

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

Tatiana Cristina Figueira Polo

**CARACTERIZAÇÃO DO MICROBIOMA INTESTINAL E
PERFIL NUTRICIONAL DE PACIENTES COM PSORÍASE
EM COMPARAÇÃO COM CONTROLES ONÍVOROS E
VEGETARIANOS**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina de Botucatu,
Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”,
campus de Botucatu, para obtenção do título de doutor em
patologia.

ORIENTADOR: Prof. Hélio Amante Miot

**Botucatu
2022**

TATIANA CRISTINA FIGUEIRA POLO

**CARACTERIZAÇÃO DO MICROBIOMA INTESTINAL E
PERFIL NUTRICIONAL DE PACIENTES COM PSORÍASE
EM COMPARAÇÃO COM CONTROLES ONÍVOROS E
VEGETARIANOS**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, *campus* de Botucatu, para obtenção do título de doutor em patologia.

ORIENTADOR: Prof. Hélio Amante Miot

Botucatu
2022

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÊC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Polo, Tatiana Cristina Figueira.

Caracterização do microbioma intestinal de homens brasileiros com psoríase em comparação controles onívoros e vegetarianos / Tatiana Cristina Figueira Polo. - Botucatu, 2022

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina de Botucatu

Orientador: Hélio Amante Miot

Capes: 40101029

1. Psoríase. 2. Microbioma gastrointestinal. 3. Dieta vegetariana. 4. Dieta ocidental. 5. Obesidade.

Palavras-chave: Dieta ocidental; Dieta vegetariana; Microbiana intestinal; Obesidade; psoríase.

DEDICATÓRIA

“Dedico este trabalho a minha eterna e amada avó, **Gersília** (*in memoriam*) que me ensinou como se reerguer diante das adversidades da vida.”

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço à **Deus**, por me dar sabedoria e proteção durante toda caminhada desse trabalho.

Agradeço aos meus pais **Sidney e Maria**, poder realizar este sonho em me tornar doutora é uma forma de retribuí-los por toda educação, apoio e amor em todas as etapas de minha vida.

Minha irmã **Janaina**, que sempre me apoia, me aconselha e me faz ter coragem para seguir meus sonhos.

Sou grata pela **família** abençoada que tenho, pois sem vocês não seria possível chegar a lugar nenhum, em especial a tia **Edenice** e o tio **José Nilson**, que estiveram ao meu lado e sempre me ajudaram a conquistar tudo que precisei.

Agradeço ao meu marido **Leandro**, que me incentiva e me faz acreditar que tudo é possível.

Aos meu sogros, **Elaine e Antonio** e minha cunhada **Letícia** por todo amor e apoio em minha vida, especialmente durante o doutoramento.

Ao meu orientador, doutor **Hélio Miot**, que resgatou em mim o sonho de ser pesquisadora, por todos os ensinamentos e motivação durante essa jornada.

Agradeço a doutora **Mariana Rigatto**, por se aventurar comigo no universo do microbioma intestinal e se tornar mais que parte da nossa equipe de pesquisa, minha amiga.

Agradeço toda equipe de dermatologia, em especial, a doutora **Luciane Miot**, que me acolheu e é sempre muito querida comigo.

A todos os **pacientes do ambulatório de dermatologia**, principalmente os que participaram do nosso trabalho, pois foram todos muito dispostos e animados em contribuir com nossas pesquisas, assim como os **participantes que fizeram parte dos nossos controles**.

Meus respeitosos agradecimentos pela contribuição da **banca do exame de qualificação e defesa**.

Agradeço ao apoio financeiro do **FUNADERM** e a coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (**CAPES**) - Código de Financiamento 001”.

Quero agradecer aos **demais amigos e familiares**, pois mesmo estando externos ao projeto e à pós-graduação, em nenhum momento deixaram de me compreender, apoiar e me dar forças para que prosseguisse e chegasse até o “fim”.

Grata e feliz pelo processo de aprendizagem e o começo de uma nova etapa!

“Dizem que a vida é para quem sabe viver, mas ninguém nasce pronto. A vida é para quem é corajoso o suficiente para se arriscar e humilde o bastante para aprender.”

Clarice Lispector

Resumo

FUNDAMENTOS: Psoríase é doença inflamatória crônica, associada a inflamação sistêmica e comorbidades. Alterações na composição do microbioma intestinal são envolvidas na patogênese de doenças inflamatórias e síndrome metabólica. Caracterizar o microbioma intestinal de pacientes com psoríase pode ser relevante no entendimento de seu curso clínico e na prevenção de comorbidades.

OBJETIVO: Caracterização do microbioma intestinal de homens com psoríase em comparação com controles (sem psoríase) onívoros e vegetarianos.

MÉTODO: Estudo transversal envolvendo 42 homens adultos: 21 onívoros com psoríase; e controles: 14 onívoros e 7 vegetarianos. A caracterização do microbioma intestinal foi realizada por análise metagenômica. Avaliaram-se os níveis séricos da proteína ligadora de lipopolissacarídeo (LPB) e proteína C reativa (PCR).

RESULTADOS: Os grupos diferiram entre si quanto a aspectos nutricionais e do microbioma, indivíduos com psoríase apresentaram maior consumo de proteínas, e menor de fibras. Níveis de LPB, PCR e a relação *Firmicutes/Bacteroidetes* foi maior no grupo com psoríase que no grupo vegetariano ($p<0,05$). Os gêneros *Prevotella*, *Mogibacterium*, *Dorea*, *Bifidobacterium* e *Coprococcus*, diferiram no grupo com psoríase em comparação com vegetarianos; já os gêneros *Mogibacterium*, *Collinsella* e *Desulfovibrio*, diferiram dos onívoros. Identificou-se um padrão de microbioma ligado à psoríase (plsPSO) que se associou a maiores níveis de LPB ($\rho=0,39$; $p=0,02$), e menor ingesta de fibras dietéticas ($\rho=-0,71$; $p<0,01$).

LIMITAÇÕES: Avaliaram-se apenas homens adultos.

CONCLUSÃO: Houve diferença no microbioma intestinal de homens adultos com psoríase, em relação a onívoros e vegetarianos saudáveis. O padrão de microbioma encontrado correlacionou-se com a ingesta de fibras alimentares, e com os níveis séricos de LPB.

Palavras-chave: Microbioma gastrointestinal, Dieta, Dieta vegetariana, Dieta Ocidental, Obesidade, Microbiota, Psoríase.

Abstract

BACKGROUND: Psoriasis is a chronic inflammatory disease associated with systemic diseases and comorbidities. Changes in the composition of the gut microbiome are involved in the pathogenesis of inflammatory and metabolic diseases. Characterizing the gut microbiome in patients with psoriasis may be relevant to understanding clinical course and preventing comorbidities.

OBJECTIVE: Characterization of the gut microbiome of men with psoriasis compared with omnivorous and vegetarian (non-psoriasis) controls.

METHOD: Cross-sectional study involving 42 adult men: 21 omnivores with psoriasis; and controls: 14 omnivores and 7 vegetarians. The characterization of the gut microbiome was performed by metagenomic analysis. Serum levels of lipopolysaccharide binding protein (LPB) and C-reactive protein (CRP) were evaluated.

RESULTS: The nutritional and microbiome groups differed from each other in terms of higher protein consumption with psoriasis, and lower fiber consumption. Levels of LPB, CRP and the Firmicutes/Bacteroidetes ratio were higher in the psoriasis group than in the vegetarian group ($p < 0.05$). The genera *Prevotella*, *Mogibacterium*, *Dorea*, *Bifidobacterium* and *Coprococcus* differed in the psoriasis group compared to vegetarians; The genera *Mogibacterium*, *Collinsella* and *Desulfovibrio*, however, differed from the omnivores. A psoriasis-linked microbiome pattern (plsPSO) was identified that is associated with higher levels of LPB ($\rho = 0.39$; $p = 0.02$), and lower dietary fiber intake ($\rho = -0.71$; $p < 0.01$).

LIMITATIONS: Only adult males were evaluated.

CONCLUSION: There was a difference in the gut microbiome of adult men with psoriasis, compared to omnivores and vegetarian men. The microbiome pattern found correlated with an intake of dietary fiber, and with serum levels of LPB.

Keywords: Gastrointestinal microbiome, Diet, Vegetarian diet, Western diet, Obesity, Microbiota, Psoriasis.

SUMÁRIO

Lista de abreviaturas.....	07
Revisão de literatura.....	08
Proposta.....	16
Artigo Científico 1 – Padrões dietéticos de pacientes com psoríase em instituição pública do Brasil.....	20
Artigo Científico 2 – Caracterização do microbioma intestinal em onívoros eutróficos, obesos e vegetarianos.....	28
Artigo Científico 3 – Caracterização do microbioma intestinal de homens brasileiros com psoríase em comparação controles onívoros e vegetarianos.....	38
<i>Resumo</i>	42
<i>Introdução</i>	44
<i>Objetivo</i>	45
<i>Método</i>	45
<i>Análise estatística</i>	46
<i>Resultados</i>	48
<i>Discussão</i>	53
<i>Conclusão</i>	58
<i>Referências bibliográficas</i>	59
Anexos.....	66
Bactérias implicadas nos estudos microbioma intestinal e psoríase.....	81
Produções científicas extras.....	83

LISTA DE ABREVIATURAS

AGCM: Ácidos Graxos de Cadeia Média;
CA: Circunferência Abdominal;
CQ: Circunferência do Quadril;
DM: Diabetes *Mellitus*;
DNA: Ácido Desoxirribonucleico;
ELISA: *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*;
IFN- γ : Interferon gama;
IL1: Interleucina 1;
IL6: Interleucina 6;
IL8: Interleucina 8;
IMC: Índice de Massa Corporal;
LPB: Proteína de ligação de lipopolissacarídeo;
LPS: Lipopolissacarídeo;
MI: Microbioma Intestinal;
NGS: Sequenciamento de próxima geração, do inglês: *Next-Generation Sequencing*;
NDSR: *Nutritional Data System for Reserach*;
ONI: controles onívoros;
PASI: Índice de área e gravidade da psoríase, (*Psoriasis Area and Severity Index*);
PCRqt: Proteína C reativa quantitativa ultrassensível;
PLS: Componente *partial least squares*;
PSO: paciente com psoríase;
R24h: Recordatório de 24 horas;
SM: Síndrome Metabólica;
TLR4: Receptor do tipo 4, (*Toll-like receptor 4*);
TNF- α : Fatores de necrose tumoral alfa (*Tumor Necrosis Factor Alpha*);
UTN: Unidade Taxonômica;
UV: Ultravioleta;
VEG: controles vegetarianos;

Revisão de literatura
Psoríase e Microbioma intestinal

1. INTRODUÇÃO

1.1 *Psoríase*

A psoríase é doença inflamatória crônica, recorrente, sistêmica e imunologicamente mediada, foi reconhecida há muitos séculos, mas somente no início do século XIX passou a ser diferenciada de outras dermatites, pois antes era confundida com hanseníase. É caracterizada pela proliferação queratinocítica, formando placas esbranquiçadas, que consequentemente causam dor, prurido, vermelhidão e descamação. (1-2)

Apesar de não ser uma doença contagiosa, pode provocar dificuldade em atividades diárias, constrangimento, isolamento e impactar diretamente a qualidade de vida. Existem dois grupos de acometimento principais de psoríase, não excludentes, em placas (clássica) e articular (artropática), sendo a forma em placas a mais comum (85 – 90%). Afeta caracteristicamente mãos, pés, couro cabeludo, cotovelos, joelhos, parte inferior das costas, rosto e glúteos (Figura 1). Na psoríase artropática (ou artrite psoriática) as articulações também são afetadas pela inflamação, além da pele. (3-4)



Figura 1. Psoríase com extensas placas eritêmato-descamativas em um paciente com síndrome metabólica (Arquivo do Departamento de Dermatologia – Unesp).

Cerca de 2% da população mundial (125 milhões de pessoas) é diagnosticada com psoríase. A doença pode se iniciar em qualquer faixa etária, mas a maior prevalência ocorre,

bimodalmente, entre vinte e trinta, e cinquenta e sessenta anos, aumentando com a idade. No Brasil, cerca de 1,5% dos habitantes são acometidos por psoríase e a incidência dobrou entre os anos de 1970 – 2000, mas estima-se que uma grande parcela da população ainda permaneça sem diagnóstico. (5,6)

A dimensão da psoríase pode ser avaliada quanto a sua extensão clínica e impacto na qualidade de vida. O principal instrumento adotado para identificar a gravidade da doença e medida da eficácia terapêutica é o PASI (*Psoriasis Area and Severity Index*), utilizado na maior parte dos estudos. (7) A avaliação da qualidade de vida é essencial, pois o comprometimento físico, emocional e social destes pacientes pode ser até superior àquele observado nos casos de diabetes *mellitus* (DM), artrite reumatoide, depressão e câncer (8).

Psoríase é uma condição multifatorial, cuja patogênese não é totalmente estabelecida. Coparticipam a predisposição genética, fatores imunológicos e ambientais (9).

A psoríase é considerada uma inflamação crônica, devido a estimulação persistente de células T (linfócito CD4⁺ e CD8⁺), pela liberação anormal de interleucinas IL1, IL6, IL-8, IL-17, TNF- α e IFN- γ , com atuação da resposta imune inata e adaptativa. (10,11)

Devido ao processo de inflamação crônica na psoríase, existe associação com o desenvolvimento de outras comorbidades, como a obesidade, a síndrome metabólica, o risco de doenças cardiovasculares, infecções, malignidades, maior prevalência de alterações nos perfis dos lipídios e das lipoproteínas, aumento do estresse oxidativo, redução da capacidade antioxidante, além de outros fatores de risco como hipertensão, DM e doenças psíquicas. (12)

Não se sabe ao certo se a obesidade é um fator de risco para psoríase ou se a psoríase favorece o desenvolvimento da obesidade, mas a prevalência de indivíduos obesos com psoríase é duas vezes maior quando comparada à população em geral (34% contra 18%). Deste modo, quanto maior o índice de massa corporal (IMC), maior o risco relativo de desenvolver psoríase(13–15).

Além disso, existe relação entre o aumento dos valores de circunferência abdominal (CA) e circunferência do quadril (CQ) e o surgimento de psoríase, sugerindo, então, que a doença seja também relacionada à síndrome metabólica (SM) (16).

O tratamento para a psoríase é específico, leva em consideração o estado clínico do paciente, o histórico da doença e a gravidade das lesões. A terapia medicamentosa inclui uso de hidratantes, pomadas, soluções capilares, fototerapia (banho de luz com raios ultravioleta - UV) e, em casos mais graves, uso de fármacos como ciclosporina, metotrexato, acitretina e imunobiológicos. Houve, também, o relato de sucesso terapêutico após administração oral de

ácidos biliares, o que sugere interação entre a patogênese da doença e microbioma intestinal (MI). (17,18)

Um dos fatores ambientais considerados essenciais na psoríase é o hábito alimentar, visto que a nutrição inadequada, o peso corporal e doenças metabólicas podem aumentar os sintomas clínicos ou até desencadear a psoríase. Ademais, psoríase é rara em vegetarianos. (19)

A psoríase e comorbidades, como a obesidade, podem estar associadas com endotoxemia metabólica, onde o lipopolissacarídeo (LPS, componente de membrana celular de bactérias gram negativas) e endotoxinas atravessam o intestino e se ligam à proteína de ligação de LPS e ativam receptores de reconhecimento de padrões, como o *toll-like receptor 4* (TLR4), mediando a inflamação. O aumento da permeabilidade intestinal e as alterações na composição e diversidade do MI têm sido propostos como possíveis mecanismos de explicação ao aumento de endotoxinas circulantes e ao desenvolvimento de doenças inflamatórias, como a psoríase (20,21).

1.2 Microbioma intestinal

O microbioma humano é designado como o conjunto de micro-organismos e seus respectivos genes, atualmente o mais estudado é o microbioma intestinal (MI). Segundo Hipócrates (470 aC) “Toda doença começa no intestino”. A partir desse conceito surgiu a necessidade de se investigar a relação entre o MI e o desenvolvimento de doenças. (22)

O trato digestório humano possui o maior e mais completo ecossistema. O MI é essencial para a modulação da saúde e doença, pois é responsável pela produção de enzimas para o metabolismo de carboidratos, ácidos graxos, lipopolissacarídeos e ácidos biliares secundários (produzidos pelas bactérias). (23)

Para avaliação de uma comunidade microbiana completa, utiliza-se uma técnica chamada metagenômica, que consiste em uma metodologia de sequenciamento de DNA (Ácido Desoxirribonucleico) por meio da extração do material genético de amostras, como fezes e saliva. Assim, é possível realizar a detecção qualitativa (identifica os organismos) e quantitativa (determinação relativa dos organismos presentes). (24)

Diversos fatores ambientais podem alterar o MI, desde a forma como ocorre o nascimento, idade, gênero, dieta, uso de medicamentos, hábitos como fumar, se exercitar e o estilo de vida de modo geral. Atualmente o padrão de dieta ocidental, com alto consumo de alimentos industrializados e não *in natura*, propiciam a ocorrência de desequilíbrio da flora intestinal (disbiose) (figura 2). (25,26)

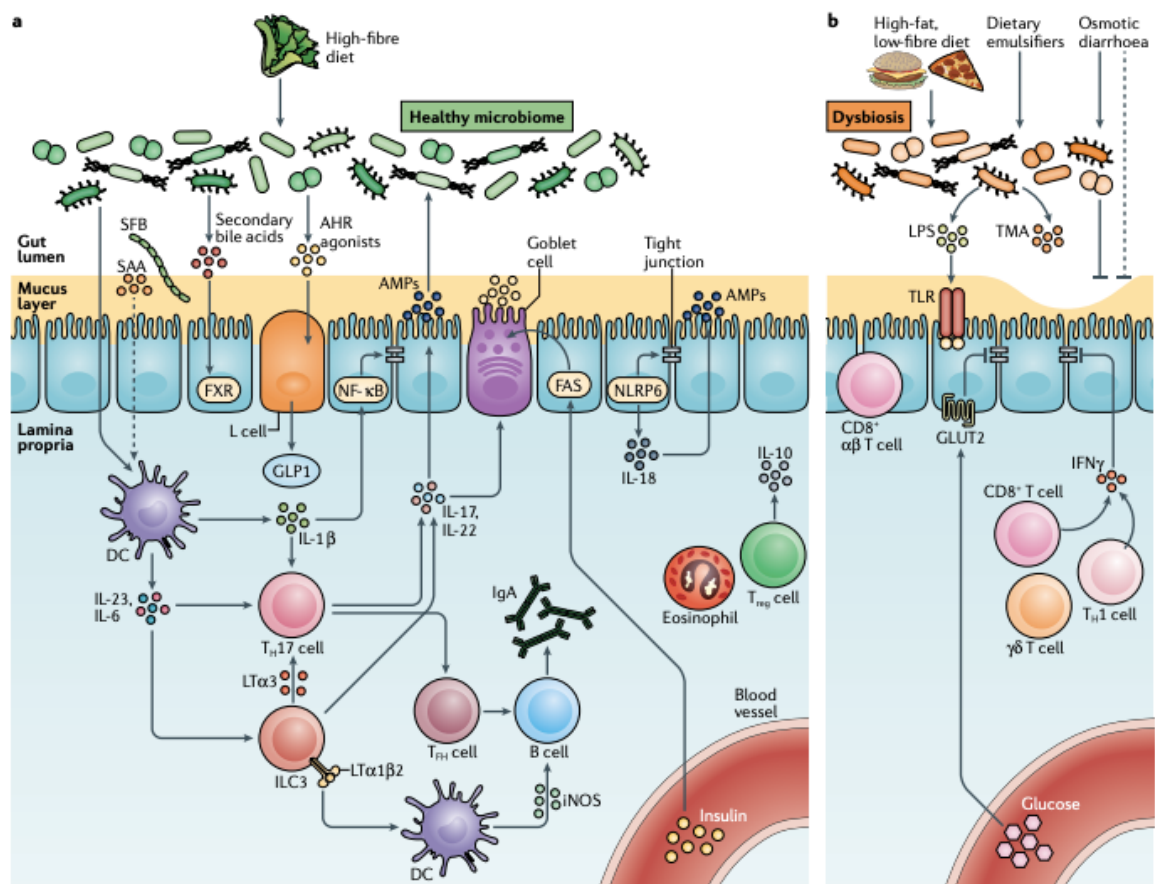


Figura 2: Barreira intestinal em diferentes padrões alimentares e doenças metabólicas em modelo animal. Fonte: (26)

Quando ocorre disbiose e também comprometimento da integridade da membrana intestinal, há permeação de endotoxinas que, consequentemente, induzem uma resposta imunológica e inflamatória sistêmica exacerbada. (27)

A princípio este processo pode ser assintomático, mas após um determinado período de tempo, pode propiciar o surgimento de doenças como, por exemplo, obesidade, DM, doenças cardiovasculares, aterosclerose, hipotireoidismo, sarcopenia, reumatismo, doença inflamatória intestinal, síndrome do intestino irritável, colite, Parkinson, Alzheimer, esclerose múltipla, depressão, ansiedade, estresse, e doenças inflamatórias da pele, em especial a psoríase. (figura 3) (28)

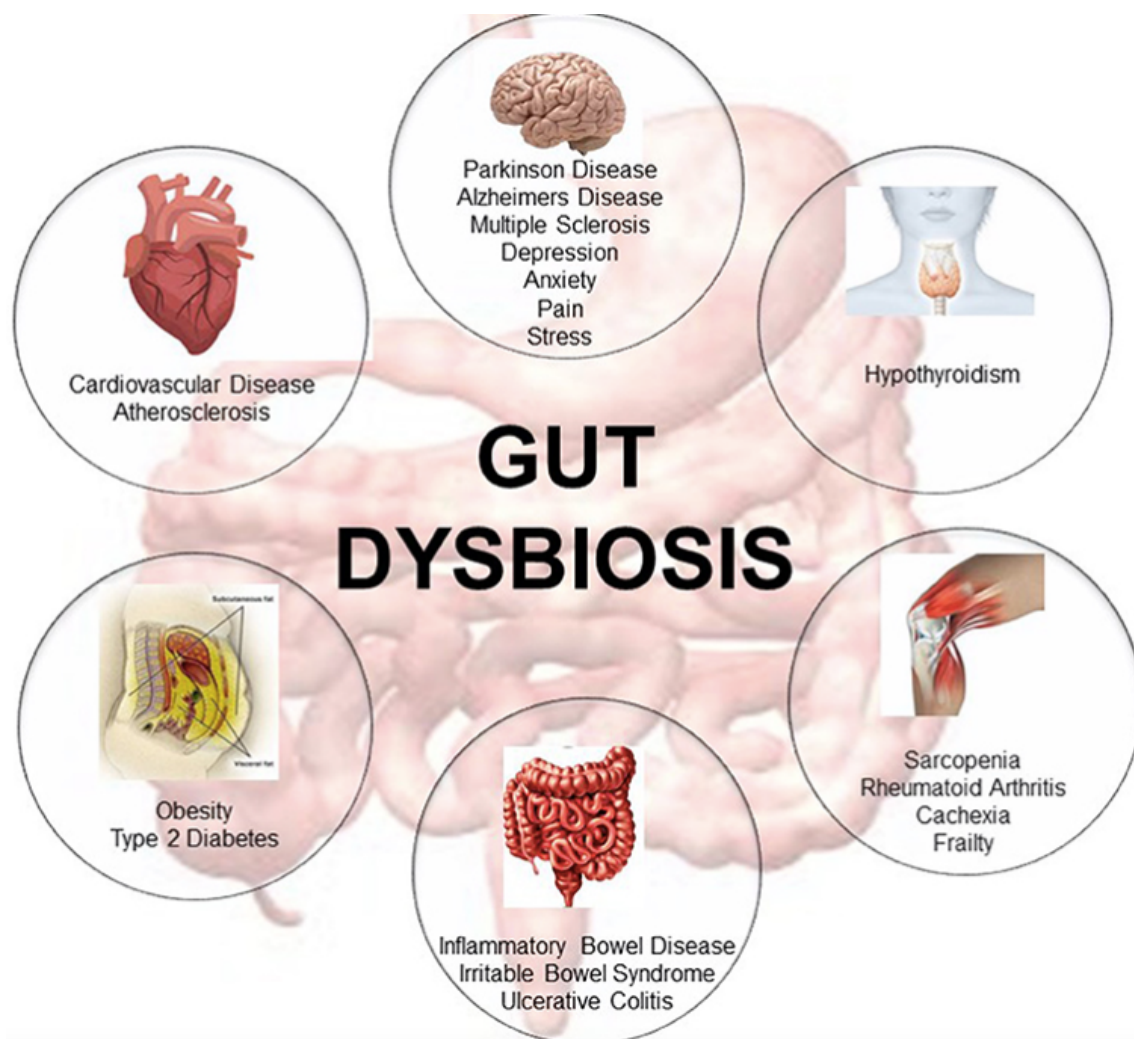


Figura 3: Disbiose intestinal e doenças associadas. (28)

1.3 Microbioma intestinal na psoríase

Alguns estudos analisaram o MI de pacientes com psoríase, por meio das fezes. Esses trabalhos identificaram aspectos importantes, como redução da diversidade bacteriana, maior permeabilidade da mucosa intestinal, presença de endotoxemia sistêmica, correlações com a presença de peptídeos bacterianos absorvidos pelo intestino e efeitos direto no fígado e na pele (figura 4), além de um padrão de cepas de bactérias com maior proporção de *Firmicutes* e menor de *Bacteroidetes*, similarmente ao que ocorre em indivíduos obesos (29-31).

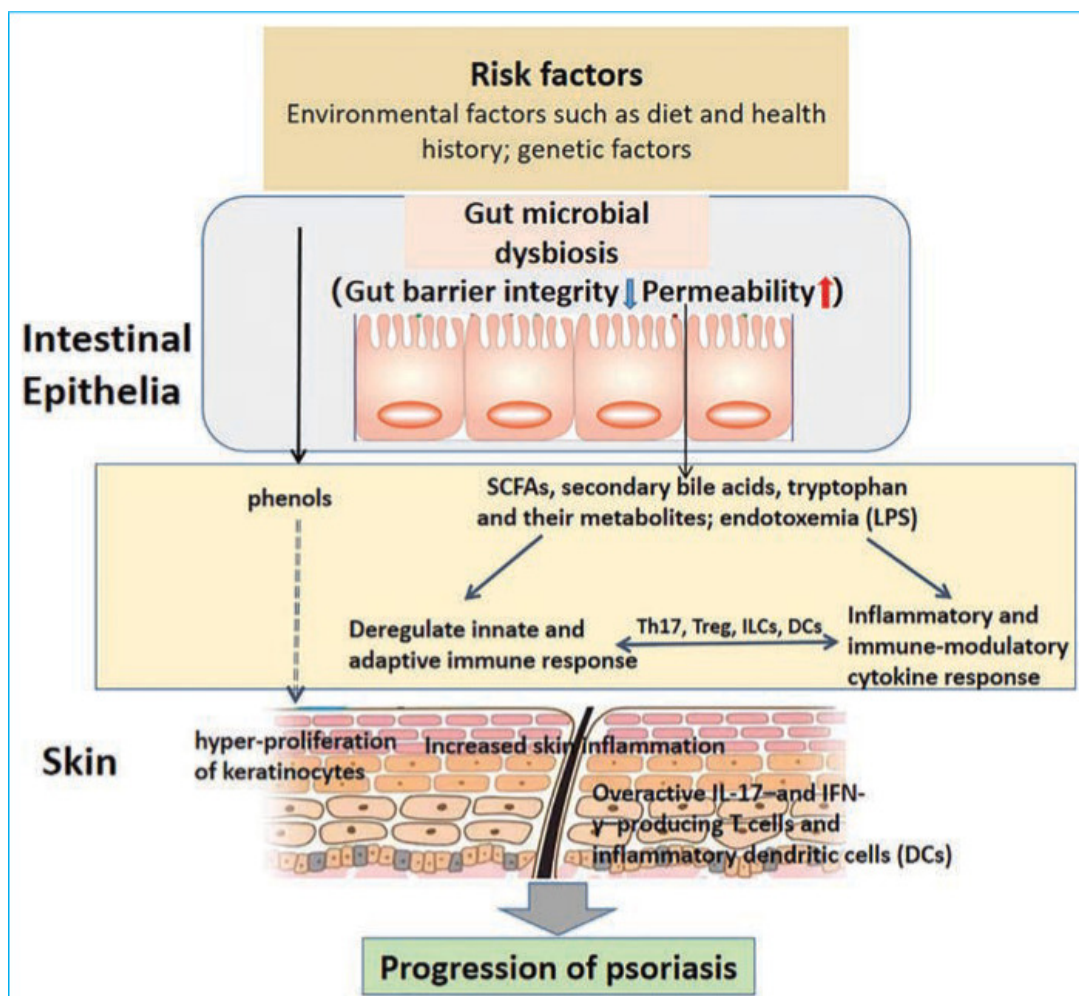


Figura 4: Permeabilidade intestinal e ativação do sistema imune na psoríase. (31)

Existem evidências de que a maior concentração de *Firmicutes* e menor de *Bacteroidetes* influencia no metabolismo dos carboidratos e altera a produção de ácidos graxos de cadeia média (AGCM), resultando em aumento de acetato e redução de butirato, condições propícias para endotoxemia. (32)

Além disso, os gêneros *Actinomyces* e *Sutterella* também foram identificados em indivíduos com psoríase. Essas famílias de bactérias são caracterizadas por um perfil próinflamatório e de modulação da resposta imunológica. Em contrapartida, também foram identificados gêneros *Faecalibacterium*, *Blautia* e *Coprococcus* em outro grupo de estudo, que promovem ação anti-inflamatória. (33)

Esses dados sugerem que existem comportamentos positivos e negativos das bactérias e divergências na caracterização do MI em humanos diagnosticados com psoríase, portanto ressaltam a necessidade de novas investigações entre o MI e a psoríase. (34)

Os níveis mais elevados de endotoxemia associados à psoríase têm o potencial de mediar as comorbidades associadas, mas é importante destacar que tanto a obesidade quanto o

envelhecimento podem afetar a composição do microbioma, por isso ainda existem muitas questões a serem elucidadas. Além disso, os pacientes com psoríase sofrem de múltiplas comorbidades, como a síndrome metabólica e a obesidade, doenças que também estão associadas com disbiose intestinal (35-37).

Existem poucos estudos, mas que já demonstraram uma estreita ligação entre o MI e a psoríase, essas mudanças identificadas na composição do microbioma provavelmente se traduzem em capacidades funcionais modificadas e homeostase intestinal, impactando diretamente na regulação das respostas imunes intestinais. (38)

Nos últimos 15 anos, as pesquisas incentivam que sejam realizados estudos clínicos futuros, com abordagens em terapias utilizando o MI ou segmentações específicas de bactérias, pois existe uma grande esperança de que o surgimento de terapias baseadas na modulação do MI possa influenciar no metabolismo do hospedeiro e melhorar a saúde. (39)

Estudos que caracterizem o MI na psoríase em pacientes brasileiros possuem limitações amostrais e baixa reprodutibilidade, assim como se há alteração com os seus subtipos e comorbidades. (40)

Esta comprovação da associação entre o MI e a patogênese da psoríase irá apresentar novas possibilidades terapêuticas para o tratamento da doença como, por exemplo, intervenção no estilo de vida (dieta e exercício físico), manipulações microbianas por meio da dieta, eliminação de endotoxinas, adição de probióticos, uso de ácidos biliares ou através de transplante fecal. (41)

Portanto, uma análise mais aprofundada da dinâmica dessas alterações e das respostas subsequentes é necessária para melhor caracterizar o potencial modulador da imunidade afetada pelo MI, além de uma compreensão mais aprofundada entre a disbiose e a pele, com a intenção do desenvolvimento de diagnósticos baseados na composição e função microbiana, a fim de promover avanço no tratamento e até mesmo a remissão da psoríase e comorbidades associadas.

1. Proposta

O presente estudo visa trazer conhecimento original e específico no campo da nutrição e da dermatologia, pois a caracterização do microbioma intestinal dos pacientes com psoríase, em comparação com as formas clínicas e com os grupos sem psoríase permitirão elaborar hipóteses fisiopatológicas e propor intervenções que visem a modulação do microbioma intestinal para o controle da doença e das comorbidades. Os resultados podem fundamentar ensaios clínicos controlados que utilizem terapias de efeito intestinal, não imunossupressoras, como adjuvantes no controle da psoríase.

2. OBJETIVO GERAL

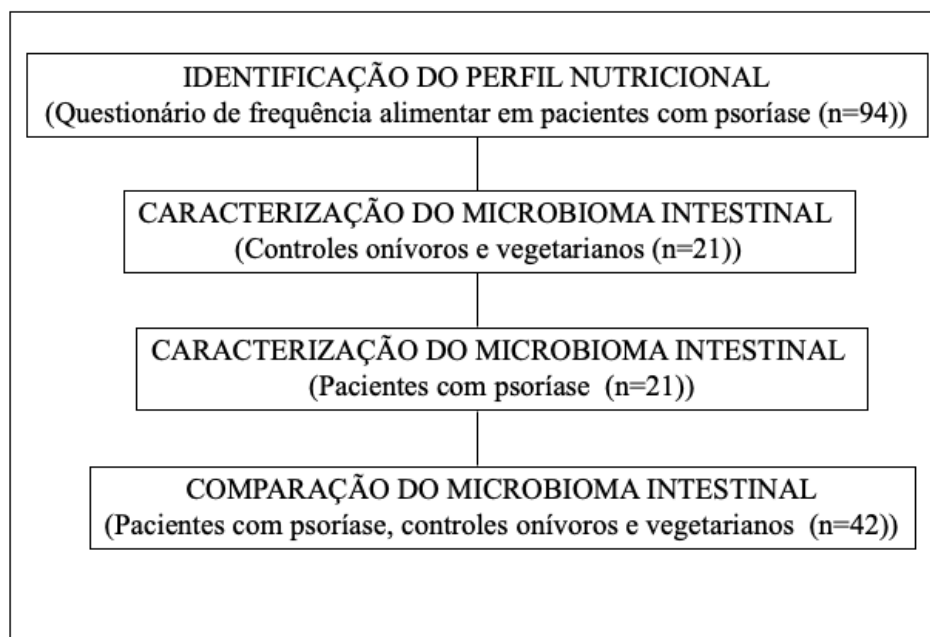
Caracterizar o microbioma intestinal de homens com psoríase em comparação com onívoros e vegetarianos e a gravidade clínica da psoríase.

a. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Comparar o perfil nutricional dos pacientes com psoríase com a população brasileira;
- Correlacionar o perfil nutricional com o microbioma intestinal de eutróficos, obesos e vegetarianos sem psoríase;
- Descrever as características do microbioma intestinal de pacientes brasileiros com psoríase;
- Comparar as características do microbioma intestinal de pacientes brasileiros com psoríase com controles eutróficos, obesos e vegetarianos;

Para a configuração do projeto, o estudo foi conduzido em quatro etapas (Quadro 1).

