta em repercussões sistêmicas que são relacionadas com o desenvolvimento da obesidade e suas comorbidades. Não existem informações suficientes na literatura científica que permitam estabelecer a sequência causal dos eventos em humanos, demonstrando se a disbiose intestinal é primária ao excesso de peso e diretamente promotora das suas comorbidades, ou se é consequência do peso aumentado e agravante das doenças metabólicas. No entanto, sabe-se que hábitos alimentares inadequados são os principais fatores causais da disbiose intestinal.

Além disso, as análises de composição microbiana apresentam demasiada inconsistência nos resultados, dificultando a identificação de modelo estrutural das bactérias intestinais que seja indicativo de alterações na saúde do hospedeiro, devido à alta variabilidade individual e do caráter multifatorial das variáveis que ditam o processo da colonização intestinal. Apesar destas lacunas no conhecimento, pode-se notar que os distúrbios metabólicos relacionados à obesidade apresentam uma condição em comum: a permeabilidade intestinal alterada com influxo de endotoxina (LPS) e metabólitos microbianos à circulação sanguínea, provocando inflamação crônica de baixo grau e resistência à insulina, mecanismos chaves no desenvolvimento dessas doenças. Neste sentido, a avaliação de fatores que regulam a permeabilidade intestinal, tais como: o excesso de peso e o padrão alimentar, assim como de biomarcadores dos níveis de endotoxemia metabólica devem ser encorajados.

Desta forma, evidências sugerem que a exposição a produtos microbianos exerce importante papel no desenvolvimento dos distúrbios metabólicos. A maior compreensão dos processos patológicos relacionados a estes agravos e a elaboração de estratégias, especialmente as nutricionais, que visam à prevenção e o tratamento das doenças da era moderna podem ser alcançadas com o monitoramento de indicadores da permeabilidade intestinal e da endotoxemia metabólica subclínica.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Marsland BJ, Gollwitzer ES. Host-microorganism interactions in lung diseases. *Nature Reviews Immunology*. 2014;14:827–835.
2. Sender R, Fuchs S, Milo R. Revised Estimates for the Number of Human and Bacteria Cells in the Body. *PLoS Biol*. 2016; 14(8):e1002533.
3. Wu H, Tremaroli V, Bäckhed F. Linking Microbiota to Human Diseases: A Systems Biology Perspective. *Trends in Endocrinol Metab*. 2015; 26(12):758-70.
4. Jandhyala SM, Talukdar R, Subramanyam C, Vuyyuru H, Sasikala M, Reddy N. Role of the normal gut microbiota. *World J Gastroenterol*. 2015;21(29):8787-8803.
5. Cerdá B, Pérez M, Pérez-Santiago JD, Tornero-Aguilera JF, González-Soltero R, Larrosa M. Gut Microbiota Modification: Another Piece in the Puzzle of the Benefits of Physical Exercise in Health? *Front Physiol*. 2016;7:51.

6. Qin J, Li R, Raes J, Arumugam M, Burgdorf KS, Manichanh C, et al. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature*. 2010;464(7285):59–65.
7. Turnbaugh PJ, Hamady M, Yatsunencko T, Cantarel BL, Duncan A, Ley RE, et al. A core gut microbiome in obese and lean twins. *Nature*. 2009;457:480–4.
8. Marques FZ, Mackay CR, Kaye DM. Beyond gut feelings: how the gut microbiota regulates blood pressure. *Nat Rev Cardiol*. 2017 Aug 24. doi:10.1038/nrcardio.2017.120.
9. Aron-Wisnewsky J, Clément K. The gut microbiome, diet, and links to cardiometabolic and chronic disorders. *Nat Rev Nephrol*. 2016 Mar;12(3):169-81.
10. Thomas LV, Ockhuizen T. New insights into the impact of the intestinal microbiota on health and disease: a symposium report. *Br J Nutr*. 2012;107(Suppl 1):S1–13.
11. Arena R, Guazzi M, Lianov L, Whitsel L, Berra K, Lavie CJ, et al. Healthy lifestyle interventions to combat noncommunicable disease — a novel nonhierarchical connectivity model for key stakeholders: a policy statement from the American Heart Association, European Society of Cardiology, European Association for Cardiovascular Prevention and Rehabilitation, and American College of Preventive Medicine. *Eur Heart J*. 2015;36:2097–2109.
12. Zhang C, Zhang M, Wang S, Han R, Cao Y, Hua W, et al. Interactions between gut microbiota, host genetics and diet relevant to development of metabolic syndromes in mice. *ISME J*. 2010;4:232–41.
13. Wu GD, Chen J, Hoffmann C, Bittinger K, Chen Y-Y, Keilbaugh SA, et al. Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes. *Science*. 2011;334:105–8.
14. Walker AW, Ince J, Duncan SH, Webster LM, Holtrop G, Ze X, et al. Dominant and diet-responsive groups of bacteria within the human colonic microbiota. *ISME J*. 2011;5:220–30.
15. Koeth RA, Levison BS, Culley MK, Buffa JA, Wang Z, Gregory JC, et al. Gamma-Butyrobetaine is a proatherogenic intermediate in gut microbial metabolism of L-carnitine to TMAO. *Cell Metab*. 2014;20:799–812.
16. Koeth RA, Wang Z, Levison BS, Buffa JA, Org E, Sheehy BT, et al. Intestinal microbiota metabolism of L-carnitine, a nutrient in red meat, promotes atherosclerosis. *Nat Med*. 2013;19:576–85.
17. Conlon MA, Bird AR. The Impact of Diet and Lifestyle on Gut Microbiota and Human Health. *Nutrients*. 2015 Jan; 7(1):17–44.
18. de Vrese M, Schrezenmeir J. Probiotics, prebiotics, and synbiotics. *Adv Biochem Eng Biotechnol*. 2008;111:1–66.

19. Cotillard A, Kennedy SP, Kong LC, Prifti E, Pons N, Le Chatelier E, et al. Dietary intervention impact on gut microbial gene richness. *Nature*. 2013;500:585–8.
20. Costabile A, Klinder A, Fava F, Napolitano A, Fogliano V, Leonard C, et al. Whole-grain wheat breakfast cereal has a prebiotic effect on the human gut microbiota: a double-blind, placebo-controlled, crossover study. *Br J Nutr*. 2008;99:110–20.
21. Carvalho-Wells AL, Helmolz K, Nodet C, Molzer C, Leonard C, McKeivith B, et al. Determination of the in vivo prebiotic potential of a maize-based whole grain breakfast cereal: a human feeding study. *Br J Nutr*. 2010;104:1353–6.
22. Pinzone MR, Celesia BM, DiRosa M, Cacopardo B, Nunnari G. Microbial translocation in chronic liver diseases. *Int J Microbiol*. 2012;2012:694629.
23. Schwartz A, Taras D, Schäfer K, Beijer S, Bos NA, Donus C, et al. Microbiota and SCFA in lean and overweight healthy subjects. *Obesity*. 2010;18:190–5.
24. Chen X, Fruehauf J, Goldsmith JD, Xu H, Katchar KK, Koon H-W, et al. *Saccharomyces boulardii* inhibits EGF receptor signaling and intestinal tumor growth in *Apc(min)* mice. *Gastroenterology*. 2009;137:914–23.
25. Venturi A, Gionchetti P, Rizzello F, Johansson R, Zucconi E, Brigidi P, et al. Impact on the composition of the faecal flora by a new probiotic preparation: preliminary data on maintenance treatment of patients with ulcerative colitis. *Aliment Pharmacol Ther*. 1999;13:1103–8.
26. Sandhu KV, Sherwin E, Schellekens H, Stanton C, Dinan TG, Cryan JF. Feeding the microbiota-gut-brain axis: diet, microbiome, and neuropsychiatry. *Transl Res*. 2016;179:223–44.
27. Ley RE, Bäckhed F, Turnbaugh P, Lozupone CA, Knight RD, Gordon JI. Obesity alters gut microbial ecology. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2005;102:11070–75.
28. David LA, Maurice CF, Carmody RN, Gootenberg DB, Button JE, Wolfe BE, et al. Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome. *Nature*. 2014;505:559–63.
29. Reddy BS, Weisburger JH, Wynder EL. Effects of high risk and low risk diets for colon carcinogenesis on fecal microflora and steroids in man. *J Nutr*. 1975;105:878–84.
30. Russell WR, Gratz SW, Duncan SH, Holtrop G, Ince J, Scobbie L, et al. High-protein, reduced-carbohydrate weight-loss diets promote metabolite profiles likely to be detrimental to colonic health. *Am J Clin Nutr*. 2011;93:1062–72.
31. Świątecka D, Dominika Ś, Narbad A, Arjan N, Ridgway KP, Karyn RP, et al. The study on the impact of glycosylated pea proteins on human intestinal bacteria. *Int J Food Microbiol*. 2011;145:267–72.

32. Meddah AT, Yazourh A, Desmet I, Risbourg B, Verstraete W, Romond MB. The regulatory effects of whey retentate from bifidobacteria fermented milk on the microbiota of the simulator of the human intestinal microbial ecosystem (SHIME). *J Appl Microbiol.* 2001;91:1110–7.
33. Romond MB, Ais A, Guillemot F, Bounouader R, Cortot A, Romond C. Cell-free whey from milk fermented with *Bifidobacterium breve* C50 used to modify the colonic microflora of healthy subjects. *J Dairy Sci.* 1998;81:1229–35.
34. Drasar BS, Crowther JS, Goddard P, Hawksworth G, Hill MJ, Peach S, et al. The relation between diet and the gut microflora in man. *Proc Nutr Soc.* 2007;32:49–52.
35. Fava F, Gitau R, Griffin BA, Gibson GR, Tuohy KM, Lovegrove JA. The type and quantity of dietary fat and carbohydrate alter faecal microbiome and short-chain fatty acid excretion in a metabolic syndrome “at-risk” population. *Int J Obes (Lond).* 2013;37:216–23.
36. Raisch J, Dalmasso G, Bonnet R, Barnich N, Bonnet M, Bringer M-A. How some commensal bacteria would exacerbate colorectal carcinogenesis? *Med Sci.* 2016;32:175–82.
37. Lucke K. Prevalence of *Bacteroides* and *Prevotella* spp. in ulcerative colitis. *J Med Microbiol.* 2006;55:617–24.
38. Wexler HM. *Bacteroides*: the Good, the Bad, and the Nitty-Gritty. *Clin Microbiol Rev.* 2007;20:593–621.
39. Prindiville T. *Bacteroides fragilis* enterotoxin gene sequences in patients with inflammatory bowel disease. *Emerg Infect Dis.* 2000;6:171–4.
40. Ridlon JM, Kang DJ, Hylemon PB, Bajaj JS. Bile acids and the gut microbiome. *Curr Opin Gastroenterol* 2014; 30: 332–38.
41. Cani PD, Amar J, Iglesias MA, Poggi M, Knauf C, Bastelica D, et al. Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance. *Diabetes.* 2007;56:1761–72.
42. Moreira APB, Alfenas RCG. The influence of endotoxemia on the molecular mechanisms of insulin resistance. *Nutr Hosp.* 2012;27:382–390.
43. Mehta NN, McGillicuddy FC, Anderson PD, Hinkle CC, Shah R, Pruscino L, et al. Experimental endotoxemia induces adipose inflammation and insulin resistance in humans. *Diabetes.* 2010;59:172–181.
44. Chakraborti CK. New-found link between microbiota and obesity. *World J Gastrointest Pathophysiol.* 2015 Nov 15;6(4):110–119.
45. Koliada A, Syzenko G, Moseiko V, Budovska L, Puchkov K, Perederiy V, et al. Association between body mass index and Firmicutes/Bacteroidetes ratio in an adult Ukrainian population. *BMC Microbiol.* 2017;17:120.

46. Tuohy KM, Conterno L, Gasperotti M, Viola R. Up-regulating the human intestinal microbiome using whole plant foods, polyphenols, and/or fiber. *J Agric Food Chem*. 2012 Sep 12;60(36):8776-82.
47. Ozdal T, Sela DA, Xiao J, Boyacioglu D, Chen F, Capanoglu E. The reciprocal interactions between polyphenols and gut microbiota and effects on bioaccessibility. *Nutrients*. 2016;8:78.
48. Cardona F, Andres-Lacueva C, Tulipani S, Tinahones FJ, Queipo-Ortuno MI. Benefits of polyphenols on gut microbiota and implications in human health. *J Nutr Biochem* 2013;24:1415–22.
49. Amiot MJ, Riva C, Vinet A. Effects of dietary polyphenols on metabolic syndrome features in humans: a systematic review. *Obes Rev*. 2016;17:573–86
50. Suez J, Korem T, Zeevi D. Artificial sweeteners induce glucose intolerance by altering the gut microbiota. *Nature*. 2014;514:181–86.
51. Chassaing B, Koren O, Goodrich JK, Poole AC, Srinivasan S, Ley RE et al. Dietary emulsifiers impact the mouse gut microbiota promoting colitis and metabolic syndrome. *Nature*. 2015;519:92–96.
52. Bäckhed F, Ding H, Wang T, Hooper LV, Koh GY, Nagy A, et al. The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2004;101:15718–15723.
53. Turnbaugh PJ, Ley RE, Mahowald MA, Magrini V, Mardis ER, Gordon JI. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature* . 2006; 444:1027–1031.
54. Turnbaugh PJ, Bäckhed F, Fulton L, Gordon JI. Diet-induced obesity is linked to marked but reversible alterations in the mouse distal gut microbiome. *Cell Host Microbe*. 2008;3:213–223.
55. Ridaura VK, Faith JJ, Rey FE, Cheng J, Duncan AE, Kau AL, et al. Gut microbiota from twins discordant for obesity modulate metabolism in mice. *Science* 2013;341(6150).
56. Aguirre M, Jonkers DM, Troost FJ, Roeselers G, Venema K. 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*. 2014;9:e113864.
57. Sze MA & Schloss PD. Looking for a signal in the noise: revisiting obesity and the microbiome. *MBio*. 2016 Aug 23;pii:e01018-16.
58. Topping DL, Clifton PM. Short-chain fatty acids and human colonic function: roles of resistant starch and nonstarch polysaccharides. *Physiol Rev*. 2001;81:1031–1064.

59. Nehra V, Allen JM, Mailing LJ, Kashyap PC, Woods JA. Gut Microbiota: Modulation of Host Physiology in Obesity. *Physiology (Bethesda)*. 2016 Sep;31(5):327-35.
60. Everard, A. et al. Intestinal epithelial MyD88 is a sensor switching host metabolism towards obesity according to nutritional status. *Nat Commun*. 2014;5:5648.
61. Le Chatelier E, Nielsen T, Qin J, Prifti E, Hildebrand F, Falony G, et al. Richness of human gut microbiome correlates with metabolic markers. *Nature*. 2013;500:541-6.
62. Bischoff SC, Barbara G, Buurman W, Ockhuizen T, Schulzke JD, Serino M, et al. Intestinal permeability – a new target for disease prevention and therapy. *BMC Gastroenterol*. 2014;14:189.
63. Teixeira TF, Collado MC, Ferreira CL, Bressan J, Peluzio Mdo C. Potential mechanisms for the emerging link between obesity and increased intestinal permeability. *Nutr Res*. 2012 Sep;32(9):637-47.
64. Turner JR. Intestinal mucosal barrier function in health and disease. *Nat Rev Immunol* 2009;9:799–809.
65. Sturgeon C, Fasano A. Zonulin, a regulator of epithelial and endothelial barrier functions, and its involvement in chronic inflammatory diseases. *Tissue Barriers*. 2016 Oct 21;4(4):e1251384.
66. Shimizu M. Interaction between food substances and the intestinal epithelium. *Biosci Biotechnol Biochem*. 2010;74(2):232-41.
67. Pinto S, Robine-Leon S, Appay M-D, Kedinger M, Triadou N, Dussaulx E, et al. Enterocyte like differentiation the human colon carcinoma cell line Caco-2 in culture. *Biol Cell* 1983;47:323-30.
68. Hidalgo IJ, Raub TJ, Borchardt RT. Characterization of the human colon carcinoma cell line (Caco-2) as a model system for intestinal epithelial permeability. *Gastroenterology*. 1989 Mar;96(3):736-49.
69. Hashimoto K, Shimizu M. Epithelial properties of human intestinal Caco-2 cells cultured in a serum-free medium. *Cytotechnology*. 1993;13(3):175-84.
70. Yee S. In vitro permeability across Caco-2 cells (colonic) can predict in vivo (small intestinal) absorption in man--fact or myth. *Pharm Res*. 1997 Jun;14(6):763-6.
71. De Santis S, Cavalcanti E, Mastronardi M, Jirillo E, Chieppa M. Nutritional Keys for Intestinal Barrier Modulation. *Front Immunol*. 2015 Dec 7;6:612.
72. Benson K, Cramer S, Galla HJ. Impedance-based cell monitoring: barrier properties and beyond. *Fluids Barriers CNS*. 2013;10:5.

73. Li N, DeMarco VG, West CM, Andrews EL. Glutamine supports recovery from loss of transepithelial resistance and increase of permeability induced by media change in Caco-2 cells. *J Nutr Biochem*. 2003;14:401–8.
74. Li N, Lewis P, Samuelson D, Liboni K, Neu J. Glutamine regulates Caco-2 cell tight junction proteins. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2004;287:G726–33.
75. Watanabe J, Fukumoto K, Fukushi E, Sonoyama K, Kawabata J. Isolation of tryptophan as an inhibitor of ovalbumin permeation and analysis of its suppressive effect on oral sensitization. *Biosci Biotechnol Biochem*. 2004;68:59–65.
76. Yasumatsu H, Tanabe S. The casein peptide Asn-Pro-Trp-Asp-Gln enforces the intestinal tight junction partly by increasing occludin expression in Caco-2 cells. *Br J Nutr*. 2010;104:951–6.
77. Hashimoto K, Nakayama T, Shimizu M. Effects of beta-lactoglobulin on the tight-junctional stability of Caco-2-SF monolayer. *Biosci Biotechnol Biochem*. 1998;62:1819–21.
78. Lammers KM, Lu R, Brownley J, Lu B, Gerard C, Thomas K, et al. Gliadin induces an increase in intestinal permeability and zonulin release by binding to the chemokine receptor CXCR3. *Gastroenterology*. 2008;135:194.e–204.e.
79. Kong J, Zhang Z, Musch MW, Ning G, Sun J, Hart J, et al. Novel role of the vitamin D receptor in maintaining the integrity of the intestinal mucosal barrier. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2008;294:G208–16.
80. Maciel AA, Oria RB, Braga-Neto MB, Braga AB, Carvalho EB, Lucena HB, et al. Role of retinol in protecting epithelial cell damage induced by *Clostridium difficile* toxin A. *Toxicon*. 2007;50:1027–40.
81. Suzuki T, Hara H. Quercetin enhances intestinal barrier function through the assembly of zonula occludens-2, occludin, and claudin-1 and the expression of claudin-4 in Caco-2 cells. *J Nutr*. 2009;139:965–74.
82. Amasheh M, Schlichter S, Amasheh S, Mankertz J, Zeitz M, Fromm M, et al. Quercetin enhances epithelial barrier function and increases claudin-4 expression in Caco-2 cells. *J Nutr*. 2008;138:1067–73.
83. Suzuki T, Tanabe S, Hara H. Kaempferol enhances intestinal barrier function through the cytoskeletal association and expression of tight junction proteins in Caco-2 cells. *J Nutr*. 2011;141:87–94.
84. Rao RK, Basuroy S, Rao VU, Karnaky KJ Jr, Gupta A. Tyrosine phosphorylation and dissociation of occludin-ZO-1 and E-cadherin-beta-catenin complexes from the cytoskeleton by oxidative stress. *Biochem J*. 2002;368:471–81.
85. Atkinson KJ, Rao RK. Role of protein tyrosine phosphorylation in acetaldehyde induced disruption of epithelial tight junctions. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2001;280:G1280–8.