Quadro 1. Etapas da pesquisa do microbioma intestinal em psoríase.



REFERÊNCIAS

1. Christophers E. Psoriasis - epidemiology and clinical spectrum. *Clin Exp Dermatol*. 2001; Jun;26(4):314–20.
2. Kormeili T, Lowe NJ, Yamauchi PS. Psoriasis: immunopathogenesis and evolving immunomodulators and systemic therapies; U.S. experiences. *Br J Dermatol*. 2004;151(1):3–15.
3. Crissey JT, Parish LC. Two hundred years of dermatology. *J Am Acad Dermatol*. 1998;39(6):1002–6.
4. Lowes MA, Suárez-Fariñas M, Krueger JG. Immunology of Psoriasis. *Annu Rev Immunol*. 2014;32(1):227–55.
5. Romiti R, Amone M, Menter A, Miot HA. Prevalence of psoriasis in Brazil - a geographical survey. *Int J Dermatol*. 2017; (8): 167–8.
6. Parisi R, Iskandar IYK, Kontopantelis E, Augustin M, Griffiths CEM, Ashcroft DM. National, regional, and worldwide epidemiology of psoriasis: systematic analysis and modelling study. 2020;8247:1590-1605.
7. Harari M, Shani J, Hristakieva E, Stanimirovic A, Seidl W, Burdo A. Clinical evaluation of a more rapid and sensitive Psoriasis Assessment Severity Score (PASS), and its comparison with the classic method of Psoriasis Area and Severity Index (PASI), before and after climatotherapy at the Dead-Sea. *Int J Dermatol*. 2000;39(12):913–8.
8. World Health Organization. (2016). Global report on psoriasis. World Health Organization.
9. Reich K. The concept of psoriasis as a systemic inflammation: implications for disease management: Systemic disease and therapy for psoriasis. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2012;26:3–11.
10. Baliwag J, Barnes DH, Johnston A. Cytokines in psoriasis. *Cytokine*. 2015;73(2):342–50.
11. Buckner JH. Mechanisms of impaired regulation by CD4+CD25+FOXP3+ regulatory T cells in human autoimmune diseases. *Nat Rev Immunol*. 2010;10(12):849–59.
12. Takeshita J, Grewal S, Langan SM, Mehta NN, Ogdie A, Van Voorhees AS. Psoriasis and comorbid diseases. *J Am Acad Dermatol*. 2017;76(3):377–90.
13. Cohen AD, Sherf M, Vidavsky L, Vardy DA, Shapiro J, Meyerovitch J. Association between Psoriasis and the Metabolic Syndrome. *Dermatology*. 2008;216(2):152–5.
14. Cohen A, Weitzman D, Dreiherr J. Psoriasis and Hypertension: A Case-Control Study. *Acta Derm Venereol*. 2010;90(1):23–6.
15. Sterry W, Strober BE, Menter A, on behalf of the International Psoriasis Council. Obesity in psoriasis: the metabolic, clinical and therapeutic implications. Report of an interdisciplinary conference and review. *Br J Dermatol*. 2007;157(4):649–55.
16. Mraz M, Haluzik M. The role of adipose tissue immune cells in obesity and low-grade inflammation. *J Endocrinol*. 2014;222(3):R113–27.
17. Magin PJ, Adams J, Heading GS, Pond DC, Smith W. Complementary and Alternative Medicine Therapies in Acne, Psoriasis, and Atopic Eczema: Results of a Qualitative Study of Patients' Experiences and Perceptions. *J Altern Complement Med*. 2006;12(5):451–7.
18. Armstrong AW, Bagel J, Van Voorhees AS, Robertson AD, Yamauchi PS. Combining Biologic Therapies With Other Systemic Treatments in Psoriasis: Evidence-Based, Best-Practice Recommendations From the Medical Board of the National Psoriasis Foundation. *JAMA Dermatol*. 2015;151(4):432.
19. Wolters M. Diet and psoriasis: experimental data and clinical evidence. *Br J Dermatol*. 2005;153(4):706–14.
20. Armstrong AW, Harskamp CT, Armstrong EJ. Psoriasis and metabolic syndrome: A systematic review and meta-analysis of observational studies. *J Am Acad Dermatol*. 2013;68(4):654–62.
21. Upala S, Sanguankeo A. Effect of lifestyle weight loss intervention on disease severity in patients with psoriasis: a systematic review and meta-analysis. *Int J Obes*. 2015;39(8):1197–202.
22. Boulangé CL, Neves AL, Chilloux J, Nicholson JK, Dumas ME. Impact of the gut microbiota on inflammation, obesity, and metabolic disease. *Genome Med*. 2016;8:42.
23. van der Meulen T, Harmsen H, Bootsma H, Spijkervet F, Kroese F, Vissink A. The microbiome-systemic diseases connection. *Oral Dis*. 2016;22(8):719–34.

24. Maccaferri S, Biagi E, Brigidi P. Metagenomics: Key to Human Gut Microbiota. *Dig Dis.*201;29(6):525–30.
25. 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(7484):559–63.
26. Herbert T, Niv Z, Timon E, Eran E. The intestinal microbiota fuelling metabolic inflammation. *Nature.* 2020;20:40-54.
27. Jialal I, Rajamani U. Endotoxemia of Metabolic Syndrome: A Pivotal Mediator of Meta-Inflammation. *Metab Syndr Relat Disord.* 2014;12(9):454–6.
28. Baptista L, Sun Y, Carter C, Buford T. Crosstalk between the gut microbiome and bioactive lipids: Therapeutic targets in cognitive frailty. *Frontiers in nutrition.*2020;7:17-31.
29. Shapiro J, Cohen NA, Shalev V, Uzan A, Koren O, Maharshak N. Psoriatic patients have a distinct structural and functional fecal microbiota compared with controls. *J Dermatol.* 2019;46(7):595-603.
30. Alekseyenko AV, Perez-Perez GI, De Souza A, Strober B, Gao Z, Bihan M. Community differentiation of the cutaneous microbiota in psoriasis. *Microbiome.* 2013;1:31.
31. Wilchowski S. The role of the gut microbiome in psoriasis: from pathogens to pathology. *The Journal of clinical and aesthetic dermatology* 2022;15:25-28.
32. Segata N, Izard J, Waldron L, Gevers D, Miropolsky L, Garrett WS, et al. Metagenomic biomarker discovery and explanation. *Genome Biol.* 2011;12(6):R60.
33. Castaner O, Goday A, Park YM, Lee SH, Magkos F, Shiow SATE, et al. The Gut Microbiome Profile in Obesity: A Systematic Review. *Int J Endocrinol.* 2018;2018:1–9.
34. Cani PD, Amar J, Iglesias MA, Poggi M, Knauf C, Bastelica D, et al. Metabolic Endotoxemia Initiates Obesity and Insulin Resistance. *Diabetes.* 2007 J;56(7):1761–72.
35. d’Hennezel E, Abubucker S, Murphy LO, Cullen TW. Total Lipopolysaccharide from the Human Gut Microbiome Silences Toll-Like Receptor Signaling. Lozupone C, editor. *mSystems.* 2017;2(6).
36. Shapiro J, Cohen AD, David M, Hodak E, Chodik G, Viner A, et al. The association between psoriasis, diabetes mellitus, and atherosclerosis in Israel: A case-control study. *J Am Acad Dermatol.* 2007;56(4):629–34.
37. Widhiati S, Purnomosari D, Wibawa T, Soebono H. The role of gut microbiome in inflammatory skin disorders: a systematic review. *Dermatol Rep.* 2021;14:9188.
38. Opazo MC, Ortega-Rocha EM, Coronado-Arrázola I, Bonifaz LC, Boudin H, Neunlist M, et al. Intestinal Microbiota Influences Non-intestinal Related Autoimmune Diseases. *Front Microbiol.* 2018;9:432.
39. Torres-Fuentes C, Schellekens H, Dinan TG, Cryan JF. The microbiota–gut–brain axis in obesity. *Lancet Gastroenterol Hepatol.* 2017;2(10):747–56.
40. Schade L, Mesa D, Faria AR, Santamaria JR, Xavier CA, Ribeiro D, et al. The gut microbiota profile in psoriasis: a Brazilian case-control study. *Lett Appl Microbiol.* 2022;74(4):498–504.
41. Jensen P, Skov L. Psoriasis and Obesity. *Dermatology.* 2016;232(6):633–9.

Artigo Científico I

***Dietary patterns of patients with psoriasis at a public
healthcare institution in Brazil***



Anais Brasileiros de Dermatologia

www.anaisdedermatologia.org.br



INVESTIGATION

Dietary patterns of patients with psoriasis at a public healthcare institution in Brazil^{☆,☆☆}



Tatiana Cristina Figueira Polo ^a, José Eduardo Corrente ^b,
Luciane Donida Bartoli Miot ^c, Silvia Justina Papini ^d, Hélio Amante Miot ^{c,*}

^a Department of Pathology, Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP, Brazil

^b Department of Biostatistics, Instituto de Biociências de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP, Brazil

^c Department of Dermatology and Radiotherapy, Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP, Brazil

^d Department of Nursing, Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP, Brazil

Received 23 October 2019; accepted 3 February 2020

Available online 12 May 2020

KEYWORDS

Feeding behavior;
Food consumption;
Psoriasis

Abstract

Background: Psoriasis is a chronic inflammatory disease with systemic repercussions and an association with comorbidities such as metabolic syndrome, cardiovascular diseases, and obesity. Psoriasis patients have a higher prevalence of obesity compared to the general population. Diet is a relevant environmental factor, since malnutrition, inadequate body weight, and metabolic diseases, in addition to the direct health risk, impair the treatment of psoriasis.

Objectives: To evaluate food intake patterns, anthropometric, and metabolic syndrome-related aspects in psoriasis patients.

Methods: Cross-sectional study through anthropometric assessment and food frequency questionnaire. Food frequency questionnaire items were evaluated by exploratory factor analysis and identified dietary patterns were analyzed by multivariate methods.

Results: This study evaluated 94 patients, 57% female, with a mean age of 54.9 years; the prevalence of obesity was 48% and of metabolic syndrome, 50%. Factor analysis of the food frequency questionnaire identified two dietary patterns: Pattern 1 – predominance of processed foods; Pattern 2 – predominance of fresh foods. Multivariate analysis revealed that Patterns 1 and 2 showed inverse behaviors, and greater adherence to Pattern 2 was associated with females, eutrophic individuals, absence of lipid and blood pressure alterations, and lower waist-to-hip ratio and skin disease activity.

[☆] How to cite this article: Polo TCF, Corrente JE, Miot LDB, Papini SJ, Miot HA. Dietary patterns of patients with psoriasis at a public healthcare institution in Brazil. An Bras Dermatol. 2020;95:452–8.

^{☆☆} Study conducted at the Department of Dermatology, Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP, Brazil.

* Corresponding author.

E-mail: heliomiot@gmail.com (H.A. Miot).

<https://doi.org/10.1016/j.abd.2020.02.002>

0365-0596/© 2020 Sociedade Brasileira de Dermatologia. Published by Elsevier España, S.L.U. This is an open access article under the CC BY license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).



Study limitations: Monocentric study conducted at a public institution, dependent on dietary memory.

Conclusion: Two dietary patterns were identified in a Brazilian sample of psoriasis patients. The prevalence of obesity and metabolic syndrome were greater than in the adult Brazilian population. The fresh diet was associated with lower indicators of metabolic syndrome in this sample.

© 2020 Sociedade Brasileira de Dermatologia. Published by Elsevier España, S.L.U. This is an open access article under the CC BY license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Introduction

Psoriasis is a chronic, genetically based, and immunologically mediated inflammatory disease. It has systemic repercussions and is associated with comorbidities, such as metabolic syndrome (MS), arterial hypertension (AH), dyslipidemia, diabetes mellitus (DM), cardiovascular disease, malignant neoplasia, and affective disorders.^{1,2}

It affects about 1.31% of the Brazilian population and, despite not being contagious and having a benign course, it has an important economic impact, as well as an impact on the quality of life of patients.³

Psoriasis triggers an abnormal release of cytokines involved in the inflammatory process, including IFN- γ , IL-1, IL-6, IL-17, IL-8, and TNF- α , which promote a chronic systemic inflammatory state, favoring the development of comorbidities.⁴

There is a higher prevalence of obesity (34%) among patients with psoriasis when compared with the general population (18%); moreover, the higher the body mass index (BMI), the greater the risk of developing psoriasis.⁵ Likewise, there is an association between the increase in abdominal circumference (AC) and hip circumference (HC) and the onset of psoriasis, which corroborates its association with MS. MS comprises a set of risk factors for cardiovascular disease and is also related to systemic inflammation.^{6,7}

In addition to drug treatment, changes in eating behavior and physical activity emerge as potential strategies for adjuvant treatment of psoriasis in order to reduce comorbidities.^{8,9} Diet is an environmental factor of high interest to patients, since malnutrition, inadequate body weight, and metabolic diseases, in addition to the direct risk they pose to the general health, impair the treatment of psoriasis.^{10,11}

Due to the lack of consensus and guidelines establishing a specific diet for these patients and considering that there are few studies that evaluated the food consumption of patients with psoriasis, it is necessary to characterize their nutritional profile and dietary patterns in order to outline dietary strategies aimed at improving the quality of the diet in parallel with the treatment of the disease.

This study had as its primary objective the assessment of food consumption patterns; secondly, it aimed to correlate food consumption with anthropometric and clinical data and with MS markers in patients with psoriasis treated at a public dermatology clinic.

Methods

This was a cross-sectional study that included psoriasis patients seen at the Dermatology outpatient clinic of the

Faculdade de Medicina de Botucatu – Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP (Brazil), from February to August 2019.

The diagnoses of psoriasis were established by a qualified dermatologist, and the study included adults (> 18 years) of both sexes with all clinical types and all stages of severity.

Sampling was carried out for convenience, recruiting consecutive, consenting patients during their medical consultations at the institution. Patients following specific diets (such as celiac), patients with malabsorptive syndromes or with limitations that would make dietary or anthropometric characterization impossible were not included.

All those who agreed to participate in the research signed an informed consent form. The project was approved by the institution's Research Ethics Committee (protocol No. 3,317,869).

Study variables

The Food Frequency Questionnaire (FFQ), adapted to assess food consumption, was applied; patients were asked about the consumption of 76 types of food. This evaluation allowed the identification of the consumption of these foods over a period of one year, stratified as daily, weekly, monthly, and annual portions.¹²

Demographic and socioeconomic data, as well as duration of psoriasis treatment, were collected at the time of anthropometric and dietary assessment.

For anthropometric assessment, body weight and height were measured and later on calculation of the body mass index (BMI; kg/m²), the stratification for diagnosis was as follows: malnutrition (<18.5), eutrophy (18.5–24.9), overweight (25–29.9), and obesity (≥ 30).¹³

Waist circumference (WC) was measured at the midpoint between the last rib and the iliac crest using a tape measure; HC was also measured to establish the waist-to-hip ratio (WHR = Waist [cm]/Hip [cm]), allowing the evaluation of parameters of android obesity and the risk for cardiovascular disease according to the classifications by sex and age.¹⁴

Food consumption (FFQ) and anthropometric assessments were performed by a nutritionist, after routine consultation at the dermatology outpatient clinic.

As all patients were under treatment, more detailed clinical scores (such as the Psoriasis Area and Severity Index [PASI]) are impaired due to the treatment; therefore, disease activity was estimated by the presence/absence of skin and joint lesions at the consultation.^{15,16}

The routine clinical assessment and the clinical exams were used to assess the presence of MS using the crite-

ria of the NCEP ATP III (National Cholesterol Education Program Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults) to evaluate the components of metabolic syndrome: presence of DM or fasting glucose ≥ 100 mg/dL; abdominal circumference > 102 cm for men and 88 cm for women; triglycerides ≥ 150 mg/dL; HDL < 40 mg/dL for men and < 50 mg/dL for women; and blood pressure greater than or equal to 130/85 mmHg, or hypertension treatment.¹⁷

Statistical analysis

Qualitative data were described as absolute and percentage values. Quantitative data were represented as means and standard deviations, or medians and quartiles (p25–p75) if normality was not observed in the Shapiro–Wilk test.¹⁸

Dietary data (FFQ) were tabulated and converted into daily food consumption, then subjected to an exploratory factor analysis to determine dietary patterns and individualized standardized adherence scores to each dietary pattern (ranging from -3 to $+3$). The analysis included those foods mentioned by at least 30% of the sample; in the factorial model, only those with a factor load > 0.3 were kept. Principal component analysis was used for the extraction of dietary patterns, evaluated by the KMO test (Kaiser–Meyer–Oklin), with varimax rotation.¹⁹

To explain the variations in the scores of adherence to each diet pattern, a generalized linear model (gamma distribution, log binding function) was adjusted using the anthropometric, demographic, and psoriasis variables (joint disease and cutaneous activity) as predictor variables. The β coefficient of the regression was used to estimate the association effect.²⁰

Subsequently, the variables were analyzed in a multivariate manner based on the multiple correspondence analysis of two dimensions and were then arranged on the perceptual map. The dimension of the effect was estimated by the inertia in each dimension and the associations between the variables were represented by their geometric proximity.²¹ Continuous variables were categorized as tertiles.

The sample was calculated in order to represent variables present in up to 10% of a population of up to 300 patients with psoriasis, with a standard error of up to 5%.²² Two-tailed p -values ≤ 0.05 were considered significant. SAS for Windows, v.9.4 and IBM SPSS v. 25 were used for statistical analyses.

Results

The study included 94 psoriasis patients; Table 1 presents the main clinical and demographic data. The low educational and family income, high prevalence of comorbidities (especially MS), obesity, and high risk for the onset of cardiovascular disease according to the WHR were noteworthy. All patients were under treatment, and the PASI ranged from 0 to 17.6; 84% presented skin lesions on the day of the interview.

As to systemic treatments, 32% used methotrexate, 23% used acitretin, and 45% were on immunobiological drugs (12% infliximab, 11% adalimumab, 10% secukinumab, 8%

Table 1 Demographic, socioeconomic, anthropometric, and clinical characteristics of patients with psoriasis interviewed at the dermatology clinic ($n = 94$).

Variables	Results
Sex^a	
Female	54 (57)
Male	40 (43)
Age (years)^b	54.9 (12.8)
Educational status^a	
Illiterate	3 (3)
Elementary school	51 (54)
High school	31 (33)
University education	9 (10)
Family income (minimum wage)^a	
1	17 (18)
2	44 (47)
≥ 3	33 (35)
Anthropometric profile	
Weight (kg) ^b	84.8 (17.1)
Height (cm) ^b	1.7 (0.1)
BMI (kg/m ²) ^b	31.1 (6.2)
Eutrophic (18.5–24.9) ^a	11 (12)
Overweight (25–29.9) ^a	38 (40)
Obesity (> 30) ^a	45 (48)
Waist circumference (cm) ^b	109.0 (13.7)
Hip circumference (cm) ^b	104.2 (14.7)
WHR (cm) ^b	1.06 (0.15)
Clinical data	
Disease duration (years) ^b	15.7 (12.1)
Skin disease activity (plaques) ^a	75 (84)
Joint disease ^a	11 (12)
PASI ^b	5.3 (4.8)
Comorbidities^a	
Triglycerides (mg/dL)	43 (49)
Cholesterol (mg/dL)	39 (43)
Hypertension (mmHg)	42 (47)
Altered blood glucose or DM (mg/dL)	34 (38)
Metabolic syndrome	47 (50)

DM, diabetes mellitus; WHR, waist-to-hip ratio; BMI, body mass index.

^a n (%).

^b Mean (SD).

etanercept, 4% ustekinumab). There were no cyclosporine users in this sample.

Patients with psoriasis did not follow an exclusive diet, and all reported some variability in the food consumed. From the factorial analysis of the food consumption reported by the sample, two dietary patterns were identified (Table 2). Pattern 1 (processed diet) consisted of industrialized foods, rich in saturated fats, sugar, and sodium, *i.e.*, a diet with high caloric density and low nutritional quality. Pattern 2 (fresh diet) was characterized by the consumption of fruits and vegetables, which are sources of vitamins, minerals, fibers, and bioactive compounds, in addition to offering high nutritional support in qualitative terms.

Table 2 Food patterns and factorial loads of the foods that make up each pattern, identified by analyzing the sample food frequency questionnaire.

Pattern 1 (processed diet)	FL	Pattern 2 (fresh diet)	FL
Pizza	0.79	Raw vegetables	0.73
Deep fried savory snack	0.74	Cooked vegetables	0.73
Filled cookie	0.69	Tomato	0.70
Charcuterie	0.69	Cooked greens	0.68
Cheese	0.67	Broccoli	0.62
Sandwiches	0.66	Carrot	0.59
Soda	0.64	Lettuce	0.57
Flour	0.53	Orange	0.50
Burger	0.52	Salt	0.42
Mayonnaise	0.45	Apple	0.42
Baked savory snack	0.38	Olive oil/cooking oil	0.39
Breads	0.38	Banana	0.38
Desserts	0.37	Melon	0.38
Sausage	0.35	Papaya	0.38
Industrialized juice	0.32	Potato	0.31
Butter	0.32		

FL, factorial load; KMO = 0.65.

Table 3 Multivariate comparison of the scores of dietary patterns with anthropometric, demographic, and psoriasis-related variables ($n = 94$).

Variable	Pattern 1 (processed)		Pattern 2 (fresh)	
	β coefficient	p -Value ^a	β coefficient	p -Value ^a
Female gender	-0.027	0.748	0.268	0.006
Age	-0.01	0.123	0.05	0.045
Educational status				
College or university degree	0.042	0.760	-0.183	0.329
High school	-0.090	0.278	-0.069	0.547
Illiterate + elementary school	(-)			
Income (minimum wages)	0.020	0.327	0.099	0.003
BMI	-0.009	0.076	-0.009	0.492
WHR	0.230	0.362	-0.340	0.054
Disease duration	-0.005	0.034	-0.005	0.154
Skin activity	-0.110	0.233	-0.353	0.001
Joint disease	-0.145	0.096	-0.014	0.427
Arterial hypertension	-0.074	0.256	-0.037	0.852
Diabetes mellitus	0.092	0.208	0.176	0.142
Hypertriglyceridemia	-0.084	0.333	0.117	0.938
Hypercholesterolemia	0.187	0.057	-0.063	0.526

BMI, body mass index; WHR, waist-to-hip ratio.

^a Adjusted p -value.

Adherence scores to each dietary pattern (Table 3) were assessed according to anthropometric, demographic, and clinical (joint and cutaneous activity) variables. Pattern 1 was associated with more recent psoriasis. The female sex showed greater adherence to Pattern 2, as well as patients with higher age and income. There was an inverse association of WHR with adherence to Pattern 2, as well as with cutaneous activity (plaques).

The multivariate correspondence analysis (Fig. 1) indicated a relationship between lower adherence to the processed diet and greater adherence to the fresh diet, as well as with females, absence of lipid and blood pressure

alterations, in addition to lower WHR and eutrophy. The presence of joint psoriasis was related with obesity.

Discussion

Two patterns of food consumption were identified in patients with psoriasis, which were associated with clinical and anthropometric factors and MS markers.

Nutrition is a complex phenomenon, and since isolated foods or nutrients are generally not considered to be harmful to health, the assessment of the cumulative effect of diet on

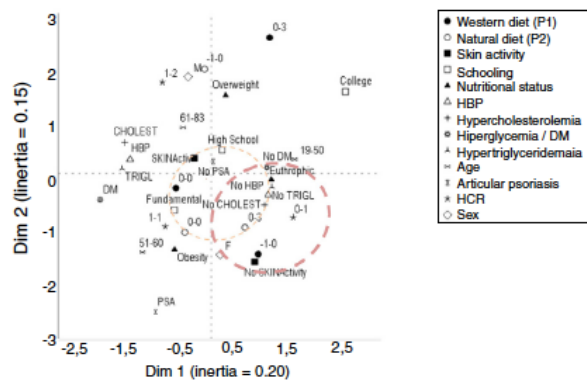


Figure 1 Perceptual map of the main demographic, clinical, and anthropometric variables and adherence to dietary patterns in 94 patients with psoriasis. Quantitative variables were categorized according to the tertile of the distributions. DM, diabetes mellitus; BMI, body mass index; WTH, waist-to-hip ratio; AH, arterial hypertension. Standardized scores for P1 and P2 ranged from -3 to $+3$ according to adherence to each dietary pattern.

health through dietary patterns can help determine which are the most favorable for a population and provide a more accurate description of eating habits.²³

Food patterns are transitioning worldwide, influenced by several factors, such as income, food costs, individual food preferences, beliefs, cultural traditions, and geographic, behavioral, and socioeconomic aspects.²⁴

According to the Family Budget Survey (Pesquisa de Orçamento Familiar; POF 2018/2019), an increase in the consumption of foods with lower nutritional density, higher concentration of energy, total lipids, sugar, and sodium has been observed in Brazil over the past decades.^{25,26} The most important changes in this regard were a reduction in the consumption of beans (31%), roots and tubers (32%), and eggs (84%), and an increase in the consumption of cookies (400%), soft drinks (400%), meats (50%), and milk (36%), *i.e.*, an increase in diets rich in processed and ultra-processed foods, characterizing the so-called Western diet, which is associated with increased obesity, MS, neoplasms, and inflammatory diseases.^{27,28}

The “Western diet” pattern has been a characteristic of the modern diet, with convenient, easily accessible, industrialized foods with low nutritional content.⁸ In the present study, adherence to the Western pattern (Pattern 1) was associated with overweight and presence of MS markers. All MS markers are modifiable risk factors; changes in lifestyle, diet, and exercise can favorably impact the onset of diseases.^{25,29}

In contrast, Pattern 2 was characterized by the consumption of fresh foods (fruits and vegetables), which are sources of vitamins, minerals, fibers, and bioactive compounds, in addition to offering a high nutritional intake. These are foods that provide micronutrient balance. Nutrients present mainly in fresh foods – such as fibers, vitamins, minerals, and mono- and polyunsaturated fatty acids – have antioxidant effects, which can reduce systemic inflammation and potentially interfere in the clinical picture of psoriasis and metabolic diseases.^{9,11,27}

Cross-sectional studies have shown that a “healthy” food pattern is associated with a lower prevalence of MS, while western/unhealthy patterns are associated with an increased risk of MS.³⁰ In this sample, the fresh pattern was associated with absence of alterations in the lipid profile and blood pressure, in addition to a lower WHR, evidencing that diets with a high fruit and vegetable content may mitigate the effects of inflammation and MS.³¹

A study conducted in Croatia with 82 inpatients found improvement in psoriasis plaques and reduction in total cholesterol, triglycerides, and low-density lipoprotein (LDL) after four weeks of adherence to a low energy density diet.³²

An Italian study followed 61 patients for 24 weeks and observed weight and WC reduction, in addition to reduced PASI and serum levels of C-reactive protein, after a calorie-reduced diet combined with low-dose cyclosporine treatment.³³

Another randomized clinical study, carried out in Denmark with 60 overweight psoriasis patients who adhered to a low-calorie diet for eight weeks, showed improvement in PASI and in the quality of life index when compared with the control group.³⁴

In Sweden, a study with 51 patients evidenced the influence of the Mediterranean diet (rich in fish, olive oil, and vegetables); after three months of intervention, individuals showed improvement in disease activity and quality of life.³⁵ These findings corroborate the results of a study carried out in Hawaii with five patients who showed improvement in PASI of 47.8% when submitted for ten days to a diet rich in fish, whole foods, fruits, vegetables, nuts, and herbal teas.³⁶

In the present study, the prevalence of obesity was 48%. Obesity is a growing public health challenge, and is more prevalent among individuals with psoriasis (34%) than in the general population. In Brazil, over half of the population (55.7%) are overweight and 19.8% are obese (23% in women and 20% in men).^{37–39}

Longitudinal population-based studies suggest a causal role of obesity in psoriasis, as well as an association with poor response to treatment and greater disease severity. The increase in obesity rates and adherence to the Western diet, in addition to longevity and greater access to diagnosis, may be associated with the increase in the incidence of psoriasis.^{40–42}

Weight control can also improve the prognosis of psoriasis and quality of life. Moreover, caloric control leads to significant improvements in skin lesions and systemic inflammatory status. Therefore, low-calorie diets can be considered an important aid factor in the prevention and treatment of psoriasis, as well as in weight management, reduction of inflammatory markers, improvement in the lipid and glucidic profiles, and reduction of the risk of associated diseases.^{43,44}

A vegetarian diet, provided it is well planned and structured, can be nutritionally adequate and have potential health benefits, including for individuals with psoriasis.^{32,43} A new line of research, on plant-based diets, prioritizes the consumption of foods of plant origin as natural and as close to their original form as possible, advocating the consumption of food in its most complete form, free from refinement, processing, and artificial additives. It seems possible that a plant-based diet is able to influence the immune and metabolic response from changes mainly in

the intestinal microbial state.⁴⁵ However, these interventions require studies with appropriate designs to clarify the relationship with psoriasis.^{46,47}

Nutritional strategies should be encouraged for patients with psoriasis; patients should be instructed to follow a low-calorie diet, with adjustment of macronutrients, micronutrients, and stimulated to eat fresh foods, restricting the consumption of processed foods and alcohol. Dietary interventions present positive results in the control of comorbidities and response to clinical treatment, and may help prevent diseases.⁴⁷

In the present sample, the multivariate analyses reinforced the inverse correlation between MS markers and adherence to Pattern 1. Moreover, the association between diet, gender, income, and disease duration should be assessed in later studies with appropriate designs.

Study limitations include its monocentric and non-randomized design, including only a population of patients from a public institution, and the evaluation through the FFQ, which is memory-dependent.

The multidisciplinary care of patients with psoriasis allows a broader assistance aimed at reducing comorbidities along with the clinical treatment. The results of this study support the need for a specific nutritional care for psoriasis, aiming at possible improvement in disease activity and the reduction of risks arising from chronic inflammatory status and comorbidities.

Conclusion

Two dietary patterns were identified in a sample of patients with psoriasis at a public healthcare institution. The prevalence of obesity and MS was significantly higher in this population than in the adult Brazilian population. Adherence to a fresh diet was associated with lower MS indicators.

Financial support

None declared.

Authors' contributions

Tatiana Cristina Figueira Polo: Statistical analysis; approval of the final version of the manuscript; conception and planning of the study; elaboration and writing of the manuscript; obtaining, analyzing, and interpreting the data; effective participation in research orientation; intellectual participation in propaedeutic and/or therapeutic conduct of studied cases; critical review of the literature; critical review of the manuscript.

José Eduardo Corrente: Statistical analysis; obtaining, analyzing, and interpreting the data; critical review of the manuscript.

Luciane Donida Bartoli Miot: Approval of the final version of the manuscript; conception and planning of the study; elaboration and writing of the manuscript; obtaining, analyzing, and interpreting the data; intellectual participation in propaedeutic and/or therapeutic conduct of studied cases; critical review of the manuscript.

Silvia Justina Papini: Approval of the final version of the manuscript; conception and planning of the study; obtaining, analyzing, and interpreting the data; effective participation in research orientation; critical review of the manuscript.

Hélio Amante Miot: Statistical analysis; approval of the final version of the manuscript; conception and planning of the study; elaboration and writing of the manuscript; obtaining, analyzing, and interpreting the data; effective participation in research orientation; intellectual participation in propaedeutic and/or therapeutic conduct of studied cases; critical review of the literature; critical review of the manuscript.

Conflicts of interest

None declared.