86. Schmitz H, Fromm M, Bentzel CJ, Scholz P, Detjen K, Mankertz J, et al. Tumor necrosis factor-alpha (TNFalpha) regulates the epithelial barrier in the human intestinal cell line HT-29/B6. *J Cell Sci.* 1999;112:137–46.
87. Watson JL, Ansari S, Cameron H, Wang A, Akhtar M, McKay DM. Green tea polyphenol (-)-epigallocatechin gallate blocks epithelial barrier dysfunction provoked by IFN-gamma but not by IL-4. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2004;287:G954–61.
88. Ye D, Ma I, Ma TY. Molecular mechanism of tumor necrosis factor-alpha modulation of intestinal epithelial tight junction barrier. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2006;290:G496–504.
89. Al-Sadi RM, Ma TY. IL-1beta causes an increase in intestinal epithelial tight junction permeability. *J Immunol.* 2007;178:4641–9.
90. Hashimoto K, Kawagishi H, Nakayama T, Shimizu M. Effect of capsianoside, a diterpene glycoside, on tight-junctional permeability. *Biochim Biophys Acta.* 1997;1323:281–90.
91. Usami M, Muraki K, Iwamoto M, Ohata A, Matsushita E, Miki A. Effect of eicosapentaenoic acid (EPA) on tight junction permeability in intestinal monolayer cells. *Clin Nutr.* 2001;20:351–9.
92. Usami M, Komurasaki T, Hanada A, Ohata A, Matsushita E, Miki A. Effect of gamma-linolenic acid or docosahexaenoic acid on tight junction permeability in intestinal monolayer cells and their mechanism by protein kinase C activation and/or eicosanoid formation. *Nutrition.* 2003;19:150–6.
93. Willemsen LE, Koetsier MA, Balvers M, Beermann C, Stahl B, van Tol EA. Polyunsaturated fatty acids support epithelial barrier integrity and reduce IL-4 mediated permeability in vitro. *Eur J Nutr.* 2008;47:183–91.
94. Anderberg EK, Lindmark T, Artursson P. Sodium caprate elicits dilatations in human intestinal tight junctions and enhances drug absorption by the paracellular route. *Pharm Res.* 1993;10:857–64.
95. Lindmark T, Nikkila T, Artursson P. Mechanisms of absorption enhancement by medium chain fatty acids in intestinal epithelial Caco-2 cell monolayers. *J Pharmacol Exp Ther.* 1995;275:958–64.
96. Bordin M, D'Atri F, Guillemot L, Citi S. Histone deacetylase inhibitors up-regulate the expression of tight junction proteins. *Mol Cancer Res.* 2004;2:692–701.
97. Suzuki T, Yoshida S, Hara H. Physiological concentrations of short-chain fatty acids immediately suppress colonic epithelial permeability. *Br J Nutr.* 2008;100:297–305.

98. Finamore A, Massimi M, Conti Devirgiliis L, Mengheri E. Zinc deficiency induces membrane barrier damage and increases neutrophil transmigration in Caco-2 cells. *J Nutr.* 2008;138:1664–70.
99. Ma TY, Nguyen D, Bui V, Nguyen H, Hoa N. Ethanol modulation of intestinal epithelial tight junction barrier. *Am J Physiol.* 1999;276:G965–74.
100. Ferrier L, Berard F, Debrauwer L, Chabo C, Langella P, Buéno L, et al. Impairment of the intestinal barrier by ethanol involves enteric microflora and mast cell activation in rodents. *Am J Pathol.* 2006;168:1148–54.
101. Rao RK. Acetaldehyde-induced increase in paracellular permeability in Caco-2 cell monolayer. *Alcohol Clin Exp Res.* 1998;22:1724–30.
103. Sheth P, Seth A, Atkinson KJ, Gheyi T, Kale G, Giorgianni F, et al. Acetaldehyde dissociates the PTP1B-E-cadherin-beta-catenin complex in Caco-2 cell monolayers by a phosphorylation-dependent mechanism. *Biochem J.* 2007;402:291–300.
104. Schipper NG, Olsson S, Hoogstraate JA, de Boer AG, Vårum KM, Artursson P. Chitosans as absorption enhancers for poorly absorbable drugs 2: mechanism of absorption enhancement. *Pharm Res.* 1997;14:923–9.
105. Mine Y and Zhang JW. Surfactants enhance the tight-junction permeability of food allergens in human intestinal epithelial Caco-2 cells. *International Archives of Allergy and Immunology.* 2003;130:135–42.
106. Gleeson JP, Heade J, Ryan SM, Brayden DJ. Stability, toxicity and intestinal permeation enhancement of two food-derived antihypertensive tripeptides, Ile Pro-Pro and Leu Lys-Pro. *Peptides.* 2015;71:1–7.
107. Tripathi A, Lammers KM, Goldblum S, Shea-Donohue T, Netzel-Arnett S, Buzza MS, et al. Identification of human zonulin, a physiological modulator of tight junctions, as prehaptoglobin-2. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2009;106:16799-804.
108. Moreno-Navarrete JM, Sabater M, Ortega F, Ricart W, Fernández-Real JM. Circulating zonulin, a marker of intestinal permeability, is increased in association with obesity-associated insulin resistance. *PLoS One.* 2012;7(5):e37160.
109. Cani PD, Delzenne NM. The gut microbiome as therapeutic target. *Pharmacol Ther.* 2011;130:202–212.
110. Moreira AP, Texeira TF, Ferreira AB, Peluzio Mdo C, Alfenas Rde C. Influence of a high-fat diet on gut microbiota, intestinal permeability and metabolic endotoxaemia. *Br J Nutr.* 2012 Sep;108(5):801-9.
111. Hotamisligil GS. Inflammatory pathways and insulin action. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2003;27:S53–S55.

112. Song MJ, Kim KH, Yoon JM, Kim JB. Activation of Tolllike receptor 4 is associated with insulin resistance in adipocytes. *Biochem Biophys Res Commun.* 2006;346:739–745.
113. Pan ZK. Toll-like receptors and TLR-mediated signaling: more questions than answers. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2004;286:L918–L920.
114. Boden G. Obesity and free fatty acids. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2008 Sep;37(3):635-46, viii-ix.
115. Dandona P, Ghanim H, Bandyopadhyay A, Korzeniewski K, Ling Sia C, Dhindsa S, et al. Insulin suppresses endotoxin-induced oxidative, nitrosative, and inflammatory stress in humans. *Diabetes Care.* 2010;33:2416–2423.
116. Agwunobi AO, Reid C, Maycock P, Little RA, Carlson GL. Insulin resistance and substrate utilization in human endotoxemia. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000;85:3770–3778.
117. Kallio KA, Hätönen KA, Lehto M, Salomaa V, Männistö S, Pussinen PJ. Endotoxemia, nutrition, and cardiometabolic disorders. *Acta Diabetol.* 2015 Apr;52(2):395-404.
118. Liu X1, Lu L, Yao P, Ma Y, Wang F, Jin Q, et al. Lipopolysaccharide binding protein, obesity status and incidence of metabolic syndrome: a prospective study among middle-aged and older Chinese. *Diabetologia.* 2014 Sep;57(9):1834-41.
119. National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) final report. *Circulation.* 2002;106:3143–3421.
120. Grundy SM, Cleeman JI, Merz CN, et al. Diagnosis and Management of the Metabolic Syndrome. An American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement. *Circulation.* 2005;112:2735-2752
121. Kaur J. A comprehensive review on metabolic syndrome. *Cardiol Res Pract.* 2014:943162.
122. Teixeira TF, Souza NC, Chiarello PG, Franceschini SC, Bressan J, Ferreira CL, et al. Intestinal permeability parameters in obese patients are correlated with metabolic syndrome risk factors. *Clin Nutr.* 2012 Oct;31(5):735-40.
123. Abate N, Garg A, Peshock RM, Stray-Gundersen J, Grundy SM. Relationships of generalized and regional adiposity to insulin sensitivity in men. *J Clin Invest.* 1995;96:88 –98.
124. Abate N, Garg A, Peshock RM, Stray-Gundersen J, Adams-Huet B, Grundy SM. Relationship of generalized and regional adiposity to insulin sensitivity in men with NIDDM. *Diabetes.* 1996;45:1684 –1693.

125. Goodpaster BH, Thaete FL, Simoneau JA, Kelley DE. Subcutaneous abdominal fat and thigh muscle composition predict insulin sensitivity independently of visceral fat. *Diabetes*. 1997;46:1579–1585.
126. Kelley DE, Thaete FL, Troost F, Huwe T, Goodpaster BH. Subdivisions of subcutaneous abdominal adipose tissue and insulin resistance. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2000;278:E941–E948.
127. Sites CK, Calles-Escandon J, Brochu M, Butterfield M, Ashikaga T, Poehlman ET. Relation of regional fat distribution to insulin sensitivity in postmenopausal women. *Fertil Steril*. 2000;73:61–65.
128. Nielsen S, Guo Z, Johnson CM, Hensrud DD, Jensen MD. Splanchnic lipolysis in human obesity. *J Clin Invest*. 2004;113:1582–1588.
129. D. C.W. Lau, B. Dhillon, H. Yan, P. E. Szmitko, and S. Verma, “Adipokines: molecular links between obesity and atherosclerosis,” *The American Journal of Physiology—Heart and Circulatory Physiology*, vol. 288, no. 5, pp. H2031–H2041, 2005.
130. Vergès B. Pathophysiology of diabetic dyslipidaemia: where are we? *Diabetologia*. 2015; 58(5):886–899.
131. Reilly SM, Saltiel AR. Adapting to obesity with adipose tissue inflammation. *Nat Rev Endocrinol*. 2017 Nov;13(11):633-643.
132. Lee YS, Kim JW, Osborne O, Oh DY, Sasik R, Schenk S, et al. Increased adipocyte O₂ consumption triggers HIF-1 α , causing inflammation and insulin resistance in obesity. *Cell*. 2014 Jun 5;157(6):1339-52.
133. Velloso LA, Folli F1, Saad MJ. TLR4 at the Crossroads of Nutrients, Gut Microbiota, and Metabolic Inflammation. *Endocr Rev*. 2015 Jun;36(3):245-71.
134. Kim R, Emi M, Tanabe K, Murakami S. Role of the unfolded protein response in cell death. *Apoptosis*. 2006 Jan;11(1):5-13.
135. Schumann RR. Old and new findings on lipopolysaccharide-binding protein: a soluble pattern-recognition molecule. *Biochem Soc Trans*. 2011 Aug;39(4):989-93.
136. Schumann RR, Leong SR, Flaggs GW, Gray PW, Wright SD, Mathison JC, et al. Structure and function of lipopolysaccharide binding protein. *Science*. 1990;249:1429–1433.
137. Lepper P, Schumann C, Triantafilou K, Rasche F, Schuster T, Frank H, et al. Association of lipopolysaccharide-binding protein and coronary artery disease in men. *J Am Coll Cardiol*. 2007;50:25–31.
138. Novitsky TJ. Limitations of the Limulus amoebocyte lysate test in demonstrating circulating lipopolysaccharides. *Ann NY Acad Sci*. 1998;851:416–421.

139. Gonzalez-Quintela A, Alonso M, Campos J, Vizcaino L, Loidi L, Gude F. Determinants of Serum Concentrations of Lipopolysaccharide-Binding Protein (LBP) in the Adult Population: The Role of Obesity. *PLoS One*. 2013;8(1):e54600.
140. Tilves CM, Zmuda JM, Kuipers AL, Nestlerode CS, Evans RW, Bunker CH, et al. Association of Lipopolysaccharide-Binding Protein With Aging- Related Adiposity Change and Prediabetes Among African Ancestry Men. *Diabetes Care*. 2016 Mar;39(3):385-91.
141. Compare D, Coccoli P, Rocco A, Nardone OM, De Maria S, Cartenì M, et al. Gut–liver axis: the impact of gut microbiota on non alcoholic fatty liver disease. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 22, 471–476 (2012).
142. Vernon G, Baranova A, Younossi ZM. Systematic review: the epidemiology and natural history of non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis in adults. *Aliment Pharmacol Ther*. 2011;34:274–85.
143. Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, Charlton M, Cusi K, Rinella M, et al. The diagnosis and management of nonalcoholic fatty liver disease: Practice guidance from the American Association for the Study of Liver Diseases. *Hepatology*. 2017 Jul 17. doi: 10.1002/hep.29367.
144. Younossi ZM, Koenig AB, Abdelatif D, Fazel Y, Henry L, Wymer M. Global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease-Meta-analytic assessment of prevalence, incidence, and outcomes. *HEPATOLOGY* 2016;64:73-84.
145. Hamaguchi M, Kojima T, Takeda N, Nakagawa T, Taniguchi H, Fujii K, et al. The metabolic syndrome as a predictor of nonalcoholic fatty liver disease. *Ann Intern Med*. 2005 Nov 15;143(10):722-8.
146. Ratziu V, Charlotte F, Heurtier A, Gombert S, Giral P, Bruckert E, et al. Sampling variability of liver biopsy in nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology*. 2005 Jun;128(7):1898-906.
147. Bedogni G, Bellentani S, Miglioli L, Masutti F, Passalacqua M, Castiglione A, et al. The Fatty Liver Index: a simple and accurate predictor of hepatic steatosis in the general population. *BMC Gastroenterol*. 2006 Nov 2;6:33.
148. Jiang ZY, Xu CY, Chang XX, Li WW, Sun LY, Yang XB, et al. Fatty liver index correlates with non-alcoholic fatty liver disease, but not with newly diagnosed coronary artery atherosclerotic disease in Chinese patients. *BMC Gastroenterol*. 2013 Jul 8;13:110.
149. Koehler EM, Schouten JN, Hansen BE, Hofman A, Stricker BH, Janssen HL. External validation of the fatty liver index for identifying nonalcoholic fatty liver disease in a population-based study. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2013 Sep;11(9):1201-4.

150. Machado MV, Pinto HC. Non-invasive diagnosis of non-alcoholic fatty liver disease. A critical appraisal. *May* 2013 58(5):1007–1019.
151. Than NN, Newsome PN. A concise review of non-alcoholic fatty liver disease. *Atherosclerosis*. 2015;239,192–202.
152. Mehal WZ. The Gordian Knot of dysbiosis, obesity and NAFLD. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2013 Nov;10(11):637-44.
153. Leung C, Rivera L, Furness JB, Angus PW. The role of the gut microbiota in NAFLD. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2016 Jul;13(7):412-25.
154. Mokhtari Z, Gibson DL, Hekmatdoost A. Nonalcoholic Fatty Liver Disease, the Gut Microbiome, and Diet. *Adv Nutr*. 2017;8:240–52.
155. Volynets V, Küper MA, Strahl S, Maier IB, Spruss A, Wagnerberger S, et al. Nutrition, intestinal permeability, and blood ethanol levels are altered in patients with nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Dig Dis Sci*. 2012;57:1932–1941.
156. Miele L, Valenza V, La Torre G, Montalto M, Cammarota G, Ricci R, et al. Increased intestinal permeability and tight junction alterations in nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 2009;49:1877–1887
157. Damms-Machado A, Louis S, Schnitzer A, Volynets V, Rings A, Basrai M, et al. Gut permeability is related to body weight, fatty liver disease, and insulin resistance in obese individuals undergoing weight reduction. *Am J Clin Nutr*. 2017 Jan;105(1):127-135.
158. Wang Z, Klipfell E, Bennett BJ, Koeth R, Levison BS, DuGar B, et al. Gut flora metabolism of phosphatidylcholine promotes cardiovascular disease. *Nature* 2011;472:57–63.
159. Spencer MD, Hamp TJ, Reid RW, Fischer LM, Zeisel SH, Fodor AA. Association between composition of the human gastrointestinal microbiome and development of fatty liver with choline deficiency. *Gastroenterology*. 2011;140:976–986.
160. Dumas ME, Barton RH, Teye A, Cloarec O, Blancher C, Rothwell A, et al. Metabolic profiling reveals a contribution of gut microbiota to fatty liver phenotype in insulin-resistant mice. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2006;103:12511–12516.

Capítulo II
Artículo Científico

RESUMO

Nunes CNM, Burini RC. **Determinantes comportamentais e clínico-bioquímicos patológicos da concentração da proteína ligadora de lipopolissacarídeo no plasma de mulheres ingressantes em um programa para mudança do estilo de vida.** Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2018.

O aumento da permeabilidade intestinal promove o influxo de toxinas bacterianas do lúmen intestinal para o interior do hospedeiro, desencadeando em resposta inflamatória de baixo grau, semelhante à observada na expansão do tecido adiposo e na etiologia das doenças crônicas. Foi realizado estudo transversal para identificar os determinantes das concentrações plasmáticas de proteína ligadora de lipopolissacarídeo (LBP) em mulheres adultas ingressantes em programa para mudança do estilo de vida. Foram avaliadas 74 mulheres com idade entre 35 a 67 anos, as quais foram submetidas à avaliação sociodemográfica e clínica, antropométrica, de composição corporal e consumo alimentar, coleta sanguínea e bioquímica padrão. Todas as análises foram efetuadas pelo programa estatístico SPSS versão 19.0, e o nível de significância adotado foi de 5%. Observou-se que as concentrações da LBP foram significativamente maiores em mulheres com excesso de peso e que este biomarcador apresentou correlações moderadas com a circunferência abdominal, a pressão arterial e com o índice de gordura hepática. Similarmente, notou-se que a ingestão de frutose e de gordura poli-insaturada, a pressão arterial diastólica, a transaminase glutâmico-pirúvica e o percentual de gordura corporal total, influenciaram os níveis plasmáticos da LBP de maneira independente das demais variáveis. Desta forma, o presente estudo demonstra que a LBP está relacionada a dois componentes da síndrome metabólica e ao acúmulo hepático de gordura em mulheres adultas. Elevações plasmáticas deste biomarcador podem refletir o consumo de alimentos industrializados, o excesso de peso e as alterações metabólicas que são provocadas ou agravadas pela permeabilidade intestinal aumentada.

Palavras-chave: consumo alimentar, doença hepática gordurosa não alcoólica, proteína ligadora de lipopolissacarídeo, síndrome metabólica.

ABSTRACT

Nunes CNM, Burini RC. **Behavioral and clinical-biochemical determinants of lipopolysaccharide binding protein concentration in plasma of entering women in a lifestyle modification program.** Thesis (Master) – Botucatu Medical School, São Paulo State University, Botucatu, 2018.

Increased intestinal permeability promotes the influx of bacterial toxins from the intestinal lumen into the host, triggering low grade inflammatory response similar to that observed in the expansion of adipose tissue and in the etiology of chronic diseases. A cross-sectional study was conducted in adult women to identify the determinants of plasma lipopolysaccharide binding protein (LBP) concentrations in adult women entering a lifestyle modification program. A total of 74 women aged 35-67 years were assessed, which were submitted to sociodemographic and clinical, anthropometric, body composition and food consumption evaluations, blood collection and standard biochemistry. All analyzes were performed by the SPSS software version 19.0 and the significance level adopted was 5%. It was observed that LBP concentrations were significantly higher in overweight women and this biomarker showed moderate correlations with waist circumference, blood pressure and liver fat index. Similarly, the ingestion of fructose and polyunsaturated fat, diastolic blood pressure, glutamic-pyruvic transaminase and total body fat percentage influenced plasma LBP levels independently of the other variables. Thus, the present study demonstrates that LBP is related to two components of metabolic syndrome and to the hepatic accumulation of fat in adult women. Plasma elevations of this biomarker may reflect consumption of processed foods, overweight, and metabolic changes that are caused by increased intestinal permeability.

Keywords: non-alcoholic fatty liver disease, food consumption, lipopolysaccharide binding protein, metabolic syndrome.

1. INTRODUÇÃO

Em 2015, a epidemia do excesso de peso afligiu mais de 2,2 bilhões de pessoas em todo o mundo, dos quais aproximadamente 604 milhões de adultos apresentavam obesidade (1). Este distúrbio metabólico é caracterizado pela inflamação crônica de baixo grau, uma vez que a ingestão calórica excessiva promove contínua hipertrofia dos adipócitos, resultando em secreção de substâncias quimioatraentes de macrófagos e na infiltração e ativação das células imune no tecido adiposo (2). Como consequência, ocorre produção aumentada de mediadores inflamatórios, tais como o fator de necrose tumoral- α (TNF- α) que ao se ligar aos receptores de membrana inibe a fosforilação do substrato do receptor de insulina, promovendo alterações na homeostase glicêmica (2, 3).

Evidências sugerem que a distribuição da gordura corporal, especialmente o excesso na região abdominal, desempenha papel importante na etiologia da síndrome metabólica (SM) (4), que pode ser definida como conjunto de fatores de risco inter-relacionados, incluindo a dislipidemia aterogênica, a hipertensão arterial e a glicemia elevada, os quais promovem diretamente as doenças cardiovasculares (DCV) ateroscleróticas e o diabetes *mellitus* (DM) tipo 2 (5). A hiperadiposidade localizada no tronco apresenta liberação incomum de ácidos graxos livres, agravando o quadro pró-inflamatório e a resistência à insulina, o que contribui para o depósito de gordura ectópica no fígado (6-8). O acúmulo intracelular de gordura, na ausência de outras lesões e de fibrose, predispõe a doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) (9, 10) que recentemente foi apontada como manifestação hepática da SM (11).

Atrelada ao crescimento exponencial do excesso de peso, a prevalência de SM acomete cerca de 34% da população norte americana adulta (12) e 30% dos brasileiros com idade entre 19 a 64 anos (13). Além disso, a presença da SM é capaz de aumentar em quatro e 11 vezes o risco de desenvolvimento da DHGNA em homens e mulheres, respectivamente (11), a qual constitui a principal causa de doença hepática, afetando 25% da população mundial adulta com taxa de mortalidade total de 11,77 por 1000 pessoas ao ano (14). Recentemente, foi verificado que além dos fatores tradicionais ligados ao estilo de vida não saudável, a composição da microbiota e a integridade da barreira intestinal desempenham papel crucial na progressão da obesidade e das suas complicações (15-21).

O aumento da permeabilidade intestinal, provocado pela disbiose, o excesso de peso e o padrão alimentar inadequado, possui como principal consequência o influxo de toxinas bacterianas do lúmen para o interior do hospedeiro, tais como o lipopolissacarídeo (LPS) que é o principal componente da parede celular das bactérias Gram-negativas (22). Elevações na concentração desta endotoxina podem desencadear a inflamação local ou atingir a circulação sanguínea e induzir a inflamação sistêmica por meio da ativação dos receptores do tipo *Toll* (TLR) (23-26), resultando em resistência à insulina mediante a produção de citocinas pró-inflamatórias (27). Desta forma, a translocação de LPS pode ser considerada como via alternativa para indução da resposta inflamatória crônica, semelhante à observada na expansão do tecido adiposo e na etiologia da SM e da DHGNA.

A dosagem de produtos bacterianos em fluidos biológicos apresenta limitações significantes (28), particularmente o LPS que possui meia-vida curta, concentrações séricas baixas e susceptibilidade considerável às substâncias interferentes (29). Estudos que buscavam avaliar os níveis plasmáticos de LPS em humanos com a permeabilidade intestinal aumentada falharam em demonstrar resultados significativos (30, 31), sugerindo que a medida de outras moléculas participantes da cascata de reconhecimento do LPS seria mais efetiva. Desta forma, a proteína ligadora de lipopolissacarídeo (LBP), sintetizada principalmente no fígado como proteína de fase aguda e responsável por melhorar a sensibilidade dos aceptores de LPS nas células imune (32), é considerada como melhor marcador da endotoxemia metabólica subclínica (33-37).

No entanto, pesquisas da distribuição de LPB na população geral são escassas. Liu et al. (38) observaram que os níveis plasmáticos elevados de LBP foram associados com risco aumentado de desenvolver SM em chineses adultos de meia idade, especialmente naqueles com peso normal. Ao passo que Kim et al. (39) verificaram que o índice de massa corporal (IMC) e o modelo homeostático de avaliação da resistência à insulina (HOMA-IR) foram positivamente e independentemente associados com a LBP plasmática. Apesar de tais achados, ainda permanece limitado o entendimento de como este marcador interage com os distúrbios metabólicos e os fatores do estilo de vida, especialmente aqueles relacionados ao padrão alimentar, uma vez que a dieta é potente modulador da composição da microbiota e da permeabilidade intestinal (40, 22).

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Avaliar os determinantes das concentrações plasmáticas de LBP em mulheres adultas ingressantes em programa para mudança do estilo de vida.

2.2. Objetivos Específicos

- Determinar as características sociodemográficas, o estado nutricional, os desvios metabólicos e o padrão alimentar da amostra.
- Investigar associações e analisar o comportamento da LBP nos componentes da SM e no indicador de DHGNA.
- Verificar a influência dos fatores sociodemográficos, clínicos, nutricionais e bioquímicos nos níveis de LBP.

3. METODOLOGIA

3.1. Delineamento do Estudo

Foi realizado estudo transversal de caráter descritivo em parceria com o programa para mudança do estilo de vida “Mexa-se Pró-Saúde”, no qual indivíduos de ambos os sexos e acima de 35 anos se apresentam em busca da prática regular de exercícios físicos e de aconselhamento nutricional. Esse programa é conduzido pelos profissionais do Centro de Metabolismo em Exercício e Nutrição (CeMENutri) desde 1991. Após a inscrição, os ingressantes são submetidos às avaliações iniciais, nas quais se investiga dados sociodemográficos, clínicos, antropométricos, dietéticos e bioquímicos.

Todos os participantes foram informados sobre os procedimentos a serem realizados e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido conforme a Resolução 466 de 12 de outubro de 2012 do Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina de Botucatu, que aprovou o presente estudo em 01 de agosto de 2016 sob nº 1.658.704 (**Anexo 1**).

3.2. População do Estudo

A seleção da amostra ocorreu entre agosto de 2016 a março de 2017, incluindo inicialmente 93 mulheres adultas que se apresentaram em demanda espontânea e completaram as avaliações iniciais. No entanto, foram excluídas aquelas que possuíam consumo de álcool elevado (> 14 g/dia) (41), relataram ingestão dietética muito baixa em calorias (< 800 kcal) (42), não compareceram na coleta sanguínea e demonstraram informações clínicas e bioquímicas ausentes. Não foram incluídas no estudo mulheres que utilizavam medicamentos anti-inflamatórios esteroidais, pois tais fármacos agem como agonistas para síntese de LBP (43).

Por fim, o estudo contou com 74 mulheres adultas que foram divididas segundo a classificação do IMC em três grupos: eutrofia (IMC = 18,5 a 24,9 kg/m²), sobrepeso (IMC = 25 a 29,9 kg/m²) e obesidade (IMC ≥ 30 kg/m²) (44) (**Figura 1**). Considerando o estudo de Vors *et al.*, baseando-se em indivíduos obesos e não obesos nas medidas de LBP, assumindo erros do tipo 1 e 2, de 5 a 20%, respectivamente, estimou-se ser necessário avaliar no mínimo 12 pacientes por grupo (45).

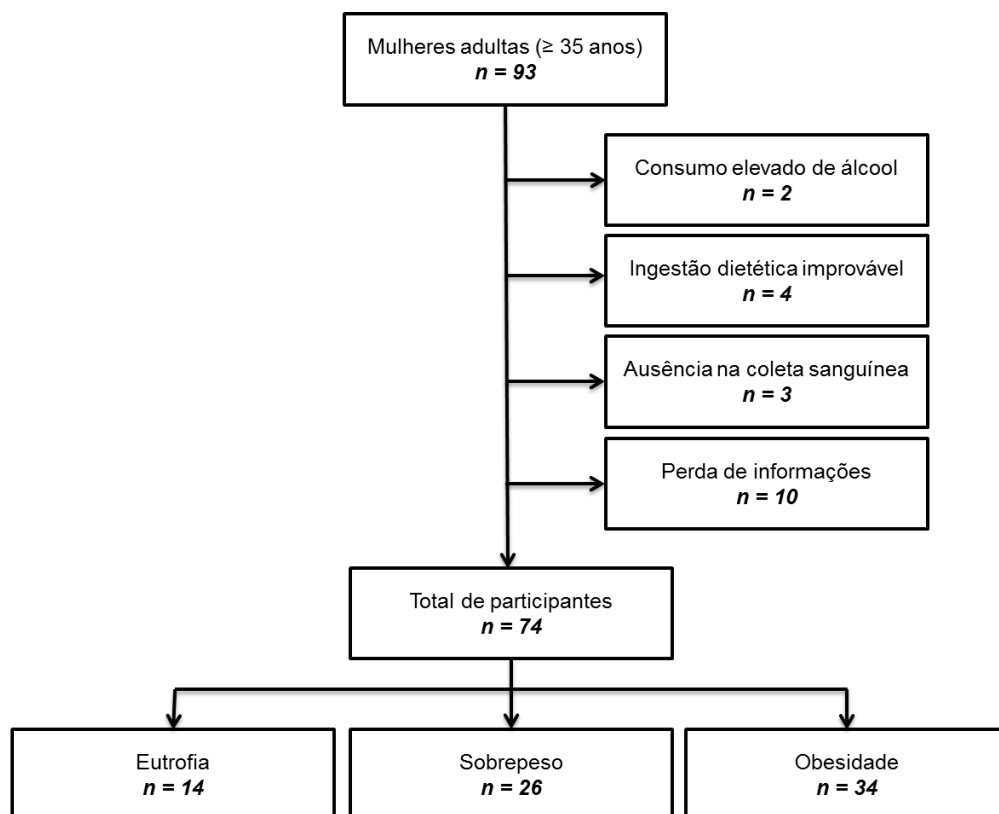


Figura 1. Fluxograma da população do estudo

3.3. Caracterização Sociodemográfica e Avaliação Clínica

O histórico pessoal e familiar para doenças crônicas (DM tipo 2, obesidade, hipertensão, câncer, osteoporose e afecções cardíacas) foi verificado por meio de anamnese clínica com intuito de identificar possíveis condições patológicas.

Para avaliar o nível de atividade física (NAF) e as características sociodemográficas (idade, sexo, estado civil, renda familiar e escolaridade) foi utilizado o questionário internacional de atividade física (IPAQ) (versão 8 - forma longa) (46). O NAF foi considerado adequado quando se completou no mínimo 150 minutos de atividade física aeróbia moderada ou 75 minutos de atividade física aeróbia vigorosa semanalmente (47).

A pressão arterial sistólica (PAS) e a diastólica (PAD) foram aferidas com indivíduo na posição sentada, de acordo com a VII Diretriz Brasileira de Hipertensão Arterial (48). Foram realizadas três medidas com intervalo de um minuto entre elas, sendo considerado o valor médio das duas últimas aferições.

3.4. Medidas Antropométricas e Composição Corporal

O peso corporal foi mensurado em balança antropométrica tipo plataforma (Filizola®, Brasil), graduada a cada 100 gramas, capacidade de 150 kg e precisão de 0,1kg. A estatura foi determinada em estadiômetro portátil (SECA®) com precisão de 0,1cm. Em seguida, foi calculado o IMC ($IMC = \text{peso}_{(kg)} / \text{estatura}_{(m)}^2$) e classificado segundo os critérios previamente descritos (44).

A circunferência abdominal (CA) foi aferida no ponto médio entre o último arco costal e a crista íliaca (49), por meio de fita milimétrica de metal inextensível e inelástica, com precisão de 0,1 cm. O diâmetro abdominal sagital (DAS) foi avaliado com *caliper* abdominal de haste móvel e subdivisão de 0,1 cm (Holtain®, Ltd.; Dyfed, Wales, UK), e a medida foi tomada na altura da cicatriz umbilical após a expiração normal com indivíduo deitado na posição supino (50). Valores acima de 20,1 cm foram adotados como ponto de corte do DAS para identificar a adiposidade central em mulheres (51).

O exame de impedância bioelétrica (Biodinâmics®, modelo 450, USA) foi realizado para avaliar a distribuição dos compartimentos corporais. Assim, as

participantes foram orientadas a seguir preparatório nas 24 horas precedentes ao teste, no qual deveriam ingerir 1,5 a 2 litros de água, abster-se de exercícios físicos, alimentos e bebidas contendo cafeína e álcool; e se apresentar em jejum de no mínimo quatro horas.

Posteriormente a obtenção do valor de resistência (ohm), foi calculado a massa livre de gordura (MLG) segundo equação proposta por Segal et al. (52), e determinado a quantidade massa muscular (MM) por meio da equação de Janssen et al. (53) (**Tabela 1**).

Foi calculado o índice de massa muscular (IMM) por meio da equação ($\text{IMM (kg/m}^2\text{)} = \text{MM (kg)/estatura}^2$) proposta por Baumgartner et al. (54). As mulheres foram classificadas com incapacidade muscular (sarcopenia) leve ou grave quando $\text{IMM} \leq 6,75 \text{ kg/m}^2$ (55).

A gordura absoluta (GA) foi estimada pela subtração do peso corporal menos a MLG, e calculado o percentual de gordura corporal (%GC) pela multiplicação da GA por 100, dividindo o produto pelo peso corporal. Para a classificação do %GC foi utilizado as recomendações de Borges et al. (56).

Tabela 1. Equações utilizadas para estimar a Massa Livre de Gordura (MLG) e a Massa Muscular (MM)

Autores	Equações
Segal et al. (1988)	<i>Mulheres com IMC < 30 kg/m²</i>
	$\text{MLG (kg)} = 0,00064602 \times (\text{Estatura}_{(\text{cm})}^2) - 0,01397 \times (\text{Resistência}_{(\text{ohms})}) + 0,42087 \times (\text{Peso}_{(\text{kg})}) - 0,07012 \times (\text{Idade}_{(\text{anos})}) + 10,43485$
	<i>Mulheres com IMC \geq 30 kg/m²</i>
	$\text{MLG (kg)} = 0,00091186 \times (\text{Estatura}_{(\text{cm})}^2) - 0,01466 \times (\text{Resistência}_{(\text{ohms})}) + 0,29990 \times (\text{Peso}_{(\text{kg})}) - 0,07012 \times (\text{Idade}_{(\text{anos})}) + 9,37938$
Janssen et al. (2000)	$\text{MM (kg)} = [(\text{Estatura}_{(\text{cm})}^2 / \text{Resistência}_{(\text{ohms})}) \times 0,401] + (0 \times 3,825) + (\text{Idade}_{(\text{anos})} \times (-0,071)) + 5,102$

3.5. Avaliação do Consumo Alimentar

A ingestão dietética foi estimada mediante aplicação do registro alimentar, no qual, as participantes, devidamente instruídas, documentaram alimentos e bebidas consumidos ao longo de dois dias de semana não consecutivos e um dia de final de semana (57). Todos os dados foram conferidos por profissional treinado a fim de

obter informações precisas no que diz respeito à: frequência de consumo, variedade e marca do alimento, forma de preparação e tamanho da porção.

Os itens alimentares foram convertidos em gramas e mililitros com o auxílio da tabela para avaliação do consumo alimentar em medidas caseiras (58). Preparações culinárias elaboradas em casa ou em restaurantes foram desmembradas e os ingredientes utilizados na receita foram avaliados separadamente. Os registros foram calculados pelo programa *Nutrition Data System for Research*® (versão 2010, *Nutrition Coordinating Center, University of Minnesota, Minneapolis, Minnesota*). Para os valores de energia, nutrientes, índice glicêmico (IG) e carga glicêmica (CG), fornecidos pelo programa, considerou-se a média dos três relatos obtidos de cada participante.

3.5.1. Indicadores da Qualidade da Dieta

A qualidade da dieta foi avaliada pelo índice de alimentação saudável adaptado (IAS-ad) com base na Pirâmide Alimentar Brasileira (59). O IAS-ad foi modificado pela equipe de nutricionistas do CeMENutri, a partir do índice de alimentação saudável americano, utilizando as porções estabelecidas pela pirâmide alimentar brasileira (60).

Deste modo, para a pontuação do IAS-ad foram considerados a ingestão energética dos oito grupos alimentares da pirâmide (cereais, pães, tubérculos e raízes, frutas, hortaliças, carnes e ovos, leite e derivados, leguminosas e oleagionosas, açúcares e doces, e óleos e gorduras), a porcentagem de gordura total e gordura saturada, quantidade de colesterol dietético e a variedade da dieta (representada pela contagem de alimentos diferentes consumidos durante o dia). A dieta foi classificada de má qualidade quando o IAS-ad foi menor do que 71 pontos, precisando de melhorias de 71 a 100 pontos e de boa qualidade acima de 100 pontos.

Foram utilizadas as razões carboidrato/fibras e sódio/potássio (Na/K) para investigar o consumo de alimentos processados e ultraprocessados, uma vez que valores acima de 10 (61) e 1,0 (62), respectivamente, indicam ingestão elevada de produtos alimentícios contendo carboidratos refinados e sódio.

3.5.2. Nível de Processamento da Dieta

Foi utilizado o nível de processamento da dieta para classificar os alimentos consumidos em três grupos de acordo com a extensão e finalidade dos procedimentos industriais aplicados a eles (63, 64). Esta metodologia tem sido utilizada em diversos estudos nacionais (65, 66) e internacionais (67-70).

O primeiro grupo inclui alimentos *in natura* e minimamente processados (cereais, frutas, hortaliças, leguminosas, oleaginosas, carnes, ovos, leite, iogurte natural, raízes, tubérculos, café, chás e água), em que poucas técnicas, principalmente físicas, são empregadas com intuito de preservá-los e torná-los mais seguros, acessíveis e palatáveis. O segundo grupo se refere aos ingredientes culinários processados (óleos vegetais, manteiga, banha de porco, açúcares, sal, amido, farinhas e massas frescas), nos quais substâncias de alimentos frescos ou minimamente processados são extraídas e purificadas por meio de métodos físicos e químicos, tais como: pressão, moagem, refinação, trituração e pulverização. Estes alimentos também podem conter enzimas e aditivos alimentares (63, 64).

O terceiro grupo envolve produtos processados ou ultraprocessados, prontos para comer ou aquecer, sem nenhuma ou pouca preparação. Os itens processados (hortaliças e leguminosas em conserva, frutas em calda, peixes em conserva e defumados, carnes salgadas e defumadas, queijos e bebidas alcoólicas) são fabricados a partir da adição de substâncias (sal, açúcar ou óleo) a alimentos frescos. Enquanto os produtos ultraprocessados (pães, barras de cereais, biscoitos, salgadinhos, bolos, chocolates, doces, geleias, sorvetes, refrigerantes, refeições prontas, margarina, embutidos, sopas enlatadas ou desidratadas e fórmulas infantis) são obtidos mediante a combinação de gêneros alimentícios com a utilização de diversos procedimentos e, frequentemente, possuem aditivos alimentares, fortificação de vitaminas sintéticas e minerais e embalagens sofisticadas (63, 64).

Todos os itens alimentares foram convertidos em energia e agrupados conforme o nível de processamento. Em seguida, foi estimado o percentual de participação de cada grupo na ingestão energético total das participantes, e calculado a média dos três registros alimentares.

3.6. Avaliação Bioquímica Padrão

No dia em que as participantes compareceram ao laboratório do CeMENutri, em virtude do exame de impedância bioelétrica, foram coletadas amostras sanguíneas por meio de punção venosa padrão a vácuo com as mesmas em jejum noturno de oito horas. No período de duas a quatro horas após a centrifugação, as análises bioquímicas de glicose, TGs, lipoproteína de alta densidade ligada ao colesterol (HDL-c), gama-glutamil-transferase (GGT), transaminase glutâmico-oxalacética (TGO) e transaminase glutâmico-pirúvica (TGP) foram realizadas segundo o método de química seca em analisador automático *System Vitros Chemistry 950 Xrl (Johnson & Johnson)*. Para os valores de referência de GGT, TGO e TGP foram adotados as recomendações do Laboratório de Análises Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu, onde a normalidade para mulheres foi identificada na faixa de 12 a 43U/L, 14 a 36U/L e 9 a 52U/L, respectivamente.

Alíquotas de soro e plasma foram armazenadas a temperatura de -80°C para posterior dosagem dos demais parâmetros bioquímicos.

3.6.1. Proteína Ligadora de Lipopolissacarídeo

As concentrações plasmáticas de LBP foram avaliadas utilizando kits de ensaio imunoabsorvente ligado à enzima (ELISA) disponível comercialmente (*Duoset, R&D Systems, Minneapolis, MN, USA*) em duplicata segundo as instruções do fabricante. As amostras plasmáticas foram diluídas 250 vezes e os níveis detectáveis, mínimo e máximo, foram 0,78 ng/mL e 50 ng/mL, respectivamente. Nenhuma interferência ou reatividade cruzada foi observada durante os ensaios. Os valores de absorbância para o ELISA foram estabelecidos por meio do leitor de microplaca (*Synergy HT, BioTek*) à absorbância óptica de 450nm. As concentrações finais de LBP foram determinadas conforme a curva padrão.

3.6.2. Marcador Inflamatório

Para avaliar o estresse inflamatório foi realizada a análise das concentrações séricas da Proteína C-reativa ultrasensível (PCR-us) por meio do ensaio imunonefelométrico (*Siemens Healthcare Diagnostics, Marburg, Germany*), em 41 amostras selecionadas por ordem de inscrição no programa. Adotou-se o valor de 0,3 mg/dl como referência para o estresse inflamatório (71).

3.6.3. Resistência à Insulina

Os níveis séricos de insulina foram quantificados pelo método de imunoenquimioluminescência (*Immulite 2000®*, Siemens Health Care Diagnostics, Marburg, Germany) e classificados de acordo com os valores de referência propostos pelo laboratório ($\leq 29,1 \mu\text{IU/ml}$). Em seguida, foi estimado o índice de avaliação da homeostase glicêmica, HOMA-IR (72), no qual foi considerado indicativo de resistência à insulina resultados acima de 2,71, tal ponto de corte foi determinado em estudo para a população brasileira (73).

3.7. Diagnóstico de Síndrome Metabólica

O diagnóstico de SM foi dado quando no mínimo três dos componentes abaixo estavam presentes de acordo com os critérios estabelecidos pelo *National Cholesterol Program's Adult Treatment Panel III* (NCEP-ATPIII), atualizados pela *American Heart Association* (AHA) e pelo *National Heart, Lung and Blood Institute* (NHLBI) e descritos por Grundy et al. (5, 4) (**Tabela 2**).

Tabela 2. Componentes da Síndrome Metabólica segundo o *National Cholesterol Program's Adult Treatment Panel III* (NCEP-ATP III) e a atualização descrita por Grundy et al., (2005)

Componentes	Valores de Referência
Circunferência abdominal	$\geq 88 \text{ cm}$ (♀)
Triglicerídios	$\geq 150 \text{ mg/dL}$
HDL-c	$< 50 \text{ mg/dL}$ (♀)
Pressão arterial	$\geq 130 \text{ mmHg}$ ou $\geq 85 \text{ mmHg}$
Glicemia de jejum	$\geq 100 \text{ mg/dL}$

3.8. Índice de Gordura Hepática

Foi utilizado algoritmo baseado no IMC, CA, TG e GGT com acurácia de 0,84 (IC 95%; 0,81-0,87) (74) para classificar as participantes de acordo com o acúmulo hepático de gordura (**Figura 2**). A pontuação total varia de 0 a 100, na qual valores do índice de gordura hepática (IGH) ≤ 30 indicam ausência de acúmulo hepático de

gordura, de 30 a 60 admitem teor hepático tolerável de gordura e IGH \geq 60 sugerem risco ou presença da DHGNA.