References

1. Souza CS, de Castro CCS, Carneiro FRO, Pinto JMN, Fabricio LHZ, Azulay-Abulafia L, et al. Metabolic syndrome and psoriatic arthritis among patients with psoriasis vulgaris: quality of life and prevalence. *J Dermatol*. 2019;46:3–10.
2. Milčić D, Janković S, Vesić S, Milinković M, Marinković J, Čirković A, et al. Prevalence of metabolic syndrome in patients with psoriasis: a hospital-based cross-sectional study. *An Bras Dermatol*. 2017;92:46–51.
3. Romiti R, Amone M, Menter A, Miot HA. Prevalence of psoriasis in Brazil – a geographical survey. *Int J Dermatol*. 2017;56:e167–8.
4. DiBonaventura M, Carvalho AVE, Souza CDS, Squiassi HB, Ferreira CN. The association between psoriasis and health-related quality of life, work productivity, and healthcare resource use in Brazil. *An Bras Dermatol*. 2018;93:197–204.
5. Kunz M, Simon JC, Saalbach A. Psoriasis: Obesity and fatty acids. *Front Immunol*. 2019;10:1807.
6. Carrascosa JM, Rocamora V, Fernandez-Torres RM, Jimenez-Puya R, Moreno JC, Coll-Puigserver N, et al. Obesidad y psoriasis: naturaleza inflamatoria de la obesidad, relación entre psoriasis y obesidad e implicaciones terapéuticas. *Actas Dermofiliogr*. 2014;105:31–44.
7. Jensen P, Skov L. Psoriasis and obesity. *Dermatology*. 2016;232:633–9.
8. Flegal KM, Kruszon-Moran D, Carroll MD, Fryar CD, Ogden CL. Trends in obesity among adults in the United States, 2005 to 2014. *JAMA*. 2016;315:2284–91.
9. Madden SK, Flanagan KL, Jones G. How lifestyle factors and their associated pathogenetic mechanisms impact psoriasis. *Clin Nutr*. 2019;2:171.
10. Alotaibi HA. Effects of weight loss on psoriasis: a review of clinical trials. *Cureus*. 2018;10:e3491.
11. Zuccotti E, Oliveri M, Girometta C, Ratto D, Di Iorio C, Occhinegro A, et al. Nutritional strategies for psoriasis: current scientific evidence in clinical trials. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2018;23:8537–51.
12. Aquino EM, Barreto SM, Bensenor IM, Carvalho MS, Chor D, Duncan BB, et al. Brazilian Longitudinal Study of Adult Health (ELSA-Brazil): objectives and design. *Am J Epidemiol*. 2012;4:315–24.
13. World Health Organization Expert Committee. Physical status: the use and interpretation of anthropometry: report of a WHO Expert Committee. *WHO Tech Rep Ser*. 1995;854:1–452.
14. Alberti KG, Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ, Cleeman JJ, Donato KA, et al. Harmonizing the Metabolic Syndrome: A Joint Interim Statement of the International Diabetes Federation

- Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. *Circulation*. 2009;120:1640–5.
15. Harari M, Shani J, Hristakieva E, Stanimirovic A, Seidl W, Burdo A. Clinical evaluation of a more rapid and sensitive Psoriasis Assessment Severity Score (PASS), and its comparison with the classic method of Psoriasis Area and Severity Index (PASI), before and after climatotherapy at the Dead-Sea. *Int J Dermatol*. 2000;39:913–8.
 16. Korman NJ, Zhao Y, Pike J, Roberts J. Relationship between psoriasis severity, clinical symptoms, quality of life and work productivity among patients in the USA. *Clin Exp Dermatol*. 2016;41:514–21.
 17. 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;106:3143–421.
 18. Miot HA. Assessing normality of data in clinical and experimental trials. *J Vasc Bras*. 2017;16:88–91.
 19. Figueiredo Filho DB, Silva Júnior JA. Visão além do alcance: uma introdução à análise fatorial. *Opinião Pública*. 2010;16:160–85.
 20. Norman GR, Streiner DL. Biostatistics: the bare essentials. 4th ed. Connecticut: People's Medical Publishing House; 2014.
 21. Sourial N, Wolfson C, Zhu B, Quail J, Fletcher J, Karunanathan S, et al. Correspondence analysis is a useful tool to uncover the relationships among categorical variables. *J Clin Epidemiol*. 2010;63:638–46.
 22. Miot HA. Tamanho da amostra em estudos clínicos e experimentais. *J Vasc Bras*. 2011;10:275–8.
 23. Fabiani R, Naldini G, Chiavarini M. Dietary patterns and metabolic syndrome in adult subjects: a systematic review and meta-analysis. *Nutrients*. 2019;11:E2056.
 24. Mattei J, Malik V, Wedick NM, Hu FB, Spiegelman D, Willett WC, et al. Reducing the global burden of type 2 diabetes by improving the quality of staple foods: The Global Nutrition and Epidemiologic Transition Initiative. *Global Health*. 2015;11:23.
 25. Popkin BM, Reardon T. Obesity and the food system transformation in Latin America. *Obes Rev*. 2018;19:1028–64.
 26. IBGE. Pesquisa de Orçamentos Familiares 2008–2009 – Despesas, Rendimentos e Condições de Vida. Rio de Janeiro: IBGE; 2010.
 27. Hassannejad R, Kazemi I, Sadeghi M, Mohammadifard N, Roohafza H, Sarrafzadegan N, et al. Longitudinal association of metabolic syndrome and dietary patterns: a 13-year prospective population-based cohort study. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2018;4:352–60.
 28. Bray GA, Heisel WE, Afshin A, Jensen MD, Dietz WH, Long M, et al. The science of obesity management: an endocrine society scientific statement. *Endocr Rev*. 2018;2:79–132.
 29. Martin A, Booth JN, Laird Y, Sproule J, Reilly JJ, Saunders DH. Physical activity, diet and other behavioural interventions for improving cognition and school achievement in children and adolescents with obesity or overweight Cochrane Developmental, Psychosocial and Learning Problems Group. *Cochrane Database Syst Rev*. 2018;2018:CD009728.
 30. Jensen P, Christensen R, Zachariae C, Geiker NR, Schaadt BK, Stender S, et al. Long-term effects of weight reduction on the severity of psoriasis in a cohort derived from a randomized trial: a prospective observational follow-up study. *Am J Clin Nutr*. 2016;104:259–65.
 31. Yousefzadeh H, Mahmoudi M, Banihashemi M, Rastin M, Azad FJ. Investigation of dietary supplements prevalence as complementary therapy: comparison between hospitalized psoriasis patients and non-psoriasis patients, correlation with disease severity and quality of life. *Complement Ther Med*. 2017;33:65–71.
 32. Rucević I, Perl A, Barisić-Drusko V, Adam-Perl M. The role of the low energy diet in psoriasis vulgaris treatment. *Coll Antropol*. 2003;27 Suppl. 1:41–8.
 33. Gisondi P, Del Giglio M, Di Francesco V, Zamboni M, Girolomoni G. Weight loss improves the response of obese patients with moderate-to-severe chronic plaque psoriasis to low-dose cyclosporine therapy: a randomized, controlled, investigator-blinded clinical trial. *Am J Clin Nutr*. 2008;88:1242–7.
 34. Jensen P, Zachariae C, Christensen R, Geiker NR, Schaadt BK, Stender S, et al. Effect of weight loss on the severity of psoriasis: a randomized clinical study. *JAMA Dermatol*. 2013;7:795–801.
 35. Sköldstam L, Hagfors L, Johansson G. An experimental study of a Mediterranean diet intervention for patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2003;62:208–14.
 36. Brown AC, Hairfield M, Richards DG, McMillin DL, Mein EA, Nelson CD. Medical nutrition therapy as a potential complementary treatment for psoriasis – five case reports. *Altern Med Rev*. 2004;3:297–307.
 37. Chaparro MP, Pina MF, de Oliveira Cardoso L, Santos SM, Barreto SM, Giatti Gonçalves L, et al. The association between the neighbourhood social environment and obesity in Brazil: a cross-sectional analysis of the ELSA-Brasil study. *BMJ Open*. 2019;9:e016800.
 38. Malta DC, Silva AG, Tonaco LAB, Freitas MIF, Velasquez-Melendez G. Time trends in morbid obesity prevalence in the Brazilian adult population from 2006 to 2017. *Cad Saúde Pública*. 2019;35:223–518.
 39. Martins-Silva T, Vaz JS, de Mola CL, Assunção MCF, Tovo-Rodrigues L. Prevalence of obesity in rural and urban areas in Brazil: National Health Survey, 2013. *Rev Bras Epidemiol*. 2019;22:190049.
 40. Mahil SK, McSweeney SM, Kloczko E, McGowan B, Barker JN, Smith CH. Does weight loss reduce the severity and incidence of psoriasis or psoriatic arthritis? A critically appraised topic. *Br J Dermatol*. 2019;181:946–53.
 41. Eder L, Widdifield J, Rosen CF, Cook R, Lee KA, Alhusayen R, et al. Trends in the prevalence and incidence of psoriasis and psoriatic arthritis in Ontario, Canada: a population-based study. *Arthritis Care Res (Honoken)*. 2019;71:1084–91.
 42. Ferrándiz C, Carrascosa JM, Toro M. Prevalence of psoriasis in Spain in the age of biologics. *Actas Dermosifiliogr*. 2014;5:504–9.
 43. Rastmanesh R. Psoriasis and vegetarian diets: a role for cortisol and potassium? *Med Hypotheses*. 2009;3:368.
 44. Unger AL, Torres-Gonzalez M, Kraft J. Dairy fat consumption and the risk of metabolic syndrome: an examination of the saturated fatty acids in dairy. *Nutrients*. 2019;12, pii:E2200.
 45. Medawar E, Huhn S, Villringer A, Witte AV. The effects of plant-based diets on the body and the brain: a systematic review. *Transl Psychiatry*. 2019;1:226.
 46. Chi CC, Ko SH, Yeh ML, Wang SH, Tsai YS, Hsu MY. Lifestyle changes for treating psoriasis. *Cochrane Database Syst Rev*. 2015;11:CD011972.
 47. Zmora N, Suez J, Elinav E. You are what you eat: diet, health and the gut microbiota. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2019;16:35–56.

Artigo Científico II

***Characterization of the intestinal microbiome in
eutrophic, obese omnivores, and vegetarians***



Characterization of the intestinal microbiome in eutrophic, obese omnivores, and vegetarians

Tatiana Cristina Figueira Polo¹ · Mariana Righetto de Ré Lai¹ · Hélio Amante Miot¹

Received: 13 September 2021 / Accepted: 23 December 2021
© The Author(s), under exclusive licence to Springer Nature Switzerland AG 2022

Abstract

Purpose To characterize the intestinal microbiome (IM) of omnivores (obese or eutrophic) and vegetarians and correlate them with their nutritional profile in a Brazilian adult male sample.

Method Cross-sectional study involving 21 adult males: eutrophic omnivores (EuOn), obese omnivores (ObOn), and eutrophic vegetarians (EuVeg). Demographic, anthropometric, and dietary data were assessed. The characterization of IM was carried out using stool samples (fecal microbiome) and subsequent metagenomic analysis (16S amplicon).

Results EuVeg had a higher fiber intake and more daily meals than the other groups, however, caloric, protein, and carbohydrate intake was higher among obese individuals. ObOn showed the lowest ecologic richness index; in addition to a greater Firmicutes/Bacteroidetes ratio. Two profiles of intestinal microbioma were identified that allowed the characterization of the groups. EuOn were mainly represented by the *Christensenellaceae* family and the *Faecalibacterium prausnitzii* species. EuVeg were represented by the *Coriobacteriaceae* family, and the *Prevotella copri* species. ObOn were represented by the *Enterobacteriaceae* family and by the *Blautia producta* species.

Conclusion Omnivorous (obese and eutrophic) and vegetarian men presented different patterns of IM according to the ecologic diversity and the ratio of Firmicutes/Bacteroidetes phyla. The patterns of IM were correlated with the nutrient composition of the diet, substantiating dietetic interventions for the modulation of IM.

Keywords Gastrointestinal microbiome · Diet · Vegetarian diet · Western diet · Obesity · Microbiota

Introduction

The microbiome is characterized as the collection of all microorganisms and their genetic load in a particular environment (e.g., skin or gut) that can interact with their host. Currently, the human IM is the most studied, particularly because it is strongly related to the metabolism of carbohydrates, fatty acids, lipopolysaccharides, and bile acids, additionally, it participates in the modulation of systemic inflammation. [1]

IM consists of an unstable flora that varies according to several factors, such as sex, type of delivery, breastfeeding, age, diet, lifestyle (smoking, alcohol consumption, stress, and sleep profile), hygiene, antimicrobial therapy, physical exercise practice, geographic location, and some diseases. [2]

The imbalance of bacterial populations is called dysbiosis, which is the target of intense research related to the development of various disorders such as intestinal diseases (Crohn's disease, celiac disease, irritable bowel syndrome, and pseudomembranous colitis), cardiometabolic diseases (metabolic syndrome, diabetes, and obesity), psychiatric disorders (depression, anxiety, and autism), dermatological conditions (atopic dermatitis and psoriasis), and autoimmune diseases (rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus). Despite the simplicity of the phylogenetic characterization of individual IM (e.g., each species), it does not provide deep information on functional repertoires, an ecologic approach is accepted as more informative. [3–5]

✉ Tatiana Cristina Figueira Polo
tatiana.figueira@yahoo.com.br

Mariana Righetto de Ré Lai
marianardere@gmail.com

Hélio Amante Miot
heliomiot@gmail.com

¹ Department of Dermatology and Radiotherapy, FMB-UNESP, Botucatu, São Paulo, Brazil

Bacterial cells are unequally distributed along the length of the gastrointestinal tract and, the number of bacteria can vary in different compartments: 10 to 103 bacteria/g in the stomach and duodenal contents, 104 to 107 bacteria/g in the small intestine, and 1.011 to 1.012 bacteria/g in the large intestine, the most studied compartment. The proportion of the most abundant large intestinal phyla: Firmicutes and Bacteroidetes (F/B), is associated with nutrient absorption and with the metabolism of carbohydrates and lipids. [6] From a metabolic point of view, the higher F/B ratio characterizes a variation in the population of bacteria that metabolize L-carnitine to trimethylamine N-oxide (TMAO), a pro-atherogenic metabolite that alters the turnover of cholesterol and stimulates macrophage activity. [7]

The F/B ratio also influences the metabolism of carbohydrates, leading to an excess of energy to the host and alteration in the production of medium-chain (MCFA) and short-chain (SCFA) fatty acids. A greater F/B ratio is associated with the increase of intestinal synthesis acetate and reducing butyrate, which promotes insulin resistance and ghrelin production (increasing hunger). Thus, intestinal dysbiosis can act simultaneously as a cause and consequence of obesity and related diseases. [8, 9]

Diet can modulate the IM composition. The excess of saturated fat and low fiber consumption leads to the reduced intestinal synthesis of MCFA and butyrate. Moreover, it increases the production of acetate, leading to impairment of the integrity of the intestinal permeability. This is explained by the activation of mast cells in the intestinal mucosa, which implies the secretion of inflammatory mediators (TNF- α , IL-1B, IL-4, and IL-13), favoring the translocation of lipopolysaccharide (LPS) through the intestinal wall. [10, 11] High concentrations of LPS were associated with a high-fat diet, and it can also trigger chronic subclinical inflammation. [12, 13]

Animal source proteins, saturated fats, sugars, and sodium predominates on the Western diet affect the composition of IM. Characteristically, *Bacteroides* and *Clostridia/Ruminococcus* are prevalent in the IM from individuals under animal protein-rich diets. Nevertheless, nondigestible fibers are the main modulating factor of IM, which are associated with an increase in the diversity of bacteria that can carry out the fermentation process of dietary fibers, such as *Prevotella* and *Lachnospira*. This pattern regularizes the production of butyrate, propionate, and acetate. These bacteria are directly linked to the regulation of hormones responsible for appetite control, epithelial cell proliferation, and intestinal permeability. [14–17]

Instead, vegetarians consume plant-based proteins, leading to lower ingestion of vitamin B12, sodium, iron, and cholesterol. However, it is rich in fiber, bioactive compounds, potassium, magnesium, ascorbic, and folic acids. Thus, vegetarians, vegans, and ovo-lacto vegetarians have

reduced TMAO levels, which may be a consequence of a different IM composition. [18–20]

Studies that investigate IM in vegetarians and omnivores with a Western diet are scarce. In Brazil, the IM of vegetarians has not been characterized yet, nor have their characteristics been compared with omnivores (eutrophic and obese). This investigation aimed to characterize the IM of omnivorous Brazilian adult males (obese or eutrophic) and compare them with vegetarians. In addition, to correlate aspects of the intestinal microbiome with their dietary the participants resulted in the identification of profile (Fig. 1).

Methods

The present study has a cross-sectional design, involving 21 nonsmokers males (18–65 years): 7 eutrophic omnivores (EuOn), 7 obese omnivores (ObOn), and 7 eutrophic vegetarians (EuVeg), who had not changed their diet on the last 3 months, neither used antibiotics, laxatives, or anti-inflammatory drugs, nor report bowel changes in the last week. Women were not included to homogenize the sample.

The study was approved by the Ethics Committee for Research on Human Beings of the Faculdade de Medicina de Botucatu – FMB/UNESP (no. 3.743.366), and all individuals signed the informed consent form.

The research was conducted at the Dermatology outpatient clinic of the Faculdade de Medicina de Botucatu from March 2020 to February 2021. The sample was originated from the residents of Botucatu-SP, recruited from the dermatological clinic.

Demographic, socioeconomic, and dietary data were obtained through personal interviews; the anthropometric and dietary assessments were carried out by nutritionists.

Dietary assessment was obtained using the 24-h recall (24hR), with a detailed report on food consumption in the last 24 h, regarding data on types of food, beverages on size, portions, or volume. Subsequently, the data were transformed into grams of energy, macronutrients, and micronutrients by the NDSR (Nutritional Data System for Research) software. [21]

The composition and diversity of the IM were estimated based on the fecal microbiome of the participants. Stool samples were collected to obtain the genetic material and subsequent analysis of them. The individuals were instructed to carry out the collection of the first evacuation of the day in a specific tube at their residence. After the collection, the stool samples were delivered to the responsible researcher and transported refrigerated (dry ice: –28 °C) to the Biotechnology Research and Innovation Laboratory (BPI, Botucatu-SP), where they were stored in a freezer –80 °C until the moment of DNA extraction and further analysis.

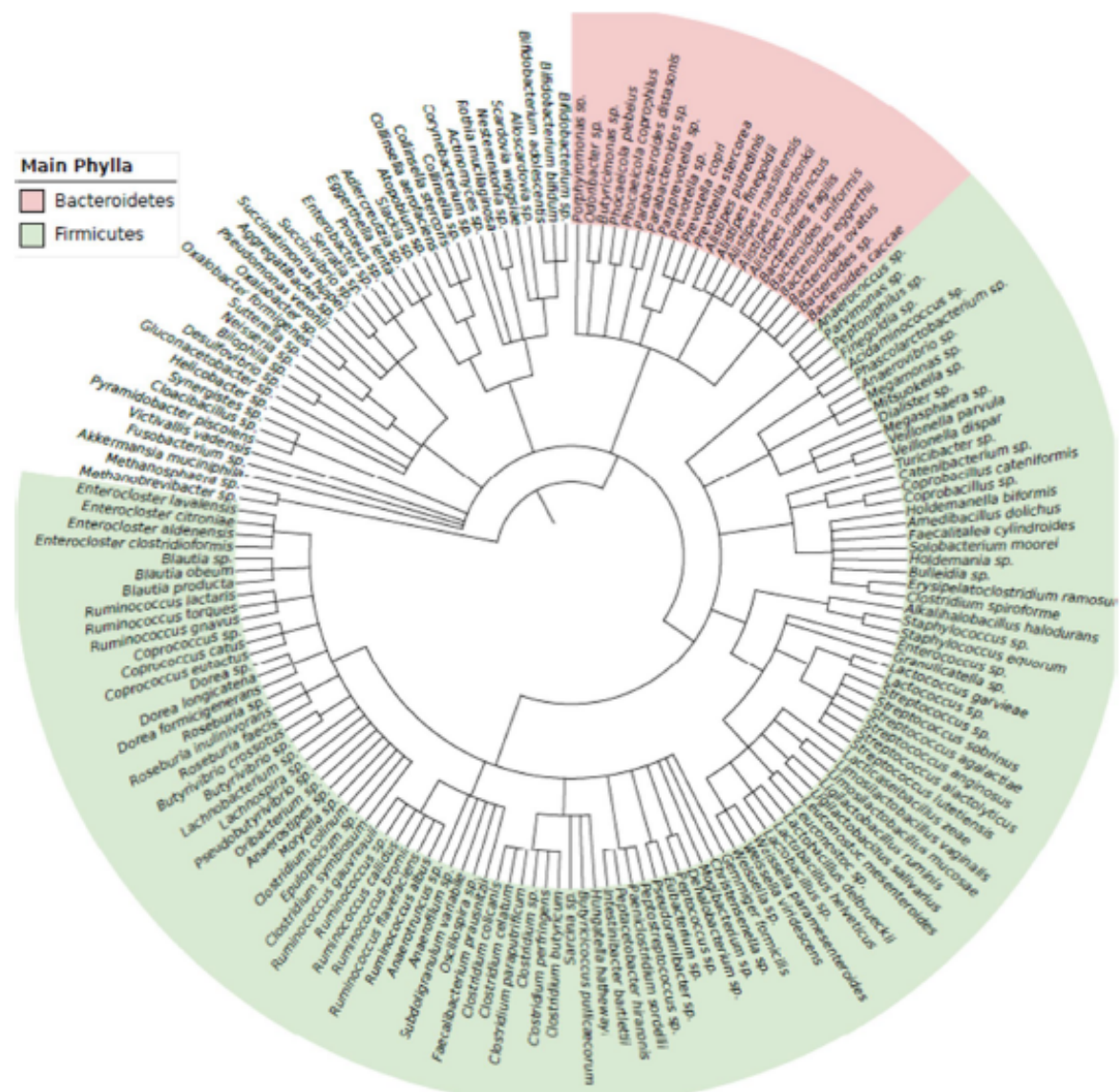


Fig. 1 Cladogram with the main species and phyla (Firmicutes and Bacteroidetes) identified in the intestinal microbiome of the sample (base: NCBI: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/CommonTree/www.cmt.cgi>)

To extract the genetic material, 1 g aliquots and the Quick-DNA Fungal/Bacterial Miniprep kit (Zymo Research) were used according to the protocol described by the manufacturer. Subsequently, the material was subjected to quality testing through fluorescence quantification using the Qubit® 3.0 Fluorometer (Thermo Fisher Scientific) equipment.

For the amplification reactions of the 16S region, triplicate samples were performed, with a final volume of 20 µL, containing 10 µL of GoTaq® Colorless Master Mix 2× (Promega, USL), 0.3 µM of forwarding oligonucleotide,

and 0.3 µM of oligonucleotide reverse, 3 µL of genomic DNA, and sufficient sterile ultrapure water to make up to 20 µL. Amplification reactions were conducted in a Veriti™ Thermal Cycler (Applied Biosystems) thermocycler.

After the amplification reaction of each sample, the proof of amplification was through electrophoresis in a 2% agarose gel stained with Gel Red (Uniscience), approximately 300 bp (amplicon size). PCRs were submitted for purification steps using Agencourt AMPure XP magnetic bead (Beckman Coulter) for removal of very

small fragments from the total population of molecules and primers and reaction debris. After this step, the quantification was performed using the real-time PCR methodology using QuantStudio 3 Real-Time thermocycler (Applied Biosystems) and KAPA-KK4824 Kit (Library Quantification Kit, Illumina/Universal), all according to the manufacturers protocol.

An equimolar pool of DNA was generated by normalizing all samples to 3 nM for sequencing, which was conducted using the next-generation Illumina MiSeq sequencing system (Illumina® Sequencing) and MiSeq Reagent Kit V2 kit Nano 300 cycles – 2× 150 bp reading.

The Greengenes database 13_8 99% OTUs from 515F/806R region of sequences was used to identify the taxon sequences and only sequences with more than 97% of analogy (reliability) were considered. [22]

The main variables of the study are the diversity of the intestinal flora identified in each microbiome evaluated by the diversity indices (Hill) according to each category of taxonomic unit (UTN) and the proportion between the F/B phyla between the groups. [23] Variables were evaluated according to diet, age, food intake pattern, n , and body mass index.

Qualitative variables were represented by percentages, and the quantitative variables were represented as means and standard deviations. The normality of the samples was assessed using the Shapiro–Wilk test. [24] The quantification of the relative abundances of UTN was compared between groups by generalized linear models and adjusted for the age of the participants. The models were adapted to the most appropriate probability distributions for each sample (e.g., gamma), and the correction for multiple comparisons was performed using the Šidák procedure. [25] Significance was set as p -value ≤ 0.05 .

The relative abundance of UTN in the samples was explored from their components, which were extracted by the PLS (partial least squares) method. Data were scaled by their standard deviations. [26, 27]

The loadings of PLS components were correlated with clinical, demographic, and dietary elements by Spearman's correlation test. [28]

The data were tabulated in MS Excel 2010 and analyzed using IBM SPSS 25v and Statistica 10v software. [29]

Results

The main demographic and dietary data are shown in Table 1. The number of meals and fiber intake was higher in EuVeg, while the total intake of energy, protein, and carbohydrates was higher in ObOn.

The IM analysis of the participants resulted in the identification of 1376 taxonomic units (UTN) (Figure 3 and Supplementary Table 4).

The IM diversity of the participants was estimated by the relative abundance of the groups, the Hill diversity indices (wealth, Shannon, and Simpson), and the relationship between the F/B phyla (Table 2). The ObOn group had the lowest diversity index and a higher F/B ratio than the EuOn group.

Three PLS components accounted for up to 93.5% of group variance. Figure 2 shows the projection of cases according to the load of the components. Loads of EuOn components were higher than ObOn and EuVeg for PLS1 ($p < 0.05$); EuVeg loads were higher than ObOn for PLS2 ($p < 0.01$).

The UTN that carried the largest components of PLS1 (EuOn) were the families *Mogibacteriaceae*,

Table 1 Main demographic and dietary data of participants ($n = 21$)

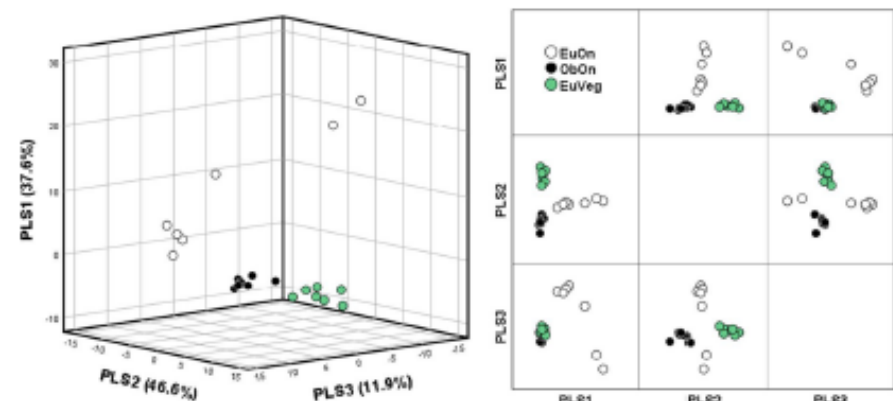
	Eutrophic omnivorous	Obese omnivore	Eutrophic vegetarian
Age (years)*	39.7 (14.1)	42.1 (9.5)	25.4 (2.5) ^{bc}
BMI (kg/m ²)*	23.4 (1.2)	38.9 (6.5) ^{ac}	24.3 (2.6)
No. of meals/day*	5.2 (0.8) ^a	2.9 (0.7)	6.1 (0.7) ^{bc}
Total energy (kcal)*	2775.1 (99.4) ^a	4943.6 (946.1)	2314.3 (129.1) ^{bc}
Carbohydrates (g)*	385.4 (32.8)	693.6 (134.9) ^{ac}	362.2 (22.8)
Carbohydrates (%)	55.5 (4.2)	56.3 (4.9)	62.2 (1.9) ^{bc}
Proteins (g)*	143.5 (15.1)	254.3 (71.5) ^{ac}	58.4 (21.6) ^b
Proteins (%)	20.6 (2.6)	20.4 (3.2)	10 (3.8) ^{bc}
Fats (g)*	73.9 (19.7)	128.6 (47.6) ^{ac}	72 (9.7)
Fats (%)	23.9 (6.0)	23.3 (7.2)	27.8 (3.2)
Fibers (g)*	29.1 (3.6) ^a	13.1 (4.7)	42.4 (7.1) ^{bc}
Sugar (g)*	50.2 (14.1)	269.3 (44.4) ^{ac}	86.3 (78.7)

*Mean (standard deviation); ^a $p < 0.05$, eutrophic versus omnivorous obese omnivore; ^b $p < 0.05$, eutrophic versus omnivorous eutrophic vegetarian; ^c $p < 0.05$, obese versus omnivorous eutrophic vegetarian; *BMI*, body mass index; *kcal*, kilocalories; *g*, grams; %, percentage of intake.

Table 2 Diversity indices (mean and standard deviation) between groups (n=21)

	Eutrophic omnivorous	Obese omnivore	Eutrophic vegetarian	p-value*
Relative abundance	66.622 (12.370)	57.409 (11.822)	63.744 (13.691)	0.180
Hill's diversity				
q=0 (Richness)	168.86 (56.45)	113.57 (35.52) ^{a,c}	136.57 (21.14)	0.005
q=1 (Shannon)	44.40 (19.07)	31.50 (15.62)	33.59 (15.18)	0.161
q=3 (Simpson)	14.20 (6.45)	12.63 (7.35)	11.83 (7.29)	0.824
Firmicutes/Bacteroidetes	1.95 (0.46)	17.89 (21.18) ^a	6.47 (13.11)	0.019

*p-value adjusted for age. ^ap≤0.05, eutrophic versus omnivorous obese omnivore; ^bp≤0.05, eutrophic versus omnivorous eutrophic vegetarian; ^cp≤0.05, obese versus omnivorous eutrophic vegetarian.

Fig. 2 Loads of participants according to the three PLS components (n=21)

Ruminococcaceae, *Christensenellaceae*, the genera *Butyrivibrio* sp., *Oscillospira* sp., and the order *Clostridiales*.

The largest loads of the PLS2 component (EuVeg) were the *Coriobacteriaceae* family, the genera *Desulfovibrio* sp., *Paraprevotella* sp., the order *Clostridiales*, and the species *Ruminococcus callidus*, *Ruminococcus flavefaciens*, *Prevotella copri*, and *Eubacterium cylindroides*.

The smallest loads of the PLS2 component (ObOm) were the family, *Enterobacteriaceae* and the genera *Ruminococcus* sp., *Coprococcus* sp., *Holdemanella* sp., beyond species *Ruminococcus torques* and *Blautia producta*.

The correlations of the demographic and dietary data with the component loads were significant only for PLS1 and PLS2 (Table 3). There were positive correlations between PLS2 with the number of meals and fiber intake; and negative with protein and carbohydrate consumption, as well negative correlations between PLS1 and BMI.

Discussion

In this study, omnivorous eutrophics, omnivorous obese, and vegetarian eutrophics differed in alimentary aspects and also in the characterization of IM. Especially a lower IM diversity and a higher F/B ratio were identified in omnivorous obese compared to the omnivorous eutrophic. Diversity is

Table 3 Correlation coefficient (rho) between the main demographic and dietary data of the participants, with the main component loads (n=21)

	PLS1	PLS2	PLS3
Age (years)	-0.03	-0.57*	-0.24
BMI (kg/m ²)	-0.72*	-0.59*	-0.41
No. of meals/day	0.40	0.86*	0.25
Energy intake (kcal)	-0.32	-0.90*	-0.27
Carbohydrates (g)	-0.51*	-0.71*	-0.50
Carbohydrates (%)	-0.21	0.54*	-0.17
Proteins (g)	-0.19	-0.84*	-0.39
Proteins (%)	0.17	-0.61*	-0.29
Fats (g)	-0.46*	-0.54*	0.02
Fats (%)	-0.01	0.21	0.32
Fibers (g)	0.30	0.92*	0.33
Sugar (g)	-0.48*	-0.64*	-0.46*

BMI, body mass index.

*p≤0.05.

crucial to a healthy gut microbiome, accounting for multiple microorganisms capable of performing similar functions. [30] Actually, the microbial composition highly differs among healthy individuals, however, the greater microbial diversity shows a preventive effect on long-term weight

gain, and most studies have noted that the ratio of Firmicutes to Bacteroidetes is significantly higher in obese subjects. [31–35] Furthermore, there are positive correlations between an increased amount of Bacteroidetes in stools and low weight, as well as between Firmicutes and the development of obesity. [36]

The gut microbiota plays a major role in energy metabolism through the production of SCFAs that are produced by colonic fermentation involving anaerobic catabolism of dietary fiber, protein, and resistant starch. In other words, microbial waste products produced by IM contribute to the balance of gut homeostasis. SCFAs, specifically acetate, propionate, and butyrate, can impact human metabolism. The favorable effects of metabolic of these products have been observed on body weight, insulin sensitivity, and glucose balance. [37–40]

The greater diversity of IM is involved in the strengthening of the intestinal barrier, reducing inflammation, and has a positive effect on lipid metabolism. [41] Furthermore, SCFAs contribute to regulating satiety and reducing appetite. [42] Especially, butyrate production is a key mechanism by which gut microbes contribute to the maintenance of gut homeostasis and protect against dysbiosis, however, the overproduction of acetate leads to an influx of substances into the bloodstream, providing chronic inflammatory and immunological alterations, both locally and systemic. [43, 44]

The lower ecological diversity in the IM of obese individuals was evidenced in different population groups, the lower richness and diversity of species reveals intestinal dysbiosis and, consequently, can be a factor for increased permeability and the other consequences mentioned above. [45]

In this study, it was observed that the vegetarians had the habit of having more number daily meals, ingesting a higher amount of fiber, but smallest values of total energy and protein compared to the other groups. Foods consumed *in natura* are sources of soluble fiber present in vegetables, fruits, vegetables, cereals, and pulses, characteristic that represents most of the dietary routine of those adept at vegetarianism. [46] The “Mediterranean” and vegetarian diets, that is, with a greater demand for fresh foods (abundant fruits, vegetables, olive oil, and oily fish) are known for their anti-inflammatory effects that can prevent dysbiosis and subsequent intestinal disease. [47]

On the other hand, obese people had a higher total intake of carbohydrates, fats, and proteins. These elements constitute a dietary pattern of a Western diet, low in fresh foods and nutrients, important to maintain a healthy microbiome. The increased consumption of industrialized products might promote the development of diseases and weight gain. [48]

Among the groups that characterized EuOn, *Christensenellaceae* is a family recently described in the Firmicutes phylum. In different populations studied, its relative

abundance in human IM is inversely related to BMI. Furthermore, it is negatively associated with the development of inflammatory bowel disease. [49]

Faecalibacterium prausnitzii was also more abundant among EuOn. This species is considered one of the main producers of butyrate, obtained through fiber fermentation that has a crucial role in intestinal health and the well-being of the host by strengthening the intestinal barrier. [50]

Plant-based diets appear to promote the development of more diverse and stable microbial systems. Among the bacterial groups that characterized the EuVeg, it was possible to identify the *Coriobacteriaceae* family. In an animal model that followed kale supplementation, there was an increase of this family in the intestine. These bacteria play important roles, such as the conversion of bile salts, steroids, and activation of dietary polyphenols, besides being fundamentals on the production of menaquinone-6 homologs of vitamin K. [51]

The *Prevotella copri* species were also more abundant in EuVeg, corroborating recent findings of this species in association with a diet rich in plant polysaccharides. [52, 53]

In ObOn, the *Blautia producta* is associated with the release of pro-inflammatory cytokines (TNF α , interleukins (IL) 1, 2, 6, and 7), being more abundant in patients with insulin resistance. [54, 55]. Interestingly, there was a reduction in this gender after the intervention of physical exercise in obese, prediabetic, and sedentary individuals, also promoting a balance of endotoxemia. [56]

It is important to emphasize that the genus *Blautia* was associated with the accumulation of visceral fat, regardless of sex in adults. The accumulation of visceral fat located around the abdominal organs such as the liver, stomach, gallbladder, intestines, kidneys is strongly associated with the development of diseases such as myocardial infarction, hormonal disorders, cancer, and mortality. [57]

Despite the association between IM and cardiovascular diseases, there are still few studies about the influence of the exact composition or the functional capacity of IM concerning these diseases. A study with stool metagenome of 218 individuals with atherosclerotic cardiovascular disease identified an increase in the abundance of the genus *Streptococcus* and the *Enterobacteriaceae* family compared to 187 healthy controls. [58]

The profiles of IM of our sample allowed us to characterize the groups, and they were also correlated with the nutritional dietary composition of the participants, like carbohydrates, fat, protein, and fibers. The strongest correlations were observed in fiber consumption, protein, and energy intake. Further prospective investigations should be performed to prove dietary intervention modifying IM and clinical parameters in this population.