Figura 2. Algoritmo proposto por Bedogni et al., (2006) para o cálculo do Índice de Gordura Hepática (IGH)

$$\text{IGH} = \frac{(e^{0,953 \cdot \log_e(\text{TG}) + 0,139 \cdot \text{IMC} + 0,718 \cdot \log_e(\text{GGT}) + 0,053 \cdot \text{CA} - 15,745})}{(1 + e^{0,953 \cdot \log_e(\text{TG}) + 0,139 \cdot \text{IMC} + 0,718 \cdot \log_e(\text{GGT}) + 0,053 \cdot \text{CA} - 15,745})} \cdot 100$$

IGH: Índice de Gordura Hepática; TG: Triglicerídeo; IMC: Índice de Massa Corporal; GGT: Gama-Glutamil-Transferase; CA: Circunferência Abdominal. **Nota.** Fonte: Bedogni G, Bellentani S, Miglioli L, Masutti F, Passalacqua M, Castiglione A, et al. The Fatty Liver Index: a simple and accurate predictor of hepatic steatosis in the general population. BMC Gastroenterol. 2006 Nov 2;6:33.

4. Análise estatística

Dados categóricos foram representados em número e frequência, ao passo que, os contínuos por mediana (mínimo-máximo). Foram aplicados testes Qui-quadrado e Exato de Fisher para verificar diferenças entre proporções. Comparações múltiplas entre os grupos foram realizadas por meio do teste de *Kruskal Wallis* com *post-hoc* de *Dunn* ou de *Bonferroni*. Associações entre todas as variáveis (sociodemográficas, antropométricas, bioquímicas e nutricionais) e a concentração plasmática de LBP foram observadas por meio da correlação de *Pearson*. Em seguida, para identificar os determinantes dos níveis de LBP foi utilizado a análise de regressão linear múltipla *Stepwise*. Todas as análises foram efetuadas pelo programa estatístico SPSS versão 19.0 e o nível de significância adotado foi de 5%.

5. RESULTADOS

5.1. Caracterização da Amostra

A amostra foi composta por mulheres com idade entre 35 a 67 anos, em maioria casadas, 48,6% com 9 a 12 anos de escolaridade, 78,4% com renda familiar acima de dois salários mínimos, 5,4% tabagistas, 14,9% consumistas leve-moderado de álcool, 63,5% menopausadas e 67,6% usuárias de medicação (**Tabela 3**). Dentre os fármacos consumidos por todos os grupos, verificou-se maior utilização de anti-hipertensivos, antidepressivos, inibidores da secreção gástrica e outros

(Figura Suplementar 1 - Anexo 2). O NAF variou de 110 a 3740 minutos/semana, sendo que 2,7% da amostra demonstrou NAF < 150 minutos/semana (Tabela 3).

Tabela 3. Características sociodemográficas e clínicas das participantes do estudo

Variáveis	Total (n = 74)		Eutrofia (n=14)		Sobrepeso (n=26)		Obesidade (n=34)		p
	n	%	n	%	n	%	n	%	
Idade (anos)	52,0 (35,0-67,0)		55,5 (35,0-67,0)		50,0 (36,0-67,0)		52,5 (35,0-67,0)		0,67
Casado	41	55,4	5	35,7	14	53,8	22	64,7	0,18
Escolaridade (anos de estudo)									
Até 9 anos	22	29,7	2	14,3	7	26,9	13	38,2	
Entre 9 a 12 anos	36	48,6	8	57,1	13	50,0	15	44,2	0,57
Acima de 12 anos	16	21,6	4	28,6	6	23,1	6	17,6	
Renda familiar (> R\$ 1760,00)	58	78,4	10	71,4	24	92,3	24	70,6	0,09
Tabagismo	4	5,4	0	0,0	0	0,0	4	11,8	0,13
Consumo leve a moderado de álcool	11	14,9	1	7,1	2	7,7	8	23,5	0,20
Menopausa	47	63,5	8	57,1	19	73,1	20	58,8	0,45
Uso de medicação	50	67,6	12	85,7	13	50,0 ^a	25	73,5	0,04
NAF inadequado	2	2,7	1	7,1	0	0,0	1	2,9	0,47

NAF: Nível de Atividade Física. Resumos de variáveis numéricas em mediana (mínimo-máximo) e frequência para as categóricas. Testes de Qui-quadrado e Exato de Fisher para comparações de proporções, e Kruskal-Wallis seguido do teste de Dunn para comparações múltiplas nas variáveis contínuas. Letras indicam resultados estatisticamente significativos ($p < 0,05$) entre os grupos: eutrofia (a), sobrepeso (b) e obesidade (c).

5.2. Caracterização do Excesso de Peso

O excesso de peso prevaleceu em 81,1% da amostra e a obesidade em 49,5%. Os desvios antropométricos foram de 79,7% de hiperadiposidade corporal, 73% ($DAS \geq 20,1\text{cm}$) e 74,3% ($CA \geq 88\text{cm}$) de obesidade abdominal e 12,2% de incapacidade muscular (sarcopenia) leve ou grave ($IMM \leq 6,75 \text{ kg/m}^2$) (Tabela 4).

O HOMA-IR variou de 0,1 a 19,8, no qual 56,8% da amostra exibiu resistência à insulina ($\geq 2,71$) (Tabela 4).

A prevalência do risco ou presença de DHGNA ($IGH \geq 60$) foi de 48,6%, hipertensão arterial ($PAS/PAD \geq 130/85 \text{ mmHg}$) 36,5% e de SM 43,2%. DM tipo 2 foi diagnosticada (glicemia de jejum $\geq 126 \text{ mg/dl}$ ou uso contínuo de hipoglicemiante oral ou insulina) (75) em 9,5% e o risco de DCV $\geq 10\%$ em 27,0% da população do estudada.

Tabela 4. Indicadores antropométricos, composição corporal, parâmetros bioquímicos e clínicos das participantes do estudo

Variáveis	Total (n = 74)	Eutrofia (n=14)	Sobrepeso (n=26)	Obesidade (n=34)	p
	Md (Min-Max)	Md (Min-Max)	Md (Min-Max)	Md (Min-Max)	
Peso corporal (kg)	75,7 (48,5-129,4)	57,2 (48,5-68)	70,9 (55,7-82,2) ^a	90,9 (73,6-129,4) ^{a,b}	< 0,01
IMC (kg/m ²)	29,8 (21,6-48,4)	23,3 (21,6-24,6)	28,0 (25,2-29,9) ^a	34,7 (30,0-48,4) ^{a,b}	< 0,01
CA (cm)	97,25 (73,6-142,8)	80,8 (73,6-88,0)	94,0 (81,0-111,7) ^a	108,4 (92,5-142,8) ^{a,b}	< 0,01
DAS (cm)	22,3 (16,3-32,4)	18,4 (16,3-22,6)	21,8 (18,0-26,1) ^a	24,9 (19,6-32,4) ^{a,b}	< 0,01
%GC	33,3 (24,5-52,5)	27,6 (24,5-28,9)	31,7 (28,4-34,4) ^a	45,9 (41,1-52,5) ^{a,b}	< 0,01
%MM	26,1 (19,4-32,9)	29,7 (26,5-32,9)	27,1 (22,6-32,6) ^a	23,6 (19,4-30,8) ^{a,b}	< 0,01
IMM (kg/m ²)	7,8 (5,8-11,5)	6,8 (5,9-7,9)	7,6 (5,8-9,1)	8,3 (6,8-11,5) ^{a,b}	< 0,01
LBP (µg/ml)	3,6 (0,04-11,0)	2,2 (0,9-11,0)	2,2 (0,04-5,9)	4,8 (2,2-8,5) ^{a,b}	< 0,01
GGT (U/L)	25,2 (4,1-107,6)	22,8 (13,0-98,1)	21,0 (13,0-107,6)	28,0 (4,1-79,5)	0,54
TGO (mg/dl)	31,0 (14,9-55,0)	32,0 (19,0-47,0)	26,0 (14,0-40,0) ^a	36,0 (17,0-55,0) ^b	0,01
TGP (mg/dl)	28,0 (15,0-71,0)	28,5 (20,0-71,0)	26,5 (15,0-39,0)	29,0 (21,0-55,0)	0,12
PCR-us (mg/dl)	0,23 (0,01-1,13)	0,15 (0,03-0,30)	0,19 (0,01-0,50)	0,33 (0,04-1,13)	0,06
IGH	57,8 (6,9-99,6)	19,7 (6,9-57,8)	48,1 (16,3-74,5) ^a	89,4 (35,7-99,6) ^{a,b}	< 0,01
Colesterol total (mg/dl)	190,5 (134,0-279,1)	198,9 (134,0-258,7)	202,6 (137,0-279,1)	185,6 (140,0-265,1)	0,17
HDL-c (mg/dl)	55,2 (31,9-103,0)	56,0 (42,0-74,4)	52,5 (36,0-103,0)	55,2 (31,9-85,0)	0,64
TG (mg/dl)	124,5 (49,6-404,0)	92,5 (62,0-351,5)	123,2 (53,0-278,0)	129,5 (49,6-404,0)	0,06
Glicemia (mg/dl)	95,8 (66,0-139,0)	94,6 (66,0-139,0)	92,5 (69,0-128,0)	99,0 (78,0-138,0)	0,72
Insulina (mUI/ml)	12,9 (0,4-73,0)	9,5 (3,8-73,0)	14,5 (3,4-62,2)	13,7 (0,4-44,3)	0,25
HOMA-IR	3,1 (0,1-19,8)	2,2 (0,6-19,8)	3,3 (0,8-15,0)	3,3 (0,1-12,7)	0,38
PAS (mmHg)	120,0 (88,0-180,0)	120,0 (90,0-154,0)	119,5 (88,0-146,0)	129,0 (96,0-180,0) ^b	0,01
PAD (mmHg)	76,0 (60,0-110,0)	75,0 (60,0-86,0)	73,5 (60,0-98,0)	80,0 (60,0-110,0) ^{a,b}	< 0,01
NAF (minutos/semana)	615,0 (110,0-3740,0)	610,0 (110,0-2595,0)	615,0 (150,0-3740,0)	640,0 (140,0-3420,0)	0,72

IMC: Índice de Massa Corporal; CA: Circunferência Abdominal; DAS: Diâmetro Abdominal Sagital; %GC: Percentual de Gordura Corporal; %MM: Percentual de Massa Muscular; IMM: Índice de Massa Muscular; LBP: Proteína Ligadora de Lipopolissacarídeo; GGT: Gama-Glutamil-Transferase; TGO: Transaminase Glutâmico-Oxalacética; TGP: Transaminase Glutâmico-Pirúvica; PCR-us: Proteína C-reativa Ultrassensível; IGH: Índice de Gordura Hepática; HDL-c: Lipoproteína de Alta Densidade ligada ao Colesterol; TG: Triglicerídios; HOMA-IR: Modelo de Avaliação da Homeostase de Resistência à Insulina; PAS: Pressão Arterial Sistólica; PAD: Pressão Arterial Diastólica; NAF: Nível de Atividade Física; kg: quilograma; m²: metros quadrados; cm: centímetro; %: percentual; µg: micrograma; ml: mililitro; U: unidade; L: litro; mg: miligrama; dl: decilitro; mUI: miliunidade internacional. Testes de Kruskal-Wallis seguido de Dunn para comparações múltiplas nas variáveis contínuas. Letras indicam resultados significativos ($p < 0,05$) entre os grupos: eutrofia (a), sobrepeso (b) e obesidade (c).

A análise quantitativa e qualitativa do padrão alimentar da amostra está descrita abaixo (**Tabela 5 e Tabela Suplementar 1 – Anexo 3**).

O valor energético total (VET) variou de 812 a 3240 kcal com densidade energética de 1,2 kcal/g (0,8 - 1,8 kcal/g), atingindo a recomendação para prevenir e controlar o ganho de peso ($\leq 1,25$ kcal/g) (76). A participação dos macronutrientes no VET foi de 31,6% gorduras, 48,8% carboidratos e 18,5% proteínas, o que está em conformidade com a *Dietary Reference Intakes* (77).

A distribuição lipídica foi de 10,8% saturada, 10,8% monoinsaturada, 7,1% poli-insaturada e colesterol 246 mg/dia, revelando a ingestão ligeiramente aumentada dos ácidos graxos saturados ($< 10\%$ do VET) (78).

Os alimentos *in natura* e minimamente processados constituíram 48,5% do VET, os produtos processados e ultraprocessados 35,3% e os ingredientes culinários processados 15,6%. Foi verificada maior ingestão de produtos processados e ultraprocessados nas participantes com excesso de peso e obesidade e maior uso de ingredientes culinários processados no grupo eutrofia.

A pontuação do IAS-ad variou de 50,4 a 109,1, na qual 65,8% da população estudada apresentou dieta precisando de melhorias ($71 \leq \text{IAS-ad} \leq 100$ pontos) e 25,7% demonstrou dieta de má qualidade ($\text{IAS-ad} < 71$ pontos).

Do total de 81,7g de açúcar ingerido diariamente, 43,8g era de adição e a ingestão de frutose foi de 11,1g. O consumo de açúcar de adição representou 10,7% do VET, sendo considerado elevado ($< 10\%$ do VET) (41). A dieta das participantes apresentou o IG de 58,9 e a CG de 112,2, ambos considerados moderados ($56 \leq \text{IG} \leq 69$ e $80 \leq \text{CG} \leq 120$) (79, 80).

A recomendação do consumo diário de fibras para mulheres varia de 21 a 25 g/dia, dependendo da faixa etária (77). No presente estudo, observou-se que a ingestão de fibras foi de 15,1 g/dia, sendo 10,6 g/d insolúveis e 4,1 g/d solúveis. A relação carboidrato/fibras foi de 7,9 a 34,7 e a de Na/K foi de 0,6 a 1,8, sendo inadequado em 87,8% (carboidrato/fibras > 10) e 77,0% ($\text{Na/K} \geq 1,0$) da amostra, respectivamente.

Não foram verificadas diferenças no teor de energia, nutrientes, IG, CG e IAS-ad entre os grupos (**Tabela 5**). Da mesma forma, a análise detalhada de micronutrientes, subtipos de ácidos graxos saturados e poli-insaturados (**Tabela Suplementar 1 - Anexo 3**) encontrou resultados semelhantes.

Tabela 5. Consumo alimentar e indicadores de qualidade nutricional da dieta das participantes do estudo

Variáveis	Recomendação	Total (n = 74)	Eutrofia (n=14)	Sobrepeso (n=26)	Obesidade (n=34)	p
		Md (Min-Max)	Md (Min-Max)	Md (Min-Max)	Md (Min-Max)	
VET (kcal)	-	1632,7 (812,1-3240,6)	1660,2 (1143,0-2866,0)	1519,2 (1162,3-3240,6)	1761,2 (812,1-2489,1)	0,82
Densidade energética (kcal/g)	≤ 1,25 kcal/g	1,2 (0,8-1,8)	1,2 (0,8-1,7)	1,3 (0,9-1,8)	1,2 (0,9-1,7)	0,47
Fibras alimentares (g)	21 a 25 g	15,1 (5,9-35,0)	15,6 (9,4-35,0)	13,2 (5,9-25,3)	15,9 (7,6-23,9)	0,39
Fibras solúveis (g)	-	4,1 (1,8-11,2)	4,9 (1,9-11,2)	4,2 (1,8-7,0)	3,9 (1,8-8,6)	0,57
Fibras insolúveis (g)	-	10,6 (3,7-23,5)	11,5 (6,8-23,5)	8,6 (3,7-19,1)	11,6 (4,7-18,1)	0,18
Carboidrato (%)	45 a 65%	48,8 (26,0-68,0)	51,3 (35,4-68)	47,8 (26,0-64,7)	49,8 (31,6-64,7)	0,59
Carboidrato/fibras	≤ 10	13,1 (7,9-34,7)	12,4 (8,7-19,9)	14,8 (7,9-34,7)	12,7 (8,9-25,4)	0,56
Açúcar total (g)	-	81,7 (28,7-245,0)	84,2 (33,7-225,7)	75,6 (28,7-176,6)	81,8 (29,4-245,0)	0,84
Açúcares de adição (g)	< 10% do VET	43,8 (10,6-151,6)	48,0 (15,5-145,4)	37,2 (10,6-125,6)	46,3 (11,7-151,6)	0,77
Frutose (g)	-	11,1 (1,9-27,4)	11,7 (4,3-23,1)	10,8 (2,0-27,4)	10,8 (1,9-27,1)	0,92
Proteína (%)	10 a 35%	18,5 (10,4-36,5)	17,2 (11,5-29,6)	18,6 (12,5-36,5)	18,6 (10,4-26,6)	0,80
Gordura total (%)	20 a 35%	31,6 (20,3-42,5)	30,8 (20,3-38,4)	32,3 (22,0-42,5)	31,7 (22,8-40,2)	0,55
Gordura saturada (%)	< 10%	10,8 (4,8-15,6)	9,9 (6,3-13,7)	11,3 (4,8-14,5)	10,8 (5,4-15,6)	0,32
Gordura monoinsaturada (%)	15%	10,8 (6,0-18,0)	10,4 (6,0-13,9)	10,7 (6,8-16,1)	11,0 (7,0-18,0)	0,57
Gordura poli-insaturada (%)	5 a 10%	7,1 (3,6-13,9)	8,2 (3,6-10,6)	7,0 (4,3-13,9)	7,1 (3,8-9,4)	0,29
Gorduras <i>trans</i> (g)	-	2,1 (0,5-7,1)	2,7 (0,5-5,1)	1,9 (0,9-7,1)	2,1 (0,9-5,2)	0,27
Colesterol (mg)	-	245,8 (41,5-970,2)	265,2 (96,7-970,2)	216,8 (126,5-565,4)	243,4 (41,5-504,8)	0,62
Álcool (g)	≤ 14 g	0,0 (0,0-10,5)	0,0 (0,0-4,8)	0,0 (0,0-6,2)	0,0 (0,0-10,5)	0,38
Índice glicêmico (glicose como referência)	≤ 69	58,9 (47,5-68,2)	58,0 (53,4-64,8)	59,0 (47,5-68,2)	59,2 (53,0-67,3)	0,30
Carga glicêmica (glicose como referência)	≤ 120	112,2 (37,1-212,4)	114,3 (61,9-211,8)	104,3 (37,1-212,4)	116,2 (54,0-203,4)	0,80
IAS-ad (pontos)	> 100 pontos	78,7 (50,4-109,1)	84,2 (51,0-103,2)	76,1 (54,7-93,0)	80,1 (50,4-109,1)	0,07
Alimentos <i>in natura</i> e minimamente processados (% do VET)	-	48,5 (25,8-77,0)	50,1 (30,5-71,4)	50,9 (30,9-70,5)	44,5 (25,8-77,0)	0,06
Ingredientes culinários processados (% do VET)	-	15,6 (2,8-40,4)	21,7 (10,0-40,4)	12,6 (2,8-30,8) ^a	15,5 (4,7-39,2) ^a	0,01
Produtos processados e ultraprocessados (% do VET)	-	35,3 (12,3-54,7)	30,1 (12,3-39,7)	34,0 (17,0-53,0) ^a	38,8 (13,7-54,7) ^a	0,02

VET: Valor Energético Total; IAS-ad: Índice de Alimentação Saudável Adaptado; kcal: quilocaloria; g: grama; %: percentual; mg: miligrama. Testes de Kruskal-Wallis seguido de Dunn para comparações múltiplas nas variáveis contínuas. Letras indicam resultados significativos ($p < 0,05$) entre os grupos: eutrofia (a), sobrepeso (b) e obesidade (c).

5.3. Comportamento da Proteína Ligadora de Lipopolissacarídeo

As correlações das concentrações de LBP foram positivas para o peso corporal, IMC, DAS, %GC e IMM e negativa para %MM. Dentre os marcadores clínico-bioquímicos, os valores de LBP foram diretamente relacionados com TGP, PRC-us e IGH.

A ingestão dietética se associou positivamente aos valores de LBP nos itens: produtos processados e ultraprocessados e frutose e, negativamente, pelos itens: alimentos *in natura* e minimamente processados, gordura poli-insaturada, ácido linoleico, ácidos graxos ω -3 e vitamina A (**Tabela 6**).

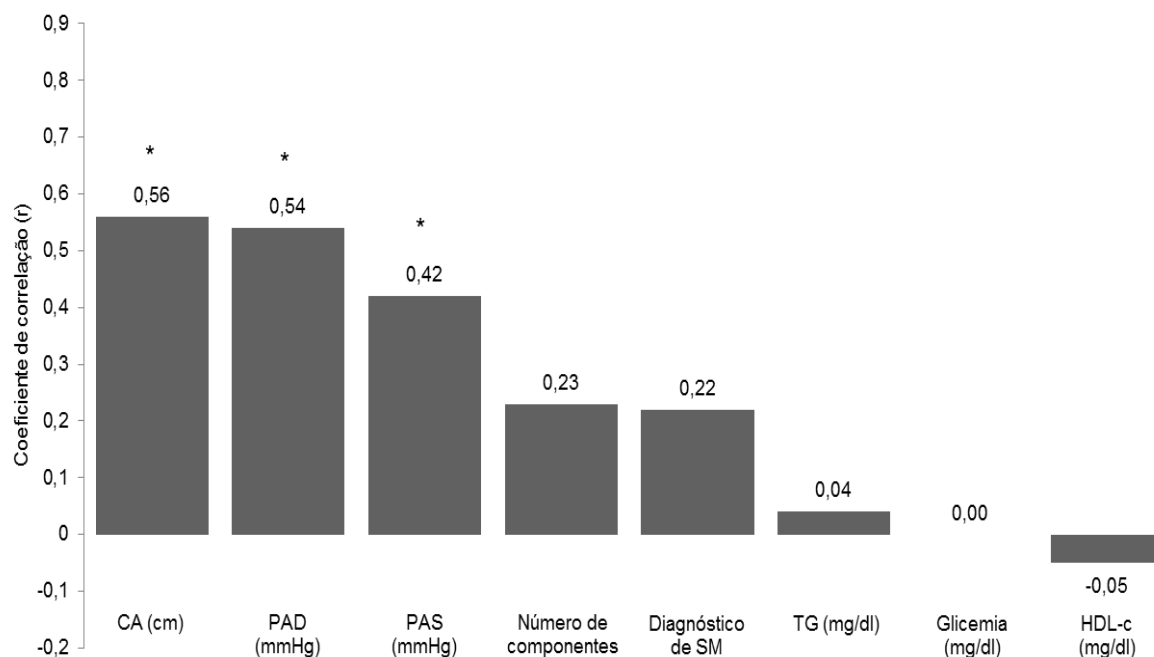
Tabela 6. Correlações entre as variáveis sociodemográficas, clínicas, bioquímicas e nutricionais com as concentrações plasmáticas de LBP ($\mu\text{g/ml}$)

Variáveis	r	p
Idade (anos)	0,01	0,95
Escolaridade (anos de estudo)	-0,14	0,23
Renda (> R\$ 1760,00)	-0,21	0,07
Tabagismo	0,17	0,14
Consumo leve a moderado de álcool	0,15	0,21
Menopausa	-0,17	0,16
Uso de medicação	0,11	0,33
NAF (minutos/semana)	-0,04	0,73
Peso corporal (kg)	0,61	< 0,01
IMC (kg/m ²)	0,63	< 0,01
DAS (cm)	0,60	< 0,01
%GC	0,66	< 0,01
%MM	-0,43	< 0,01
IMM (kg/m ²)	0,37	< 0,01
GGT (U/L)	0,01	0,90
TGO (mg/dl)	0,20	0,10
TGP (mg/dl)	0,34	< 0,01
PCR-us (mg/dl)	0,33	0,04
IGH	0,52	< 0,01
Colesterol total (mg/dl)	-0,23	0,05
Insulina (mUI/ml)	-0,09	0,43
HOMA-IR	-0,09	0,47
Gordura poli-insaturada (%)	-0,38	< 0,01
Ácido linoleico (g)	-0,25	0,03
Ácidos graxos ω-3 (g)	-0,24	0,04
Vitamina A (RE)	-0,25	0,03
Frutose (g)	0,25	0,04
Alimentos <i>in natura</i> e minimamente processados (% do VET)	-0,29	0,01
Produtos processados e ultraprocessados (% do VET)	0,29	0,01

r: Coeficiente de Correlação; NAF: Nível de Atividade Física; IMC: Índice de Massa Corporal; CA: Circunferência Abdominal; DAS: Diâmetro Abdominal Sagital; %GC: Percentual de Gordura Corporal; %MM: Percentual de Massa Muscular; IMM: Índice de Massa Muscular; GGT: Gama-Glutamil-Transferase; TGO: Transaminase Glutâmico-Oxalacética; TGP: Transaminase Glutâmico-Pirúvica; PCR-US: Proteína C-Reativa Ultrassensível; IGH: Índice de Gordura Hepática; HOMA-IR: Modelo de Avaliação da Homeostase de Resistência à Insulina; m²: Metros Quadrados; cm: Centímetro; %: Percentual; U: Unidade; L: Litro; mg: Miligrama; dl: Decilitro; mUI: Miliunidades Internacionais; ml: Mililitro; g: Grama; RE: Equivalente de Retinol; % do VET: Percentual do Valor Energético Total. Correlação de Pearson. **Obs. Devido ao grande número de variáveis dietéticas, foram representadas somente aquelas com valor significativo (p < 0,05).**

Foram observadas correlações fracas da LBP com a SM (p = 0,06) e o número de componentes da SM (p = 0,05). No entanto, as correlações foram moderadas para CA, PAS e PAD (p < 0,05) (**Figura 4**).

Figura 4. Correlações entre o diagnóstico de SM e seus componentes com as concentrações plasmáticas de LBP (µg/ml)



CA: Circunferência Abdominal; PAD: Pressão Arterial Diastólica; PAS: Pressão Arterial Sistólica TG: Triglicerídios; HDL-c: Lipoproteína de Alta Densidade Ligada ao Colesterol; cm: Centímetro; mmHg: Milímetro de Mercúrio; mg: Miligrama; dl: Decilitro. Correlação de Pearson. * representa valores significativos ($p < 0,05$).

Segundo a distribuição terçilar das concentrações de LBP, observou-se a maior prevalência de participantes obesas no segundo e terceiro terçis. Entretanto, obesas abdominais, portadores de SM e DM tipo 2, e aquelas com risco de DCV $\geq 10\%$, foram distribuídas de forma semelhante. Diferentemente destas condições patológicas, as portadoras de hipertensão arterial e IGH elevado, apresentaram maior frequência no terçil elevado de LBP (**Tabela 7**).

No geral, 72% das mulheres com ingestão de alimentos *in natura* e minimamente processados abaixo de 50% do VET foram classificadas no segundo terçil de LBP. Curiosamente, neste mesmo grupo, foi observado que 92% da amostra apresentaram consumo inadequado de Na/K (**Tabela 7**).

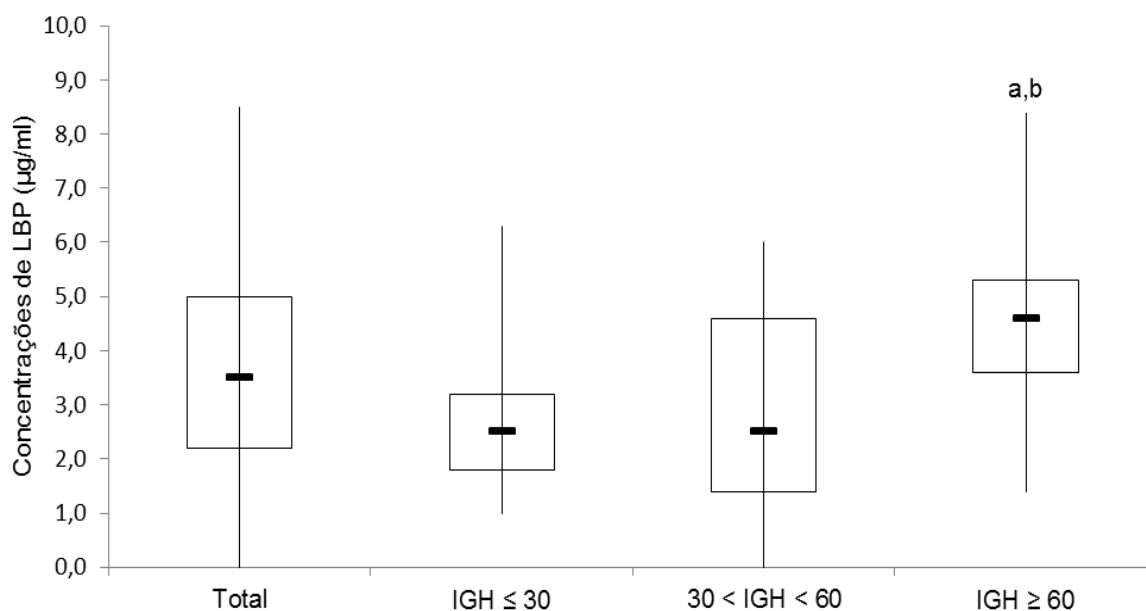
Tabela 7. Distúrbios metabólicos e inadequações alimentares de acordo com a distribuição em terçis das concentrações plasmáticas de LBP ($\mu\text{g/ml}$)

Variáveis	Total (n = 74)		Tercil 1 (n = 25)		Tercil 2 (n = 25)		Tercil 3 (n = 24)		p
	LBP (0,04 - 11,0 µg/ml)		LBP (0,04 - 2,45 µg/ml)		LBP (2,45 - 4,67 µg/ml)		LBP (≥ 4,67 µg/ml)		
	n	%	n	%	n	%	n	%	
Obesidade (IMC ≥ 30 kg/m ²)	34	45,9	1	4,0	13	52,0 ^a	20	83,3 ^a	< 0,01
Obesidade abdominal (CA ≥ 88 cm)	55	74,3	14	56,0	20	80,0	21	87,5	0,05
PCR-us (≥ 0,3 mg/dl)	15	36,6	3	12,0	3	12,0	9	37,5	0,08
Hipertensão arterial (≥ 130/85 mmHg)	27	36,5	3	12,0	10	40,0	14	58,3 ^a	< 0,01
Diabetes <i>mellitus</i> tipo 2	7	9,5	3	12,0	2	8,0	2	8,3	1,00
Síndrome metabólica	32	43,2	10	40,0	10	40,0	12	50,0	0,73
IGH (≥ 60 pontos)	36	48,6	6	24,0	14	56,0	16	66,7 ^a	< 0,01
Risco de DCV (≥ 10%)	20	27,0	3	12,0	10	40,0	7	28,0	0,08
IAS-ad (< 71 pontos)	19	25,7	8	32,0	7	28,0	4	16,7	0,50
Alimentos <i>in natura</i> e minimamente processados (< 50% do VET)	40	54,1	8	32,0	18	72,0 ^a	14	58,3	0,02
Ingredientes culinários processados (> 25% do VET)	12	16,2	4	16,0	4	16,0	4	16,7	1,00
Produtos processados e ultraprocessados (> 25% do VET)	61	82,4	18	72,0	23	92,0	20	80,0	0,17
Carboidrato/fibras (> 10)	65	87,8	20	80,0	24	96,0	21	87,5	0,22
Sódio/potássio (≥ 1,0)	57	77,0	19	76,0	23	92,0	15	62,5 ^b	0,04

IMC: Índice de Massa Corporal; CA: Circunferência Abdominal; PCR-us: Proteína C-reativa Ultrassensível; IGH: Índice de Gordura Hepática; DCV: Doença Cardiovascular; IAS-ad: Índice de Alimentação Saudável Adaptado; VET: Valor Energético Total; kg: quilograma; m²: metros quadrados; cm: centímetro; %: percentual; mg: miligrama; dl: decilitro. Teste Exato de Fisher seguido do teste de Bonferroni para comparações múltiplas. Letras indicam resultados significativos (p < 0,05) entre os grupos: tercil 1 (a), tercil 2 (b) e tercil 3 (c).

Ao classificar as participantes de acordo com o IGH, notou-se que aquelas com risco ou presença de DHGNA demonstraram níveis plasmáticos aumentados de LBP [IGH ≥ 60 = 4,6 µg/ml (1,4-8,5)] comparado às demais [IGH ≤ 30 = 2,5 µg/ml (1,0-6,3); IGH 30 - 60 = 2,5 µg/ml (0,0-6,0)] (**Figura 3**).

Figura 3. Concentrações plasmáticas de LBP (µg/ml) de acordo com o acúmulo hepático de gordura nas participantes do estudo



LBP: Proteína Ligadora de Lipopolissacarídeo; IGH: Índice de Gordura Hepática. Total (n = 73), IGH ≤ 30 (n = 15), IGH 30 - 60 (n = 22) e IGH ≥ 60 (n = 36). Testes de Kruskal-Wallis seguido de Dunn para comparações múltiplas nas variáveis contínuas. Letras indicam resultados significativos (p < 0,05) entre os grupos: IGH ≤ 30 (a), IGH 30 - 60 (b) e IGH ≥ 60 (c).

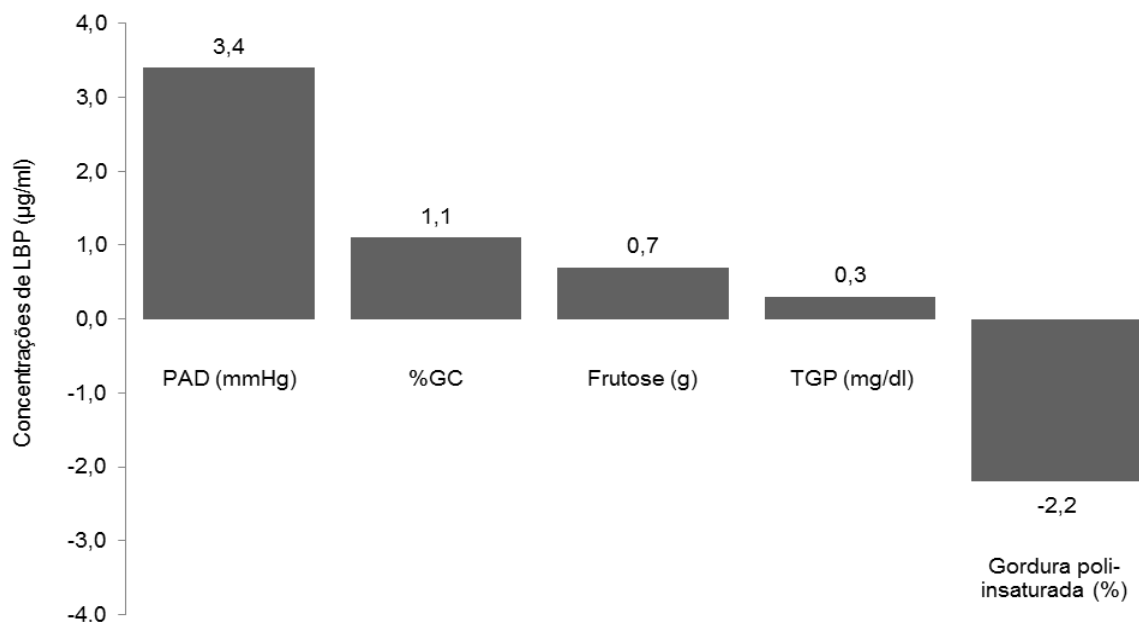
Com a análise de regressão linear múltipla *Stepwise* foi possível verificar que o aumento de 10 unidades nos níveis de PAD e de TGP, no %GC e na ingestão de frutose, seria responsável pela elevação de 3,4; 0,3; 1,1 e 0,7 $\mu\text{g/ml}$ de LBP, respectivamente. Por outro lado, o acréscimo de 10 unidades de gordura poli-insaturada poderia reduzir a LBP em 2,2 $\mu\text{g/ml}$ (Tabela 8 e Figura 5).

Tabela 8. Variáveis determinantes das concentrações plasmáticas de LBP ($\mu\text{g/ml}$)

Variáveis	β	IC 95%		p
PAD (mmHg)	0,34	0,01	0,06	0,02
%GC	0,11	0,08	0,15	< 0,01
Frutose (g)	0,07	0,02	0,11	< 0,01
TGP (mg/dl)	0,03	0,00	0,06	0,03
Gordura poli-insaturada (%)	-0,22	-0,37	-0,07	< 0,01

β : Coeficiente Angular; IC: Intervalo de Confiança; %GC: Percentual de Gordura Corporal; TGP: Transaminase Glutâmico-Pirúvico; PAD: Pressão Arterial Diastólica; mg: Miligrama; dl: Decilitro; mmHg: Milímetro de Mercúrio; %: Percentual. Regressão linear múltipla *Stepwise*. R^2 (Coeficiente de Determinação) = 0,65.

Figura 5. Resposta da LBP ($\mu\text{g/ml}$) seguindo o aumento de 10 unidades em cada variável determinante



LBP: Proteína Ligadora de Lipopolissacarídeo; PAD: Pressão Arterial Diastólica; %GC: Percentual de Gordura Corporal; TGP: Transaminase Glutâmico-Pirúvico; mg: Miligrama; dl: Decilitro; mmHg: Milímetro de Mercúrio; %: Percentual; g: Grama. Regressão linear múltipla *Stepwise*. R^2 (Coeficiente de Determinação) = 0,65.

6. DISCUSSÃO

No presente estudo, verificou-se que as concentrações plasmáticas de LBP foram significativamente maiores em mulheres com excesso de peso e que este biomarcador apresentou correlações moderadas com dois componentes da SM, a CA e a PA, e com o IGH, além dos demais marcadores de composição corporal. Similarmente, observou-se que a ingestão de frutose e de gordura poli-insaturada, assim como os valores de PA diastólica, as concentrações de TGP e o %GC, influenciaram os níveis plasmáticos de LBP de maneira independente das demais variáveis. Este foi o primeiro estudo a investigar relações entre os níveis plasmáticos de LBP e o padrão alimentar em humanos, sugerindo que a saúde intestinal (a composição da microbiota e a integridade da barreira epitelial intestinal) pode ser modificada por meio das escolhas alimentares.

Existem evidências na literatura sobre associações entre a obesidade, a perda da função de barreira epitelial intestinal e o influxo de componentes bacterianos, especialmente o LPS, ativando respostas imunes (81-84). Clemente-Postigo et al. (85) verificaram diminuições significativas nas concentrações de LBP em pacientes após 90 dias de cirurgia bariátrica, e tal benefício foi associado com o IMC, independentemente da influência de outras variáveis, sendo notado que ao final deste período os participantes perderam em média 17 a 19 kg e reduziram 4 a 8 kg/m². De modo semelhante, Ott et al. (86) observaram que a perda de peso (6,9 ± 1,9 kg) induzida por dieta de conteúdo calórico muito baixo (800 kcal/dia) durante quatro semanas em mulheres obesas promoveu reduções significativas nos marcadores metabólicos (HOMA-IR, glicemia e insulina de jejum, e leptina) e inflamatórios (PCR-US e LBP) e nos três diferentes métodos utilizados para avaliar a permeabilidade intestinal paracelular.

Devido à cronicidade do processo inflamatório de baixo grau, proveniente do excesso de peso e do comprometimento da barreira epitelial intestinal, desenvolvem-se alterações metabólicas que culminam com o surgimento da SM e, conseqüentemente, da DHGNA (4, 87, 88). Apesar da escassez de estudos relacionando estes distúrbios aos marcadores da endotoxemia metabólica subclínica, Sun et al. (89) demonstraram que no maior quartil de LBP (> 42 µg/ml), a razão de chance à SM foi de 3,34 (2,05 - 6,09) após ajuste para múltiplas variáveis, inclusive para o IMC. Gonzalez-Quintela et al. (90) observaram que as concentrações séricas de LBP aumentaram com a idade, na presença do sobrepeso e em portadores da SM, especificamente naqueles que possuíam baixos níveis de

HDL-c. Enquanto, Jialal et al. (91) verificaram que os valores de LBP aumentaram proporcionalmente de acordo com o número de componentes da SM.

Sabe-se que indivíduos com DHGNA possuem concentrações aumentadas de LBP, sendo ainda maiores naqueles com esteatohepatite não alcoólica (92, 35). Pang et al. (93) notaram que a presença de polimorfismo no gene TM6SF2, o qual predispõe a DHGNA, o sexo, o IMC e a hemoglobina glicada foram associados de maneira independente com níveis elevados de LBP. Em camundongos LBP^{-/-} que receberam dieta ocidental (rica em gordura, frutose e colesterol) por oito semanas, a extensão dos danos ao fígado, determinados por histologia e pelo monitoramento das transaminases, foram significativamente menores quando comparado aos animais do tipo selvagem criados em condições semelhantes (94). Desta forma, esses achados sugerem que a LBP é fator crítico no desenvolvimento das doenças metabólicas relacionadas ao estado de inflamação crônica.

Dentre as variáveis determinantes das concentrações de LBP, observou-se associação significativa apenas para o %GC comparado aos demais parâmetros relacionados ao excesso de peso. Muito embora, 83,3% dos obesos tenham apresentado níveis de LBP no top tercil ($p < 0,05$) e os demais marcadores de hiperadiposidade corporal (IMC, CA e DAS) tenham se correlacionado moderadamente ao LBP ($p < 0,05$). Também foram verificadas associações opostas do %MM e o IMM com os níveis de LBP, isso pode ter sido causado por conta da equação do IMM que ao distribuir a massa muscular esquelética pela altura, não considera a adiposidade total, diferente do %MM que é uma medida proporcional ajustada aos compartimentos corporais restantes (MLG e massa gorda).

Por outro lado, a distribuição terciar de LBP não sofreu influencia significativa da atividade inflamatória (PCR-us), presença de SM (43,2%), DM tipo 2 (9,5%) ou risco de DCV $\geq 10\%$ (27%), e sim, do IGH ≥ 60 pontos (48,6%) e da hipertensão arterial (36,5%). Nestes dois últimos, a maior frequência de pacientes foi localizada no tercil superior (66,7% e 58,3%, respectivamente). Surpreende o fato da atividade inflamatória não acompanhar a obesidade na distribuição da LBP, uma vez que, assim como a obesidade, a frequência de PCR-us alterada foi maior no tercil superior de LBP. Tal acontecimento pode ter sido ocasionado pela ausência de informações deste marcador em toda a amostra.