This study has limitations, mostly related to modest sampling, which did not prevent the identification of IM

patterns between groups. In addition, the common origin in terms of population group and geographic location maximizes the homogeneity of the groups. Another aspect refers to the sampling of the fecal microbiome, which consists of the transitory flora of the colon, in contrast to the permanent flora, that is linked to the epithelium, which is less subject to variation. However, this investigation requires an endoscopic procedure for sampling. Moreover, most of the studies on IM are based on the fecal microbiome. [59–63]

Furthermore, detailed research of the processed food ingestion (e.g., NOVA classification) should be performed using a food frequency questionnaire (FFQ) to infer the role of different food, instead of their nutrient composition, in the IM.

Conclusion

Omnivorous (obese and eutrophic) and vegetarian males presented different patterns of IM according to the ecologic diversity and the proportion of F/B phyla. The patterns of IM were correlated with the nutrient composition of the diet, substantiating dietetic interventions for the modulation of IM.

List of Abbreviations SCFA: Short chain fatty acid; AGCM: Medium chain fatty acid; BMI: Body mass index; EuOn: Eutrophic omnivores; EuVeg: Eutrophic vegetarians; F/B: Firmicutes and Bacteroidetes; FFQ: Food frequency questionnaire; IM: Intestinal microbiome; IR: Insulin resistance; LPS: Lipopolysaccharide; NDSR: Nutritional data system or research; ObOn: Obese omnivores; TMAO: Trimethylamine N-oxide; UTN: Taxonomic unit

Supplementary Information The online version contains supplementary material available at <https://doi.org/10.1186/s41110-021-00153-5>.

Acknowledgements Prof. Dr. Renan Carlos de Ré Silveira, who revised the English of this manuscript.

Author contribution Figueira, TCP, Miot, HA, and Lai, MRR were responsible for the writing of the article. Miot, HA was responsible for the statistics. All authors reviewed the literature. All authors read and approved the final manuscript.

Funding This study was funded by FUNADERM (Regulation of the Support Fund for Dermatology).

Availability of data and material Not applicable.

Code availability Not applicable.

Declarations

Ethics approval The project was approved by the Research Ethics Committee of the institution (no. 3.317.869).

Consent to participate Participants' consent was obtained for this study.

Consent for publication Participants agreed to publish their anonymous data.

Conflict of interest The authors declare no competing interests.

References

- Landman C, Quévrain E. Gut microbiota: description, role, and pathophysiological implications. *Rev Med Int.* 2016;37:418–23. <https://doi.org/10.1016/j.revmed.2015.12.012>.
- Khan M, Firose WH. Environmental exposures and autoimmune diseases: contribution of gut microbiome. *Front Immunol.* 2020;10:3094–105. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.03094>.
- Chen X, Devaraj S. Gut microbiome in obesity, metabolic syndrome, and diabetes. *Curr DiabRep.* 2018;18:129–35. <https://doi.org/10.1007/s11892-018-1104-3>.
- Siljander H, Honkanen J, Knip M. Microbiome and type 1 diabetes. *EBioMedicine.* 2019;46:512–21. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2019.06.03>.
- Song H, Fang F, Tomasson G, et al. Association of stress-related disorders with subsequent autoimmune disease. *JAMA.* 2018;319:2388–400. <https://doi.org/10.1001/jama.2018.7028>.
- Rumugam M, Raes J, Pelletier E, et al. Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature.* 2011;473:174–80. <https://doi.org/10.1038/nature09944>.
- Rinninella E, Raoul P, Cintoni M, et al. What is the healthy gut microbiota composition? a changing ecosystem across age, environment, diet, and diseases. *Microorganisms.* 2019;7:14–36. <https://doi.org/10.3390/microorganisms7010014>.
- Rinninella E, Cintoni M, Raoul P, et al. Food components and dietary habits: keys for a healthy gut microbiota composition. *Nutrients.* 2019;11:2393–416. <https://doi.org/10.3390/nu11102393>.
- Valdes A, Walter J, Segal E, Spector T. Role of the gut microbiota in nutrition and health. *BMJ.* 2018;361:36–44. <https://doi.org/10.1136/bmj.k2179>.
- Cândido F, Valente F, Grzeskowiak L, et al. Impact of dietary fat on gut microbiota and low-grade systemic inflammation: mechanisms and clinical implications on obesity. *Int J Food Sci Nutr.* 2018;69:125–43. <https://doi.org/10.1080/09637486.2017.1343286>.
- Le Chatelier E, Nielsen T, Qin J, et al. Richness of human gut microbiome correlates with metabolic markers. *Nature.* 2013;500:541–6. <https://doi.org/10.1038/nature12506>.
- Tang W, Bäckhed F, Landmesser U, Hazen S. Intestinal microbiota in cardiovascular health and disease. *J Am Coll Cardiol.* 2019;73:2089–105. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2019.03.024>.
- Scaldaferri F, Pizzoferrato M, Gerardi V, Lopetuso L. The gut barrier: new acquisitions and therapeutic approaches. *J Clin Gastroenterol.* 2012;46:S12–7. <https://doi.org/10.1097/MCG.0b013e31826ae849>.
- Gentile C, Weir T. The gut microbiota at the intersection of diet and human health. *Science.* 2018;362:776–80. <https://doi.org/10.1126/science.aau5812>.
- Zincker M, Lindseth I. The western diet-microbiome-host interaction and its role in metabolic disease. *Nutrients.* 2018;10:E365–380. <https://doi.org/10.3390/nu10030365>.
- García-Mantrana I, Selma-Royo M, Alcantara C, Collado M. Shifts on gut microbiota associated to mediterranean diet adherence and specific dietary intakes on general adult population.

- Front Microbiol. 2018;9:890–901. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00890>.
17. Mitsou E, Kakali A, Antonopoulou S, et al. Adherence to the Mediterranean diet is associated with the gut microbiota pattern and gastrointestinal characteristics in an adult population. *Br J Nutr.* 2017;117:1645–55. <https://doi.org/10.1017/S0007114517001593>.
 18. Losasso C, Eckert E, Mastroianni E, Villiger J, et al. Assessing the influence of vegan, vegetarian and omnivore oriented westernized dietary styles on human gut microbiota: a cross sectional study. *Front Microbiol.* 2018;9:317–29. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00317>.
 19. Wong M, Yi C, Liu T, Lei W, et al. Impact of vegan diets on gut microbiota: an update on the clinical implications. *Tzu Chi Medical Journal.* 2018;30:200–3. https://doi.org/10.4103/tcmj.tcmj_21_18.
 20. Matijasic B, Obermajer T, Lipoglavsek L, et al. Association of dietary type with fecal microbiota in vegetarians and omnivores in Slovenia. *Eur J Nutr.* 2014;53:1051–64. <https://doi.org/10.1007/s00394-013-0607-6>.
 21. Nutritional Data System for Research (NDSR). (2009) Nutrition coordinating center, provides databases, software, training, and services for the collection and analysis of dietary data. University of Minnesota.
 22. Bokulich A, Kaehler D, Rideout R, et al. Optimizing taxonomic classification of marker-gene amplicon sequences with QIIME 2's q2-feature-classifier plugin. *Microbiome.* 2018;6:90–107. <https://doi.org/10.1186/s40168-018-0470-z>.
 23. Chao A, Shen J. Nonparametric estimation of Shannon's index of diversity when there are unseen species in sample. *Environ Ecol Stat.* 2003;10:429–43. <https://doi.org/10.1023/A:1026096204727>.
 24. Miot H. Assessment of data normality in clinical and experimental studies. *J Vasc Bras.* 2017;16:88–91. <https://doi.org/10.1590/1677-5449.041117>.
 25. Miola AC, Miot HA. P-value and effect-size in clinical and experimental studies. *J Vasc Bras.* 2021;20: e20210038. <https://doi.org/10.1590/1677-5449.210038>.
 26. Roswell M, Dushoff J, Winfree R. A conceptual guide to measuring species diversity. *Oikos.* 2021;130:321–38. <https://doi.org/10.1111/oik.07202>.
 27. Woloszynek S, Zhao Z, Chen J, Rosen GL. 16S rRNA sequence embeddings: a meaningful numeric feature representations of nucleotide sequences that are convenient for downstream analyses. *PLoS Comput Biol.* 2019;15:1–25. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1006721>.
 28. Miot H. Correlation analysis in clinical and experimental studies. *Jornal Vascular Brasileiro.* 2018;17:275–9. <https://doi.org/10.1590/1677-5449.174118>.
 29. Wakita Y, Shimomura Y, Kitada Y, et al. Taxonomic classification for microbiome analysis, which correlates well with the metabolite milieu of the gut. *Microbiology.* 2018;18:1–11. <https://doi.org/10.1186/s12866-018-1311-8>.
 30. Menni C, Jackson MA, Pallister T, et al. Gut microbiome diversity and high-fibre intake are related to lower long-term weight gain. *Int J Obes.* 2017;7:1099–105. <https://doi.org/10.1038/ijo.2017.66>.
 31. Magne, Fabien, Gotterland et al., (2020). The Firmicutes/Bacteroidetes ratio: a relevance marker of gut dysbiosis in obese patients?. *Nutrients* 12: 1474 – 1491. <https://doi.org/10.3390/nu12051474>.
 32. Bandt J, Waligora A, Bulel M. Intestinal microbiota in inflammation and insulin resistance. Relevance to Humans. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care.* 2011;14:334–40. <https://doi.org/10.1097/MCO.0b013e328347924a>.
 33. Jumpertz R, Le D, Turnbaugh P, et al. Energy-balance studies reveal associations between gut microbes, caloric load, and nutrient absorption in humans. *Am J Clin Nutr.* 2011;94:58–65. <https://doi.org/10.3945/ajcn.110.010132>.
 34. Duncan S, Lobley G, Holtrop G, et al. Human colonic microbiota associated with diet, obesity and weight loss. *Int J Obes.* 2008;32:1720–4. <https://doi.org/10.1038/ijo.2008.155>.
 35. Cardinelli C, Sala P, Alves C, et al. Influence of intestinal microbiota on body weight gain. A Narrative Review of the Literature. *Obes Surg.* 2015;25:346–53. <https://doi.org/10.1007/s11695-014-1525-2>.
 36. Aoun A, Darwish F, et al. The influence of the gut microbiome on obesity in adults and the role of probiotics, prebiotics, and synbiotics for weight loss. *Preventive Nutrition and Food Science.* 2020;25:113–23. <https://doi.org/10.3746/pnf.2020.25.2.113>.
 37. Pushpanathan P, Mathew G, Selvarajan S, et al. Gut microbiota and its mysteries. *Indian J Med Microbiol.* 2019;37:268–77. https://doi.org/10.4103/ijmm.ijmm_19_373.
 38. Machate D, Figueiredo P, Marcelino G, et al. Fatty acid diets: regulation of gut microbiota composition and obesity and its related metabolic dysbiosis. *Int J Mol Sci.* 2020;11:4093–115. <https://doi.org/10.3390/ijms21114093>.
 39. Ohira H, Tsutsui W, Fujioka, et al. Are short chain fatty acids in gut microbiota defensive players for inflammation and atherosclerosis? *J Atheroscler Thromb.* 2017;24:660–72. <https://doi.org/10.5551/jat.RV17006>.
 40. Valdes AM, Walter J, Segal E, Spector, et al. Role of the gut microbiota in nutrition and health. *Sciences and Politics of Nutrition.* 2018;361:k2179–2211. <https://doi.org/10.1136/bmj.k2179>.
 41. Gallaix C, Marinelli L, Blottiere H, et al. SCFA: mechanisms and functional importance in the gut. *Proceedings of the nutrition society.* 2021;80:37–49. <https://doi.org/10.1017/S0029665120006916>.
 42. Chambers E, Morrison D, Frost G. Control of appetite and energy intake by SCFA: what are the potential underlying mechanisms? *Proceedings of the nutrition society.* 2015;74:328–326. <https://doi.org/10.1017/S0029665114001657>.
 43. Knudsen KE, Laerke HN, Hedemann MS, et al. Impact of diet-modulated butyrate production on intestinal barrier function and inflammation. *Nutrients.* 2018;10:1499–518. <https://doi.org/10.3390/nu10101499>.
 44. Stephens M, Weid P. Lipopolysaccharides modulate intestinal epithelial permeability and inflammation in a species-specific manner. *Gut Microbes.* 2019;11:421–32. <https://doi.org/10.1080/19490976.2019.1629235>.
 45. Vallianou N, Stratigou T, Christodoulatos G, Dalamanga M. Understanding the role of the gut microbiome and microbial metabolites in obesity and obesity-associated metabolic disorders: current evidence and perspectives. *Current Obesity Reports.* 2019;8:317–32. <https://doi.org/10.1007/s13679-019-00352-2>.
 46. Parker WH, Vadevelo MK. Diet quality of vegetarian diets compared with nonvegetarian diets: a systematic review. *Nutr Rev.* 2019;3:144–60. <https://doi.org/10.1093/nutri/nuy067>.
 47. Tomasello G, Mazzola M, Leone A, et al. Nutrition, oxidative stress and intestinal dysbiosis: influence of diet on gut microbiota in inflammatory bowel diseases. *Biomedical Papers.* 2016;4:461–6. <https://doi.org/10.5507/bp.2016.052>.
 48. Sen T, Cawthon C, Ihde BT, et al. Diet-driven microbiota dysbiosis is associated with vaginal remodeling and obesity. *Phylogeny & Behavior.* 2017;173:305–17. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2017.02.027>.
 49. Waters LJ, Ley RE. The human gut bacteria *Christensenellaceae* are widespread, heritable, and associated with health. *BMC Biol.* 2019;17:83–95. <https://doi.org/10.1186/s12915-019-0699-4>.
 50. Siles ML, Duncan S, Gil JG, et al. Faecalibacterium prausnitzii: from microbiology to diagnostics and prognostics. *ISME J.* 2017;11:841–52. <https://doi.org/10.1038/ismej.2016.176>.
 51. Shahinozaman MD, Raychaudhuri S, Fan S, et al. Kale attenuates inflammation and modulates gut microbial composition and function in C57BL/6J Mice with diet induced obesity.

- Microorganisms. 2021;9:238–58. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9020238>.
52. Trefflich I, Jabakhanji A, Menzel J, et al. Is a vegan or a vegetarian diet associated with the microbiota composition in the gut? Results of a new cross-sectional study and systematic review. *Food Sci Nutr*. 2019;60:2990–3004. <https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1676697>.
 53. Dinsmoor A, Lopez MA, Khan NA, et al. A systematic review of dietary influences on fecal microbiota composition and function among healthy humans 1–20 years of age. *Adv Nutr*. 2021;4:1080–93. <https://doi.org/10.1093/advances/nmah047>.
 54. Tuovinen E, Keto J, Nikkila J, et al. Cytokine response of human mononuclear cells induced by intestinal *Clostridium* species. *Anaerobe*. 2013;19:70–6. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2012.11.002>.
 55. Egshatyan L, Kashtanova D, Popenko A, et al. Gut microbiota and diet in patients with different glucose tolerance. *Endocr Connect*. 2016;5:1–9. <https://doi.org/10.1530/EC-15-0094>.
 56. Kumail KM, Carmen CM, Jari JE, et al. Exercise training modulates gut microbiota profile and improves endotoxemia. *Med Sci Sports Exerc*. 2020;52:94–104. <https://doi.org/10.1249/MSS.0000000000002112>.
 57. Ozato N, Saito S, Yamaguchi T, et al. *Blaudia* genus associated with visceral fat accumulation in adults 20–76 years of age. *NPJ Biofilms and Microbiomes*. 2019;28:1–9. <https://doi.org/10.1038/s41522-019-0101-x>.
 58. Jie Z, Xia H, Zhong S, et al. The gut microbiome in atherosclerotic cardiovascular disease. *Nat Commun*. 2017;8:845–57. <https://doi.org/10.1038/s41467-017-00900-1>.
 59. Angus HCK, Butt AG, Schultz M, et al. Intestinal organoids as a tool for inflammatory bowel disease research. *Front Med*. 2020;6:334–43. <https://doi.org/10.3389/fmed.2019.00334>.
 60. Walter J, Armet AM, Finlay BB, et al. Establishing or exaggerating causality for the gut microbiome: lessons from human microbiota-associated rodents. *Cell*. 2020;2:221–32. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2019.12.025>.
 61. Ni J, Wu GD, Albenberg L, et al. Gut microbiota and IBD: causation or correlation? *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2017;14:573–84. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2017.88>.
 62. Lee STM, Kahn SA, Delmont TO, et al. Tracking microbial colonization in fecal microbiota transplantation experiments via genome-resolved metagenomics. *Microbiome*. 2017;5:1–10. <https://doi.org/10.1186/s40168-017-0270-x>.
 63. Lee, M. e Chang, EB. (2020) Inflammatory bowel disease (IBD) (inflammatory bowel disease and the microbiome: looking for clues at the crime scene). *Gastroenterology* 2:524–537. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2020.09.056>

Artigo Científico III

***Caracterização do microbioma intestinal de
homens brasileiros com psoríase em
comparação com controles onívoros e
vegetarianos***

*(Aceito para publicação nos Anais Brasileiros
de Dermatologia)*

REVISTA: Anais Brasileiros de Dermatologia

Tipo de artigo: Artigo Original

Título: Caracterização do microbioma intestinal de homens adultos brasileiros com psoríase em comparação com controles onívoros e vegetarianos.

Autores:

Tatiana Cristina Figueira Polo

FMB-Unesp, Botucatu-SP, Brasil

ORCID: 0000-0001-9496-1053

Email: tatiana.figueira@yahoo.com.br

Abreviatura: Figueira TCP

Mariana Righetto de Ré Lai

Departamento de Dermatologia e Radioterapia da FMB-UNESP, Botucatu, SP, Brasil

Doutoranda em Clínica Médica da FMB – Unesp, Botucatu-SP, Brasil

ORCID: 0000-0002-7890-9316

Email: marianardere@gmail.com

Abreviatura: Lai MRR

Luciane Donida Bartoli Miot

Dermatologista, Departamento de Dermatologia e Radioterapia, Faculdade de Medicina, Unesp - Botucatu, Brasil.

Email: lucianemiot@fmb.unesp.br

ORCID: 0000-0002-2388-7842

Abreviatura: Miot LDB.

Giovana Fernanda Cosi Bento

Patologia da FMB-UNESP, Botucatu, SP, Brazil

E-mail: giovana.bento@unesp.br

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3868-2935>

Abreviatura: Bento GFC

Márcia Guimarães da Silva

Departamento de Patologia, FMB-UNESP, Botucatu, SP, Brazil

E-mail: marcia.guimaraes@unesp.br

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4663-7926>

Abreviatura: da Silva MG

Silvio Alencar Marques

Departamento de Dermatologia e Radioterapia, Faculdade de Medicina, Unesp - Botucatu, Brasil.

E-mail: silvio.marques@unesp.br

Orcid: 0000-0002-5512-4700

Abreviatura: Marques SA

Hélio Amante Miot

Professor Adjunto do Departamento de Dermatologia e Radioterapia da FMB-UNESP, Botucatu, SP, Brasil

Email: heliomiot@gmail.com

ORCID: 0000-0002-2596-9294

Abreviatura: Miot HA

Local onde o trabalho foi realizado:

Departamento de Dermatologia da Faculdade de Medicina de Botucatu – Unesp, Botucatu, SP, Brasil. CEP 18618-000.

Endereço de correspondência:

MsC. Tatiana Cristina Figueira Polo

Doutoranda em Patologia da FMB-Unesp, Botucatu-SP, Brasil

Fone: (14) 99186-0089 ou (14) 3882-4922

Email: tatiana.figueira@yahoo.com.br

Conflito de interesses: Nenhum.

Financiamento: FUNADERM.

Participação no trabalho:

Miot HA: Concepção do estudo, análise dos resultados, escrita do texto e revisão e aprovação do texto final.

Figueira TC: Concepção do estudo, coleta de dados, análise dos resultados, escrita do texto e revisão e aprovação do texto final.

Lai MRR: Concepção do estudo, coleta de dados, análise dos resultados, escrita do texto e revisão e aprovação do texto final.

Miot LDB: Coleta de dados e revisão e aprovação do texto final.

Bento GFC: Análise dos resultados e revisão e aprovação do texto final.

da Silva MG: Revisão e aprovação do texto final.

Marques SA: Revisão e aprovação do texto final.

Resumo

FUNDAMENTOS: Psoríase é doença inflamatória crônica, associada a inflamação sistêmica e comorbidades. Alterações na composição do microbioma intestinal são envolvidas na patogênese de doenças inflamatórias e síndrome metabólica. Caracterizar o microbioma intestinal de pacientes com psoríase pode ser relevante no entendimento de seu curso clínico e na prevenção de comorbidades.

OBJETIVO: Caracterização do microbioma intestinal de homens com psoríase em comparação com controles (sem psoríase) onívoros e vegetarianos.

MÉTODO: Estudo transversal envolvendo 42 homens adultos: 21 onívoros com psoríase; e controles: 14 onívoros e 7 vegetarianos. A caracterização do microbioma intestinal foi realizada por análise metagenômica. Avaliaram-se os níveis séricos da proteína ligadora de lipopolissacarídeo (LPB) e proteína C reativa (PCR).

RESULTADOS: Os grupos diferiram entre si quanto a aspectos nutricionais e do microbioma, indivíduos com psoríase apresentaram maior consumo de proteínas, e menor de fibras. Níveis de LPB, PCR e a relação *Firmicutes/Bacteroidetes* foi maior no grupo com psoríase que no grupo vegetariano ($p<0,05$). Os gêneros *Prevotella*, *Mogibacterium*, *Dorea*, *Bifidobacterium* e *Coprococcus*, diferiram no grupo com psoríase em comparação com vegetarianos; já os gêneros *Mogibacterium*, *Collinsella* e *Desulfovibrio*, diferiram dos onívoros. Identificou-se um padrão de microbioma ligado à psoríase (plsPSO) que se associou a maiores níveis de LPB ($\rho=0,39$; $p=0,02$), e menor ingesta de fibras dietéticas ($\rho=-0,71$; $p<0,01$).

LIMITAÇÕES: Avaliaram-se apenas homens adultos.

CONCLUSÃO: Houve diferença no microbioma intestinal de homens adultos com psoríase, em relação a onívoros e vegetarianos saudáveis. O padrão de microbioma encontrado correlacionou-se com a ingesta de fibras alimentares, e com os níveis séricos de LPB.

Palavras-chave: Microbioma gastrointestinal, Dieta, Dieta vegetariana, Dieta Ocidental, Obesidade, Microbiota, Psoríase.

Abstract

BACKGROUND: Psoriasis is a chronic inflammatory disease associated with systemic diseases and comorbidities. Changes in the composition of the gut microbiome are involved in the pathogenesis of inflammatory and metabolic diseases. Characterizing the gut microbiome in patients with psoriasis may be relevant to understanding clinical course and preventing comorbidities.

OBJECTIVE: Characterization of the gut microbiome of men with psoriasis compared with omnivorous and vegetarian (non-psoriasis) controls.

METHOD: Cross-sectional study involving 42 adult men: 21 omnivores with psoriasis; and controls: 14 omnivores and 7 vegetarians. The characterization of the gut microbiome was performed by metagenomic analysis. Serum levels of lipopolysaccharide binding protein (LPB) and C-reactive protein (CRP) were evaluated.

RESULTS: The nutritional and microbiome groups differed from each other in terms of higher protein consumption with psoriasis, and lower fiber consumption. Levels of LPB, CRP and the Firmicutes/Bacteroidetes ratio were higher in the psoriasis group than in the vegetarian group ($p < 0.05$). The genera *Prevotella*, *Mogibacterium*, *Dorea*, *Bifidobacterium* and *Coprococcus* differed in the psoriasis group compared to vegetarians; The genera *Mogibacterium*, *Collinsella* and *Desulfovibrio*, however, differed from the omnivores. A psoriasis-linked microbiome pattern (plsPSO) was identified that is associated with higher levels of LPB ($\rho = 0.39$; $p = 0.02$), and lower dietary fiber intake ($\rho = -0.71$; $p < 0.01$).

LIMITATIONS: Only adult males were evaluated.

CONCLUSION: There was a difference in the gut microbiome of adult men with psoriasis, compared to omnivores and vegetarian men. The microbiome pattern found correlated with an intake of dietary fiber, and with serum levels of LPB.

Keywords: Gastrointestinal microbiome, Diet, Vegetarian diet, Western diet, Obesity, Microbiota, Psoriasis.

Introdução

Psoríase é doença crônica inflamatória sistêmica, que afeta entre 1 e 2 % da população.¹ Sua patogênese é multifatorial, não sendo totalmente esclarecida, mas que envolve, além de uma base genética e estímulos ambientais, a ativação do sistema imune (inato e adaptativo), que desencadeia respostas inflamatórias locais na pele e articulações, assim como promove inflamação sistêmica de baixo grau.²

Comorbidades como obesidade, hipertensão arterial, diabetes *mellitus*, síndrome metabólica, doença cardiovascular, dislipidemia, e transtornos afetivos (depressão, ansiedade) são frequentes em pacientes com psoríase, substanciando o processo inflamatório sistêmico subjacente.³

Microbioma intestinal (MI) consiste em uma flora inconstante, constituída nos primeiros anos de vida, mas que varia conforme estímulos ambientais, como dieta, estilo de vida (tabagismo, consumo de álcool, exercícios físicos, estresse, sono), higiene, terapêutica com antimicrobianos, localização geográfica, sexo, idade e certas doenças. Cerca de 57% do MI é influenciado pela dieta e apenas 12% por fatores genéticos.⁴ No microbioma fecal existem entre uma e duas mil espécies de bactérias, distribuídas em mais de cinquenta filos. Cerca de 90% do MI é composto pelos filos *Firmicutes* e *Bacteroidetes*, onde uma proporção maior de *Firmicutes/Bacteroidetes* (F/B) é associada a maior estímulo inflamatório sistêmico.⁵

A disbiose intestinal, caracterizada pelo desequilíbrio da composição do MI, pode levar ao aumento da permeabilidade intestinal e a translocação de mediadores inflamatórios intraluminais. Portanto, a caracterização do MI pode contribuir na compreensão sobre a patogênese de doenças inflamatórias sistêmicas como psoríase, doença de Crohn, artrite reumatoide, e obesidade; pois há indícios de que a composição do MI esteja envolvida no curso das mesmas.⁶

Estudos clínicos foram conduzidos para explorar a relação entre MI e a atividade clínica da psoríase, com resultados ainda conflitantes.⁷ Entretanto, considera-se a modulação do MI por meio de tratamento dietético, suplementações com probióticos e transplante fecal, com potencial de interferir, além da atividade da psoríase, no curso de comorbidades, além de maximizar sua resposta terapêutica.⁸

Lipopolissacarídeo (LPS) é uma endotoxina que compõe a parede celular de bactérias gram-negativas e promove ativação do sistema imune a partir da estimulação direta de macrófagos, monócitos, células dendríticas e linfócitos B; desencadeando febre, vasodilatação (óxido nítrico), e secreção de eicosanoides.⁹ A proteína de ligação de

lipopolissacarídeos (LPB) liga-se ao LPS e transfere monômeros de LPS para as células inflamatórias através de CD14. Os níveis plasmáticos de LPB são influenciados pelas concentrações circulantes de LPS, que têm meia-vida muito breve. A exposição ao LPS induz um aumento duradouro da produção de LPB no fígado dentro de 15 a 30 minutos, com um nível sérico máximo ocorrendo após 24 a 48 h. O complexo LPS-LBP-CD14-MD2 induz uma resposta pró-inflamatória pela ativação de NF- κ B mediada pelo receptor *toll-like* 4 (TLR4), e, como tal, os níveis circulantes de LPB foram associados a inflamação sistêmica. Além disso, níveis plasmáticos da proteína C reativa quantitativa ultrassensível (PCRqt), um biomarcador sérico de inflamação sistêmica sintetizado pelo fígado, estão associadas ao aumento de LPS.¹⁰

Na América do Sul, são raros os estudos controlados que caracterizem o MI de pacientes com psoríase. Dessa forma, o objetivo desta investigação foi caracterizar o MI de homens adultos brasileiros com psoríase, comparando-os com controles onívoros, e vegetarianos.

Método

Estudo transversal envolvendo 42 homens adultos (21 – 65 anos): 21 com psoríase (PSO); e 21 controles sem psoríase: 14 onívoros (ONI), e 7 vegetarianos (VEG).

Todos os participantes incluídos eram não-tabagistas, não-etilistas, não apresentaram alterações na dieta nos últimos três meses; não usaram antibióticos, laxantes, anti-inflamatórios, ou referiram alterações intestinais na última semana, ausência de doença inflamatória intestinal, infecções, doenças autoimunes e uso de probióticos. A amostra de homens adultos do interior do Estado de São Paulo foi escolhida para reduzir a variabilidade do MI, que também é influenciada pelo sexo, idade e localização geográfica da população.

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos, da Faculdade de Medicina de Botucatu – FMB/UNESP (parecer no. 3.743.366); e todos os participante assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

A pesquisa foi realizada no ambulatório de dermatologia da Faculdade de Medicina de Botucatu, no período de março de 2020 a fevereiro de 2021. A população teve origem entre moradores da região de Botucatu-SP, pacientes com diagnóstico de psoríase, seus acompanhantes, e convidados vegetarianos.

Foram obtidos dados clínicos, demográficos, socioeconômicos e dietéticos por meio de entrevistas presenciais; as avaliações antropométrica e dietética foram realizadas por nutricionista experiente (T.C.F.P.).

A avaliação dietética, foi obtida pelo recordatório de 24 horas (R24h), a partir do relato detalhado do consumo alimentar nas últimas 24 horas, com dados sobre os tipos de alimentos e bebidas, além do tamanho, porções, volume ou medidas caseiras. Posteriormente, os dados foram transformados em gramas, valores de energia, macronutrientes e micronutrientes pelo software NDSR (*Nutritional Data System for Research*).

Para estimar a gravidade da doença, foi utilizado o escore PASI (*Psoriasis Area and Severity Index*), avaliado por dermatologista titulado (L.D.B.M. ou M.R.R.L).

Para avaliar o MI, coletaram-se amostras de fezes para obtenção do material genético. Os indivíduos foram orientados a realizar a coleta de fezes em tubo específico em sua residência, sendo a primeira evacuação do dia. Após a coleta, as amostras de fezes foram entregues à pesquisadora responsável (T.C.F.P.) e transportadas refrigeradas (gelo seco: -28°C) até o laboratório Biotecnologia Pesquisa e Inovação (BPI, Botucatu-SP), e armazenadas em freezer -80°C até o momento da extração do DNA.

Para extração do material genético, foram utilizadas alíquotas de 1g e o kit Quick-DNA Fungal/Bacterial Miniprep (*Zymo Research*) de acordo com protocolo descrito pelo fabricante. Posteriormente, o material passou pelo teste de qualidade através da quantificação por fluorescência com a utilização do equipamento Qubit® 3.0 Fluorometer (*Thermo Fisher Scientific*).

Para as reações de amplificação da região 16S foram realizadas triplicatas de amostras, tendo como volume final de 20 µL, contendo 10 µL de GoTaq® Colorless Master Mix 2x (*Promega, USL*), 0,3µM de oligonucleotídeo *forward* e 0,3µM de oligonucleotídeo *reverse*, 3 µL de DNA genômico e água ultrapura estéril suficiente para completar 20µL. As reações de amplificação foram conduzidas em termociclador Veriti™ Thermal Cycler (*Applied Biosystems*).

Após a reação de amplificação do DNA de cada amostra, a comprovação da amplificação foi realizada através de eletroforese em gel de agarose 2% corado com *Gel Red* (Uniscience), aproximadamente 300bp (tamanho do *amplicon*). Submeteu-se PCRs para etapas de purificação utilizando *bead* magnética Agencourt AMPure XP (*Beckman Coulter*), para remoção de fragmentos muito pequenos da população total de moléculas e restos de *primers* da reação. Após essa etapa, foi realizada a quantificação pela

metodologia de PCR Tempo Real utilizando termociclador QuantStudio 3 Real Time (*Applied Biosystems*) e Kit KAPA-KK4824 (*Library Quantification Kit - Illumina/Universal*), todos de acordo com protocolo do fabricante.

Foi gerado um *pool* equimolar de DNA, através da normalização de todas as amostras a 3nM, para realização do sequenciamento, o qual foi conduzido utilizando o sistema Illumina MiSeq de sequenciamento de nova geração (*Illumina Sequencing*) e kit MiSeq Reagent Kit V2 Nano 300 ciclos – leitura de 2 x 150pb.

Utilizou-se o banco de dados *Greengenes 13_8 99% OTUs from 515F/806R region of sequences* para identificação das sequências de táxons e foram consideradas apenas sequências com mais de 97% de analogia (confiabilidade).

A abundância relativa das UTN nas amostras foi explorada a partir de seus componentes extraídos pelo método PLS (*Partial Least Squares*), com dados escalonados pelos desvios-padrão.

As principais variáveis do estudo são a diversidade da flora intestinal identificada em cada MI avaliado, segundo cada categoria de unidade taxonômica (UTN): abundância relativa dos grupos, pelos índices de diversidade de Hill (riqueza, Shannon e Simpson), a relação entre os filos *Firmicutes/Bacteroidetes*, abundância dos gêneros bacterianos (alfa diversidade), e os componentes dos padrões PLS (beta diversidade), identificados para os grupos. Define-se riqueza como número total de UTN identificadas na amostra.

Foram ainda coletadas amostras de 10 ml de sangue dos pacientes no ambulatório de dermatologia, pela médica responsável pelo tratamento dos pacientes (M.R.R.L.) para avaliação do LPB e PCRqt séricos. Após as coletas, as amostras foram imediatamente levadas sob refrigeração para a Unidade de Pesquisa Experimental (UNIPLEX) da FMB-Unesp, para centrifugação e extração do soro. Para a análise do LPB, foi utilizado o método ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*) *sandwich*, conforme as orientações do fabricante do kit (*Human LBP DuoSet ELISA - DY870-05, R&D Systems, Inc., Minneapolis, MN, USA*), as amostras foram diluídas na fração 1:500. As concentrações finais de LPB foram determinadas conforme a curva padrão. As análises do PCRqt foram realizadas pelo método de imunoturbidimetria.

Variáveis qualitativas foram representadas pelos percentuais. Variáveis quantitativas foram representadas como médias e desvios-padrão, se a normalidade for verificada pelo teste de Shapiro-Wilk, ou medianas e quartis (P₂₅–P₇₅), se indicado. As abundâncias dos gêneros foram comparadas entre os grupos pelo teste de Kruskal-Wallis. Os índices de diversidade ecológica foram comparados entre os grupos por modelos

lineares generalizados, ajustado pela idade dos participantes. Os modelos foram ajustados para as distribuições de probabilidade mais adequadas a cada amostra (p.ex. gama), e a correção para múltiplas comparações foi realizada pelo procedimento de Šidák.

As cargas dos componentes PLS foram correlacionadas com dados nutricionais, níveis de LPB, e de PCRqt pelo teste de correlação de Spearman, e representado como mapa térmico. Os dados foram tabulados em MS Excel 2010 e analisados nos softwares IBM SPSS 25v e Statistica 10v. A significância estatística foi definida como $p \leq 0,05$, bicaudal.

Como se trata de estudo exploratório, foi utilizada amostragem por conveniência a fim de se determinar o comportamento global dos grupos, e fundamentar a análise pormenorizada de amostras *a posteriori*. Além disso, o método PLS não exige amostragem mínima para sua execução. Para as análises de correlação bivariada, considera-se suficiente uma amostra de 41 participantes para a detecção de uma correlação moderada ($\rho < 0,70$), considerando $\alpha = 0,01$ e poder de 90%.⁽³⁵⁾

Resultados

Os principais dados clínicos, demográficos, alimentares, LPB sérico e PCRqt estão dispostos na tabela 1. Idade e IMC dos grupos PSO e ONI foram maiores que do grupo VEG. Do ponto de vista alimentar, os grupos PSO e ONI relataram maior consumo de carboidratos e proteínas que o grupo VEG. Quanto às fibras alimentares, o grupo PSO relatou menor ingesta de fibras que ONI e que VEG. Os níveis plasmáticos de LPB, assim como os níveis de PCRqt, foram maiores no grupo PSO em relação ao VEG, porém, PCRqt foi maior no PSO em relação ao ONI.

Entre os pacientes com psoríase, oito (32%) apresentavam doença articular, seis (24%) eram tratados exclusivamente com tópicos, seis (24%) utilizavam metotrexato, oito (32%) utilizavam acitretina, e cinco (20%) utilizavam secuquinumabe. O PASI variou entre 1 e 18, com mediana (P_{25} – P_{75}) de 4 (1–7).

Quanto às comorbidades, entre os pacientes com psoríase, encontraram-se dois (17%) com diabetes *mellitus*, três (25%) com hipertensão arterial, e cinco (42%) com dislipidemia. Entre os onívoros, dois (13%) eram diabéticos, quatro (28%) hipertensos seis (43%) com dislipidemia. Nenhum dos vegetarianos apresentava comorbidades.

A análise do MI dos participantes resultou na identificação de 1.496 diferentes unidades taxonômicas (UTN), reunidos em 94 gêneros (Tabela suplementar 1). Os índices de diversidade ecológica do MI diferiram entre os grupos, e estão representados

na tabela 2. Quando ajustado pela idade e IMC, o filo *Firmicutes* foi menos abundante em VEG, e a relação F/B foi maior no grupo PSO que no VEG.

Quando comparados os obesos com psoríase, e controles obesos, a relação F/B não apresentou diferença ($p=0,078$). Entretanto, quando são comparados eutróficos com psoríase e controles eutróficos, os portadores de psoríase apresentaram maiores valores médios (dp) da relação F/B (12,1 [2,9] vs. 2,0 [1,0]; $p<0,01$).

Em relação à alfa-diversidade, entre os 13 gêneros mais prevalentes nos três grupos (Figura 1), foi identificado maior proporção do gênero *Prevotella* (36%) no grupo VEG, e *Blautia* em PSO (14%) e ONI (18%).

Em relação ao grupo PSO, houve diferença na abundância dos gêneros *Prevotella*, *Mogibacterium*, *Dorea*, *Bifidobacterium* e *Coprococcus*, quando comparados com VEG. Já os gêneros *Mogibacterium*, *Collinsella*, *Desulfovibrio*, diferiram entre os grupos PSO e ONI (Figura 2).

Tabela 1. Principais dados demográficos, alimentares, LPB e PCRqt séricos dos participantes ($n = 42$).

	Controles Onívoros ($n = 14$)	Controles Vegetarianos ($n = 7$)	Psoríase ($n = 21$)	p-valor
Idade (anos)*	41,6 (11,3) ^a	25,4 (2,5)	51,1 (11,1) ^a	<0,001
IMC (kg/m ²)*	31,1 (9,2) ^a	24,4 (2,5)	29,5 (6,2) ^a	<0,001
Energia (cal)	3.859,4 (1297,5) ^a	2.314,3 (129,9)	3.058,0 (512,0) ^{a,b}	<0,001
Carboidratos (g)*	539,5 (185,7) ^a	362,2 (22,8)	466,9 (86,8) ^a	<0,001
Proteínas (g)*	198,9 (76,0) ^a	58,4 (21,6)	133,4 (39,3) ^{a,b}	<0,001
Lipídios (g)*	101,2 (45,5) ^a	72,0 (9,7)	73,9 (23,2)	0,022
Fibras (g)*	21,1 (9,3) ^a	42,4 (7,1)	13,8 (7,4) ^{a,b}	<0,001
LPB (mg/mL)*	6,1 (2,9)	4,8 (1,5)	7,6 (2,9) ^a	0,007
PCRqt (mg/L)	2,6 (3,2)	1,0 (0,6)	5,2 (9,2) ^{a,b}	0,003

* média (desvio-padrão); IMC: Índice de massa corporal; LPB: proteína ligadora de polissacarídeos (valor de normalidade 5 a 10 mg/ml); PCRqt: proteína C reativa ultrasensível, teste quantitativo (valor de normalidade: abaixo de 0,3mg/dL);

^a $p\leq 0,05$ – Comparado ao Vegetariano;

^b $p\leq 0,05$ – Comparado ao Onívoro.

Tabela 2. Índices de diversidade ecológica do microbioma intestinal entre os grupos ($n = 42$).

	Controles Onívoros ($n = 14$)	Controles Vegetarianos ($n = 7$)	Psoríase ($n = 21$)	p-valor*
Abundância relativa (10^3)#	62,0 (12,6)	63,7 (13,7)	63,6 (11,0)	0,989
Diversidade de Hill#				
q=0 (Riqueza)	141,2 (53,6)	136,6 (21,1)	138,5 (49,8)	0,353
q=1 (Shannon)	38,0 (18,0)	33,6 (15,2)	39,4 (18,1)	0,507
q=3 (Simpson)	13,4 (6,7)	11,8 (7,3)	14,5 (7,5)	0,813
Abundância segundo o filo##				
Firmicutes (10^3)	40,1 (37,9–46,6) ^a	35,1 (29,6–37,0)	39,1 (33,1–48,8) ^a	0,049
Bacteroidetes (10^3)	17,7 (6,5–23,1)	32,0 (10,9–40,4)	13,1 (6,8–23,5)	0,335
Relação F/B	2,5 (1,8–6,0)	1,0 (0,9–3,5)	3,1 (2,2–5,9) ^a	0,045

*p-valor ajustado para idade e índice de massa corporal; # média (desvio-padrão); ## mediana (P_{25} – P_{75});

F / B: Firmicutes/Bacteroidetes;

^a $p \leq 0,05$ – Comparado aos Vegetarianos;

^b $p \leq 0,05$ – Comparado aos Onívoros.

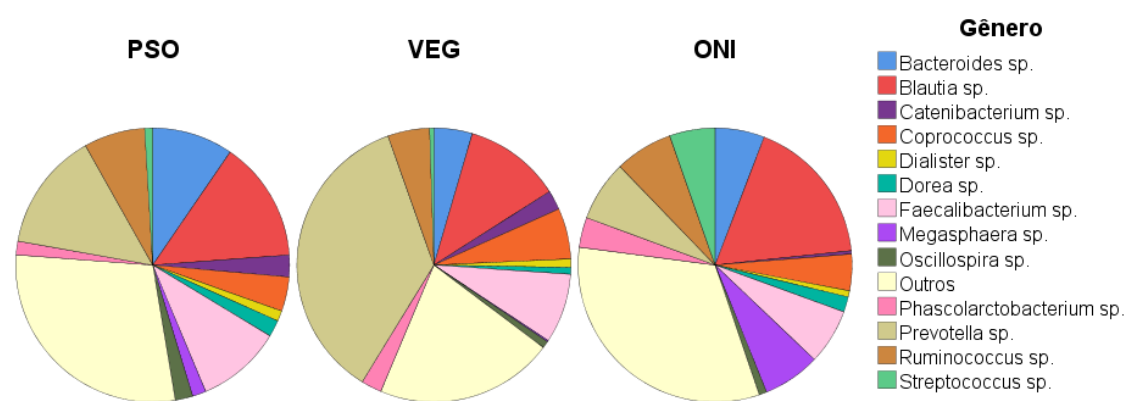


Figura 1. Alfa diversidade. Distribuição da proporção dos 13 gêneros mais prevalentes entre os grupos.

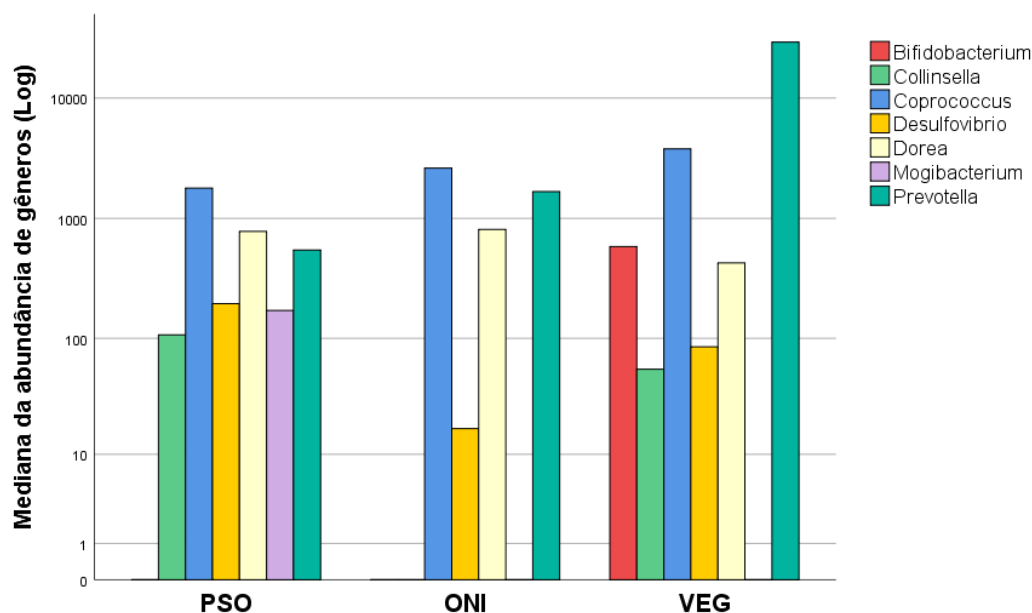


Figura 2. Alfa diversidade. Comparação da mediana da abundância dos gêneros que apresentaram diferença entre os grupos ($p < 0,05$).

Quanto à beta diversidade, dois componentes PLS representaram até 79,5% da variância dos subgrupos. A figura 3 apresenta a projeção dos casos de acordo com a carga de seus componentes, individualizando-os em quadrantes distintos. O padrão plsPSO pode ser compreendido como os carregamentos negativos de PLS1 e 2 ($\text{plsPSO} = -\text{PLS1} - \text{PLS2}$); inversamente, o padrão plsVEG pode ser representado pelos carregamentos positivos de PLS1 e 2 ($\text{plsPVEG} = \text{PLS1} + \text{PLS2}$); já o padrão plsONI pode ser representado pelo carregamento positivo de PS1 e negativo de PS2 ($\text{plsONI} = \text{PLS1} - \text{PLS2}$).

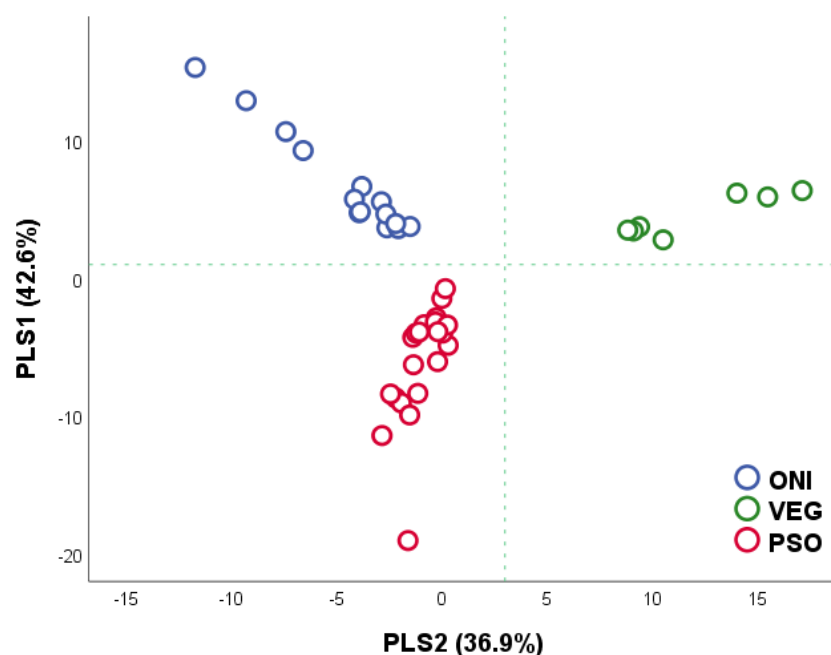


Figura 3. Carregamento dos participantes segundo os componentes PLS ($n = 42$). Em destaque, composições que discriminam os grupos.

PLS: componente *partial least squares*; ONI: controles onívoros; VEG: controles vegetarianos; PSO: psoríase.

Os carregamentos das UTN segundo os PLS 1 e 2 estão dispostos na figura suplementar 1. Segundo os componentes plsPSO, as bactérias com maior carregamento do padrão de MI do grupo PSO foram do gênero *Coproccoccus*., *Lachnospira*, *Paraprevotella*, e as espécies *Faecalibacterium prausnitzii* sp., *Prevotella stercorea* sp., *Prevotella copri* sp., e *Ruminococcus callidus* sp. Já, as com menor carregamento foram dos gêneros *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Dialister*, *Megasphaera*, *Slackia*, e as espécies *Bacteroides fragilis* sp., *Bacteroides uniformis* sp., *Blautia producta* sp., *Butyricoccus pullicaerum* sp. e *Parabacteroides distasonis* sp..

A figura 4 apresenta as correlações entre os níveis de LPB, PCRqt, ingesta nutricional e os padrões de MI: PSO, ONI, e VEG. Os níveis de LPB se correlacionaram inversamente com a ingesta de fibras ($\rho = -0.53$; $p < 0,01$), porém, positivamente com o componente do padrão de MI dos pacientes com psoríase ($\rho = 0,39$; $p = 0,02$). O comportamento do PCRqt não se associou ao componente do padrão plsPSO ($\rho = 0.28$, $p = 0.11$), mas com a ingesta de carboidratos ($\rho = 0,41$; $p = 0,02$) e com os níveis de LPB ($\rho = 0,46$; $p < 0,01$). Do ponto de vista alimentar, o componente do padrão de MI plsPSO se correlacionou de forma fortemente negativa com a ingesta de fibras ($\rho = -$

0,71; $p < 0,01$), assim como a menor ingestão de fibras se associou a maiores níveis de LPB e PCRqt.

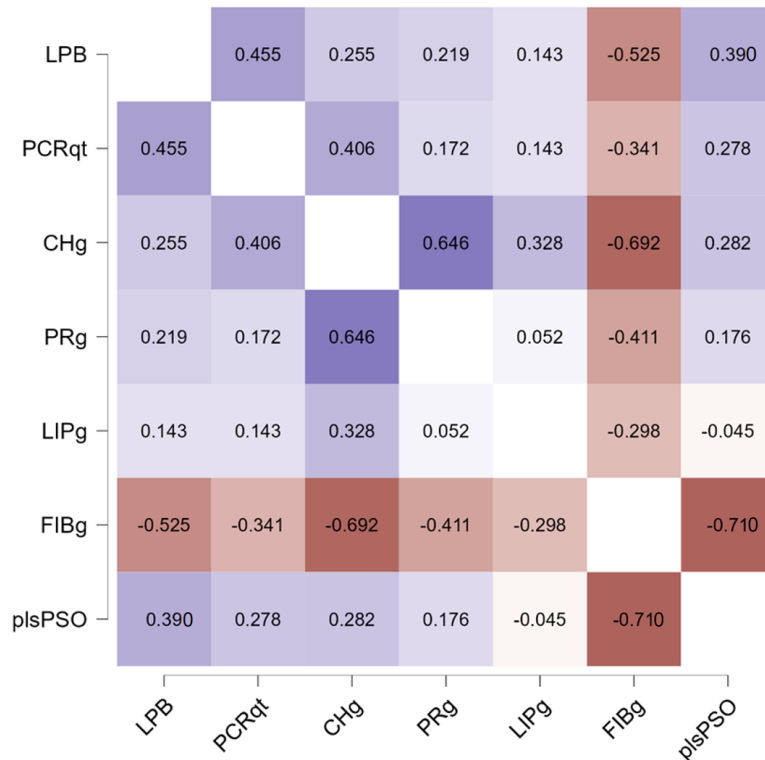


Figura 4. Mapa térmico com as correlações bivariadas entre os níveis de LPB, PCR, características nutricionais da dieta e o padrão de microbioma intestinal dos pacientes com psoríase.

LPB: nível sérico da proteína de ligação de lipopolissacarídeos; PCRqt: nível sérico da proteína C reativa ultrassensível (teste quantitativo); CHg: Carboidratos (em gramas); PRg: Proteínas (em gramas); LIPg: Lipídios (em gramas); FIBg: Fibras (em gramas); plsPSO: componente PLS do microbioma intestinal dos participantes com psoríase.

Discussão

Foi caracterizado o MI de homens adultos com psoríase que diferiu de controles onívoros e vegetarianos, residentes da mesma região do Brasil. Aspectos etários, alimentares e de composição corporal podem contribuir para parte dessas diferenças.¹¹

Neste estudo, o grupo PSO apresentou maior ingestão de carboidratos, porém, baixa em fibras, mostrando ainda uma maior relação F/B no MI, que o grupo VEG, que possui

maior ingestão de fibras e menor abundância de *Firmicutes*. Além disso, os hábitos alimentares dos pacientes com psoríase mostraram-se desequilibrados, pois também identificou-se aumento de gorduras de baixa qualidade e alta densidade calórica, características da dieta ocidental que é associada à disbiose intestinal e redução de diversidade bacteriana. Tais hábitos dietéticos podem se correlacionar com a gravidade da doença e das comorbidades, já que gorduras saturadas, açúcares, carne bovina e álcool interferem no status inflamatório sistêmico. Enquanto, a ingestão de fibras alimentares pode contribuir com a supressão de certas vias inflamatórias e na indução de células T reguladoras.¹²⁻¹⁴

A disbiose intestinal também atua no desequilíbrio dos ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), dos quais butirato e acetato são os mais estudados, e são produzidos a partir da fermentação de fibras pelas bactérias intestinais. Acetato é associado à produção de grelina, que controla o apetite e resistência à insulina, já o butirato é fonte de energia para células intestinais, associado com prevenção e redução da inflamação sistêmica e aumento da diversidade bacteriana, favorecendo a proliferação de bactérias do filo *Bacteroidetes*. Dietas com alto teor de fibras, vegetais e frutas promovem aumento de *Bacteroidetes*, e por consequência maior diversidade bacteriana. Por outro lado, dietas com excesso de frituras, sódio, proteína e gordura animal, podem propiciar maior ativação pró-inflamatória sistêmica e proporção F/B no MI.¹⁵ Além disso, os AGCC são moduladores diretos da síntese de IL17 por linfócitos T.¹⁶

A disbiose intestinal pode promover o aumento intraluminal de LPS,¹⁷ e dietas com baixa qualidade nutricional (p.ex. dieta ocidental), estresse físico e psicológico, certos medicamentos (p.ex. antimicrobianos), são fatores que favorecem o aumento da permeabilidade intestinal. Um intestino mais permeável propicia a translocação de LPS para a corrente sanguínea (endotoxemia metabólica), favorecendo resistência à insulina, inflamação no tecido adiposo, infiltração tecidual de monócitos / macrófagos, que aumentam o risco de doenças como esteatose hepática, obesidade, diabetes. Dessa forma, parte da resposta inflamatória sistêmica pode ser atribuída à composição do MI.^{18,19}

Em modelo murino de psoríase induzida por imiquimod, a administração oral de *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus danieliae* levou à inflamação cutânea e ao aumento da expressão de TNF, e IL17, subsidiando a hipótese que a disbiose intestinal possa levar à piora clínica da doença.²⁰

Este estudo investigou, de forma original, relações entre níveis plasmáticos de LPB, PCRqt, e padrão alimentar em onívoros, vegetarianos e pacientes com psoríase, demonstrando que os níveis de LPB se correlacionaram inversamente com o consumo de fibras. Nesta amostra, os participantes com psoríase apresentaram níveis de LPB maiores que os vegetarianos, levando à hipótese que a modulação do MI (p.ex. através da dieta) contribua com a redução dos níveis de LPB séricos, portando esses achados subsidiam que a saúde intestinal pode ser modulada por meio das escolhas alimentares. Além disso, os níveis de PCRqt foram maiores em PSO, associados à ingesta de carboidratos e LPB. Apesar da permeabilidade intestinal não ser avaliada de forma direta, os níveis elevados de LPB e PCRqt podem indicar maior permeabilidade intestinal em pacientes com psoríase.

Pesquisas com níveis séricos de LPB em humanos são escassas, mas existem evidências de que o LPB esteja elevado em pacientes com psoríase, havendo correlação com os níveis de PCRqt. Dessa forma, LPB pode ser um indicador de inflamação sistêmica e progressão para síndrome metabólica em pacientes com psoríase.²¹ É importante ressaltar que, recentemente, o LPB revelou-se um biomarcador para a permeabilidade intestinal em adultos, independentemente da idade, IMC e gênero.²²

Em estudos controlados que analisaram o MI de pacientes com psoríase, utilizando grupos populacionais diversos, foram encontrados achados diferentes.²³ Em um estudo israelense que avaliou a diversidade beta em pacientes com psoríase (n=24) em comparação com controles (n=46) sem psoríase, pareados por idade, IMC e comorbidades identificou-se aumento significativo em *Ruminococcus gnavus*, *Dorea formicigenerans* e *Collinsella aerofaciens*, no MI da psoríase, enquanto *Prevotella copri* e *Parabacteroides distasonis* foram significativamente menores em comparação com os controles.²⁴ Um padrão algo diverso da estrutura de MI que foi encontrada em nossa amostra.

Outro estudo conduzido na China evidenciou que pacientes com psoríase têm perfis de MI significativamente perturbados, pois ao analisar o MI de 35 pacientes com psoríase e 27 controles, mostrou diferença nas abundâncias relativas de *Firmicutes* e *Bacteroidetes*, com aumento de *Bacteroides*, *Actinobacteria* e redução de *Firmicutes*, *Proteobacteria* e *Bifidobacterium*.²⁵ Em contrapartida, outro estudo de pacientes com psoríase (n=19), em comparação com um grupo controle saudável (n=20) realizado na Espanha mostrou menor diversidade bacteriana e diferente abundância relativa de certos táxons bacterianos em pacientes com psoríase, com aumento de *Actinobacteria*, *Firmicutes* e redução de *Bacteroidetes*, *Proteobacterias*, *Fecalibacterium*.²⁶

Em uma análise do MI de 52 pacientes com psoríase (PASI ≥ 6), em comparação com população saudável (n=300), evidenciou-se maior frequência do padrão chamado enterótipo 2, com tendência a apresentar translocação bacteriana mais frequente e maior estado inflamatório (71%) do que outros enterótipos, havendo predomínio de *Akkermansia*, *Faecalibacterium*, *Ruminococcus* e menor proporção de *Bacteroidetes*.²⁷ Nossa amostra também indicou maiores proporções de *Faecalibacterium* e *Ruminococcus*, além de menores índices de *Bacteroidetes* no perfil (PLS) dos pacientes com psoríase.

Recentemente, um estudo conduzido na Argentina demonstrou mudanças na composição do MI dependendo do *status* da psoríase, com aumento de *Firmicutes* e depleção de *Bacteroidetes* em 55 pacientes com psoríase, em comparação com 27 controles, além disso, os gêneros *Faecalibacterium* e *Blautia* foram maiores em pacientes com psoríase enquanto *Bacteroides* e *Paraprevotella* em controles sem psoríase.²⁸ Como nossos pacientes estavam em tratamento, e a maior parte com PASI < 4, não foi possível estratificar o MI de acordo com a gravidade da doença.

Outro estudo de caso-controle da Ásia Central, com pacientes entre 30 a 45 anos, com psoríase (n=20) e controles (n=20), pareados por idade e sexo, encontrou associação com psoríase e níveis elevados de *Firmicutes*, *Faecalibacterium* e abundância reduzida de *Oscillibacter* e *Roseburia*, mas não houve diferença na diversidade e relação F/B, bastante alinhado com nossos resultados.²⁹

Um estudo brasileiro mostrou menor diversidade no MI de mulheres com psoríase (n=21) em comparação com controles (n=24), identificando aumento do gênero *Dialister* e da espécie *Prevotella copri* sp.; mas redução nos gêneros *Ruminococcus*, *Lachnospira*, *Blautia* e nas espécies *Akkermansia muciniphila* sp.³⁰

No presente estudo, o perfil de MI encontrado nos homens adultos portadores de psoríase foi associado aos descritos em outras comorbidades, como na síndrome metabólica, obesidade e doenças afetivas, o que pode decorrer do estilo de vida ocidental. Ainda de acordo com a literatura o *Coproccoccus* foi associado à doenças afetivas como depressão, obesidade e má qualidade do sono³¹, *Lachnospira* foi associado com o desenvolvimento de diabetes mellitus³² e *Paraprevotella* com maior ingestão de gorduras.³³ Apesar de haver associação com dietas vegetarianas, *Prevotella* também é relacionada à elevada ingestão de carboidratos, e como possui alta diversidade genética dentro e entre espécies, podem explicar sua descrição tanto em MI saudáveis como em

disbióticos; e ainda uma carga elevada de *Prevotella* no MI foi associada à obesidade, resistência à insulina, hipertensão e doença hepática gordurosa não alcoólica.³⁴

A composição do MI de psoríase encontrado nessa amostra se opôs à encontrada nos vegetarianos, ricos em *Bacteroides*, e *Lactobacillus*, associados à menor permeabilidade intestinal. De fato, a prevalência de psoríase em vegetarianos é excepcional, e a dieta vegetariana leva à melhora de lesões cutâneas da psoríase, o que sugere que a modulação do MI possa subsidiar o desenvolvimento de doenças inflamatórias, como a psoríase.^{35,36}

Estudos metagenômicos do MI apresentam alta variabilidade de resultados entre as publicações. Diferenças populacionais étnicas, culturais e alimentares podem explicar os resultados controversos entre os estudos que caracterizaram MI em psoríase.

Deste modo, ainda não foi definido o que constitui um MI saudável, quando excluídas as bactérias sabidamente patogênicas. Por isso é essencial destacar que as espécies comensais não devem ser consideradas absolutamente “boas” ou “ruins”, já que todas desempenham funções no ecossistema intestinal. A problemática emerge do desequilíbrio, ou seja, a predominância de grupos de espécies comensais que promovem alterações na permeabilidade intestinal. Além disso, quando se caracteriza o MI de um grupo, pretende-se entender qual o padrão de desequilíbrio, apesar da composição do MI ser única em cada indivíduo, adquirida nos primeiros anos de vida e moldada pelas características ambientais, como os hábitos alimentares, ao longo da vida.³⁷⁻³⁹

Este estudo apresenta limitações ligadas à amostra modesta, não aleatorizada, o que não impediu a identificação de padrões de MI entre os grupos, além disso, a origem comum quanto ao grupo populacional maximiza a homogeneidade da amostra. O efeito dos tratamentos da psoríase no MI é tema a ser investigado, entretanto, o uso de adalimumabe não mostrou modificar o padrão de MI em 10 pacientes.⁴⁰ Outro aspecto se refere à amostragem do microbioma fecal, que consiste na flora transitória do cólon, em contrapartida à flora permanente que é ligada à mucosa, menos sujeita a variação. Finalmente, LPB é utilizado como um *proxy* da medida de LPS, devido a sua labilidade. As variações alimentares podem dificultar as comparações entre os grupos, visto que mesmo dentro dos grupos onívoros, vegetarianos e psoríase, existem alimentos que podem atuar de forma diferente no MI.

Estudos clínicos controlados em psoríase que visem a manipulação do MI, quer com transplante de fezes, intervenções dietéticas (p.ex. adequação de fibras),

pro/prebióticos, ou sais biliares, devem ser conduzidos para uma melhor compreensão do papel do MI na atividade clínica da psoríase.

Conclusão

Identificou-se diferença no MI de homens adultos brasileiros com psoríase, em relação a onívoros e vegetarianos saudáveis. O padrão de MI encontrado correlacionou-se com a ingestão de fibras alimentares, com os níveis séricos de LPB. Mudanças nos hábitos alimentares podem remodelar o MI, e por consequência, auxiliar no controle clínico da psoríase. Ressalta-se a necessidade de conscientização da importância nutricional no tratamento da doença e no manejo das comorbidades.

Referências

1. Romiti R et al. Prevalence of psoriasis in Brazil - a geographical survey. *Int J Dermatol.* 2017; (8): 167–8.
2. Parisi R et al. National, regional, and worldwide epidemiology of psoriasis: systematic analysis and modelling study. 2020;8247:1590-1605.
3. Arnone M et al. Diagnostic and therapeutic guidelines for plaque psoriasis - Brazilian Society of Dermatology. *An Bras Dermatol.* 2019;94:76–107.
4. Todberg T et al. Characterization of Oral and Gut Microbiota in Patients with Psoriatic Diseases: A Systematic Review. *Acta Derm Venereol.* 2021;30: 101-107.
5. Magne F et al. The Firmicutes/Bacteroidetes Ratio: A Relevant Marker of Gut Dysbiosis in Obese Patients? *Nutrients.* 2020;12(5):1474.
6. Sankarasubramanian J, Ahmad R, Avuthu N, Singh AB, Guda C. Gut Microbiota and Metabolic Specificity in Ulcerative Colitis and Crohn's Disease. *Front Med.* 2020;7:606298.
7. Aldars-García L, Chaparro M, Gisbert JP. Systematic Review: The Gut Microbiome and Its Potential Clinical Application in Inflammatory Bowel Disease. *Microorganisms.* 2021;9(5):977.
8. Polak K et al. Psoriasis and Gut Microbiome—Current State of Art. *Int J Mol Sci.* 2021 A;22(9):4529.
9. Cani P et al. Metabolic Endotoxemia Initiates Obesity and Insulin Resistance. *Diabetes.* 2007;56(7):1761–72.
10. Gonzalez-Quintela A et al. Determinants of Serum Concentrations of Lipopolysaccharide-Binding Protein (LBP) in the Adult Population: The Role of Obesity. Sambhara S, editor. *PLoS ONE.* 2013;8(1):e54600.
11. Polo TCF, de Ré Lai MR, Miot HA. Characterization of the intestinal microbiome in eutrophic, obese omnivores, and vegetarians. *Nutrire.* 2022;47(1):2.
12. Kanda N, Hoashi T, Saeki H. Nutrition and Psoriasis. *Int J Mol Sci.* 2020;21(15):5405.
13. González Olmo BM, Butler MJ, Barrientos RM. Evolution of the Human Diet and Its Impact on Gut Microbiota, Immune Responses, and Brain Health. *Nutrients.* 2021;13(1):196.
14. Padrón Pereira CA. Microbiota intestinal humana y dieta. *Cienc Tecnol.* 2019;12(1):31–42.
15. So D et al. Dietary fiber intervention on gut microbiota composition in healthy adults: a systematic review and meta-analysis. *Am J Clin Nutr.* 2018;107(6):965–83.

16. Dupraz L et al. Gut microbiota-derived short-chain fatty acids regulate IL-17 production by mouse and human intestinal $\gamma\delta$ T cells. *Cell Rep.* 2021;36(1):109332.
17. Marizzoni M et al. Short-Chain Fatty Acids and Lipopolysaccharide as Mediators Between Gut Dysbiosis and Amyloid Pathology in Alzheimer's Disease. Solfrizzi V, editor. *J Alzheimers Dis.* 2020;78(2):683–97.
18. Myers B et al. The gut microbiome in psoriasis and psoriatic arthritis. *Best Pract Res Clin Rheumatol.* 2019;33(6):101494.
19. Singh S et al. Genomic alterations driving psoriasis pathogenesis. *Gene.* 2019;683:61–71.
20. Okada K, Matsushima Y, Mizutani K, Yamanaka K. The Role of Gut Microbiome in Psoriasis: Oral Administration of *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus danieliae* Exacerbates Skin Inflammation of Imiquimod-Induced Psoriasis-Like Dermatitis. *Int J Mol Sci.* 2020;21(9):3303.
21. Romani J et al. Lipopolysaccharide-binding protein is increased in patients with psoriasis with metabolic syndrome, and correlates with C-reactive protein: Lipopolysaccharide-binding protein in patients with psoriasis. *Clin Exp Dermatol.* 2013;38(1):81–4.
22. Seethaler B et al. Biomarkers for assessment of intestinal permeability in clinical practice. *Am J Physiol-Gastrointest Liver Physiol.* 2021;321(1):G11–7.
23. Widhiati S, Purnomosari D, Wibawa T, Soebono H. The role of gut microbiome in inflammatory skin disorders: a systematic review. *Dermatol Rep.* 2021;(14):9188.
24. Shapiro J et al. Psoriatic patients have a distinct structural and functional fecal microbiota compared with controls. *J Dermatol.* 2019;46(7):595–603.
25. Huang L, Gao R, Yu N, Zhu Y, Ding Y, Qin H. Dysbiosis of gut microbiota was closely associated with psoriasis. *Sci China Life Sci.* 2019;62(6):807–15.
26. Hidalgo-Cantabrana C et al. Gut microbiota dysbiosis in a cohort of patients with psoriasis. *Br J Dermatol.* 2019;181(6):1287–95.
27. Codoñer FM et al. Gut microbial composition in patients with psoriasis. *Sci Rep.* 2018;8(1):3812.
28. Dei-Cas I, Giliberto F, Luce L, Dopazo H, Penas-Steinhardt A. Metagenomic analysis of gut microbiota in non-treated plaque psoriasis patients stratified by disease severity: development of a new Psoriasis-Microbiome Index. *Sci Rep.* 2020;10(1):12754.
29. Yegorov S et al. Psoriasis Is Associated With Elevated Gut IL-1 α and Intestinal Microbiome Alterations. *Front Immunol.* 2020;11:571319.
30. Schade L et al. The gut microbiota profile in psoriasis: a Brazilian case-control study. *Lett Appl Microbiol.* 2022;74(4):498–504.