Também foi possível notar relações de reciprocidade entre os níveis de LBP e a PAD e a TGP. A falta de outros estudos com achados similares dificulta a

realização de reflexões a cerca dos resultados verificados. No entanto, os possíveis mecanismos de ação que embasam estas associações são descritos abaixo.

Pesquisas experimentais utilizando ratos espontaneamente hipertensos (SHR) e camundongos com hipertensão induzida pela angiotensina II notaram que tais animais apresentavam a barreira intestinal leaky (vazante) com permeabilidade e marcadores inflamatórios aumentados, proteínas das junções tight alteradas e fluxo sanguíneo diminuído (95, 96). Sabe-se que a passagem de toxinas bacterianas à circulação sistêmica promove estresse oxidativo elevado na parede vascular (97, 98), resultando em resposta inflamatória de baixo grau e disfunção endotelial, eventos que cronicamente ocasionam a hipertensão arterial (99, 100). Além disso, observou-se no modelo SHR maior atividade do nervo simpático esplâncnico e níveis aumentados de tirosina hidroxilase no intestino delgado comparado aos ratos controle (95), sugerindo que o eixo sistema nervoso simpático - intestino está envolvido na regulação da PA. Muito embora a relação de causalidade não esteja esclarecida e estudos em humanos sejam escassos, acredita-se que a disbiose intestinal possui papel central na interação destes sistemas (19).

O fígado recebe seu principal suprimento sanguíneo do intestino por meio da veia porta. Desta forma, ele está exposto às substâncias potencialmente prejudiciais, tais como: bactérias translocadas, LPS e citocinas secretadas. A TGP é o marcador mais específico da função hepática e o aumento de seus níveis está diretamente associado com o acúmulo de gordura no fígado e com a resistência à insulina (101, 102), sendo, portanto, considerado como indicador da DHGNA (103-105). Nikniaz et al. (101) observaram que mulheres no maior quartil dos níveis TGP (≥ 26 U/L), com variações dentro dos limites normais, apresentaram risco aumentado à SM em 4,43 vezes após ajuste para idade, IMC, tabagismo e NAF. Diante do exposto, associações entre as concentrações de LBP e TGP implicam na importância do papel do LPS no desenvolvimento das doenças inflamatórias crônicas, tais como a SM (38) e a DHGNA (35, 106).

Pela primeira vez na literatura, verificou-se que as variações nas concentrações de LBP agiram como indicador da qualidade da dieta, refletindo o grau de processamento dos alimentos consumidos. Níveis elevados de LBP foram associados com a ingestão de produtos processados e ultraprocessados, enquanto, o comportamento oposto deste biomarcador foi relacionado ao consumo de alimentos *in natura* e minimamente processados, de gordura poli-insaturada e de

vitamina A. Não existem evidências que permitam comparações dos achados, no entanto, sabe-se que a ingestão de frutas e vegetais, fontes de antioxidantes, e dos ácidos graxos ω -3 podem reduzir o estresse oxidativo e o estado pró-inflamatório (107-110). Além disso, os metabólitos da vitamina A estão envolvidos em processos regulatórios que afetam todos os mecanismos de acúmulo de gordura no fígado (111). Esses metabólitos foram inversamente correlacionados com os componentes da SM, incluindo, a obesidade, a resistência à insulina, a intolerância à glicose e a hipertrigliceridemia (112-114), e com o conteúdo de TGs no fígado, o grau de esteatose hepática e a severidade da DHGNA (115).

A frutose é monossacarídeo com doçura de 1,7 vezes maior do que a sacarose ou açúcar de mesa (conteúdo 50:50 de glicose ligada a frutose), predominante em frutas, mel, xarope de frutose, produzido pela hidrólise da sacarose (conteúdo 50:50 de glicose e frutose na forma livre), e xarope de milho, produzida pela hidrólise do amido de milho (conteúdo 45:55 de glicose e frutose na forma livre) (116). Dados estatísticos disponibilizados pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, utilizando como fonte a Pesquisa de Orçamentos Familiares 1995-1996, estimou o consumo médio de frutose livre de 4,34g/dia e aproximadamente 27,5g/dia proveniente da sacarose (117). No entanto, a ingestão atual de frutose não está estabelecida e isso se deve, em grande parte, pela inexistência de informações na rotulagem dos produtos processados e ultraprocessados e nas tabelas de composição de alimentos, assim como, pela negligência das instituições de pesquisa científica ou pelo excesso de zelo da indústria alimentícia. Há evidências de que a sacarose e a frutose na forma livre possuem efeitos metabólicos patológicos equivalentes (118) e que a ingestão crônica de frutose de fonte artificial está relacionada com a perda das proteínas das *tight junctions* (occludina e claudina-1), inflamação da mucosa, rompimento da barreira epitelial intestinal, translocação elevada de LPS e ativação dos TLRs no fígado (119-126).

As gorduras poli-insaturadas pertencentes às famílias ω -3 e ω -6 são capazes de bloquear a resposta inflamatória induzida pelo LPS via TLR4 (127), na qual a quantidade dietética total destas parece ser fator determinante e a razão ω -6 para ω -3 somente passa a ser importante quando estão em altas concentrações na dieta (128). Em revisão narrativa, observou-se que o consumo dietético aumentado de ácidos graxos ω -6 induziu a resposta pró-inflamatória e foi associado a condições

inflamatórias crônicas (DHGNA, aterosclerose, artrite reumatoide, doença de Alzheimer) (129). Diferentemente, foi observado que os ácidos graxos ω -3 interagiram com fatores de transcrição (fator nuclear kappa B - NF- κ B e receptor ativado por proliferador do peroxissoma gama - PPAR- γ) promovendo baixa expressão de genes pró-inflamatórios e aumento na síntese de resolvina e protectina, mediadores que reduzem a infiltração de neutrófilos, eliminam citocinas inflamatórias e estimulam a fagocitose de células apoptóticas (130-132). Tais evidências apontam para possível ação terapêutica da adequação dietética das gorduras poli-insaturadas no tratamento dos distúrbios inflamatórios induzidos pelo LPS, com ênfase na ingestão dos ácidos graxos ω -3 a fim de usufruir dos efeitos anti-inflamatórios adicionais.

No Brasil, houve aumento significativo na participação dos produtos processados e ultraprocessados (de 23 a 27,8% do VET) entre os anos de 2002-2003 e 2008-2009 (66). Concomitantemente, a ingestão de alimentos frescos e minimamente processados e ingredientes culinários foi negligenciada. Canella et al. (133) verificaram que a maior disponibilidade doméstica de produtos ultraprocessados nos lares brasileiros foi associada positivamente e independentemente com o excesso de peso e a obesidade. De modo semelhante, no presente estudo, observou-se maior consumo de produtos processados e ultraprocessados nas participantes com excesso de peso, embora a proporção verificada tenha superado a da população brasileira. Por outro lado, no grupo eutrofia, notou-se maior ingestão de ingredientes culinários, o que pode indicar fase intermediária da transição alimentar, na qual, o incremento da densidade energética significaria um avanço em direção ao sobrepeso, ou a recuperação de antigas práticas culinárias por meio do movimento *do it yourself* (faça você mesmo), criado após a segunda guerra mundial como reação ao consumismo.

A avaliação do padrão alimentar da população do estudo revelou a predominância de dieta deficiente em fibras alimentares, vitaminas (D, E, B5, folato, ácido pantotênico e colina), minerais (cálcio, ferro, potássio e magnésio) e ácido linolênico, e com a ingestão aumentada de sódio (77), de gordura saturada (78) e de açúcar de adição (41). Cerca de 25,7% da amostra apresentou dieta de má qualidade, mais da metade (54,1%) com ingestão de alimentos *in natura* e minimamente processados < 50% do VET, 16,2% com ingestão de ingredientes culinários > 25% do VET e 82,4% com ingestão de produtos processados e

ultraprocessados > 25% do VET. Como consequência da alimentação manufaturada e refinada, houve constatação da ingestão inadequada de carboidrato/fibras em 87,8% e de Na/K em 77,0% das participantes. Assim, com a amostra como um todo apresentando má qualidade alimentar, a influência desses índices na distribuição dos valores de LBP foi negligível. Mesmo assim, houve significância no fato de 72,0% daqueles com ingestão de alimentos *in natura* e minimamente processados < 50% do VET e 92% daqueles com consumo inadequado de Na/K estarem classificados no segundo tercil de LBP.

Ao comparar o teor de energia e nutrientes entre os grupos, não foram verificadas diferenças significativas, muito embora, os valores discrepantes dos marcadores antropométricos e de composição corporal denotem o contrário. Este fato se torna ainda mais evidente se considerado o NAF autorrelatado para a estimativa do gasto energético total (GET), segundo a equação proposta pela Organização Mundial de Saúde (134). Observa-se a subestimação do VET em 41,6% e 39,6% naquelas com sobrepeso (GET = 2602,4 kcal) e obesidade (GET = 2914,2 kcal), respectivamente. Cabe ressaltar que todas as participantes informaram não realizar qualquer tipo de restrição alimentar no momento da coleta.

Tal desfecho pode ter sido provocado pelos vieses inerentes aos métodos indiretos de investigação do consumo de alimentos e do NAF. O registro alimentar permite a estimativa do consumo atual com menor margem de erro, pois não depende da memória do paciente. No entanto, ele está sujeito a alterações nos hábitos alimentares, a escolaridade, ao nível de comprometimento e com o tempo disponível para realização das anotações (57). Apesar destes empecilhos, o registro alimentar ainda é considerado boa ferramenta, uma vez que não existe método padrão ouro para avaliar a ingestão real de alimentos e nutrientes, e todas as opções estão sujeitas a variações e erros de medida que diferem quanto à sua magnitude (135). Da mesma forma, o IPAQ, um instrumento não invasivo e de baixo custo para determinar o NAF, apresenta limitações na aplicação, pois depende da memória e do comportamento do indivíduo que pode superestimar o tempo gasto na prática de atividade física nos diferentes domínios (136).

Apesar dos achados, o presente estudo contou com limitações importantes. No recrutamento, a amostra esteve sujeita ao viés de seleção, pois indivíduos inscritos em programa para mudança do estilo de vida frequentemente apresentam agravos à saúde; o delineamento transversal impediu a realização de inferências; a

utilização de população específica não permitiu a generalização dos resultados; a aplicação de métodos subjetivos para avaliar o padrão alimentar e o NAF esteve sujeita a alterações no relato diante da coleta; informações incompletas na rotulagem de produtos processados e ultraprocessados impossibilitaram estimar e averiguar relações entre subtipos de gorduras com os níveis plasmáticos de LBP, visto que a fração do LPS que se liga a tal biomarcador é insolúvel e semelhante a alguns tipos de ácidos graxos saturados; e por fim, a ausência das dosagens de marcadores inflamatórios e da permeabilidade intestinal.

7. CONCLUSÃO

O presente estudo demonstra que a LBP está relacionada a dois componentes da SM e ao acúmulo hepático de gordura em mulheres adultas. Elevações plasmáticas deste biomarcador podem refletir o consumo de produtos processados e ultraprocessados, o excesso de peso e as alterações metabólicas que são provocadas ou agravadas indiretamente pela permeabilidade intestinal aumentada, favorecendo a translocação de LPS e a indução de respostas inflamatórias sistêmicas.

8. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Há evidências que tais desfechos desfavoráveis à saúde podem ser atenuados com adequação alimentar de gordura poli-insaturada, com ênfase no consumo dos ácidos graxos ω -3, provenientes de alimentos *in natura* ou minimamente processados. No entanto, são necessários mais estudos para confirmar estas hipóteses.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. GBD 2015 Obesity Collaborators, Afshin A, Forouzanfar MH, Reitsma MB, Sur P, Estep K, et al. Health Effects of Overweight and Obesity in 195 Countries over 25 Years. *N Engl J Med*. 2017 Jul 6;377(1):13-27.
2. Guilherme A, Virbasius JV, Puri V, Czech MP. Adipocyte dysfunctions linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2008;9:367–77.

3. Hotamisligil G. Endoplasmic reticulum stress and the inflammatory basis of metabolic disease. *Cell* 2010;140:900–17.
4. Grundy SM, Cleeman JI, Merz CN, et al. Diagnosis and Management of the Metabolic Syndrome. An American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement. *Circulation*. 2005;112:2735-2752
5. National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) final report. *Circulation*. 2002;106:3143–3421.
6. Perseghin G, Ghosh S, Gerow K, Shulman GI. Metabolic defects in lean nondiabetic offspring of NIDDM parents: a cross-sectional study. *Diabetes*. 1997;46:1001–1009.
7. Abate N, Chandalia M, Snell PG, Grundy SM. Adipose tissue metabolites and insulin resistance in nondiabetic Asian Indian men. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004;89:2750 –2755.
8. Jensen MD, Haymond MW, Rizza RA, Cryer PE, Miles JM. Influence of body fat distribution on free fatty acid metabolism in obesity. *J Clin Invest*. 1989;83:1168 – 1173.
9. Petersen KF, Shulman GI. Pathogenesis of skeletal muscle insulin resistance type 2 diabetes mellitus. *Am J Cardiol*. 2002;90:11G–18G.
10. Browning JD, Szczepaniak LS, Dobbins R, Nuremberg P, Horton JD, Cohen JC, et al. Prevalence of hepatic steatosis in an urban population in the United States: impact of ethnicity. *Hepatology*. 2004;40:1387–1395.
11. Hamaguchi M, Kojima T, Takeda N, et al. The metabolic syndrome as a predictor of nonalcoholic fatty liver disease. *Ann Intern Med*. 2005;143:722–728.
12. Moore JX, Chaudhary N, Akinyemiju T. Metabolic Syndrome Prevalence by Race/Ethnicity and Sex in the United States, National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-2012. *Prev Chronic Dis*. 2017 Mar 16;14:E24.
13. de Carvalho Vidigal F, Bressan J, Babio N, Salas-Salvadó J. Prevalence of metabolic syndrome in Brazilian adults: a systematic review. *BMC Public Health*. 2013 Dec 18;13:1198.
14. Younossi ZM, Koenig AB, Abdelatif D, Fazel Y, Henry L, Wymer M. Global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease-Meta-analytic assessment of prevalence, incidence, and outcomes. *Hepatology*. 2016 Jul;64(1):73-84.
15. Aron-Wisnewsky J, Clément K. The gut microbiome, diet, and links to cardiometabolic and chronic disorders. *Nat Rev Nephrol*. 2016 Mar;12(3):169-81.

16. Hansen TH, Gøbel RJ, Hansen T, Pedersen O. The gut microbiome in cardio-metabolic health. *Genome Med.* 2015 Mar 31;7(1):33.
17. Tang WH, Kitai T, Hazen SL. Gut Microbiota in Cardiovascular Health and Disease. *Circ Res.* 2017 Mar 31;120(7):1183-1196.
18. Leung C, Rivera L, Furness JB, Angus PW. The role of the gut microbiota in NAFLD. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2016 Jul;13(7):412-25.
19. Marques FZ, Mackay CR, Kaye DM. Beyond gut feelings: how the gut microbiota regulates blood pressure. *Nat Rev Cardiol.* 2017 Aug 24. doi:10.1038/nrcardio.2017.120.
20. Fasano A. Gut permeability, obesity, and metabolic disorders: who is the chicken and who is the egg? *Am J Clin Nutr.* 2017 Jan;105(1):3-4.
21. Turner JR. Intestinal mucosal barrier function in health and disease. *Nat Rev Immunol.* 2009;9:799–809.
22. Teixeira TF, Collado MC, Ferreira CL, Bressan J, Peluzio Mdo C. Potential mechanisms for the emerging link between obesity and increased intestinal permeability. *Nutr Res.* 2012 Sep;32(9):637-47.
23. Cani PD, Possemiers S, Van de Wiele T, Guiot Y, Everard A, Rottier O, et al. Changes in gut microbiota control inflammation in obese mice through a mechanism involving GLP-2-driven improvement of gut permeability. *Gut.* 2009;58:1091–103.
24. Brun P, Castagliuolo I, Leo VD, Buda A, Pinzani M, Palù G, et al. Increased intestinal permeability in obese mice: new evidence in the pathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis. *Am J Physiol.* 2007;292:G518–25.
25. Cani PD, Bibiloni R, Knauf C, Waget A, Neyrinck AM, Delzenne NM, et al. Changes in gut microbiota control metabolic endotoxemia-induced inflammation in high-fat diet–induced obesity and diabetes in mice. *Diabetes.* 2008;57: 1470–81.
26. van Deventer S, Buller H, ten Cate J, Aarden L, Hack C, Sturk A. Experimental endotoxemia in humans: analysis of cytokine release and coagulation, fibrinolytic, and complement pathways. *Blood.* 1990;76:2520–6.
27. Könner AC, Brüning JC. Toll-like receptors: linking inflammation to metabolism. *Trends Endocrinol Metabol.* 2011;22:16–23.
28. Cohen J. The detection and interpretation of endotoxaemia. *Intensive Care Med.* 2000;26 Suppl 1:S51–S56.
29. Novitsky TJ. Limitations of the Limulus amebocyte lysate test in demonstrating circulating lipopolysaccharides. *Ann NY Acad Sci.* 1998;851:416–421.

30. Gnauck A, Lentle RG, Kruger MC. Aspirin-induced increase in intestinal paracellular permeability does not affect the levels of LPS in venous blood of healthy women. *Innate Immun.* 2015 Jul;21(5):537-45.
31. Damms-Machado A, Louis S, Schnitzer A, Volynets V, Rings A, Basrai M, et al. Gut permeability is related to body weight, fatty liver disease, and insulin resistance in obese individuals undergoing weight reduction.
32. Schumann RR. Old and new findings on lipopolysaccharide-binding protein: a soluble pattern-recognition molecule. *Biochem Soc Trans.* 2011 Aug;39(4):989-93.
33. Sun L, Yu Z, Ye X, Zou S, Li H, et al. A marker of endotoxemia is associated with obesity and related metabolic disorders in apparently healthy Chinese. *Diabetes Care.* 2010;33:1925–1932.
34. Albillos A, de la Hera A, Gonzalez M, Moya JL, Calleja JL, et al. Increased lipopolysaccharide binding protein in cirrhotic patients with marked immune and hemodynamic derangement. *Hepatology.* 2003; 37:208–217.
35. Ruiz AG, Casafont F, Crespo J, Cayon A, Mayorga M, et al. Lipopolysaccharide-binding protein plasma levels and liver TNF-alpha gene expression in obese patients: evidence for the potential role of endotoxin in the pathogenesis of non-alcoholic steatohepatitis. *Obes Surg* 2007;17:1374–1380.
36. Lequier LL, Nikaidoh H, Leonard SR, Bokovoy JL, White ML, et al. Preoperative and postoperative endotoxemia in children with congenital heart disease. *Chest.* 2000;117:1706–1712.
37. Lepper PM, Schumann C, Triantafilou K, Rasche FM, Schuster T, et al. Association of lipopolysaccharide-binding protein and coronary artery disease in men. *J Am Coll Cardiol.* 2007;50:25–31.
38. Liu X, Lu L, Yao P, Ma Y, Wang F, Jin Q, et al. Lipopolysaccharide binding protein, obesity status and incidence of metabolic syndrome: a prospective study among middle-aged and older Chinese. *Diabetologia.* 2014 Sep;57(9):1834-41.
39. Kim KE, Cho YS, Baek KS, Li L, Baek KH, Kim JH, et al. Lipopolysaccharide-binding protein plasma levels as a biomarker of obesity related insulin resistance in adolescents. *Korean J Pediatr.* 2016 May;59(5):231-8.
40. Torres-Fuentes C, Schellekens H, Dinan TG, Cryan JF. The microbiota-gut-brain axis in obesity. *Lancet Gastroenterol Hepatol.* 2017 Aug 24;pii S2468-1253(17):30147-4.
41. U.S. Department of Health and Human Services and U.S. Department of Agriculture. 2015–2020 Dietary Guidelines for Americans. 8th Edition. December 2015.
42. ABESO. Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica Diretrizes brasileiras de obesidade 2016 - 4.ed. - São Paulo, SP.