31. Zhang Q et al. Gut Microbiome Composition Associated With Major Depressive Disorder and Sleep Quality. *Front Psychiatry*. 2021;12:645045.
32. Kameyama K, Itoh K. Intestinal Colonization by a *Lachnospiraceae* Bacterium Contributes to the Development of Diabetes in Obese Mice. *Microbes Environ*. 2014;29(4):427–30.
33. Ruebel ML et al. Associations between Maternal Diet, Body Composition and Gut Microbial Ecology in Pregnancy. *Nutrients*. 2021;13(9):3295.
34. Precup G, Vodnar DC. Gut *Prevotella* as a possible biomarker of diet and its eubiotic versus dysbiotic roles: a comprehensive literature review. *Br J Nutr*. 2019;122(2):131–40.
35. Wolters M. Diet and psoriasis: experimental data and clinical evidence. *Br J Dermatol*. 2005;153(4):706–14.
36. Lithell H et al. A fasting and vegetarian diet treatment trial on chronic inflammatory disorders. *Acta Derm Venereol*. 1983;63(5):397–403.
37. Yoo W et al. High-fat diet–induced colonocyte dysfunction escalates microbiota-derived trimethylamine *N*-oxide. *Science*. 2021;373(6556):813–8.
38. Yang Q et al. The crosstalk between gut bacteria and host immunity in intestinal inflammation. *J Cell Physiol*. 2021;236(4):2239–54.
39. Laudes M et al. Microbiota in Health and Disease—Potential Clinical Applications. *Nutrients*. 2021;13(11):386–6.
40. Todberg T et al. Successful treatment of psoriasis with adalimumab induced no changes in the gut microbiota. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2022;17(3).17952–1801.

Tabela suplementar 1: Unidades taxonômicas (UTN = 1.496), distribuídas em filos, classes, ordens, famílias, gêneros e espécies.

Filo (12)	Classe (22)	Ordem (31)	Família (52)	Gênero (94)	Espécie (64)
Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Ruminococcaceae	Prevotella	<i>Prevotella copri</i>
Bacteroidetes	Bacteroidia	Bacteroidales	Lachnospiraceae	Bacteroides	<i>Faecalibacterium prausnitzii</i>
Actinobacteria	Coriobacteriia	Coriobacteriales	Prevotellaceae	Ruminococcus	<i>Prevotella stercora</i>
Proteobacteria	Erysipelotrichi	Erysipelotrichales	Coriobacteriaceae	Oscillospira	<i>[Ruminococcus] gnavus</i>
Tenericutes	Bacilli	RF39	Bacteroidaceae	Blautia	<i>Parabacteroides distasonis</i>
Cyanobacteria	Mollicutes	Lactobacillales	Erysipelotrichaceae	Coprococcus	<i>Blautia producta</i>
Lentisphaerae	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Veillonellaceae	Faecalibacterium	<i>Bacteroides uniformis</i>
Synergistetes	Gammaproteobacteria	Desulfovibrionales	[Paraprevotellaceae]	[Ruminococcus]	<i>[Eubacterium] bifforme</i>
Euryarchaeota	Deltaproteobacteria	Enterobacteriales	[Odoribacteraceae]	Butyricimonas	<i>[Eubacterium] dolichum</i>
Fusobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Christensenellaceae	Parabacteroides	<i>Bacteroides plebeius</i>
Verrucomicrobia	Alphaproteobacteria	YS2	[Mogibacteriaceae]	Sutterella	<i>Bacteroides ovatus</i>
Elusimicrobia	4C0d-2	RF32	S24-7	Catenibacterium	<i>Blautia obeum</i>
	[Lentisphaeria]	Victivallales	Porphyromonadaceae	Dorea	<i>Coprococcus eutactus</i>
	Synergistia	Synergistales	Desulfovibrionaceae	[Prevotella]	<i>Butyricococcus pullicaecorum</i>
	Fusobacteriia	Fusobacteriales	Rikenellaceae	Paraprevotella	<i>Alistipes indistinctus</i>
	Methanobacteria	Aeromonadales	Alcaligenaceae	[Eubacterium]	<i>Ruminococcus callidus</i>
	Opitutae	Methanobacteriales	Streptococcaceae	Megasphaera	<i>Lactobacillus ruminis</i>
	Verrucomicrobiae	Bifidobacteriales	[Barnesiellaceae]	Streptococcus	<i>Bacteroides eggerthii</i>
	RF3	[Cerasicoccales]	Lactobacillaceae	Lactobacillus	<i>Collinsella stercoris</i>
	Epsilonproteobacteria	Bacillales	Enterobacteriaceae	Roseburia	<i>Ruminococcus bromii</i>
	Thermoplasmata	Turicibacterales	Clostridiaceae	Collinsella	<i>Clostridium spiroforme</i>
	Elusimicrobia	Verrucomicrobiales	Actinomycetaceae	Dialister	<i>Ruminococcus flavefaciens</i>
		ML615J-28	Peptococcaceae	Lachnospira	<i>Bacteroides coprophilus</i>
		Campylobacteriales	Dehalobacteriaceae	Slackia	<i>Akkermansia muciniphila</i>
		Anaeroplasmatales	Victivallaceae	Clostridium	<i>Bacteroides fragilis</i>
		Elusimicrobiales	Fusobacteriaceae	Odoribacter	<i>Bacteroides caccae</i>
		E2	Succinivibrionaceae	Desulfovibrio	<i>Streptococcus anginosus</i>
		SHA-98	Synergistaceae	Phascolarctobacterium	<i>Coprococcus catus</i>
		Neisseriales	Methanobacteriaceae	Dehalobacterium	<i>Eggerthella lenta</i>
		Pasteurellales	[Tissierellaceae]	Acidaminococcus	<i>Bulleidia p-1630-c5</i>
		Gemellales	Bifidobacteriaceae	Actinomyces	<i>Desulfovibrio D168</i>
			[Cerasicoccaceae]	Bulleidia	<i>Dorea formicigenerans</i>
			Leuconostocaceae	Christensenella	<i>Veillonella dispar</i>
			Helicobacteraceae	Alistipes	<i>Clostridium hathewayi</i>
			Eubacteriaceae	Adlercreutzia	<i>Collinsella aerofaciens</i>
			Oxalobacteraceae	Bilophila	<i>Pyramidobacter piscicolens</i>
			Turicibacteraceae	Butyricococcus	<i>Streptococcus agalactiae</i>
			Micrococcaceae	Succinivibrio	<i>Clostridium symbiosum</i>
			Verrucomicrobiaceae	Anaerostipes	<i>Butyrivibrio crossotus</i>

		Pasteurellaceae	Methanobrevibacter	<i>Bacillus halodurans</i>
		Staphylococcaceae	Mitsuokella	<i>Clostridium butyricum</i>
		Aerococcaceae	Megamonas	<i>Rothia mucilaginosa</i>
		Bacillaceae	Holdemania	<i>Clostridium colicanis</i>
		Gemellaceae	Lactococcus	<i>Bulleidia moorei</i>
		Dethiosulfovibrionaceae	AF12	<i>[Ruminococcus] torques</i>
		EtOH8	Anaerofilum	<i>Streptococcus sobrinus</i>
		Elusimicrobiaceae	Oribacterium	<i>Clostridium hiranonis</i>
		[Methanomassiliicoccaceae]	Coprobacillus	<i>[Eubacterium] cylindroides</i>
		Neisseriaceae	Synergistes	<i>Lactobacillus delbrueckii</i>
		Corynebacteriaceae	Mogibacterium	<i>Roseburia inulinivorans</i>
		Peptostreptococcaceae	Fusobacterium	<i>Lactobacillus helveticus</i>
		Anaeroplasmataceae	Leuconostoc	<i>Ruminococcus albus</i>
			Lachnobacterium	<i>Lactobacillus mucosae</i>
			Veillonella	<i>Alistipes putredinis</i>
			Bifidobacterium	<i>Clostridium lavalense</i>
			Atopobium	<i>Ruminococcus gauvreauii</i>
			Anaerotruncus	<i>Lactobacillus zeae</i>
			Butyrivibrio	<i>Coprobacillus cateniformis</i>
			Rc4-4	<i>Lactococcus garvieae</i>
			Eggerthella	<i>Succinatimonas hippei</i>
			Cloacibacillus	<i>Clostridium perfringens</i>
			Parvimonas	<i>Victivallis vadensis</i>
			Akkermansia	<i>Clostridium ramosum</i>
			Peptococcus	<i>Alistipes massiliensis</i>
			Turcibacter	
			Helicobacter	
			Porphyromonas	
			Pseudoramibacter_Eubacterium	
			SMB53	
			VadinCA11	
			Alloscardovia	
			Neisseria	
			Peptoniphilus	
			Nesterenkonia	
			Finegoldia	
			Anaerococcus	
			Corynebacterium	
			Proteus	
			Victivallis	
			Anaerovibrio	
			Oxalobacter	
			Pyramidobacter	

				Staphylococcus	
				Methanosphaera	
				Succinatimonas	
				RFN20	
				CF231	
				Epulopiscium	
				Bacillus	
				Rothia	
				Moryella	
				Cc_115	
				Sarcina	
				Scardovia	

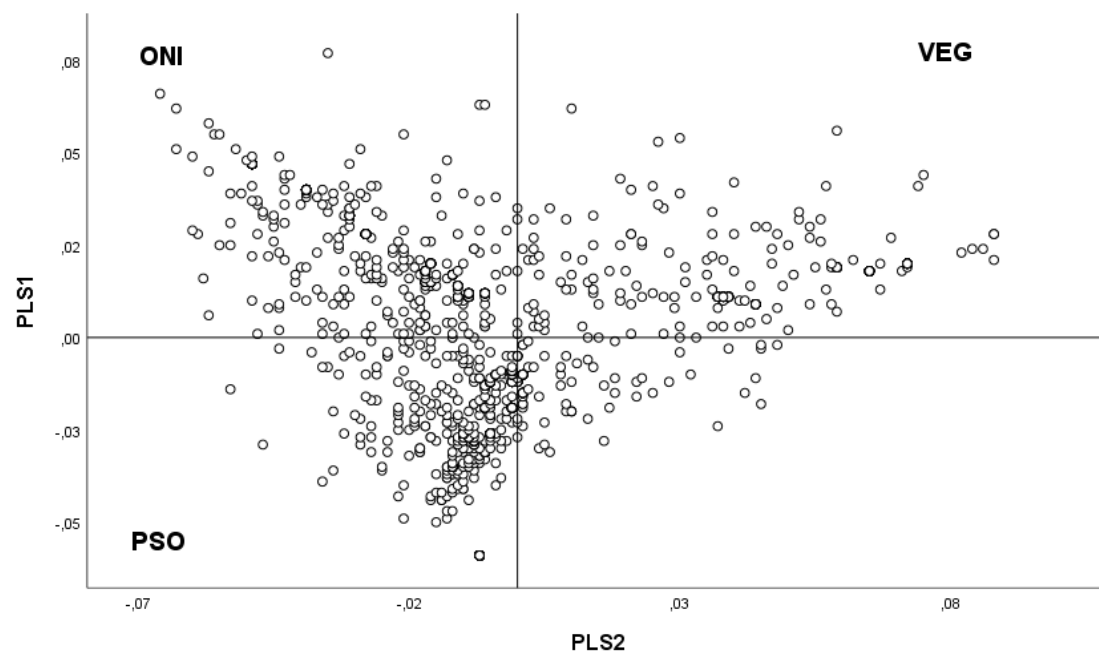


Figura suplementar 1. Dispersão das UTN segundos as cargas PLS1 e PLS2.

ANEXOS

TERMOS DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE) 1 - CONTROLES

RESOLUÇÃO 466/2012

(Participante maior de 18 anos)

CONVIDO o Senhor para participar do Projeto de Pesquisa intitulado **“Caracterização e modulação do microbioma em pacientes com psoríase”**, que será desenvolvido por mim Tatiana Cristina Figueira Polo, nutricionista, com orientação do profissional médico Dr. Luciane Donida Bartoli Miot e docente da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP.

O nosso intestino é composto por uma população de micro-organismos, como bactérias, vírus e fungos, e tem como funções manter a saúde intestinal e controlar a proliferação de bactérias que podem causar doenças, chamamos esse conjunto de bactérias presentes no nosso intestino de MICROBIOMA INTESTINAL. As bactérias do intestino se tornaram um alvo de estudo extremamente relevante para o conhecimento e tratamento de determinadas doenças, portanto, esta pesquisa é essencial para encontrar resultados que possam levar a novos conhecimentos sobre as doenças.

Não existem estudos controlados que avaliem o impacto da suplementação de ácidos biliares na psoríase, assim como seu efeito na saúde intestinal. Da mesma forma, não existem estudos que caracterizem o microbioma intestinal na psoríase em pacientes brasileiros, assim como se há alteração com os seus subtipos e comorbidades.

Portanto esta pesquisa, tem como objetivo caracterizar o microbioma intestinal dos pacientes com psoríase, identificar mudanças no microbioma intestinal e a gravidade clínica da psoríase.

Para esta caracterização precisamos comparar o microbioma intestinal de indivíduos com psoríase e com indivíduos sem psoríase, portanto, você poderá fazer parte de nosso grupo controle, ou seja, que não tem psoríase.

Para avaliar o microbioma intestinal, é preciso coletar amostra de fezes. Para isso, será realizada a orientação completa do exame, fornecido material e orientação para a realização de coleta de fezes em frasco próprio, em sua própria residência. Após a coleta, a nutricionista responsável irá recolher o frasco em sua casa e realizar o transporte ao laboratório responsável pelas análises. Após a análise das fezes, todo material será descartado.

Esta análise não oferece riscos a sua saúde, iremos orientá-lo para garantir que não ocorra qualquer tipo de constrangimento durante a entrevista e coleta de fezes.

Você será entrevistado, no ambulatório de dermatologia do HC-Unesp, quanto aos seus hábitos alimentares e será aferido seu peso e altura, pela nutricionista responsável pela pesquisa e será esclarecido sobre a mesma diante do exposto acima, esta entrevista e avaliação tem tempo estimado de 10 minutos, e será realizada no ambulatório de dermatologia.

Seu benefício em participar será auxiliar os pesquisadores na obtenção do conhecimento dos resultados da pesquisa que avaliará as composições das bactérias das fezes de acordo com sua dieta e peso.

Haverá total sigilo sobre seu nome e os resultados de seu exame de fezes.

Fique ciente de que sua participação neste estudo é voluntária e que mesmo após ter dado seu consentimento para participar da pesquisa, você poderá retirá-lo a qualquer momento.

Este Termo de Consentimento Livre e Esclarecido será elaborado em 2 vias de igual teor, sendo que uma via será entregue ao Senhor (a) devidamente rubricada, e a

outra via será arquivada e mantida pelos pesquisadores por um período de 5 anos após o término da pesquisa.

Qualquer dúvida adicional você poderá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa através dos telefones (14) 3880-1608 ou 3880-1609 que funciona de 2ª a 6ª feira das 8.00 às 11.30 e das 14.00 às 17 horas, na Chácara Butignolli s/nº em Rubião Júnior – Botucatu - São Paulo. Os dados de localização dos pesquisadores estão abaixo descritos.

Após terem sido sanadas todas minhas dúvidas a respeito deste estudo, **CONCORDO EM PARTICIPAR** de forma voluntária, estando ciente que todos os meus dados estarão resguardados através do sigilo que os pesquisadores se comprometeram. Estou ciente que os resultados desse estudo poderão ser publicados em revistas científicas, desde que minha identidade não seja revelada.

Botucatu, ____/____/____

Pesquisador

Nome (Pesquisador): Tatiana Cristina Figueira Polo
Endereço: Rubião Júnior - Botucatu/SP - CEP 18618-970
Telefone: (14) 38880-1750
e-mail: tatiana.figueira@yahoo.com.br

Participante da Pesquisa

Nome (Orientador): Luciane Donida Bartoli Miot
Endereço: Rubião Júnior - Botucatu/SP - CEP 18618-970
Telefone: (14) 3880-1267
e-mail: lucianemiot@fmb.unesp.br

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE) 2 - PSORÍASE

RESOLUÇÃO 466/2012
(Participante maior de 18 anos)

CONVIDO o Senhor para participar do Projeto de Pesquisa intitulado **“Caracterização e modulação do microbioma em pacientes com psoríase”**, que será desenvolvido por mim Tatiana Cristina Figueira Polo, nutricionista, com orientação do profissional médico Dr. Luciane Donida Bartoli Miot e docente da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP.

O nosso intestino é composto por uma população de micro-organismos, como bactérias, vírus e fungos, e tem como funções manter a saúde intestinal e controlar a proliferação de bactérias que podem causar doenças, chamamos esse conjunto de bactérias presente no nosso intestino de MICROBIOMA INTESTINAL. As bactérias do intestino se tornaram um alvo de estudo extremamente relevante para o conhecimento e tratamento de determinadas doenças, portanto, esta pesquisa é essencial para encontrar resultados que possam levar a novos conhecimentos sobre as doenças.

Não existem estudos controlados que avaliem o impacto da suplementação de ácidos biliares na psoríase, assim como seu efeito na saúde intestinal. Da mesma forma, não existem estudos que caracterizem o microbioma intestinal na psoríase em pacientes brasileiros, assim como se há alteração com os seus subtipos e comorbidades.

Portanto esta pesquisa, tem como objetivo caracterizar o microbioma intestinal dos pacientes com psoríase, identificar mudanças no microbioma intestinal e a gravidade clínica da sua psoríase.

Para avaliar o microbioma intestinal, é preciso coletar amostra de fezes. Para isso, será realizada a orientação completa do exame, fornecido material e orientação para a realização de coleta de fezes em frasco próprio, em sua própria residência. Após a coleta, a nutricionista responsável irá recolher o frasco em sua casa e realizar o transporte ao laboratório responsável pelas análises. Após a análise das fezes, todo material será descartado.

Esta análise não oferece riscos à sua saúde, iremos orientá-lo para garantir que não ocorra qualquer tipo de constrangimento durante a entrevista e coleta de fezes. Não serão consultados dados de seus registros clínicos do HC-Unesp.

Após consulta médica e avaliações de rotina, você será entrevistado, no ambulatório de dermatologia do HC-Unesp, quanto aos seus hábitos alimentares e será aferido seu peso e altura, pela nutricionista responsável pela pesquisa e será esclarecido sobre a mesma diante do exposto acima. A dermatologista Dra. Luciane Miot realizará a avaliação da extensão da sua doença de pele. Esta entrevista e a avaliação têm tempo estimado de 10 minutos, e será realizada no ambulatório de dermatologia do HC-Unesp.

O tratamento de psoríase prescrito pelo dermatologista, não deve ser alterado.

Seu benefício em participar será auxiliar os pesquisadores na obtenção do conhecimento dos resultados da pesquisa que avaliará as composições das bactérias das fezes de acordo com sua dieta, peso e tipo de psoríase.

Haverá total sigilo sobre seu nome e os resultados de seu exame de fezes.

Fique ciente de que sua participação neste estudo é voluntária e que mesmo após ter dado seu consentimento para participar da pesquisa, você poderá retirá-lo a qualquer momento, sem qualquer prejuízo na continuidade do seu tratamento.

Este Termo de Consentimento Livre e Esclarecido será elaborado em 2 vias de igual teor, sendo que uma via será entregue ao Senhor (a) devidamente rubricada, e a

outra via será arquivada e mantida pelos pesquisadores por um período de 5 anos após o término da pesquisa.

Qualquer dúvida adicional você poderá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa através dos telefones (14) 3880-1608 ou 3880-1609 que funciona de 2ª a 6ª feira das 8.00 às 11.30 e das 14.00 às 17horas, na Chácara Butignolli s/nº em Rubião Júnior – Botucatu - São Paulo. Os dados de localização dos pesquisadores estão abaixo descritos.

Após terem sido sanadas todas minhas dúvidas a respeito deste estudo, **CONCORDO EM PARTICIPAR** de forma voluntária, estando ciente que todos os meus dados estarão resguardados através do sigilo que os pesquisadores se comprometeram. Estou ciente que os resultados desse estudo poderão ser publicados em revistas científicas, desde que minha identidade não seja revelada.

Botucatu, ____/____/____

Pesquisador

Nome (Pesquisador): Tatiana Cristina Figueira Polo
Endereço: Rubião Júnior - Botucatu/SP - CEP 18618-970
Telefone: (14) 38880-1750
e-mail: tatiana.figueira@yahoo.com.br

Participante da Pesquisa

Nome (Orientador): Luciane Donida Bartoli Miot
Endereço: Rubião Júnior - Botucatu/SP - CEP 18618-970
Telefone: (14) 3880-1267
e-mail: lucianemiot@fmb.unesp.br

ANEXO 3

(Termo de Consentimento Livre Esclarecido – TCLE 3)

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE) 3 – INTERVENÇÃO

RESOLUÇÃO 466/2012

(Participante maior de 18 anos)

CONVIDO o Senhor para participar do Projeto de Pesquisa intitulado **“Caracterização e modulação do microbioma em pacientes com psoríase”**, que será desenvolvido por mim Tatiana Cristina Figueira Polo, nutricionista, com orientação do profissional médico Dr. Luciane Donida Bartoli Miot e docente da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP.

O nosso intestino é composto por uma população de micro-organismos, como bactérias, vírus e fungos, e tem como funções manter a saúde intestinal e controlar a proliferação de bactérias que podem causar doenças, chamamos esse conjunto de bactérias presente no nosso intestino de MICROBIOMA INTESTINAL. As bactérias do intestino se tornaram um alvo de estudo extremamente relevante para o conhecimento e tratamento de determinadas doenças, portanto, esta pesquisa é essencial para encontrar resultados que possam levar a novos conhecimentos sobre as doenças.

Não existem estudos controlados que avaliem o impacto da suplementação de ácidos biliares na psoríase, assim como seu efeito na composição das bactérias intestinais.

Portanto esta pesquisa, tem como objetivo caracterizar o microbioma intestinal dos pacientes com psoríase, identificar mudanças nas bactérias intestinais e a gravidade clínica da psoríase após tratamento com um produto produzido pela vesícula em forma de comprimido (ácido ursodesoxicólico).

Para avaliar o microbioma intestinal, é preciso coletar amostra de fezes. Para isso, será realizada a orientação completa do exame, fornecido material e orientação para a realização de coleta de fezes em frasco próprio, em sua própria residência. Após a coleta, a nutricionista responsável irá recolher o frasco em sua casa e realizar o transporte ao laboratório responsável pelas análises. Após a análise das fezes, todo material será descartado.

Após a coleta de fezes, será realizada a intervenção com a administração do comprimido de ácido ursodesoxicólico, 1 comprimido por dia, durante 6 semanas. Durante esse tratamento, podem ocorrer efeitos colaterais como fezes pastosas e diarreia. Estaremos em contato direto para qualquer dúvida ou intercorrência no tratamento. Após o período de ingesta do ácido ursodesoxicólico, será realizada uma nova avaliação, para aferir seu peso e avaliação da extensão da psoríase, no ambulatório de dermatologia, caso seja necessário, iremos nos responsabilizar pelo custo com transporte para sua presença neste momento.

O médico e a nutricionista responsáveis irão esclarecer todo o protocolo de intervenção, o tratamento será totalmente disponibilizado e todas as dúvidas sobre o mesmo serão sanadas, para que seja convidado a participar desta segunda etapa do trabalho.

O tratamento de psoríase prescrito pelo dermatologista, não deve ser alterado.

Seu benefício em participar será auxiliar os pesquisadores na obtenção do conhecimento dos resultados da pesquisa, que avaliará a variação da composição das bactérias das fezes, e a modificação da psoríase.

Haverá total sigilo sobre seu nome e os resultados de seu exame de fezes.

Fique ciente de que sua participação neste estudo é voluntária e que mesmo após ter dado seu consentimento para participar da pesquisa, você poderá retirá-lo a qualquer momento, sem qualquer prejuízo na continuidade do seu tratamento.

Este Termo de Consentimento Livre e Esclarecido será elaborado em 2 vias de igual teor, sendo que uma via será entregue ao Senhor (a) devidamente rubricada, e a outra via será arquivada e mantida pelos pesquisadores por um período de 5 anos após o término da pesquisa.

Qualquer dúvida adicional você poderá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa através dos telefones (14) 3880-1608 ou 3880-1609 que funciona de 2ª a 6ª feira das 8.00 às 11.30 e das 14.00 às 17 horas, na Chácara Butignolli s/nº em Rubião Júnior – Botucatu - São Paulo. Os dados de localização dos pesquisadores estão abaixo descritos.

Após terem sido sanadas todas minhas dúvidas a respeito deste estudo, **CONCORDO EM PARTICIPAR** de forma voluntária, estando ciente que todos os meus dados estarão resguardados através do sigilo que os pesquisadores se comprometeram. Estou ciente que os resultados desse estudo poderão ser publicados em revistas científicas, desde que minha identidade não seja revelada.

Botucatu, ____/____/____

Pesquisador

Nome (Pesquisador): Tatiana Cristina Figueira Polo
Endereço: Rubião Júnior - Botucatu/SP - CEP 18618-970
Telefone: (14) 38880-1750
e-mail: tatiana.figueira@yahoo.com.br

Participante da Pesquisa

Nome (Orientador): Luciane Donida Bartoli Miot
Endereço: Rubião Júnior - Botucatu/SP - CEP 18618-970
Telefone: (14) 3880-1267
e-mail: lucianemiot@fmb.unesp.br

PARECER DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISAS

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: CARACTERIZAÇÃO E MODULAÇÃO DO MICROBIOMA INTESTINAL EM PACIENTES COM PSORÍASE

Pesquisador: Tatiana Cristina Figueira Polo

Área Temática:

Versão: 5

CAAE: 18578719.0.0000.5411

Instituição Proponente: Departamento de Patologia

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.743.366

Apresentação do Projeto:

Segundo os pesquisadores, Psoríase é doença crônica recorrente, inflamatória, sistêmica e imunologicamente mediada, acomete 2% a 3% da população mundial e pode desencadear uma liberação anormal de proteínas envolvidas no processo inflamatório. Existe influência da psoríase no desenvolvimento de outras comorbidades, como a obesidade, hipertensão, obesidade, diabetes mellitus, síndrome metabólica, entre outras. A prevalência de obesidade em indivíduos com psoríase é duas vezes maior quando comparada à população em geral. O microbioma humano é composto por trilhões de bactérias e o DNA dessas bactérias supera o genoma humano. O intestino é o maior órgão linfóide do corpo e devido sua importância e impacto na saúde e doença, tem sido amplamente estudado o microbioma intestinal. Na psoríase, há um intestino permeável, com indícios de endotoxemia sistêmica, pois os peptidoglicanos bacterianos têm efeitos tóxicos diretos no intestino, por efeito da disbiose intestinal, que consequentemente, promove um processo inflamatório sistêmico que pode refletir na pele. Em busca de alternativas eficientes e a longo prazo, para complementar o tratamento medicamentoso convencional, o uso de ácidos biliares, como o ácido ursodesoxicólico, vêm sendo estudado, devido aos efeitos citoprotetores, antiapoptóticos, estabilizadores de membrana, antioxidantes e imunomoduladores. Não existem estudos controlados que avaliem o impacto da suplementação de ácidos biliares na psoríase, assim como seu efeito no microbioma intestinal. Da mesma forma, não existem estudos que

Endereço: Chácara Butignolli, s/n

Bairro: Rubião Junior

UF: SP

Município: BOTUCATU

Telefone: (14)3880-1609

CEP: 18.618-970

E-mail: cep@fmb.unesp.br

Continuação do Parecer: 3.743.366

caracterizem o microbioma intestinal na psoríase em pacientes brasileiros, assim como se há alteração com os seus subtipos e comorbidades.

O estudo pretende: (1) caracterizar o microbioma intestinal de 21 pacientes com psoríase, comparado com 15 controles (eutróficos onívoros, vegetarianos e obesos); além de (2) identificar mudanças no microbioma intestinal após a intervenção de 6 semanas com ácido ursódexílico oral em 21 pacientes com psoríase atendidos o ambulatório de dermatologia da Faculdade de Medicina de Botucatu (FMB), com a intenção de prospectar novas terapêuticas adjuvantes.

Critério de Inclusão:

A população será composta por um grupo controle (será recrutado no ambulatório de dermatologia, entre os acompanhantes dos pacientes) será composto por cinco indivíduos adultos (18-60 anos) do sexo masculino, eutróficos onívoros. O grupo psoríase será composto por 21 pacientes portadores de psoríase nos últimos 15 anos, adultos (18-60 anos) do sexo masculino, sem alterações intestinais na última semana, sendo:

7 portadores de psoríase e artrite, 7 portadores de psoríase extensa, 7 portadores de psoríase obesos. Os pacientes com psoríase serão recrutados

no ambulatório de Dermatologia da Faculdade de Medicina de Botucatu – São Paulo (FMB). A exclusividade do sexo masculino se deve a possíveis

variações do microbioma intestinal quanto ao sexo, tornando os grupos comparativos mais homogêneos. A exclusividade de adultos (18-60 anos)

também é justificada pela importância de homogeneizar a amostra quanto a variações do microbioma devidos ao envelhecimento do trato digestório.

Critério de Exclusão:

Sem alteração na dieta nos últimos três meses, sem comorbidades, sem uso de antibióticos, laxantes e anti-inflamatórios e sem alterações intestinais na última semana; cinco indivíduos adultos (18-60 anos) do sexo masculino, eutróficos vegetarianos há mais de um ano, sem alteração na dieta nos últimos três meses, sem comorbidades, sem comorbidades, sem uso de antibióticos, laxantes e anti-inflamatórios e sem alterações intestinais na última semana e cinco indivíduos adultos (18-60 anos) do sexo masculino, obesos, sem alteração na dieta nos últimos três meses, sem

uso de antibióticos, laxantes, imunossupressores e anti-inflamatórios e sem alterações intestinais na última semana.

Endereço: Chácara Butignolli, s/n

Bairro: Rubião Junior

UF: SP

Município: BOTUCATU

CEP: 18.618-970

Telefone: (14)3880-1609

E-mail: oep@fmb.unesp.br

Continuação do Parecer: 3.743.366

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Caracterizar o microbioma intestinal dos pacientes com psoríase, identificar mudanças no microbioma intestinal após a intervenção com ácido ursódexicólico oral e a gravidade clínica da psoríase.

Objetivo Secundário:

-Descrever as características do microbioma intestinal de pacientes brasileiros com psoríase;-Comparar as características do microbioma intestinal de pacientes brasileiros com psoríase com controles eutróficos, obesos e vegetarianos;-Correlacionar o microbioma intestinal com as formas clínicas de psoríase;-Avaliar o microbioma intestinal nos pacientes com psoríase após suplementação oral do ácido ursódexicólico (300mg) por 6 semanas; -Avaliar a gravidade clínica da psoríase após suplementação oral do ácido ursódexicólico (300mg) durante 6 semanas;-Avaliar a tolerabilidade do ácido ursódexicólico oral nos pacientes com psoríase.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Pode ocorrer diarreia com a ingestão do ácido biliar, os pacientes serão orientados e acompanhados durante o tratamento. É importante ressaltar que o tratamento estabelecido pelo ambulatório de dermatologia será mantido durante o trabalho, não haverá interferência no protocolo habitual, será apenas acrescentado a suplementação com o ácido ursodesoxicólico. No período de intervenção, podem ocorrer efeitos colaterais como fezes

pastosas e diarreia. Estaremos em contato direto para qualquer dúvida ou intercorrência com os pacientes em estudo. Pode haver constrangimento durante a entrevista e coleta de fezes.

Benefícios:

Os resultados deste projeto devem aumentar o conhecimento sobre a doença e aludir ao desenvolvimento de novos tratamentos. Os pacientes com psoríase submetidos à intervenção com ácido ursodesoxicólico irão ter esta suplementação gratuita e assistida pelo médico responsável.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Pesquisa relevante, exequível. Financiamento próprio, com custo de R\$23.150,55.

Endereço: Chácara Butignolli, s/n

Bairro: Rubião Junior

UF: SP

Telefone: (14)3880-1609

Município: BOTUCATU

CEP: 18.618-970

E-mail: cep@fmb.unesp.br

Continuação do Parecer: 3.743.366

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Apresentou documentação obrigatória. Apresentou 3 TCLEs corrigidos, conforme solicitação do Colegiado, anteriormente: a)um para o grupo controle; b) um para a etapa de caracterização do microbioma e da psoríase no momento inicial da pesquisa e c)outro TCLE para a intervenção com o ácido ursodesoxicólico. Anexado documento enviado pelo pesquisador.

Ainda em relação aos TCLE, os TCLE 1 (Grupo controle) e TCLE 2 (Grupo psoríase mas sem esclarecimento sobre a intervenção) consta a informação equivocada que o participante será convidado a participar na pesquisa após já ter sido entrevistado quanto a seus hábitos alimentares e examinado quanto a peso e altura.

Uma observação menor sobre os TCLEs diz respeito ao posicionamento dos dados da orientadora diretamente abaixo do campo dedicado à assinatura do participante, algo que pode gerar alguma confusão. O ideal seria que abaixo da assinatura do participante constasse seu nome e que os dados da orientadora estivessem abaixo dos dados da pesquisadora principal.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Após análise em REUNIÃO ORDINÁRIA, o Colegiado deliberou APROVADO o projeto de pesquisa apresentado.

Considerações Finais a critério do CEP:

Conforme deliberação do Colegiado, em REUNIÃO ORDINÁRIA do Comitê de Ética em Pesquisa FMB/UNESP, realizada em 02/12/2019, o Projeto de Pesquisa encontra-se APROVADO.

O Projeto de Pesquisa deverá ser iniciado após aprovação do CEP.

Ao final da execução da Pesquisa, o Pesquisador deverá enviar o Relatório Final de Atividades, na forma de Notificação, via Plataforma Brasil.

Atenciosamente,

Comitê de Ética em Pesquisa FMB/UNESP

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Endereço: Chácara Butignolli, s/n	CEP: 18.618-970
Bairro: Rubião Junior	
UF: SP	Município: BOTUCATU
Telefone: (14)3880-1609	E-mail: oep@fmb.unesp.br

Continuação do Parecer: 3.743.366

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	tcle_mi.pdf	04/12/2019 09:30:28	SILVANA ANDREA MOLINA LIMA	Aceito
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1390834.pdf	29/11/2019 08:26:57		Aceito
Outros	Cartaresposta.pdf	29/11/2019 08:26:38	Tatiana Cristina Figueira Polo	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLEcorrigidos.pdf	29/11/2019 08:24:48	Tatiana Cristina Figueira Polo	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projetoctrackchanges.pdf	29/11/2019 08:23:56	Tatiana Cristina Figueira Polo	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projetoctrackchanges.pdf	29/11/2019 08:23:19	Tatiana Cristina Figueira Polo	Aceito
Outros	formularios.pdf	31/10/2019 10:50:11	Tatiana Cristina Figueira Polo	Aceito
Outros	regulamento_biorrepositorio.pdf	25/09/2019 14:57:05	Tatiana Cristina Figueira Polo	Aceito
Outros	TermoDeAnuencialInstitucional.pdf	23/07/2019 17:22:30	Tatiana Cristina Figueira Polo	Aceito
Outros	AnuenciaHcfmbSipepdf.pdf	23/07/2019 17:21:32	Tatiana Cristina Figueira Polo	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	AnaliseDgaaSipe240pdf.pdf	23/07/2019 17:21:06	Tatiana Cristina Figueira Polo	Aceito
Folha de Rosto	FolhaDeRostoAssinada.pdf	23/07/2019 17:19:11	Tatiana Cristina Figueira Polo	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: Chácara Butignolli, s/n

Bairro: Rubião Junior

UF: SP

Município: BOTUCATU

CEP: 18.618-970

Telefone: (14)3880-1609

E-mail: oep@fmb.unesp.br



UNESP -FACULDADE DE
MEDICINA DE BOTUCATU



Continuação do Parecer: 3.743.366

BOTUCATU, 04 de Dezembro de 2019

Assinado por:

SILVANA ANDREA MOLINA LIMA
(Coordenador(a))

Endereço: Chácara Butignolli , s/n

Bairro: Rubião Junior

UF: SP

Telefone: (14)3880-1609

Município: BOTUCATU

CEP: 18.618-970

E-mail: cep@fmb.unesp.br

Página 06 de 06

Bactérias implicadas nos estudos de microbioma intestinal e psoríase

Bactérias implicadas nos estudos de microbioma intestinal e psoríase		
Fonte	Bactéria	Função
Gao et al., PloS ONE. 2008; 3:e2719.	<i>Staphylococcus aureus</i>	Psoríase mais grave aumento de th17
Lewis et al.Clin. Dermatol.2019; 97:160-166.	<i>Streptococcus pyogenes</i>	Inflamação sistêmica
Gao et al.PloS ONE. 2008; 3:e2719.	<i>Cutibacterium</i> <i>Staphylococcus epidemidis</i>	Redução de Treg
Shapio et al.J Dermatol.2019;46:595-603	<i>Firmicutes</i> <i>Antinobacteria</i> <i>Blautia</i> <i>Faecalibacterium</i>	Diferença na beta diversidade Aumento nas vias metabólicas na função do LPS
Huang et al.Sci China Life Sci.2019;62:807-15.	<i>Bacteroidetes</i> <i>Antinobacteria</i>	Gravidade da psoríase
Huang et al.Sci China Life Sci.2019;62:807-15.	<i>Veillonella</i>	Aumento de PCR
Hidalgo-Cantabrana et al.Br J Dermatol.2019;181:1287-95.	<i>Antinobacteria</i> <i>Firmicutes</i>	Baixa diversidade bacteriana Diferença na abundancia relativa
Codoner et al.Sci Rep.2018;8:3812.	<i>Akkermansia</i> <i>Faecalibacterium</i> <i>Ruminococcus</i>	Translocação bacteriana Maior estado inflamatório
Eppinga et al.J Crohns Colitis.2016;10:1067-75.	<i>Ecoli</i>	Aumento de PCR Baixa abundancia
Dei- Cas.et al. Sci Rep.2020;10:1-11.	<i>Faecalibacterium</i> <i>Blautia</i> <i>Firmicutes</i> <i>Proteobacteria</i>	Regulação de células Th17 Menor diversidade
Dei- Cas.et al. Sci Rep.2020;10:1-11.	<i>Faecalibacterium prausnitzii</i>	Produtor de butirato
Scher et al.Arthritis Rheumatol.2015;67:128-39.	<i>Coprococcus</i> <i>Akkermansia</i> <i>Ruminococcus</i> <i>Pseudobutyvibrio</i> <i>Bacteroidetes</i>	Maior diversidade bacteriana
Tan et al.Exp Dermatol.2018;27:144-9.	<i>Bacteroides</i> <i>Enterococcus</i>	Ativação de Th17 Obesidade

Produções científicas durante o doutorado

Use of ROC curves in clinical and experimental studies

Aplicações da curva ROC em estudos clínicos e experimentais

Tatiana Cristina Figueira Polo¹  Hélio Amante Miot¹ 

How to cite: Polo TCF, Miot HA. Use of ROC curves in clinical and experimental studies. J Vasc Bras. 2020;19: e20200186.
<https://doi.org/10.1590/1677-5449.200186>

Decision-making in clinical practice and operationalization in research are both dependent on precise and objective definitions of phenomena or outcomes (e.g. sick vs. healthy, severe vs. mild, operable vs. inoperable). However, such classifications are not always direct or unequivocal and secondary elements may be needed for categorization. Moreover, several conditions have more than one system that can be used for diagnosis, such as *diabetes mellitus* (fasting glycemia vs. oral glucose tolerance test), critical ischemia (clinical parameters vs. percentage arterial obstruction), or depression (DSM V criteria vs. the Beck inventory), and each classification has different sensitivity and specificity.¹⁻³

In truth, in the majority of cases the criteria used to classify outcomes are not completely predictive, leading to incorrect classification of a proportion of sick (false negatives) or healthy individuals (false positives), so it is important to compare the effectiveness of the different classification systems.

A series of statistical estimators are used to analyze the performance of classificatory models and one of the most widely used is the receiver operating characteristic (ROC) curve. This is a graphical representation of the performance of a quantitative data model plotting its sensitivity (proportion of true positives) against the proportion of false positives (1-specificity) for different test values.^{4,5} Classificatory systems based on clinical symptoms, diagnostic scales, radiological findings, assays of different substances and, primarily, choice of the optimal cutoff points to maximize the performance of diagnostic tests are the most common applications for ROC curves.⁶⁻¹¹

Figure 1A illustrates an example of a hypothetical test with high sensitivity and high specificity for diagnostic classification. This hypothetical test (test 1) has two distribution curves for the test results of sick and healthy individuals. Point A1 is the value at which best performance is achieved, considering both false positive and false negative rates (the point of maximum

entropy). In turn, point A2 offers maximum specificity, because values higher than this point will not classify any false negatives, while point A3 is the point at which greatest sensitivity is reached, since values below this point will not classify any false positives. A duplex scan of the carotid is one example of a test that has this type of performance, with findings that are highly predictive of carotid stenosis.¹²

The ROC curve for test 1 (Figure 1B) illustrates how sensitivity and specificity vary as cutoff points change, making it easy to identify points A1, A2, and A3. As a cutoff point with higher sensitivity is chosen, the diagnostic classification is unavoidably penalized by lower specificity, and vice-versa.

The closer the ROC curve approaches to the top left corner of the graph, the better the quality of the test in terms of its capacity to discriminate between groups. Moreover, the diagonal reference line on the ROC graph equates to a totally random region, where a test is incapable of classifying either healthy or sick individuals (sensitivity = specificity).

It is also possible to compare the performance of two or more classificatory models (or diagnostic tests) simultaneously using their ROC curves. Figure 2 illustrates two other tests (tests 2 and 3) for classifying sick and healthy individuals. The results curves for test 2 (Figure 2A) illustrate that there is a certain degree of superimposition of values from cases over values from controls, but show that the test performs well at low values (high sensitivity). A D-dimer assay for diagnosis of deep venous thrombosis is one example of a test with this behavior: very low values safely rule out the disease, but high values need additional confirmation (risk of false positive).¹³

On the other hand, test 3 (Figure 2B) adequately classifies sick individuals (high specificity), but is compromised by the possibility of false negatives. The ankle-brachial index is one example of a test with this behavior, since it is highly predictive of cardiovascular outcomes when results are abnormal,

¹ Universidade Estadual Paulista – UNESP, Faculdade de Medicina de Botucatu, Departamento de Dermatologia e Radioterapia, Botucatu, SP, Brasil.

Financial support: None.

Conflicts of interest: No conflicts of interest declared concerning the publication of this article.

Submitted: September 23, 2020. Accepted: September 25, 2020.

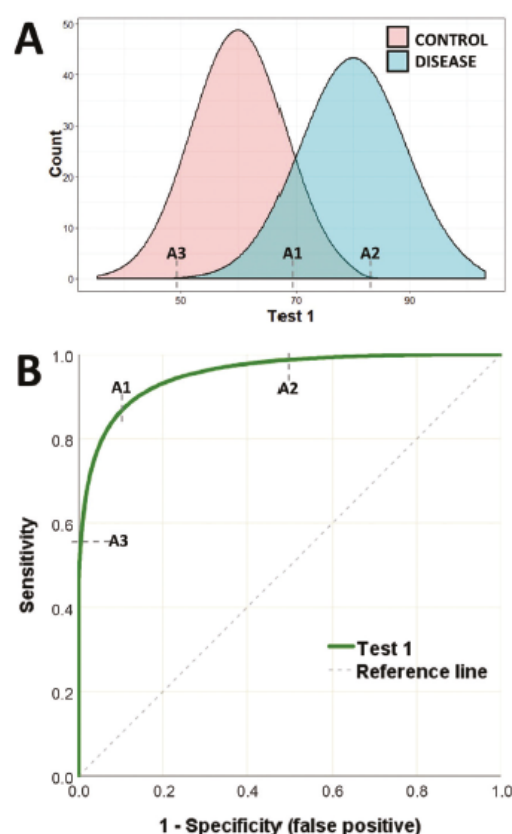


Figure 1. A) Illustration of the distribution curves of results of a hypothetical test to classify patients as sick or healthy. B) ROC curve for the results of test 1 plotting sensitivity against false positive rate. Point A1 is the test value (cutoff point) with greatest sensitivity and specificity (greatest proximity to the upper-left corner of the graph). Point A2 is the test value above which maximum sensitivity is achieved (zero false positive). Point A3 is the point of maximum specificity, below which there will be no false negatives.

but normal results do not rule out this risk.¹⁴ Plotting the ROC curves for tests 1, 2, and 3 (Figure 2C) on the same graph demonstrates at which values sensitivity is optimized as a function of specificity.

In addition to analysis of points along the curve itself, ROC curves can also be used to indicate the dimension of an effect. The indicator most used is the area under the curve (AUC). The AUC is the result of integration of all of the points along the path of the curve and simultaneously computes sensitivity and specificity, offering an estimator of the overall behavior and accuracy of a test.¹⁵ The AUC offers an estimation of the probability of correctly classifying a random subject (test accuracy); an AUC of 0.7 indicates a 70% likelihood of correctly classifying the case. In general, AUC values are interpreted as follows: 0.5-0.6 (failed), 0.6-0.7 (worthless), 0.7-0.8 (poor), 0.8-0.9 (good), > 0.9 (excellent).⁵ There are various algorithms for calculating the AUC: if the

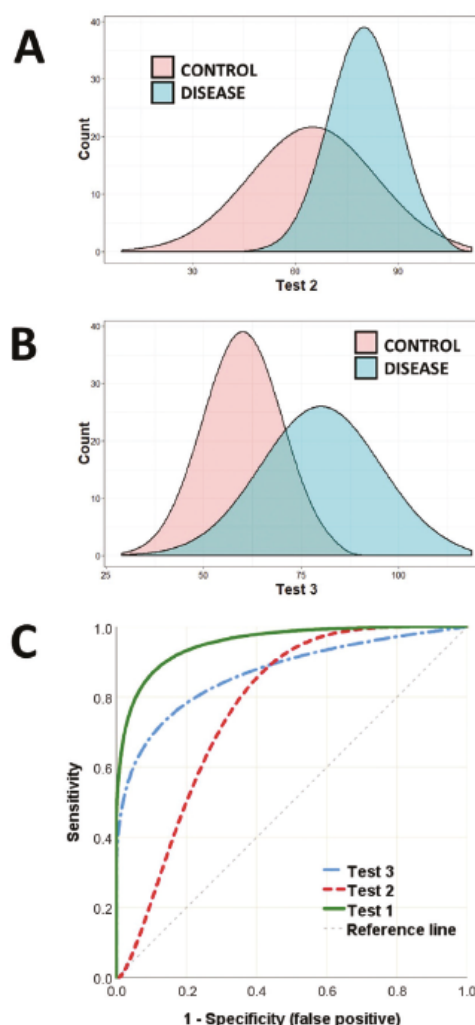


Figure 2. A and B) Illustration of the distribution curves for the results of tests (tests 2 and 3) to classify patients as sick or healthy. C) ROC curves for the results of Tests 1, 2, and 3, plotting their sensitivities against their false positive rates.

ROC curve follows a smooth, curved, and symmetrical path (e.g. Figure 1B), a parametric estimator can be used, but if the curve has “steps” and asymmetries, then a non-parametric method must be chosen, which is more common in biomedical experiments.

The sensitivity and specificity points and the AUC estimate all have inferential properties with standard errors that are dependent on their effect sizes and the sample size. AUC statistics should therefore be presented together with their 95% confidence intervals, enabling comparison with the null hypothesis, for which $AUC = 0.5$.¹⁵

In Figure 2C, it can be observed that test 1 has the best overall performance, with an AUC of 0.96 (95% confidence interval [CI] 0.95-0.97; $p < 0.01$). The AUC for test 2 is 0.77 (95%CI 0.75-0.79; $p < 0.05$) and the AUC for test 3 is 0.87 (95%CI 0.85-0.89; $p < 0.05$).

There are several circumstances in which a test may be chosen for its high sensitivity, even having low specificity (or vice-versa), if it is cheaper or more accessible, which is the case of rapid tests for HIV screening.¹⁶ In the examples, tests 2 and 3 achieve high sensitivity or specificity using specific cutoff values, even though overall performance is not superior to test 1.⁵ Researchers should therefore be careful not to generalize the AUC value as the only measure of test utility. In such situations a partial AUC value can even be calculated, within a set range of test values, maximizing comparability between different classification methodologies. However, such analyses are beyond the scope of this text.¹⁷⁻²⁰

Construction of a ROC curve is not dependent on data following a normal distribution and is not substantially affected by sample asymmetry of positive or negative cases. However, it is fundamentally dependent on unequivocal *a priori* classification of cases and controls, generally using a gold standard diagnostic test or examination (e.g., autopsy or pathology).^{5,21,22} Sample size estimation for studies using ROC curves are primarily dependent on type I and II (power) errors and the estimated AUC for each test.^{23,24} Sample sizes and the most important characteristics of ROC curves can be estimated on-line using tools available on the easyROC website (<http://www.biosoft.hacettepe.edu.tr/easyROC/>).^{23,25}

Use of ROC curves has been extended to evaluation of the performance of multivariate models for diagnosis, prognosis, machine learning (e.g., image or voice recognition), and data mining. Recently, Amato et al.²⁶ conducted a cross-sectional study using clinical information and a bank of images from 110 patients who had undergone angiotomography of the aorta to predict identification of the artery of Adamkiewicz. Using multivariate analysis, they constructed a predictive model and evaluated its discriminatory properties using a ROC curve, showing that it enabled correct identification in 61% of the patients using a combination of nine covariates.

It is also possible to use ROC curves to represent ordinal classifications (e.g., mild, moderate, severe; stage I-IV; intensity from 0 to 4+), rather than binary classes,²⁷ for two or more simultaneous classifications (ROC surface),²⁸⁻³⁰ and the results of ROC curves can be adjusted for other covariates using multivariate models (e.g., multiple logistic regression).³¹ However, these procedures demand input from an experienced statistician.

Finally, ROC curves are a very robust and intuitive option for description and comparison of classification models, in addition to providing support for choice of cutoff points to optimize categorization of phenomena.

When employed in research, the parameters used must be precisely described in the methodology.

REFERENCES

1. Forkmann T, Vehren T, Boecker M, Norra C, Wirtz M, Gauggel S. Sensitivity and specificity of the Beck Depression Inventory in cardiologic inpatients: How useful is the conventional cut-off score? *J Psychosom Res.* 2009;67(4):347-52. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpsychores.2009.04.003>. PMID:19773028.
2. Rodríguez-Morán M, Guerrero-Romero F. Fasting plasma glucose diagnostic criterion, proposed by the American Diabetes Association, has low sensitivity for diagnoses of diabetes in Mexican population. *J Diabetes Complications.* 2001;15(4):171-3. [http://dx.doi.org/10.1016/S1056-8727\(01\)00150-7](http://dx.doi.org/10.1016/S1056-8727(01)00150-7). PMID:11457667.
3. De Los Monteros AE, Parra A, Hidalgo R, Zambrana M. The after breakfast 50-g, 1-hour glucose challenge test in urban Mexican pregnant women: its sensitivity and specificity evaluated by three diagnostic criteria for gestational diabetes mellitus. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 1999;78(4):294-8. <http://dx.doi.org/10.1034/j.1600-0412.1999.780404.x>. PMID:10203295.
4. Hoo ZH, Candlish J, Teare D. What is an ROC curve? *Emerg Med J.* 2017;34(6):357-9. <http://dx.doi.org/10.1136/emered-2017-206735>. PMID:28302644.
5. Metz CE. Basic principles of ROC analysis. *Semin Nucl Med.* 1978;8(4):283-98. [http://dx.doi.org/10.1016/S0001-2998\(78\)80014-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0001-2998(78)80014-2). PMID:112681.
6. Corey D, Chang CK, Cembrowski GS. Disheartened: need ROC curve. *Am J Clin Pathol.* 1984;81(4):542-4. <http://dx.doi.org/10.1093/ajcp/81.4.542b>. PMID:6702761.
7. Barraclough K. Diagnosis: shifting the ROC curve. *Br J Gen Pract.* 2012;62(602):452-3. <http://dx.doi.org/10.3399/bjgp12X653796>. PMID:22947554.
8. Sherwood EM, Bartels PH, Wied GL. Feature selection in cell image analysis: use of the ROC curve. *Acta Cytol.* 1976;20(3):255-61. PMID:775870.
9. Kumar R, Indrayan A. Receiver operating characteristic (ROC) curve for medical researchers. *Indian Pediatr.* 2011;48(4):277-87. <http://dx.doi.org/10.1007/s13312-011-0055-4>. PMID:21532099.
10. Park SH, Goo JM, Jo CH. Receiver operating characteristic (ROC) curve: practical review for radiologists. *Korean J Radiol.* 2004;5(1):11-8. <http://dx.doi.org/10.3348/kjr.2004.5.1.11>. PMID:15064554.
11. Wei RJ, Li TY, Yang XC, Jia N, Yang XL, Song HB. Serum levels of PSA, ALP, ICTP, and BSP in prostate cancer patients and the significance of ROC curve in the diagnosis of prostate cancer bone metastases. *Genet Mol Res.* 2016;15(2):15. <http://dx.doi.org/10.4238/gmr.15027707>. PMID:27323113.
12. Jahromi AS, Cina CS, Liu Y, Clase CM. Sensitivity and specificity of color duplex ultrasound measurement in the estimation of internal carotid artery stenosis: A systematic review and meta-analysis. *J Vasc Surg.* 2005;41(6):962-72. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jvs.2005.02.044>. PMID:15944595.
13. Stein PD, Hull RD, Patel KC, et al. D-dimer for the exclusion of acute venous thrombosis and pulmonary embolism: a systematic review. *Ann Intern Med.* 2004;140(8):589-602. <http://dx.doi.org/10.7326/0003-4819-140-8-200404200-00005>. PMID:15096330.
14. Doobay AV, Anand SS. Sensitivity and specificity of the ankle-brachial index to predict future cardiovascular outcomes: a systematic review. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2005;25(7):1463-9. <http://dx.doi.org/10.1161/01.ATV.0000168911.78624.b7>. PMID:15879302.

15. Hanley JA. Receiver operating characteristic (ROC) methodology: the state of the art. *Crit Rev Diagn Imaging*. 1989;29(3):307-35. PMID:2667567.
16. Kobravi-Deme S, Maurice C, Yavo D, et al. Sensitivity and specificity of human immunodeficiency virus rapid serologic assays and testing algorithms in an antenatal clinic in Abidjan, Ivory Coast. *J Clin Microbiol*. 2001;39(5):1808-12. <http://dx.doi.org/10.1128/JCM.39.5.1808-1812.2001>. PMID:11325995.
17. Hsu MJ, Chang YC, Hsueh HM. Biomarker selection for medical diagnosis using the partial area under the ROC curve. *BMC Res Notes*. 2014;7(1):25. <http://dx.doi.org/10.1186/1756-0500-7-25>. PMID:24410929.
18. Ma H, Bandos AI, Rockette HE, Gur D. On use of partial area under the ROC curve for evaluation of diagnostic performance. *Stat Med*. 2013;32(20):3449-58. <http://dx.doi.org/10.1002/sim.5777>. PMID:23508757.
19. Walter SD. The partial area under the summary ROC curve. *Stat Med*. 2005;24(13):2025-40. <http://dx.doi.org/10.1002/sim.2103>. PMID:15900606.
20. McClish DK. Analyzing a portion of the ROC curve. *Med Decis Making*. 1989;9(3):190-5. <http://dx.doi.org/10.1177/0272989X8900900307>. PMID:2668680.
21. Miot HA. Assessing normality of data in clinical and experimental trials. *J Vasc Bras*. 2017;16:88-91. <http://dx.doi.org/10.1590/1677-5449.041117>. PMID:29930631.
22. Miot HA. Agreement analysis in clinical and experimental trials. *J Vasc Bras*. 2016;15:89-92. <http://dx.doi.org/10.1590/1677-5449.004216>. PMID:29930571.
23. Kawada T. Sample size in receiver-operating characteristic (ROC) curve analysis. *Circ J*. 2012;76(3):768. <http://dx.doi.org/10.1253/circj.CJ-11-1408>. PMID:22251753.
24. Hanley JA, McNeil BJ. A method of comparing the areas under receiver operating characteristic curves derived from the same cases. *Radiology*. 1983;148(3):839-43. <http://dx.doi.org/10.1148/radiology.148.3.6878708>. PMID:6878708.
25. Goksuluk D, Korkmaz S, Zararsiz G, Karaagaoglu AE. easyROC: An interactive web-tool for ROC curve analysis using R language environment. *R J*. 2016;8(2):213-30. <http://dx.doi.org/10.32614/RJ-2016-042>.
26. Amato ACM, Parga Filho JR, Stolf NAG. Development of a clinical model to predict the likelihood of identification of the Adamkiewicz artery by angiotomography. *J Vasc Bras*. 2018;17:19-25. <http://dx.doi.org/10.1590/1677-5449.006317>. PMID:29930677.
27. Miot HA. Analysis of ordinal data in clinical and experimental studies. *J Vasc Bras*. 2020;19:e20200185. <https://doi.org/10.1590/1677-5449.200185>.
28. Yang H, Carlin D. ROC surface: A generalization of ROC curve analysis. *J Biopharm Stat*. 2000;10(2):183-96. <http://dx.doi.org/10.1081/BIP-100101021>. PMID:10803724.
29. Ramos PM, Gumieiro JH, Miot HA. Association between ear creases and peripheral arterial disease. *Clinics (São Paulo)*. 2010;65(12):1325-7. <http://dx.doi.org/10.1590/S1807-59322010001200016>. PMID:21340222.
30. Miot HA, Medeiros LMD, Siqueira CRS, et al. Association between coronary artery disease and the diagonal earlobe and preauricular creases in men. *An Bras Dermatol*. 2006;81:29-33. <http://dx.doi.org/10.1590/S0365-05962006000100003>.
31. Schisterman EF, Faraggi D, Reiser B. Adjusting the generalized ROC curve for covariates. *Stat Med*. 2004;23(21):3319-31. <http://dx.doi.org/10.1002/sim.1908>. PMID:15490426.

Correspondence

Hélio Amante Miot
 Universidade Estadual Paulista - UNESP
 Av. Prof. Mário Rubens Guimarães Montenegro, s/n, Distrito de
 Rubião Junior
 CEP: 18618-687 - Botucatu (SP), Brasil
 Tel: +55 (14) 3882-4922
 E-mail: heliomiot@gmail.com

Author information

TCCP - PhD candidate, Patologia from Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista (UNESP).
 HAM - Tenured professor, Departamento de Dermatologia e Radioterapia, Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista (UNESP).

Correspondence

Concerning the heterogeneity of the studies included in meta-analyses. Comment on: "Effects of hydrolyzed collagen supplementation on skin aging: a systematic review and meta-analysis"

Dear Editor,

The oral supplementation of hydrolyzed collagen (HC) is purported as an effective intervention for improving signs of skin aging, despite controversial results in biomedical literature. Therefore, we read with interest the meta-analysis from de Miranda *et al.*¹ in which they conclude that the ingestion of HC for 90 days is effective in diminishing signs of skin aging because it reduces wrinkles and improves skin elasticity and hydration. Notwithstanding, we have some concerns about the interpretation of the results.

Neither the main research question nor the exclusion criteria of the studies selected were disclosed, hampering the reproducibility of this research.^{2,3} The protocol was not registered in an international database (e.g., PROSPERO) whose external review minimizes the risk of bias. The funding sources of the independent studies were not declared.^{2,3} In addition, the authors utilized multiple outcomes and combined the effects of different measures, leading to incongruous conclusions.

The main forest plots (elasticity, hydration, and roughness) resulted in an $I^2 \geq 93\%$, and this considerable heterogeneity is a major limitation for pooling the results. This was also observed for most of the subgroup analyses, and the two subgroup forest plots in which the heterogeneity was tolerable

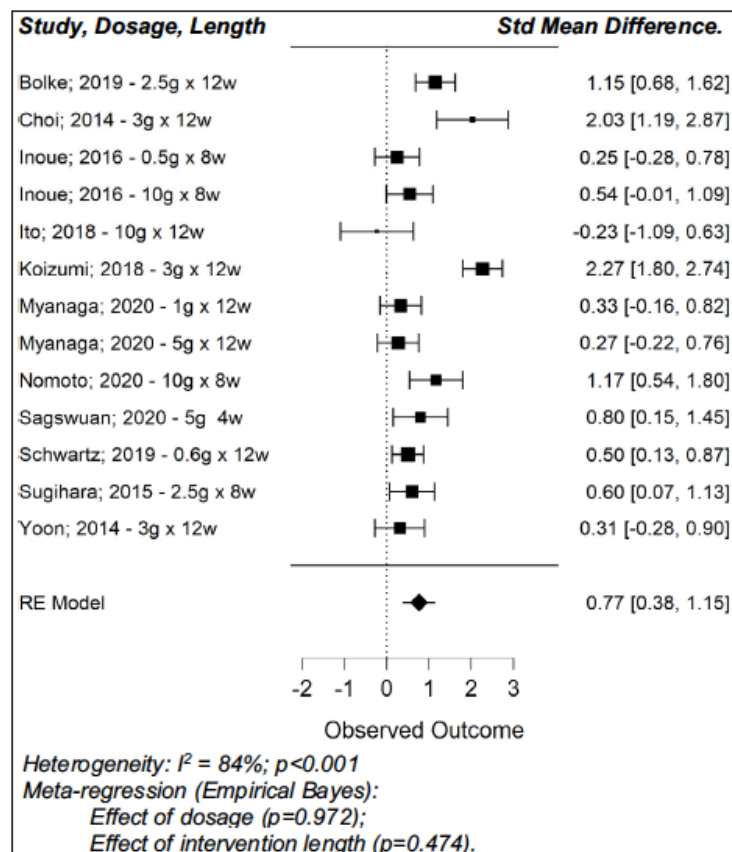


Figure 1 Forest plot for the combined standardized results, dosage, and length of treatment from the included studies evaluating skin elasticity in patients supplemented with hydrolyzed collagen (HC) and patients in the placebo group

1

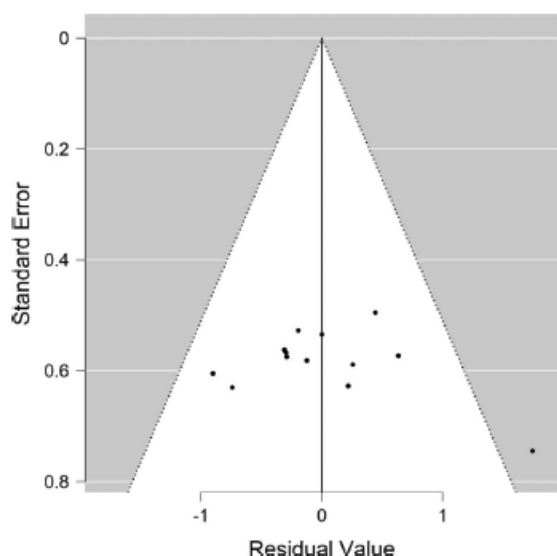


Figure 2 Funnel plot for the combined standardized results of the included studies evaluating skin elasticity in patients supplemented with hydrolyzed collagen (HC) and patients in the placebo group

($I^2 < 60\%$) resulted in no improvement (including the supplementary material).⁴ Furthermore, the authors combined different brands of HC, dosages (500–10 g), association with antioxidants, lengths of intervention (4–12 weeks), age-groups of participants, measurements from different body sites, and small sample size trials ($n < 30$).

As the process of data selection was not clearly described, the analysis of publication bias is impracticable. In addition, the authors did not define which outcome was used to compose the funnel plot, in which asymmetry suggests publication bias; this kind of bias occurs in more than 30% of the meta-analyses in dermatology.⁵

Moreover, the risk of bias in the study was underrated. Most of the selected trials did not use allocation concealment, and the method of randomization, despite Figures 9 and 10, neglected it. Most studies underreported the reasons for drop-outs and missing data and the groups in which they occurred. Additionally, the mean values were mistyped for some analyses (e.g., Figure 3: Koizumi, Proksch, and Yoon).

In an attempt to reanalyze the data on skin elasticity, we excluded the study from Czajka, Genovese, Proksch, and Žmitek because they used different measurement techniques for elasticity, rectified sample sizes and measures, and included a recent publication with 99 adult Japanese women who were randomized to use a placebo or two HC regimens (1 g and 5 g).⁶ Despite the pooled results that indicated improved skin elasticity, the heterogeneity remained high ($I^2 = 84\%$), and the funnel plot still suggested publication bias (Figures 1 and 2). Furthermore, in a meta-regression analysis,

neither dosage nor length of HC use influenced the elasticity results.

Meta-analyses are important in improving the precision of the evidence, especially for controversial issues, such as oral HC for aging skin. Notably, in dermatology, >90% of systematic reviews and meta-analyses are of low quality. Moreover, serious spin was identified in 74% of the abstracts from meta-analyses of atopic dermatitis.^{7–9} As meta-analyses and systematic reviews strongly influence health policies and prescription habits, a critical appraisal of the methods and reporting quality is mandatory.¹⁰

In conclusion, the meta-analysis from de Miranda et al grouped heterogeneous studies and provided spinning conclusions. We recommend the authors change their conclusion to reflect that, “because of the low quality and heterogeneity of the available studies, further large-sample double-blind randomized controlled trials, especially using histological outcomes, are necessary to establish HC effectiveness on skin aging”.

Gabriel Peres¹, MD, MSc, PhD

Mayra Ianhez², MD, PhD

Tatiana C. F. Polo³, MSc, PhD

Luciana P. F. Abbade⁴, MD, MSc, PhD

Hélio A. Miot^{4*}, MD, PhD

¹Dermatology PG Tutor, Learna/University of South Wales, Cardiff, UK

²Departamento de Medicina Tropical e Dermatologia – UFG, Goiânia, Brazil

³Departamento de Patologia, FMB-Unesp, Botucatu, SP, Brazil

⁴Departamento de Dermatologia, FMB-Unesp, Botucatu, SP, Brazil

*E-mail: heliomiot@gmail.com

Conflict of interest: None.

Funding source: None.

doi: 10.1111/ijd.15748

References

- Miranda RB, Weimer P, Rossi RC. Effects of hydrolyzed collagen supplementation on skin aging: a systematic review and meta-analysis. *Int J Dermatol* 2021;(ahead of print). <http://doi.org/10.1111/ijd.15518>
- Shea BJ, Reeves BC, Wells G, et al. AMSTAR 2: a critical appraisal tool for systematic reviews that include randomised or non-randomised studies of healthcare interventions, or both. *BMJ* 2017; **358**: j4008. <http://doi.org/10.1136/bmj.j4008>
- Moher D, Liberati A, Tetzlaff J, Altman DG. Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: the PRISMA statement. *PLoS Med* 2009; **6**: e1000097.
- Crowther M, Lim W, Crowther MA. Systematic review and meta-analysis methodology. *Blood* 2010; **116**: 3140–3146.