43. Schröder NW, Schumann RR. Non-LPS targets and actions of LPS binding protein (LBP). *J Endotoxin Res.* 2005;11(4):237-42.
44. WHO. World Health Organization. Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases. Geneva: WHO/FAO. Expert Consultation on diet, nutrition and prevention of chronic diseases, 2002.
45. Vors C, Pineau G, Drai J, Meugnier E, Pesenti S, Laville M, Laugerette F, et al. Postprandial Endotoxemia Linked With Chylomicrons and Lipopolysaccharides Handling in Obese Versus Lean Men: A Lipid Dose-Effect Trial. *J Clin Endocrinol Metab.* 2015 Sep;100(9):3427-35.
46. Craig CL, Marshall AL, Sjöström M, Bauman AE, Booth ML, Ainsworth BE, et al. International physical activity questionnaire: 12-country reliability and validity. *Med Sci Sports Exerc.* 2003 Aug;35(8):1381-95.
47. World Health Organization. Global recommendations on physical activity for healthy. 2010.
48. Malachias MVB, Souza WKS, Plavnik FL, Rodrigues CIS, Brandão AA, Neves MFT, et al. 7ª Diretriz Brasileira de Hipertensão Arterial. *Arq Bras Cardiol.* 2016; 107(3Supl.3):1-83.
49. Heyward VH, Stolarczyk LM. Avaliação da composição corporal aplicada. 1 ed. Barueri: São Paulo, 2000.
50. Ohrvall M, Berglund L, Vessby B. Sagittal abdominal diameter compared with other anthropometric measurements in relation to cardiovascular risk. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2000; 24:497-501.
51. Pimentel G. D., Portero-McLellan K. C., Maestá N., Corrente J. E.; Burini R. C. Accuracy of sagittal abdominal diameter as predictor of abdominal fat among Brazilian adults: a comparison with waist circumference. *Nutr Hosp.* 2010;25:656-661.
52. Segal KR, Van Loan M, Fitzgerald PI, Hodgdon JA, Van Itallie TB.. Lean body mass estimation by bioelectrical impedance analysis: a four-site cross-validation study. *Am J Clin Nutr.* 1988;47:7-14.
53. Janssen I, Heymsfield SB, Baumgartner RN, Ross R. Estimation of skeletal muscle mass by bioelectrical impedance analysis. *J Appl Physiol.* 2000;89:465-471.
54. Baumgartner RN et al. Epidemiology of sarcopenia among the elderly in New Mexico. *Am J Epidemiol.* 1998 Apr 15;147(8):755-63.
55. Janssen I et al. Skeletal muscle cutpoints associated with elevated physical disability risk in older men and women. *Am J Epidemiol.* 2004 Feb 15;159(4):413-21

56. Borges RM, Nonino-Borges CB, Marchini JS,; VANUCCHI H. Avaliação do Estado Nutricional. In: Vannucchi & Marchini. *Nutrição e Metabolismo*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007, cap.2, p.5-15.
57. Fisberg RM, Marchioni DML, Colucci ACA. Avaliação do consumo alimentar e da ingestão de nutrientes na prática clínica. *Arq Bras Endocrinol Metab*. 2009;53/5
58. Pinheiro ABV, Lacerda EMA, Benzecry EH, Gomes MCS, Costa VM. Tabela para avaliação do consumo alimentar em medidas caseiras. 5º ed. Atheneu; 2009.
59. Philippi S, Latterza A, Cruz A, Ribeiro L. Adapted food pyramid: a guide for a right food choice. *Revista de Nutrição*. 1999;12(1):65-80.
60. Mota JF, Rinaldi AEM, Pereira A, MAesta N, Meca MS, Burini RC. Adaptation of the healthy eating index to the food guide of the Brazilian Population. *Revista de Nutrição*. 2008;21(5):545-52.
61. Mozaffarian RS1, Lee RM, Kennedy MA, Ludwig DS, Mozaffarian D, Gortmaker SL. Identifying whole grain foods: a comparison of different approaches for selecting more healthful whole grain products. *Public Health Nutr*. 2013 Dec;16(12):2255-64
62. Bailey RL, Parker EA, Rhodes DG, Goldman JD, Clemens JC, Moshfegh AJ, et al., Estimating Sodium and Potassium Intakes and Their Ratio in the American Diet: Data from the 2011-2012 NHANES. *J Nutr*. 2016 Mar 9. pii:jn221184.)
63. Monteiro CA, Levy RB, Claro RM, Castro IRR, Cannon G. A new classification of foods based on the extent and purpose of their processing. *Cad Saúde Pública*. 2010;26(11):2039-49.
64. Monteiro CA, Cannon G, Levy RB, Claro RM, Moubarac J-C. The food system. Processing. The big issue for disease, good health, well-being. *World Nutr*. 2012;3(12):527-69.
65. Monteiro CA, Levy RB, Claro RM, Castro IRR, Cannon G. Increasing consumption of ultra-processed foods and likely impact on human health: evidence from Brazil. *Public Health Nutr*. 2011;14(1):5-13.
66. Martins APB, Levy RB, Claro RM, Moubarac J-C, Monteiro CA. Participação crescente de produtos ultraprocessados na dieta brasileira (1987-2009)/ Increased contribution of ultra-processed food products in the Brazilian diet (1987-2009). *Rev Saude Publica*. 2013;47(4):656-65.
67. Monteiro CA, Moubarac JC, Cannon G, Ng SW, Popkin B. Ultraprocessed products are becoming dominant in the global food system. *Obes Rev*. 2013;14 Suppl 2:21-8.
68. Moubarac JC, Martins APB, Claro RM, Levy RB, Cannon G, Monteiro CA. Consumption of ultra-processed foods and likely impact on human health. Evidence from Canada. *Public Health Nutr*. 2013;16(12):2240-8.

69. Moubarac JC, Batal M, Martins APB, Claro R, Levy R, Cannon G, et al. Processed and ultra-processed food products: Consumption trends in Canada from 1938 to 2011. *Can J Diet Pract Res*. 2014;75(1):15–21.
70. Moubarac J-C, Claro R, Baraldi L, Martins AP, Levy R, Cannon G, et al. International differences in cost and consumption of ready-to consume food and drink products: United Kingdom and Brazil, 2008–2009. *Glob Public Health*. 2013;8(7):245–56.
71. Ridker. From C-Reactive Protein to Interleukin-6 to Interleukin-1: Moving Upstream To Identify Novel Targets for Atheroprotection. *Circ Res* 2016;118:145-56.
72. Levy JC, Matthews DR, Hermans MP. Correct homeostasis model assessment (HOMA) evaluation uses the computer program. *Diabetes Care*. 1998;21:2191-2.
73. Geloneze B, Repetto EM, Geloneze SR, Tambascia MA, Ermetice MN. The threshold value for insulin resistance (HOMA-IR) in an admixture population IR in the Brazilian Metabolic Syndrome Study. *Diabetes Res Clin Pract*. 2006;72(2):219-20.
74. Bedogni G, Bellentani S, Miglioli L, Masutti F, Passalacqua M, Castiglione A, et al. The Fatty Liver Index: a simple and accurate predictor of hepatic steatosis in the general population. *BMC Gastroenterol*. 2006 Nov 2;6:33.
75. American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes - 2016. *Diabetes Care*. 2016;39(suppl 1):S1-S106.
76. World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research. Food, Nutrition, Physical Activity and the Prevention of Cancer: a Global Perspective. AICR: Washington; 2007.
77. Ross AC, Taylor CL, Yaktine AL, Del Valle HB. Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D. Washington (DC): National Academies Press (US); 2011.
78. Faludi AA, Izar MCO, Saraiva JFK, Chacra APM, Bianco HT, Afiune Neto A et al. Atualização da Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose – 2017. *Arq Bras Cardiol* 2017; 109(2Supl.1):1-76.
79. Brand-Miller JC, Foster-Powell K, Atkinson F. The New Glucose Revolution Shopper's Guide to GI Values. Philadelphia: Da Capo Press; 2009. 263p
80. Burani J. Gushers and tricklers: practical use of the glycemic index. [Internet]. 2010. [Acesso em 2018 jan 16]; Disponível em URL: <http://www.glycemicindex.com>
81. Teixeira TF, Souza NC, Chiarello PG, Franceschini SC, Bressan J, Ferreira CL, et al. Intestinal permeability parameters in obese patients are correlated with metabolic syndrome risk factors. *Clinical nutrition (Edinburgh, Scotland)*. 2012;31:735–740.

82. Creely SJ, McTernan PG, Kusminski CM, Fisher fM, Da Silva NF, Khanolkar M, et al. Lipopolysaccharide activates an innate immune system response in human adipose tissue in obesity and type 2 diabetes. *American journal of physiology. Endocrinology and metabolism* . 2007;292:E740–7.
83. de La Serre CB, Ellis CL, Lee J, Hartman AL, Rutledge JC, Raybould HE. Propensity to high-fat diet-induced obesity in rats is associated with changes in the gut microbiota and gut inflammation. *American journal of physiology. Gastrointestinal and liver physiology*. 2010;299:G440–8.
84. Moreno-Navarrete JM, Ortega F, Serino M, Luche E, Waget A, Pardo G, et al. Circulating lipopolysaccharide-binding protein (LBP) as a marker of obesity-related insulin resistance. *International journal of obesity*. 2012;36:1442–1449.
85. Clemente-Postigo M, Roca-Rodriguez Mdel M, Camargo A, Ocaña-Wilhelmi L, Cardona F, Tinahones FJ. Lipopolysaccharide and lipopolysaccharide-binding protein levels and their relationship to early metabolic improvement after bariatric surgery. *Surg Obes Relat Dis*. 2015 Jul-Aug;11(4):933-9.
86. Ott B, Skurk T, Hastreiter L, Lagkouvardos I, Fischer S, Büttner J, et al. Effect of caloric restriction on gut permeability, inflammation markers, and fecal microbiota in obese women. *Sci Rep*. 2017 Sep 20;7(1):11955.
87. Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ. The metabolic syndrome. *Lancet*. 2005 Apr 16-22;365(9468):1415-28.
88. Byrne CD, Targher G. NAFLD: a multisystem disease. *J Hepatol*. 2015 Apr;62(1 Suppl):S47-64.
89. Sun L, Yu Z, Ye X, Zou S, Li H, Yu D, et al. A Marker of Endotoxemia Is Associated With Obesity and Related Metabolic Disorders in Apparently Healthy Chinese. *Diabetes Care*. 2010 Sep;33(9):1925-32.
90. Gonzalez-Quintela A, Alonso M, Campos J, Vizcaino L, Loidi L, Gude F. Determinants of Serum Concentrations of Lipopolysaccharide-Binding Protein (LBP) in the Adult Population: The Role of Obesity. *PLoS One*. 2013;8(1):e54600.
91. Jialal I, Devaraj S, Bettaieb A, Haj F, Adams-Huet B. Increased adipose tissue secretion of Fetuin-A, lipopolysaccharidebinding protein and high-mobility group box protein 1 in metabolic syndrome. *Atherosclerosis*. 2015 Jul;241(1):130-7.
92. Kitabatake H, Tanaka N, Fujimori N, Komatsu M, Okubo A, Kakegawa K, et al. Association between endotoxemia and histological features of nonalcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol*. 2017 Jan 28; 23(4): 712–722.
93. Pang J, Xu W, Zhang X, Wong GL, Chan AW, Chan HY, et al. Significant positive association of endotoxemia with histological severity in 237 patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Aliment Pharmacol Ther*. 2017 Jul;46(2):175-182.

94. Jin CJ, Engstler AJ, Ziegenhardt D, Bischoff SC, Trautwein C, Bergheim I. Loss of lipopolysaccharide-binding protein attenuates the development of diet-induced non-alcoholic fatty liver disease in mice. *J Gastroenterol Hepatol*. 2017 Mar;32(3):708-715.
95. Santisteban MM, Qi Y, Zubcevic J, Kim S, Yang T, Shenoy V, et al. Hypertension-linked pathophysiological alterations in the gut. *Circ Res*. 2017;120:312–323.
96. Stewart DC, Rubiano A, Santisteban MM, Shenoy V, Qi Y, Pepine CJ, et al. Hypertension-linked mechanical changes of rat gut. *Acta Biomater*. 2016;45:296–302.
97. Marechal X, Favory R, Joulin O, Montaigne D, Hassoun S, Decoster B, et al. Endothelial glycocalyx damage during endotoxemia coincides with microcirculatory dysfunction and vascular oxidative stress. *Shock*. 2008 May;29(5):572-6.
98. Sompamit K, Kukongviriyapan U, Nakmareong S, Pannangpetch P, Kukongviriyapan V. Curcumin improves vascular function and alleviates oxidative stress in non-lethal lipopolysaccharide-induced endotoxaemia in mice. *Eur J Pharmacol*. 2009 Aug 15;616(1-3):192-9.
99. Solak Y, Afsar B, Vaziri ND, Aslan G, Yalcin CE, Covic A. Hypertension as an autoimmune and inflammatory disease. *Hypertens Res*. 2016 Aug;39(8):567-73.
100. Savoia C, Schiffrin EL. Inflammation in hypertension. *Curr Opin NephrolHypertens*. 2006 Mar;15(2):152-8.
101. Nikniaz L, Nikniaz Z, Tabrizi JS, Sadeghi-Bazargani H, Farahbakhsh M. Is within-normal range liver enzymes associated with metabolic syndrome in adults? *Clin Res Hepatol Gastroenterol*. 2017 Aug 30. pii: S2210-7401(17)30150-X.
102. André P, Balkau B, Born C, Royer B, Wilpart E, Charles M-A, et al. Hepatic markers and development of type 2 diabetes in middle aged men and women: a three-year follow-up study: the DESIR Study (Data from an Epidemiological Study on the Insulin Resistance Syndrome). *Diabetes Metab*. 2005;31(6):542-50.
103. Adams LA, Waters OR, Knudman MW, Elliott RR, Olynyk JK. NAFLD as a risk factor for the development of diabetes and the metabolic syndrome: an eleven-year follow-up study. *Am J Gastroenterol* 2009;104(4):861-7.
104. Ioannou GN, Boyko EJ, Lee SP. The prevalence and predictors of elevated serum aminotransferase activity in the United States in 1999-2002. *Am J Gastroenterol*. 2006;101(1):76—82.
105. Jeong S, Nam H, Rhee J, Shin J, Kim J, Cho K. Metabolic syndrome and ALT: a community study in adult Koreans. *Int J Obes*. 2004;28(8):1033-8.
106. Wigg AJ, Roberts-Thomson IC, Dymock RB, McCarthy PJ, Grose RH, Cummins AG. The role of small intestinal bacterial overgrowth, intestinal permeability,

endotoxaemia, and tumour necrosis factor alpha in the pathogenesis of non-alcoholic steatohepatitis. *Gut*. 2001;48:206-11.

107. Anderson C, Milne GL, Sandler DP, Nichols HB. Oxidative stress in relation to diet and physical activity among premenopausal women. *Br J Nutr*. 2016 Oct;116(8):1416-1424.

108. Rink SM, Mendola P, Mumford SL, Poudrier JK, Browne RW, Wactawski-Wende J, et al. Self-report of fruit and vegetable intake that meets the 5 a day recommendation is associated with reduced levels of oxidative stress biomarkers and increased levels of antioxidant defense in premenopausal women. *J Acad Nutr Diet*. 2013 Jun;113(6):776-85.

109. Jiang Y, Wu SH, Shu XO, Xiang YB, Ji BT, Milne GL, et al. Cruciferous vegetable intake is inversely correlated with circulating levels of proinflammatory markers in women. *J Acad Nutr Diet*. 2014 May;114(5):700-8.e2.

110. Siriwardhana N, Kalupahana NS, Moustaid-Moussa N. Health benefits of n-3 polyunsaturated fatty acids: eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid. *Adv Food Nutr Res*. 2012;65:211-22.

111. Saeed A, Dullaart RPF, Schreuder TCMA, Blokzijl H, Faber KN. Disturbed Vitamin A Metabolism in Non-Alcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD). *Nutrients*. 2017 Dec 29;10(1).

112. Liu Y, Chen H, Mu D, Fan J, Song J, Zhong Y, et al. Circulating Retinoic Acid Levels and the Development of Metabolic Syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. 2016;101:1686–1692.

113. Wei X, Peng R, Cao J, Kang Y, Qu P, Liu Y, et al. Serum vitamin A status is associated with obesity and the metabolic syndrome among school-age children in Chongqing, China. *Asia Pac J Clin Nutr*. 2016;25:563–570.

114. Godala M, Materek-Kuśmierkiewicz I, Moczulski D, Rutkowski M, Szatko F4, Gaszyńska E, et al. The risk of plasma vitamin A, C, E and D deficiency in patients with metabolic syndrome: A case-control study. *Adv Clin Exp Med*. 2017 Jul;26(4):581-586.

115. Liu Y, Chen H, Wang J, Zhou W, Sun R, Xia M. Association of serum retinoic acid with hepatic steatosis and liver injury in nonalcoholic fatty liver disease. *Am J Clin Nutr*. 2015;102:130–137.

116. Gaino NM, Silva MV. Consumo de frutose e impact o na saúde humana. *Segurança Alimentar e Nutricional, Campinas*. 2011;18(2):88-98.

117. Barreiros RC, Bossolan G, Trindade CEP. Frutose em humanos: efeitos metabólicos, utilização clínica e erros inatos associados. *Rev Nutr*. 2005;18(3):377-89.

118. Jang C, Hui S, Lu W, Cowan AJ, Morscher RJ, Lee G, et al. The Small Intestine Converts Dietary Fructose into Glucose and Organic Acids. *Cell Metab.* 2018 Feb 6;27(2):351-361.
119. Rahman K, Desai C, Iyer SS, Thorn NE, Kumar P, Liu Y, et al. Loss of junctional adhesion molecule A promotes severe steatohepatitis in mice on a diet high in saturated fat, fructose, and cholesterol. *Gastroenterology.* 2016;151:733-46.
120. Spruss A, Bergheim I. Dietary fructose and intestinal barrier: potential risk factor in the pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease. *J Nutr Biochem.* 2009;20:657–62.
121. Ritze Y, Bárdos G, Claus A, Ehrmann V, Bergheim I, Schwartz A, et al. *Lactobacillus rhamnosus* GG protects against non-alcoholic fatty liver disease in mice. *PLoS One.* 2014;9(1):e80169.
122. Spruss A, Kanuri G, Stahl C, Bischoff SC, Bergheim I. Metformin protects against the development of fructose-induced steatosis in mice: role of the intestinal barrier function. *Lab Invest.* 2012;92:1020–32.
123. Volynets V, Louis S, Pretz D, Lang L, Ostaff MJ, Wehkamp J, et al. Intestinal barrier function and the gut microbiome are differentially affected in mice fed a Western-style diet or drinking water supplemented with fructose. *J Nutr.* 2017;147:770–80.
124. Sellmann C, Prieb J, Landmann M, Degen C, Engstler AJ, Jin CJ, et al. Diets rich in fructose, fat or fructose and fat alter intestinal barrier function and lead to the development of nonalcoholic fatty liver disease over time. *J Nutr Biochem.* 2015;26:1183–92.
125. Jegatheesan P, Beutheu S, Freese K, Waligora-Dupriet AJ, Nubret E, Butel MJ, et al. Preventive effects of citrulline on Western diet-induced non-alcoholic fatty liver disease in rats. *Br J Nutr.* 2016;116:191–203.
126. Ochoa M, Lallès JP, Malbert CH, Val-Laillet D. Dietary sugars: their detection by the gut-brain axis and their peripheral and central effects in health and diseases. *Eur J Nutr.* 2015;54:1–24.
127. Fritsche KL. The science of fatty acids and inflammation. *Adv Nutr.* 2015 May 15;6(3):293S-301S.
128. Hintze KJ, Tawzer J, Ward RE. Concentration and ratio of essential fatty acids influences the inflammatory response in lipopolysaccharide challenged mice. *Prostaglandins Leukotrienes Essent Fatty Acids.* 2016 Aug;111:37-44.
129. Patterson E, Wall R, Fitzgerald GF, Ross RP, Stanton C. Health Implications of High Dietary Omega-6 Polyunsaturated Fatty Acids. *J Nutr Metab.* 2012; 2012: 539426.

130. Weylandt KH, Chiu C-Y, Gomolka B, Waechter SF, Wiedenmann B. Omega-3 fatty acids and their lipid mediators: towards an understanding of resolvins and protectin formation. *Prostaglandins Other Lipid Mediat.* 2012;97:73–82.
131. Calder PC. Omega-3 fatty acids and inflammatory processes. *Nutrients.* 2010;2:355–374.
132. Levy BD. Resolvins and protectins: Natural pharmacophores for resolution biology. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 2010;82:327–332.
133. Canella DS, Levy RB, Martins APB, Claro RM, Moubarac J-C, Baraldi LG, et al. (2014) Ultra-Processed Food Products and Obesity in Brazilian Households (2008-2009). *PLoS ONE* 9(3): e92752.
134. FAO/WHO/UNU. Energy and protein requirements. Geneva: World Health Organization, 1985.
135. Willet WC. *Nutritional Epidemiology*. 2ª ed. New York: Oxford University Press; 1998.
136. Barros MVG, Nahas MV. *Medidas da Atividade Física: Teoria e Aplicação em Diversos Grupos Populacionais*. Londrina, Midiograf, 2003.

Anexos

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: ASSOCIAÇÃO DO CONSUMO DIETÉTICO DE GORDURAS COM AS CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS DE LIPOPOLISSACARÍDEO EM ADULTOS PARTICIPANTES DE PROGRAMA PARA MODIFICAÇÃO DO ESTILO DE VIDA

Pesquisador: Caroline das Neves Mendes Nunes

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 57489616.4.0000.5411

Instituição Proponente: Departamento de Patologia

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.658.704

Apresentação do Projeto:

Acredita-se que a ingestão excessiva de gordura, que é comum no estilo de vida ocidental e em indivíduos com excesso de peso, promove aumento de lipopolissacarídeo (LPS) circulante, levando a endotoxemia metabólica. Os LPSs são componentes que estão presentes principalmente na superfície celular de bactérias Gram-negativas e funcionam como antígenos, estimulando a resposta imune do hospedeiro. Pequenas quantidades desta endotoxina atravessam o intestino humano constantemente e estimulam o sistema imune, aumentando a proliferação de linfócitos, a capacidade fagocítica e a secreção de citocinas. O que determina um efeito positivo ou negativo da atividade do LPS no sistema imune, como resistência a infecções ou o aumento da inflamação, respectivamente, são os níveis de mediadores produzidos pelas células ativadas.