- 5 Atakpo P, Vassar M. Publication bias in dermatology systematic reviews and meta-analyses. *J Dermatol Sci* 2016; **82**: 69–74.
- 6 Miyanaga M, Uchiyama T, Motoyama A, *et al*. Oral Supplementation of collagen peptides improves skin hydration by increasing the natural moisturizing factor content in the stratum corneum: a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Skin Pharmacol Physiol* 2021; **34**: 115–127.
- 7 Williams HC. Are dermatology systematic reviews spinning out of control? *Dermatology* 2021; **237**: 493–495.
- 8 Smires S, Afach S, Mazaud C, *et al*. Quality and reporting completeness of systematic reviews and meta-analyses in dermatology. *J Invest Dermatol* 2021; **141**: 64–71.
- 9 Croitoru DO, Huang Y, Kurdina A, *et al*. Quality of reporting in systematic reviews published in dermatology journals. *Br J Dermatol* 2020; **182**: 1469–1476.
- 10 Abuabara K, Freeman EE, Dellavalle R. The role of systematic reviews and meta-analysis in dermatology. *J Invest Dermatol* 2012; **132**: e2.

**IMPACTO DA PANDEMIA (COVID-19) NO COMPORTAMENTO ALIMENTAR
E ROTINA DE ATIVIDADE FÍSICA, NO BRASIL: UM INQUÉRITO BASEADO
NA INTERNET**

*IMPACT OF THE PANDEMIC (COVID-19) ON EATING BEHAVIOR AND PHYSICAL
ACTIVITY ROUTINE IN BRAZIL: AN INTERNET-BASED SURVEY*

Recebido em: 15/03/2021

Aceito em: 28/05/2021

TATIANA CRISTINA FIGUEIRA POLO¹

HÉLIO AMANTE MIOT²

SILVIA JUSTINA PAPINI³

¹Nutricionista, MSc. Doutoranda em Patologia da FMB-Unesp, Botucatu-SP, Brasil
ORCID: 0000-0001-9496-1053.

²Dermatologista, PhD, Professor Adjunto do Departamento de Dermatologia e Radioterapia da
FMB-UNESP, Botucatu, SP, Brasil. ORCID: 0000-0002-2596-9294.

³Nutricionista, PhD, Professora do Departamento de Enfermagem da FMB-UNESP, Botucatu, SP,
Brasil. ORCID: 0000000317141515.

Autor correspondente:

TATIANA CRISTINA FIGUEIRA POLO

E-mail: tatiana.figueira@yahoo.com.br

IMPACTO DA PANDEMIA (COVID-19) NO COMPORTAMENTO ALIMENTAR E ROTINA DE ATIVIDADE FÍSICA, NO BRASIL: UM INQUÉRITO BASEADO NA INTERNET

*IMPACT OF THE PANDEMIC (COVID-19) ON EATING BEHAVIOR AND PHYSICAL
ACTIVITY ROUTINE IN BRAZIL: AN INTERNET-BASED SURVEY*

RESUMO

Redução da mobilidade e de contato interpessoal foram recomendados à população para controle da pandemia (COVID-19). O objetivo foi dimensionar os principais efeitos quanto ao hábito alimentar, atividade física e alteração do peso de brasileiros. Estudo transversal, a partir de dados coletados de inquérito na Internet. Foram representadas prevalências nas alterações de ingestão alimentar e de atividade física; padrões dietéticos revelados por análise de *cluster* e os fatores associados à variação do peso por modelo linear generalizado. Foram avaliados 2.907 participantes, 75% mulheres, idade média de 42 anos. A comparação do peso antes da pandemia, mostrou que 11% dos eutróficos tornaram-se sobrepeso, 23% evoluíram para obesidade e 40% dos que eram ativos, tornaram-se sedentários. Aumentou o consumo de pães, doces, chocolate e vinho. O ganho de peso foi associado à maior faixa etária, sedentarismo, exercício de baixa intensidade, menor escolaridade, dieta ocidental e carboidrato simples. Os principais fatores emocionais relatados foram: ansiedade, medo, estresse, depressão, indisposição, dificuldade para dormir, inatividade física, compulsão alimentar e alteração de humor. Os resultados apontam mudanças no estilo de vida decorrentes da restrição social que implicam em risco para saúde: aumento de peso, sedentarismo, consumo de álcool e dieta com alta densidade energética.

Palavras-chave: infecções por coronavírus; quarentena; estilo de vida; obesidade; sedentarismo.

ABSTRACT

Reduced mobility and interpersonal contacts were recommended to the entire population for the control of the COVID-19 pandemic. The objective of this study was to measure the main effects of this social restriction in terms of eating habits, physical activity, and weight change, of Brazilians. This is a cross-sectional study, based on data collected from an Internet survey. The prevalence of changes in food intake and physical activity was represented. Dietary patterns were revealed using hierarchical cluster analysis. The factors associated with the variation in body weight were explored using a generalized linear model. 2,907 participants were evaluated, 75% of whom were female, and the mean age (sd) was 42 (14) years. As for body weight compared to before the pandemic, 11% of eutrophic people became overweight; and 23% of those who were already overweight, progressed to obesity. As for the practice of physical activity, 40% of those who were active, became sedentary. The foods with the greatest increase in consumption were bread (40%), sweets (39%), chocolate (30%) and wine (27%). Body weight gain was associated with a higher age group, physical inactivity, low-intensity physical activities, less education, adherence to Western standard diets, and simple carbohydrates ($p \leq 0.01$). Factors related to lifestyle changes in the pandemic have been reported, such as: anxiety, fear, stress, depression, malaise, change in family and work routine, difficulty sleeping, physical inactivity, binge eating, insecurity, increased work and change in mood. The results point to changes in lifestyle resulting from social restriction that imply health risk: weight gain, physical inactivity, alcohol consumption, and high energy density diet.

Keywords: coronavirus infections; Quarantine; Lifestyle; obesity; sedentary lifestyle.

INTRODUÇÃO

A COVID-19 é uma doença infecciosa causada pelo coronavírus da síndrome respiratória grave 2 (SARS-CoV-2), que surgiu em dezembro de 2019 na China, e se espalhou para o mundo. Os primeiros registros no Brasil datam de fevereiro de 2020 (WU et al.,2020). Diante da potencial gravidade da doença, alta infectividade e rápida difusão ao redor do planeta, a Organização Mundial de Saúde (OMS) declarou emergência internacional em saúde pública em 11 de março de 2020, implementando medidas de controle e prevenção para contingenciamento da pandemia, entre elas, a restrição de mobilidade e distanciamento social (RODRIGUEZ,2020).

Popularmente denominado “isolamento social”, as principais estratégias para restrição de mobilidade e contato interpessoal, foram o fechamento de escolas, do comércio não essencial e de áreas públicas de lazer. Portanto a população teve que aderir ao isolamento social para prevenção da infecção pelo COVID-19, para atenuar a curva de contágio e reduzir a demanda hospitalar (FARIA,2020).

Dietas com maior aporte de alimentos ultraprocessados, com alto teor de açúcares, gorduras e o sedentarismo, são os principais elementos associados à obesidade, um agravamento em ascensão em todo o mundo, cuja associação com mortalidade cardiovascular e neoplasias, fazem-na um problema prioritário de saúde pública (STREB et al.,2020).

A pandemia, o impacto econômico e o isolamento social contribuíram para o aumento do estresse psicológico e a dificuldade em lidar com a ameaça à saúde, o que corrobora para o descontrole alimentar, compulsão e em alguns casos, dificuldade em se alimentar (VAN et al.,2000). As medidas de controle da mobilidade, com fechamento de academias e locais para a prática de atividade física também levaram à limitação daqueles que estavam motivados a se exercitar de forma regular (BROOKS et al.,2020).

Estas situações de estresse emocional que alteram as práticas alimentares, estimula o consumo de alimentos com maior densidade energética, com alto teor de açúcares, gorduras e ultraprocessados que, associado a diminuição da atividade física são fatores e risco para o aumento de peso de desenvolvimento das doenças crônicas não transmissíveis e neoplasias (STREB et al.,2020).

OBJETIVO

Dimensionar os principais efeitos da restrição de social pela pandemia quanto aos hábitos alimentares, prática de atividade física, e alteração do peso, de brasileiros.

MÉTODOS

Estudo transversal exploratório. O projeto foi aprovado pelo comitê de ética institucional (CAAE: 35562720.4.0000.5411), e conduzido entre 31 julho e 24 agosto de 2020.

Os dados foram obtidos através de um formulário enviado por meio eletrônico, (*whatsapp e facebook*), desenvolvido na plataforma *Google Forms*, foi elaborado pelos pesquisadores, composto por perguntas objetivas sobre modificações do hábito alimentar e prática de atividade física durante o período de isolamento social para o enfrentamento da pandemia COVID-19.

O *link* para acesso e preenchimento do formulário foi distribuído para 510 números de telefones celulares válidos, disponíveis nos contatos dos pesquisadores, convidando-os para participar da pesquisa e solicitando alavancagem do formulário entre os seus contatos pessoais (*snowball sampling*), configurando uma amostra não probabilística com viés de conveniência. Não foi necessário nenhum tipo de identificação dos respondentes e a participação foi voluntária. A pesquisa reuniu dados em meio ao universo da população brasileira, mais especificamente entre aquela que dispõe de algum equipamento digital com acesso à Internet, configurando uma amostra não probabilística com viés de conveniência. Registros duplicados e inconsistentes foram excluídos da análise (MIOT, 2019).

As prevalências das alterações dietéticas e da atividade física foram representadas pelos percentuais e seu intervalo de confiança de 95%. Os padrões de consumo alimentar dos participantes foram avaliados a partir da análise de *cluster* hierárquico, método de Ward (ORMAN, STREINER, 2014). Os pesos relacionados à aderência a cada padrão alimentar dos participantes foi atribuído pelo componente linear de cada padrão identificado.

A variação percentual do peso foi analisada de acordo com sexo, faixa etária, IMC (índice de massa corporal), variação da atividade física e o peso dos padrões alimentares, de forma multivariada, por modelo linear generalizado (análise robusta).

Para representar uma prevalência de 40% nas mudanças no estilo de vida, com um erro-padrão de até 2%, foram estimadas a necessidade de 2.305 entrevistas (erro alfa: 5% e erro beta: 20%) (MIOT, 2011). Essa amostra foi suplementada, visando enriquecer a representatividade de subgrupos (sexo, idade e IMC) para análise multivariada.

Os dados foram analisados no software IBM SPSS 25. O nível de significância foi definido como $p \leq 0.01$.

RESULTADOS

Foram avaliadas 2.907 entrevistas válidas, entre voluntários brasileiros. Os principais dados da amostra estudada estão descritos na tabela 1. Destaque-se a representatividade de diferentes faixas etárias, predominância do sexo feminino e do ensino superior.

Tabela 1: Características demográficas, socioeconômicas e antropométricas dos entrevistados (n=2.907).

Varáveis	Resultados n (%)		
Sexo			
Feminino	2173 (74,8)		
Masculino	734 (25,2)		
Idade (anos)	42,58 (14,4)		
<30	727 (25,0)		
31-60	1825 (62,8)		
>60	355 (12,2)		
Escolaridade			
Ensino Não Superior	237 (8,2)		
Ensino Superior	2670 (91,8)		
IMC (kg/m ²) Antes da pandemia	Média (DP)		
<18,5	25,6 (4,8)		
18,5 a 24,9	59 (2)		
25-29,9	1439 (49,5)		
≥30	930 (32,0)		
Variação do peso (%)	479 (16,5)		
Frequência de atividade física antes da pandemia	1,48 (5,2)		
	n	%	IC 95 %
Nenhuma	1147	39,5	37,7-41,3
≤2x/semana	153	5,3	4,5- 6,1
3-4x/semana	545	18,8	17,4- 20,2
5-7x/semana	1060	36,5	34,8- 38,3

*n (%); ** Média (DP); kg: quilogramas; cm: centímetros; m²: metros quadrados; IMC: Índice de Massa Corporal.

De acordo com os dados de peso e altura relatados, mesmo antes da pandemia, 48,5% da amostra já se apresentava sobrepeso ou obesidade. É baixa frequência de atividade física e alta prevalência de sedentários (39,5%).

Com a pandemia o aumento do peso de, ao menos de 5%, ocorreu em 21,4% da amostra. Considerando-se o índice de massa corporal (IMC), 13% da amostra que estava abaixo do peso (IMC<18,5 kg/m²) passou para eutrofia, 10,9% dos eutróficos (IMC 18,5-24,9 kg/m²) tornaram-se sobrepeso e 23% eram sobrepeso (IMC 24,9-29,9 kg/m²), evoluíram para obesidade (IMC >29,9 kg/m²). Dos 701 (39,9%) participantes que eram ativos, tornaram-se sedentários, enquanto apenas 393 (34,2%) dos sedentários tornaram-se ativos (Tabela 2).

Tabela 2: Alterações no peso corporal e atividade física dos entrevistados (n=2.907)

	n	Percentual (%)	IC 95%
Aumento do peso maior que 10%	149	5,1	4,4-6,0
Aumento do peso maior que 5%	623	21,4	20,0-23,0
Frequência de atividade física na pandemia			
Nenhuma	1454	50,1	48,3-51,9
2x/semana	183	6,3	5,5-7,2
3 – 4x/semana	488	16,8	15,5-18,2
5 – 7x/semana	779	26,8	25,2-28,5
Intensidade da atividade física na pandemia			
Leve	1378	47,4	47,4-82,6
Moderada/Intensa	506	17,4	17,4-100,0

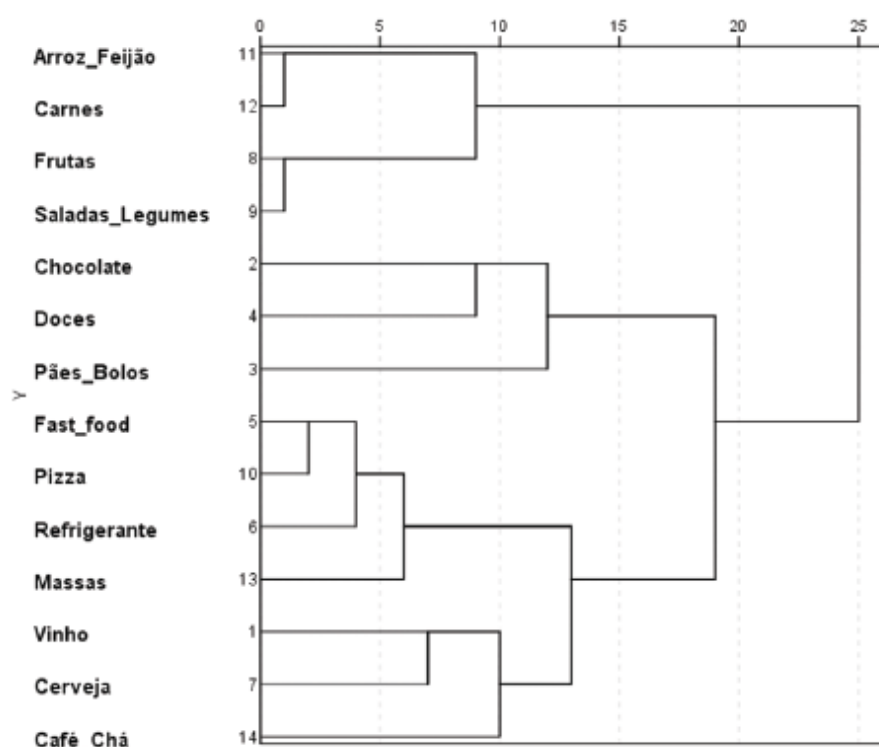
Quanto a alimentação, os alimentos com maior aumento no consumo durante a pandemia estão listados na tabela 3, destaca-se pães, doces, chocolate e vinho.

Tabela 3: Aumento na ingestão alimentar durante a pandemia (n=2.907).

Alimento	n	Porcentagem (%)	IC 95%
Pães/bolos	1150	39,6	37,8-41,3
Doces	1126	38,7	37-40,5
Chocolate	868	29,9	28,2-31,5
Vinho	777	26,7	25,1-28,4
Café/chá	685	23,6	22-25,1
Frutas	639	22,0	20,5-23,5
Saladas/Folhas	623	21,4	20-23
Fast food/lanches	607	20,9	19,4-22,4
Pizza	602	20,7	19,3-22,2
Massas/Macarrão	551	19,0	17,6-20,4
Cerveja	469	16,1	14,8-17,5
Refrigerantes	437	15,0	13,8-16,4
Arroz e feijão	407	14,0	12,8-15,3
Carnes	372	12,8	11,6-14

O dendrograma da figura 1 evidenciou quatro padrões alimentares entre os participantes que foram denominados “saúdável” (arroz, carnes, frutas e saladas), “carboidratos simples” (pães, bolos, doces e chocolate), “ocidental” (*fast-food*, pizza, refrigerantes e massas) e “bebidas estimulantes” (vinho, cerveja e café). Para cada participante foi atribuídos pesos, variando de 0 a 1, dependendo da aderência aos padrões alimentares identificados.

Figura 1. Dendrograma dos padrões do consumo alimentar na pandemia (n = 2.907).



As modalidades de atividade física relatadas pelos participantes foram muito diversificadas e foram consideradas como “Atividade física de lazer/baixa intensidade” os relatos de: exercícios em casa, caminhada, dança, pilates, yoga, hidroginástica, treino funcional, subir escada, trabalho no campo, mobilidade, pesca, método derose, pole dance, alongamento, plataforma vibratória, faxina, serviços domésticos, *jump*, *tai chi chuan*; e, como “Esporte/Exercício físico moderado/alta intensidade”: academia, ciclismo, corrida, natação, *crossfit*, basquete, futebol, *muay thai*, artes marciais, futevôlei, remo, capoeira, e *hiit*.

A análise multivariada (Tabela 4) revelou que as variações do peso corporal se associaram de forma positiva à maior faixa etária, aderência às dietas de padrão ocidental e carboidratos simples porém, se associou inversamente à maior nível de estudo, ao estado nutricional (IMC) pré-pandemia, aderência à dieta saudável, maior frequência e intensidade de atividade física.

Tabela 4. Modelo linear generalizado estimando a variação percentual no peso durante a pandemia, de acordo com as principais covariáveis (n = 2.907).

Variável	Estimador beta	IC 95%	p-valor
Sexo feminino	0,10	-0,33 a 0,20	0,655
Faixa etária			
>60 anos	0,75	0,16 a 1,34	0,013
31 a 60 anos	0,78	0,33 a 1,23	0,001
<30 anos	1,00	(-)	
Ensino superior	-2,07	-2,86 a -1,28	<0,001
IMC pré-pandemia	-0,10	-0,14 a -0,05	<0,001
Intensidade da atividade			
Moderada / alta	-1,79	-2,30 a -1,28	<0,001
Baixa intensidade	-1,26	-1,70 a -0,82	<0,001
Sem atividade	1,00	(-)	
Atividade física >2x/sem	-0,57	-0,97 a -0,17	0,006
Padrões alimentares			
Occidental	3,50	4,29 a 7,59	<0,001
Carboidratos simples	3,59	4,17 a 14,24	<0,001
Bebidas estimulantes	0,70	1,38 a 4,14	0,042
Saudável	-2,41	-3,16 a -1,67	<0,001

p(modelo) < 0,01; p(intercepto) < 0,01; IMC: índice de massa corporal.

Quanto a questão aberta, ao final do formulário os principais pontos relacionados à mudança do estilo de vida na pandemia, levantados pelos entrevistados foram: ansiedade, medo, estresse, depressão, indisposição, mudança na rotina da família e do trabalho, dificuldade para dormir, inatividade física, compulsão alimentar, insegurança, aumento do trabalho e alteração de humor.

DISCUSSÃO

Desde a gripe espanhola há mais de um século, a humanidade como um todo não teve de lidar com uma pandemia, cuja necessidade de isolamento social e os agravos psicológicos refletiram diretamente no estilo de vida das pessoas, especialmente nos hábitos alimentares e a prática de atividade física.

O isolamento social pode influenciar na ingestão alimentar, no gasto de energia, afetar o balanço energético e contribuir para o ganho de peso (BHUTANI, COOPER, 2020). Quando o valor calórico ingerido é superior ao gasto, o balanço energético diário torna-se positivo, promovendo aumento do estoque de energia em forma de gordura, por consequência ocorre ganho de massa corporal gorda. A longo prazo, predispõe à obesidade, condição que já é considerada uma epidemia mundial, independente da situação econômica ou social. Doenças cardiovasculares e metabólicas, como a resistência à insulina, hipertensão, diabetes, aterosclerose, dislipidemia e doenças inflamatórias crônicas (POLO et al., 2020), são associadas à obesidade, além disso, obesidade e diversas comorbidades estão associadas a um pior prognóstico em casos de COVID-19 (SIMONNET et al., 2020).

No Brasil, mais de um quinto da população é obesa, a proporção de obesidade entre adultos passou de 12,7% em 1996 para 33,1% em 2016, sendo 25,4% mulheres e 18,5% homens adultos, 11% das crianças brasileiras são obesas. Nos Estados Unidos a obesidade atinge 34,2% da população adulta. De acordo com a Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico (OCDE), a previsão para 2020 – 2050, o excesso de peso irá reduzir a expectativa de vida dos brasileiros em média de três anos, porém, este estudo foi publicado em 2019, antes da pandemia, possivelmente esse números podem ser ainda maiores que os estimados, devido à combinação de modificações de hábitos promovidas pelo isolamento social e o ônus econômico da pandemia. Apesar da definição de fatores genéticos ligados à obesidade, o importante aumento da sua prevalência, nos últimos 20 anos, nos países desenvolvidos, é imputado a fatores comportamentais, como a inadequação na dieta e sedentarismo(JAACKS et al.,2019).

O presente estudo demonstrou aumento do peso corporal e principalmente aumento da prevalência de obesidade entre os participantes, durante a pandemia. O ganho de peso associou-se com o comportamento alimentar, devido ao aumento do consumo de alimentos com maior densidade energética, ricos em açúcares, gorduras e calorias, que são associados a doenças cardiovasculares, hipertensão, diabetes e obesidade (SALLIS et al.,2020).

A dieta tipo ocidental e a inatividade física, além de serem fatores de risco para doenças cardiovasculares e neoplasias, estão diretamente associadas ao ganho de peso corporal(ZINÖCKER, LINDSETH, 2018). Nesse estudo, a dieta ocidental foi associada ao aumento do peso corporal, assim como maior faixa etária e a ingestão de carboidratos simples. A taxa metabólica cai com a idade, e o estresse psicológico ocasionado pela restrição social, medo, tristeza e insegurança econômica, podem desencadear alterações orgânicas, principalmente devido ao estímulo de cortisol e a grelina (aumento do apetite), ao mesmo tempo, o estresse reduz os níveis de leptina. Este desequilíbrio é associado ao acúmulo de gordura abdominal e perda de massa magra(TOMIYAMA,2019).

A pandemia também promoveu grande morbidade psicológica na população, principalmente nas dimensões afetivas e da ansiedade, o que podem refletir no comportamento alimentar(DUARTE, et al.,2020). Este estudo apontou aumento da ingestão de álcool (cerveja e vinho), massas, bolos e doces, relatados pelos entrevistados, um comportamento bastante usual em transtornos de ansiedade ou depressão. A sensação de bem-estar referida pela ingestão de alguns alimentos ocorre pela ação do triptofano, um aminoácido essencial que produz a serotonina, que é um neurotransmissor que atua na regulação do humor, sono, apetite e temperatura corporal(STRASSER,2016). A disponibilidade de carboidratos também aumenta a penetração de triptofano através da barreira hemato-encefálica(ROSSI, TIRAPEGUI,2004). Entretanto, o excesso na ingestão desses alimentos pode desencadear outras comorbidades, em especial a obesidade(SILVA, et al.,2015).

Uma pesquisa *online* conduzida por Malta e colaboradores, no Brasil, durante a pandemia da COVID19, também evidenciou aumento no consumo de açúcares, gorduras e calorias, principalmente por alimentos ultraprocessados e de alta densidade energética, como batatas fritas, pipoca, chocolates, sorvetes e álcool (MALTA, et al., 2020).

Na China (Hubei), uma pesquisa *online*, mostrou grande incremento na ingestão de álcool, imputado ao isolamento social por consequência do aumento da ansiedade, depressão e redução do bem-estar mental, além disso os autores também fazem um alerta para o desenvolvimento ou agravamento de transtornos psicológicos associados ao isolamento social (AHMED et al., 2020).

Em nossa amostra, vale ressaltar que alguns participantes conseguiram adotar (ou manter) bons hábitos dietéticos e de atividade física, consequentemente, verificaram-se perda ou manutenção do peso corporal. De fato, a nutrição é parte importante na promoção de saúde física e mental. Para a população brasileira, recomenda-se que a dieta seja composta em maior parte por alimentos *in natura* ou minimamente processados, com destaque para a diversidade e quantidade adequada, de forma constante (BJØRNARÅ et al., 2019).

A atividade física é outro baluarte para a promoção da saúde coletiva, por reduzir sintomas de ansiedade e depressão, pressão arterial, dor crônica, níveis de glicose e insulina, além de estimular a taxa metabólica basal, evitando o ganho de peso (DIAMOND, 2000).

De acordo com o Colégio Americano de Medicina do Esporte, a prática regular de exercícios físicos (com intensidades e volumes moderados) é recomendada para todos os indivíduos, até mesmo os de grupo de risco para COVID-19, pois a melhora da homeostase promovida pelo exercício tem potencial de favorecer a resposta orgânica à infecção, além de atuar na prevenção de morbidades psicológicas e cardiovasculares dos indivíduos restritos pelo isolamento social (LADDU et al., 2020). CHEN et al., 2020, foram os primeiros a relatar a importância da prática de atividade física durante a pandemia da COVID-19 e teve como base a cidade de Wuhan (China), posteriormente pesquisadores americanos e espanhóis (JIMÉNEZ et al., 2020).

No presente estudo, 39,9% participantes que eram ativos, tornaram-se sedentários e consequentemente esta mudança refletiu no ganho de peso e pode propiciar risco à saúde dessas pessoas.

No Brasil, Pitanga et al., 2020 enfatizaram a importância de reduzir o comportamento sedentário (tempo sentado, deitado ou reclinado em frente a televisão) durante a pandemia e que a necessidade da atividade física fosse considerada essencial, além de destacar como forma de reduzir os impactos da pandemia a mudança no estilo de vida, com alimentação saudável e prática regular de atividade física.

Este estudo apresenta limitações ligadas à amostragem não randomizada, restringindo sua generalização para toda a população do Brasil, o que não impediu de se explorar associações internas, entre os subgrupos. Da mesma forma, o grande componente de participantes ingressos no ensino superior, deve alertar para um viés de seleção de pessoas com maior status socioeconômico, o que é esperado pelo acesso à tecnologia necessária para inquéritos baseados na Internet.

É importante ressaltar que a pesquisa *online* é um método promissor, principalmente para rastrear comportamentos e doenças em situações de mobilidade reduzida, tais como a imposta pela pandemia, além de ser de baixo custo de operacionalização (SIDOR, RZYMSKI, 2020) (ALI et al., 2020).

As alterações alimentares, consumo de álcool, do peso corporal e de prática de atividade física observadas nesta pesquisa, apontam comportamentos de risco para saúde. Dessa forma é essencial utilizar os dados coletados para alertar a população e profissionais da saúde para estratégias a fim de reverter e/ou minimizar os prejuízos ocasionados durante este processo. Tanto a morbidade psicológica (ansiedade, depressão), como os impactos no peso corporal e sedentarismo devem, potencialmente, refletir na emergência posterior de eventos cardiovasculares na população, especialmente, infarto do miocárdio e acidente vascular cerebral. Que devem ser avaliados, após o final da pandemia, de acordo com os indicadores de mortalidade.

CONCLUSÃO

O processo de isolamento social e os agravos psicológicos decorrentes da pandemia de COVID-19 refletiram no comportamento alimentar e rotina de atividade física da amostra estudada.

O aumento de peso, verificado em mais de 20% dos participantes, associou-se à faixa etária mais avançada, ao padrão alimentar, à frequência e à intensidade de atividade física, durante a pandemia. A adoção de um estilo de vida saudável deve ser promovida para toda população a fim de se garantir bem-estar físico, psicológico e favorecer a homeostase orgânica, tanto para o enfrentamento da atual pandemia (COVID-19), quanto para a adaptação ao período de retomada das atividades.

REFERÊNCIAS

- AHMED MZ, AHMED O, AIBAO Z, HANBIN S, SIYU L, AHMAD A. Epidemic of COVID-19 in China and associated Psychological Problems. *Asian J Psychiatry*. 2020;(51):102092.
- ALI SH, FOREMAN J, CAPASSO A, JONES AM, TOZAN Y, DICLEMENTE RJ. Social media as a recruitment platform for a nationwide online survey of COVID-19 knowledge, beliefs, and practices in the United States: methodology and feasibility analysis. *BMC Med Res Methodol*. 2020;20(1):116.
- BHUTANI S, COOPER JÁ, et al. COVID19–Related Home Confinement in Adults: Weight Gain Risks and Opportunities. *Obesity*. 2020;28(9):1576–7.
- BJØRNARÅ HB, TORSTVEIT MK, BERE E. Healthy and sustainable diet and physical activity: the rationale for and experiences from developing a combined summary score. *Scand J Public Health*. 2019;47(5):583–91.
- BROOKS SK, WEBSTER RK, SMITH LE, WOODLAND L, WESSELY S, GREENBERG N. The psychological impact of quarantine and how to reduce it: rapid review of the evidence. *The Lancet*. 2020;395(10227):912–20.
- CHEN P, MAO L, NASSIS GP, HARMER P, AINSWORTH BE, LI F. Coronavirus disease (COVID-19): The need to maintain regular physical activity while taking precautions. *J Sport Health Sci*. 2020;9(2):103–4.
- DIAMOND A. Close Interrelation of Motor Development and Cognitive Development and of the Cerebellum and Prefrontal Cortex. *Child Dev*. 2000;71(1):44–56.
- DUARTE M DE Q, SANTO MA DA S, LIMA CP, GIORDANI JP, TRENTINI CM. COVID-19 e os impactos na saúde mental: uma amostra do Rio Grande do Sul, Brasil. *Ciênc Saúde Coletiva*. 2020;25(9):3401–11.
- FARIAS HS DE. O avanço da covid-19 e o isolamento social como estratégia para redução da vulnerabilidade. 2020;(17):11357.
- JAACKS LM, VANDEVIJVERE S, PAN A, MCGOWAN CJ, WALLACE C, IMAMURA F. The obesity transition: stages of the global epidemic. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2019;7(3):231–40.
- JIMÉNEZ-PAVÓN D, CARBONELL-BAEZA A, LAVIE CJ. Physical exercise as therapy to fight against the mental and physical consequences of COVID-19 quarantine: Special focus in older people. *Prog Cardiovasc Dis*. 2020;63(3):386–8.
- LADDU DR, LAVIE CJ, PHILLIPS SA, ARENA R. Physical activity for immunity protection: Inoculating populations with healthy living medicine in preparation for the next pandemic. *Prog Cardiovasc Dis*. 2020;(33):785.
- MALTA DC, SZWARCOWALD CL, BARROS MB DE A, GOMES CS, MACHADO ÍE, JÚNIOR PRB DE S. A pandemia da COVID-19 e as mudanças no estilo de vida dos brasileiros adultos: um estudo transversal, 2020;1244.
- MIOT HA. Valores anômalos e dados faltantes em estudos clínicos e experimentais. *J Vasc Bras*. 2019;(18):e0004.

MIOT HA. Sample size in clinical and experimental studies. *J Vasc Bras*. 2011;(10):275-8.

ORMAN GR, STREINER DL. Biostatistics: the bare essentials. 4th ed. Connecticut: People's Medical Publishing House; 2014.

PITANGA FJG, BECK CC, PITANGA CPS. Should Physical Activity Be Considered Essential During the COVID-19 Pandemic? *Int J Cardiovasc Sci*. 2020;(2)359-564.

POLO TCF, CORRENTE JE, MIOT LDB, PAPINI SJ, MIOT HA. Dietary patterns of patients with psoriasis at a public healthcare institution in Brazil. *An Bras Dermatol*. 2020;95(4):452-8.

RODRIGUEZ-MORALES AJ, GALLEGOS V, ESCALERA-ANTEZANA JP, MÉNDEZ CA, ZAMBRANO LI, FRANCO-PAREDES C. COVID-19 in Latin America: The implications of the first confirmed case in Brazil. *Travel Med Infect Dis*. 2020;35:101613.

ROSSI L, TIRAPEGUI J. Implicações do sistema serotoninérgico no exercício físico. *Arq Bras Endocrinol Metabol*. 2004;48(2):227-33.

SALLIS JF, ADLAKHA D, OYEYEMI A, SALVO D. An international physical activity and public health research agenda to inform coronavirus disease-2019 policies and practices. *J Sport Health Sci*. 2020;9(4):328-34.

SIDOR A, RZYMSKI P. Dietary Choices and Habits during COVID-19 Lockdown: Experience from Poland. *Nutrients*. 2020;12(6):1657.

SILVA CS, DIAS VR, ALMEIDA JAR, BRAZIL JM, SANTOS RA, MILAGRES MP. Effect of Heavy Consumption of Alcoholic Beverages on the Perception of Sweet and Salty Taste. *Alcohol Alcohol*. 2015;51(3):302-6.

SIMONNET A, CHETBOUN M, POISSY J, RAVERTY V, NOULETTE J, DUHAMEL A. High Prevalence of Obesity in Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus2 (SARS-CoV2) Requiring Invasive Mechanical Ventilation. *Obesity*. 2020;28(7):1195-9.

STRASSER B, GOSTNER JM, FUCHS D. Mood, food, and cognition: role of tryptophan and serotonin. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2016;19(1):55-61.

STREB AR, DUCA GFD, SILVA RP DA, BENEDET J, MALTA DC. Simultaneidade de comportamentos de risco para a obesidade em adultos das capitais do Brasil. *Ciênc Saúde Coletiva*. 2020;25(8):2999-3007.

TOMIYAMA AJ. Stress and Obesity. *Annu Rev Psychol*. 2019; 470(1):703-18.

VAN REETH O, WEIBEL L, SPIEGEL K, LEPROULT R, DUGOVIC C, MACCARI S. Physiology of sleep (review)—Interactions between stress and sleep: from basic research to clinical situations. *Sleep Med Rev*. 2000;4(2):201-19.

WU F; ZHAO S; YU B; CHEN Y-M; WANG W; SONG Z-G. A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. *Nature*. 2020;579(7798):265-9.

ZINÖCKER M, LINDSETH I. The Western Diet—Microbiome-Host Interaction and Its Role in Metabolic Disease. *Nutrients*. 2018;10(3):365.