Da mesma forma que o LPS, os AGS aumentam a secreção de TNF- e IL-6, diminuem a sensibilidade à insulina.

O estilo de vida ocidental é marcado pelo sedentarismo e pelo padrão alimentar com alta densidade energética, rico em proteína animal, gordura saturada e açúcar simples, e pobre em frutas e vegetais; ou seja, por práticas que são associadas com alta incidência de doenças crônicas. Deste modo, as tentativas elaboradas no sentido de esclarecer os mecanismos relacionados ao consumo da dieta rica em gordura com os níveis de LPS plasmáticos, e como os

Endereço: Chácara Butignolli, s/n

Bairro: Rubião Junior

UF: SP

Município: BOTUCATU

CEP: 18.618-970

Telefone: (14)3880-1608

E-mail: capellup@fmb.unesp.br

Continuação do Parecer: 1.658.704

tipos específicos de AG podem influenciar a endotoxemia metabólica e a inflamação subclínica, devem ser encorajadas, uma vez que a resistência insulínica e a inflamação subclínica são componentes importantes da fisiopatologia de doenças como: a obesidade, o diabetes mellitus tipo 2, a hipertensão, a doença hepática gordurosa não alcoólica, câncer, doenças cardiovasculares e renais.

É esperado que indivíduos com consumo de gordura total elevado ou de AGS de cadeia longa apresentem maiores concentrações plasmáticas de LPS e, conseqüentemente, de mediadores inflamatórios.

Será realizado estudo transversal com dados levantados no programa de MEV "Mexa-se pró-saúde" em Botucatu-SP, conduzido por profissionais do Centro de Metabolismo em Exercício e Nutrição (CeMENutri) pertencente a Faculdade de Medicina de Botucatu - UNESP. Serão incluídos 36 participantes de um ou mais protocolos do programa MEV Mexa-se Pró-saúde, acima de 35 anos; e serão excluídos os indivíduos que apresentarem doenças de caráter alérgico, inflamatório e auto-imune, tais como: artrite reumatóide, artrose, gota, psoríase, lúpus, e em tratamento com antibióticos, antiinflamatórios e hipolipemiantes. De acordo com os critérios do índice de massa corporal (IMC) os 36 participantes serão divididos em 3 grupos (eutrofia, sobrepeso e obesidade) de 12 participantes cada.

Serão realizadas as avaliações:

- antropométrica: aferição de peso e altura para o cálculo do índice de massa corporal (IMC); determinação do percentual de gordura corporal pelo aparelho de impedância bioelétrica; medida da circunferência abdominal por fita métrica;
- consumo dietético: através de 3 recordatórios de 24 horas, sendo dois deles de dias seguidos e um de final de semana, os dados serão avaliados pelo Índice de Alimentação Saudável Adaptado (IAS-A);
- bioquímica: determinação das concentrações séricas de glicose, triglicérides, colesterol total, HDL e será calculado o LDL;
- resposta inflamatória: através dos mediadores inflamatórios TNF-alfa e IL-6;
- endotoxemia metabólica: determinação do LPS plasmático;
- dados demográficos, socioeconômicos e nível de atividade física: através da aplicação do questionário de atividade física versão longa (IPAQ).

Endereço: Chácara Butignolli , s/n

Bairro: Rubião Junior

CEP: 18.618-970

UF: SP **Município:** BOTUCATU

Telefone: (14)3880-1608

E-mail: capellup@fmb.unesp.br

Continuação do Parecer: 1.658.704

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

- Investigar associações entre o consumo dietético de gorduras e as concentrações plasmáticas de lipopolissacarídeo (LPS) em adultos participantes de programa para modificação do estilo de vida (MEV).

Objetivos secundários:

- Caracterizar os indivíduos de acordo com as condições demográficas, socioeconômicas, nível de atividade física e estado nutricional;
- Analisar a ingestão dietética de gorduras e quantificar os principais ácidos graxos (AG) que compõem a alimentação da população em estudo;
- Realizar a adequação do consumo de gordura dietética segundo as recomendações nutricionais;
- Identificar os níveis de LPS plasmáticos e de alguns mediadores inflamatórios, como: TNF- e PCR-US;
- Avaliar a relação entre os dados antropométricos, dietéticos, LPS plasmático e parâmetros inflamatórios.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Haverá risco de hematomas por conta da picada da agulha na coleta de sangue, entretanto a mancha roxa deve desaparecer rapidamente. O participante poderá se sentir constrangido ao ser indagado sobre hábitos alimentares e condições de vida. O mesmo poderá a qualquer momento recusar, sem a necessidade de se justificar, de cumprir qualquer exame, sem que ele passe por qualquer penalidade.

Benefícios:

O benefício em participar do presente estudo será tomar ciência de sua condição de saúde geral, estado nutricional e nível de atividade física. Desta forma, possuirá informações cruciais para elaboração de intervenções efetivas no seu estilo de vida e saúde. E ainda, contribuirá com as demais pesquisas que buscam esclarecer e encontrar terapias coadjuvantes para o tratamento da infectoobesidade.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de um projeto de pesquisa de Mestrado pelo Programa de Pós-Graduação em

Endereço: Chácara Butignolli , s/n

Bairro: Rubião Junior

CEP: 18.618-970

UF: SP

Município: BOTUCATU

Telefone: (14)3880-1608

E-mail: capellup@fmb.unesp.br

Continuação do Parecer: 1.658.704

Patologia. A pesquisa apresenta título adequado, objetivos claros, critérios de inclusão e de exclusão bem definidos, metodologia bem descrita, avaliação de riscos e benefícios, sendo um estudo relevante.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Termos de apresentação obrigatória:

- Folha de Rosto: preenchida corretamente.
- Projeto completo de pesquisa e informações básicas do projeto: adequados.
- Documento de Anuência do EAP: correto.
- TCLE: elaborado na forma de convite, explica os procedimentos de forma clara, explica riscos e benefícios, garante o sigilo das informações, apresentando nome, endereço, telefone, e-mail dos pesquisadores e endereço, telefones e horários de funcionamento do CEP.
- Cronograma de execução: está adequado, programado para iniciar em 01/09/2016.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Aprovado sem pendências.

Considerações Finais a critério do CEP:

Projeto de Pesquisa APROVADO, deliberado em reunião ORDINÁRIA do CEP de 01/08/2016, sem necessidade de envio à CONEP.

O CEP solicita aos pesquisadores que após a execução do projeto em questão, seja enviado para análise o Relatório Final de Atividades, o qual deverá ser enviado via Plataforma Brasil na forma de "NOTIFICAÇÃO".

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_719146.pdf	30/06/2016 16:41:07		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_de_Mestrado_Caroline_das_Neves_Mendes_Nunes_Completo.pdf	30/06/2016 16:38:28	Caroline das Neves Mendes Nunes	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de	TCLE_Projeto_Caroline_das_Neves_Mendes_Nunes.pdf	30/06/2016 16:37:26	Caroline das Neves Mendes Nunes	Aceito

Endereço: Chácara Butignolli , s/n

Bairro: Rubião Junior

CEP: 18.618-970

UF: SP

Município: BOTUCATU

Telefone: (14)3880-1608

E-mail: capellup@fmb.unesp.br

Continuação do Parecer: 1.658.704

Ausência	TCLE_Projeto_Caroline_das_Neves_Mendes_Nunes.pdf	30/06/2016 16:37:26	Caroline das Neves Mendes Nunes	Aceito
Outros	Documento_de_Anuencia_Institucional_Caroline_das_Neves_Mendes_Nunes.pdf	07/06/2016 15:18:26	Caroline das Neves Mendes Nunes	Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_rosto_Caroline_das_Neves_Mendes_Nunes.pdf	07/06/2016 14:55:21	Caroline das Neves Mendes Nunes	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

BOTUCATU, 02 de Agosto de 2016

Assinado por:
SILVANA ANDREA MOLINA LIMA
(Coordenador)

Endereço: Chácara Butignolli , s/n

Bairro: Rubião Junior

CEP: 18.618-970

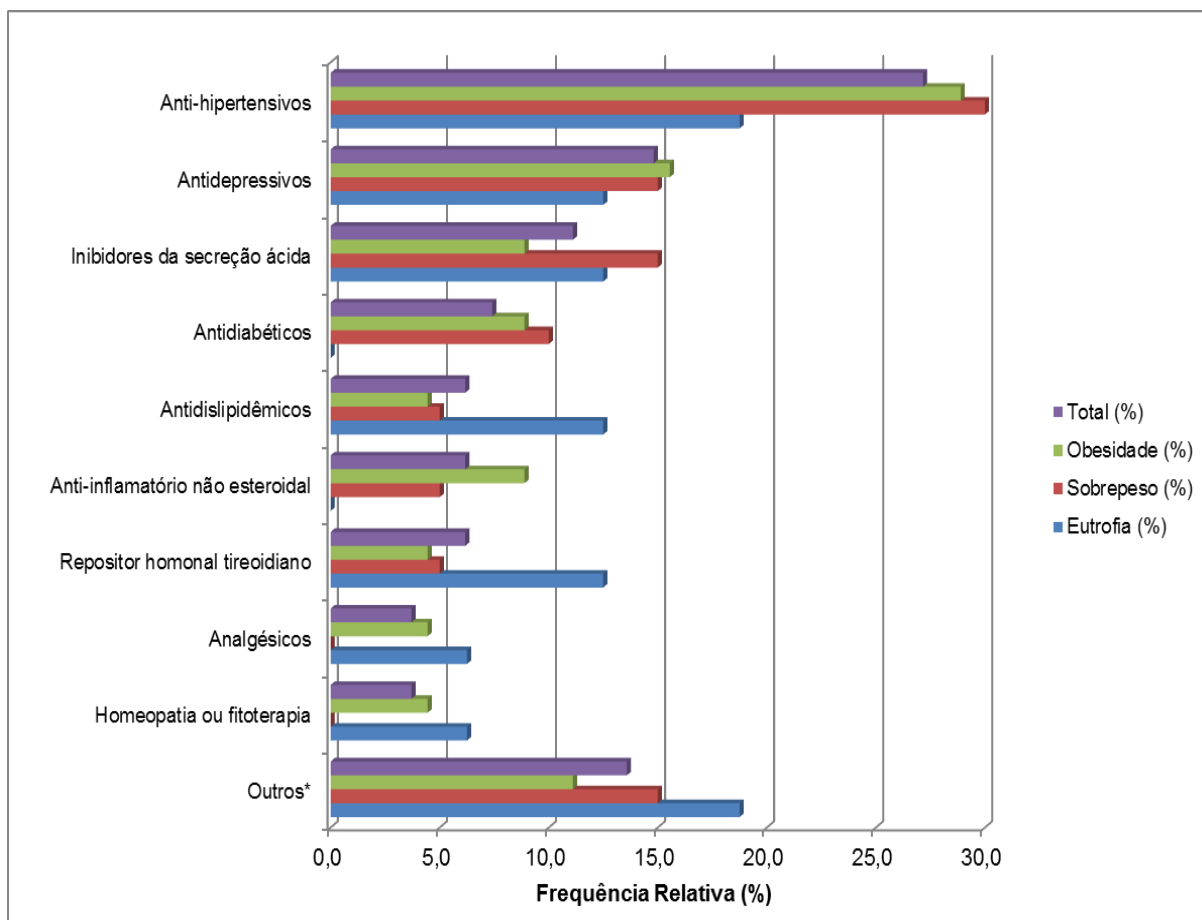
UF: SP **Município:** BOTUCATU

Telefone: (14)3880-1608

E-mail: capellup@fmb.unesp.br

ANEXO 2

Figura Suplementar 1. Uso de medicação estratificado pela aplicação na população do estudo



Outros*: referem-se a medicamentos para o tratamento de anemia, antiteroidiano, osteoartrite, polivitamínico, insônia, distúrbio do equilíbrio e anticonvulsante

ANEXO 3

Tabela Suplementar 1. Consumo de micronutrientes, subtipos de ácidos graxos saturados e poli-insaturados das participantes do estudo

Variáveis	Recomendação	Total (n=74)	Eutrofia (n=14)	Sobrepeso (n=26)	Obesidade (n=34)	p
		Md (Min-Max)	Md (Min-Max)	Md (Min-Max)	Md (min-Max)	
Vitamina A (RE)	700,0 RE	906,0 (80,2-9654,8)	981,5 (544,5-830,0)	830,0 (282,1-9654,8)	923,0 (80,2-2238,3)	0,60
Vitamina D (µg)	15,0 µg	3,7 (0,7-12,2)	4,0 (1,5-8,5)	3,6 (0,7-6,7)	4,0 (0,7-12,2)	0,51
Vitamina E (mg)	15,0 mg	5,4 (2,1-12,7)	5,7 (2,7-12,7)	4,9 (2,4-10,8)	5,4 (2,1-11,6)	0,65
Vitamina K (µg)	90,0 µg	118,8 (29,7-835,5)	118,4 (78,7-598,7)	116,1 (29,7-835,5)	128,6 (31,9-548,0)	0,64
Vitamina C (mg)	75,0 mg	80,8 (12,4-2273,9)	110,5 (17,5-2273,9)	82,5 (12,4-1134,6)	74,1 (13,2-841,9)	0,53
Tiamina (mg)	1,1 mg	1,3 (0,7-2,3)	1,3 (0,9-2,1)	1,2 (0,8-2,1)	1,5 (0,7-2,3)	0,52
Riboflavina (mg)	1,1 mg	1,4 (0,7-3,1)	1,5 (1,0-3,1)	1,3 (0,7-2,4)	1,5 (0,7-2,8)	0,61
Niacina (mg)	14,0 mg	18,8 (8,2-50,2)	20,2 (8,2-28,9)	18,4 (10,2-36,4)	18,6 (8,3-50,2)	0,83
Ácido Pantotênico (mg)	5,0 mg	4,3 (2,3-9,1)	4,8 (3,3-8,7)	4,1 (2,6-7,7)	4,3 (2,3-9,1)	0,31
Vitamina B6 (mg)	1,5 mg	1,5 (0,6-3,2)	1,7 (1,3-2,4)	1,5 (0,6-3,1)	1,5 (0,6-3,2)	0,45
Folato (µg)	400,0 µg	309,9 (140,4-562,4)	311,7 (200,1-562,4)	282,6 (140,4)	330,7 (145,9-509,8)	0,18
Vitamina B12 (µg)	2,4 µg	3,3 (0,57-14,3)	3,8 (1,2-9,0)	3,0 (1,1-14,3)	3,3 (0,6-7,3)	0,38
Colina (mg)	425,0 mg	283,1 (108,7-742,1)	314,7 (183,6-742,1)	262,4 (138,3-556,2)	275,9 (108,7-578,6)	0,53
Betaina (mg)	30,0 mg	113,9 (28,9-404,9)	151,6 (28,9-264,3)	99,5 (50,8-404,9)	115,2 (34,9-257,1)	0,44
Cálcio (mg)	1200,0 mg	616,8 (150,2-1412,9)	625,5 (283,7-978,1)	586,5 (258,9-1172,0)	609,4 (150,2-1412,9)	0,71
Fósforo (mg)	700,0 mg	978,6 (372,9-1805,8)	998,3 (703,0-1774,0)	901,9 (478,3-1788,0)	1102,2 (372,9-1805,8)	0,55
Magnésio (mg)	320,0 mg	217,1 (99,8-379,4)	228,1 (165,3-358,5)	201,5 (99,8-377,8)	219,3 (124,8-379,4)	0,13
Ferro (mg)	8,0 mg	10,5 (4,8-21,6)	10,6 (5,1-20,6)	9,7 (5,8-21,6)	12,0 (4,8-17,6)	0,47
Zinco (mg)	8,0 mg	9,9 (3,1-24,4)	9,3 (4,0-14,7)	9,4 (4,5-24,4)	10,2 (3,1-20,5)	0,55
Cobre (mg)	0,9 mg	0,9 (0,4-2,2)	1,0 (0,7-1,9)	0,8 (0,6-2,2)	1,0 (0,4-1,8)	0,33
Selênio (µg)	55,0 µg	101,6 (52,3-246,8)	131,5 (73,7-246,8)	101,2 (52,1-185,9)	99,6 (51,3-204,4)	0,30
Sódio (mg)	2300,0 mg*	2596,4 (1190,9-4558,4)	2407,6 (1358,2-3775,4)	2564,7 (1622,6-4558,4)	2954,5 (1190,9-4443,3)	0,78
Potássio (mg)	4700,0 mg	2107,4 (912,7-4178,2)	2268,8 (1583,8-3817,2)	2074,9 (912,7-3601,4)	2025,5 (1281,2-4178,2)	0,63
Sódio/potássio	< 1,0	1,2 (0,6-1,8)	1,1 (0,6-1,7)	1,2 (0,9-1,8)	1,2 (0,6-1,8)	0,42
Manganês (mg)	1,8 mg	2,5 (1,1-73,4)	2,6 (1,6-4,2)	2,2 (1,2-73,4)	2,6 (1,1-57,6)	0,56
Ácido butírico (g)	-	0,4 (0,0-1,4)	0,2 (0,0-1,0)	0,4 (0,1-0,9)	0,3 (0,0-1,4)	0,41
Ácido caproico (g)	-	0,2 (0,0-0,7)	0,2 (0,0-0,6)	0,2 (0,0-0,7)	0,2 (0,0-0,7)	0,75
Ácido caprílico (g)	-	0,2 (0,0-0,7)	0,3 (0,0-0,6)	0,2 (0,0-0,5)	0,2 (0,0-0,7)	0,95
Ácido cáprico (g)	-	0,3 (0,0-0,9)	0,3 (0,0-0,8)	0,3 (0,0-0,7)	0,3 (0,0-0,9)	0,86
Ácido láurico (g)	-	0,4 (0,0-4,7)	0,3 (0,0-4,7)	0,3 (0,1-1,5)	0,4 (0,0-3,6)	0,70
Ácido mirístico (g)	-	1,7 (0,2-4,2)	1,6 (0,3-3,4)	1,8 (0,2-3,9)	1,7 (0,2-4,2)	0,87
Ácido palmítico (g)	-	11,1 (3,6-28,4)	12,1 (5,9-18,3)	10,7 (4,6-28,4)	11,0 (3,6-23,2)	0,96
Ácido margárico (g)	-	0,0 (0,0-0,2)	0,0 (0,0-0,1)	0,0 (0,0-0,2)	0,0 (0,0-0,1)	0,96
Ácido esteárico (g)	-	4,9 (1,2-15,6)	4,9 (1,8-10,6)	4,8 (1,7-15,6)	4,9 (1,2-10,6)	0,78
Ácido araquídico(g)	-	0,1 (0,0-0,5)	0,1 (0,0-0,3)	0,1 (0,0-0,2)	0,1 (0,0-0,3)	0,80
Ácido beênico (g)	-	0,1 (0,0-0,5)	0,1 (0,0-0,2)	0,1 (0,0-0,1)	0,1 (0,0-0,5)	0,72
Ácido linoleico (g)	5 a 10% do VET	10,7 (3,6-27,0)	14,1 (4,0-27,0)	10,4 (4,7-23,2)	10,7 (3,6-20,9)	0,46
EPA (g)	-	0,0 (0,0-0,3)	0,0 (0,0-0,3)	0,0 (0,0-0,3)	0,0 (0,0-0,3)	0,08
DHA (g)	-	0,0 (0,0-0,5)	0,1 (0,0-0,4)	0,0 (0,0-0,4)	0,0 (0,0-0,5)	0,09
Ácido linolênico (g)	0,6 a 1,2% do VET	1,5 (0,5-5,8)	1,6 (0,7-5,8)	1,4 (0,7-2,9)	1,5 (0,5-2,4)	0,50
Ácido araquidônico (g)	-	0,1 (0,0-0,5)	0,1 (0,0-0,5)	0,1 (0,1-0,3)	0,1 (0,0-0,3)	0,57
Ômega 3 (g)	-	1,6 (0,7-5,8)	1,8 (0,8-5,8)	1,4 (0,8-3,1)	1,6 (0,7-3,1)	0,33

EPA: Ácido Eicosapentaenoico; DHA: Ácido Docosahexaenoico; RE: Equivalente de Retinol; µg: Micrograma; mg: Miligrama; g: Grama. Testes de Kruskal-Wallis seguido de Dunn para comparações múltiplas nas variáveis contínuas. Letras indicam resultados significativos ($p < 0,05$) entre os grupos: eutrofia (a), sobrepeso (b) e obesidade (c). * Refere-se ao limite Superior Tolerável de Ingestão. **Nota.** Fonte: Dietary Reference Intakes for Calcium, Phosphorous, Magnesium, Vitamin D, and Fluoride (1997); Dietary Reference Intakes for Thiamin, Riboflavin, Niacin, Vitamin B6, Folate, Vitamin B12, Pantothenic Acid, Biotin, and Choline (1998); Dietary Reference Intakes for Vitamin C, Vitamin E, Selenium, and Carotenoids (2000); Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc (2001); Dietary Reference Intakes for Water, Potassium, Sodium, Chloride, and Sulfate (2005); and Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D (2011). These reports may be accessed via www.nap.edu.