



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE CIÊNCIAS APLICADAS



Isabela Solar

**Ácidos graxos de cadeia curta nos fenótipos metabólicos da
obesidade: Associações com consumo dietético, composição corporal e
componentes das homeostases energética e glicêmica**

Limeira

2020



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE CIÊNCIAS APLICADAS



Isabela Solar

**Ácidos graxos de cadeia curta nos fenótipos metabólicos da
obesidade: Associações com consumo dietético, composição corporal e
componentes das homeostases energética e glicêmica**

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Aplicadas da Universidade Estadual de Campinas como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de Mestra em Ciências da Nutrição e do Esporte e Metabolismo, na área de Ciências Nutricionais e Metabolismo.

Orientadora: Profa. Dra. Ana Carolina Junqueira Vasques

Co-orientador: Prof. Dr. Bruno Geloneze Neto

Esse trabalho corresponde a versão final da dissertação defendida pela aluna Isabela Solar e orientada pela Prof^a Dr^a Ana Carolina Junqueira Vasques.

Limeira

2020

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca da Faculdade de Ciências Aplicadas
Renata Eleuterio da Silva - CRB 8/9281

So42a Solar, Isabela, 1995-
Ácidos graxos de cadeia curta nos fenótipos metabólicos da obesidade : associações com consumo dietético, composição corporal e componentes das homeostases energética e glicêmica / Isabela Solar. – Limeira, SP : [s.n.], 2020.

Orientador: Ana Carolina Junqueira Vasques.
Coorientador: Bruno Geloneze Neto.
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Ciências Aplicadas.

1. Ácidos graxos de cadeia curta. 2. Obesidade. 3. Metabolismo. 4. Homeostase. 5. Adiposidade. 6. Alimentos - Consumo. I. Vasques, Ana Carolina Junqueira, 1983-. II. Geloneze Neto, Bruno. III. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Aplicadas. IV. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em outro idioma: Short chain fatty acids in obesity metabolic phenotypes : associations with dietetic consumption, body composition and components of energy and glycemic homeostasis

Palavras-chave em inglês:

Short chain fatty acids
Obesity metabolic phenotypes
Obesity
Homeostasis
Adiposity
Food consumption

Área de concentração: Ciências Nutricionais e Metabolismo

Titulação: Mestra em Ciências da Nutrição e do Esporte e Metabolismo

Banca examinadora:

Ana Carolina Junqueira Vasques [Orientador]

Patrícia de Oliveira Prada

Ana Carolina Franco de Moraes

Data de defesa: 17-07-2020

Programa de Pós-Graduação: Ciências da Nutrição e do Esporte e Metabolismo

Identificação e informações acadêmicas do(a) aluno(a)

- ORCID do autor: <https://orcid.org/0000-0003-3500-1567>

- Currículo Lattes do autor: <http://lattes.cnpq.br/3963314259765643>

FOLHA DE APROVAÇÃO

Autor(a): Isabela Solar

Título: Ácidos graxos de cadeia curta nos fenótipos metabólicos da obesidade: associações com consumo dietético, composição corporal e componentes das homeostases energética e glicêmica.

Natureza: Dissertação

Área de Concentração: Nutrição

Instituição: Faculdade de Ciências Aplicadas – FCA/Unicamp

Data da Defesa: Limeira/SP, 17 de julho de 2020.

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dra. Ana Carolina Junqueira Vasques (orientador)
Faculdade de Ciências Aplicadas - FCA/Unicamp

Prof. Dra. Patricia de Oliveira Prada (membro)
Faculdade de Ciências Aplicadas - FCA/Unicamp

Prof. Dra. Ana Carolina Franco de Moraes (membro externo)
Universidade de São Paulo

A Ata de Defesa com as respectivas assinaturas dos membros da banca examinadora encontra-se no processo de vida acadêmica do aluno(a).

DEDICATÓRIA

*À Deus, aos meus pais, meu
namorado e família, por terem me
apoiado nessa longa caminhada.*

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço à Deus por me conceder discernimento, capacidade, determinação e disciplina para seguir a diante frente a todos os obstáculos da vida.

Aos meus queridos pais, aos quais sou eternamente grata, por estarem sempre ao meu lado, ouvirem minhas angústias, meus desesperos e me dar muito carinho e amor. Sem vocês não seria o que sou hoje. E, também a toda a minha família, avós, tios e primos, por acreditarem no meu potencial.

Ao meu amado e querido namorado Jansen por sempre me ajudar, me dar carinho, amparo e me incentivar a seguir a carreira acadêmica. Grata por todos os conselhos e incentivos durante esse longo tempo de companheirismo.

À minha querida orientadora e amiga Prof^a Ana Carolina Junqueira Vasques por me aceitar como aluna e por esse longo período de parceria, sempre muito compreensiva e atenta as minhas dificuldades. Grata por ser uma pessoa maravilhosa, exemplo de nutricionista, muito paciente, cuidadosa, carinhosa, inteligente e gentil. Tenho muito orgulho por ter sido orientada por você.

Ao meu renomado e competente co-orientador Prof.^o Bruno Geloneze, sempre me incentivando a aprimorar minhas apresentações, com muita paciência. Você é exemplo de profissionalismo e experiência na área de obesidade.

Às minhas queridas e melhores amigas de laboratório Francieli Barreiro e Luciana Yamashita. Vocês foram responsáveis para que o mestrado fosse mais leve, divertido e maravilhoso. Com certeza nossa amizade será eterna, muito grata por vocês sempre me apoiarem, ouvirem todos os meus desabafos e não me excluïrem na hora do café, mesmo eu não gostando de café.

À toda equipe do Nutri-HS, Renata, Francieli, Alfredo, Najla, Marina, Camila e Vinícius, por demonstrarem muito profissionalismo, serem muito competentes e alegres. Formamos uma família.

À minha querida amiga Maria Eduarda, grande parceira de mestrado. Com certeza, uma amizade que levarei sempre em meu coração. Grata pelo companheirismo.

À toda a equipe do Laboratório de Investigação em Metabolismo e Diabetes (LIMED), principalmente a querida enfermeira Daniella Regiane e ao biólogo Antônio por sempre me ajudarem em todas as dificuldades e compartilharem experiências.

Às nossas queridas voluntárias, por estarem sempre dispostas a contribuir com a pesquisa e, principalmente, por terem paciência de ficarem o período inteiro da manhã em nosso laboratório.

À toda equipe do Centro de Investigação em Pediatria (CIPED) da UNICAMP e ao Laboratório de Parasitologia do Hospital de Clínicas da Unicamp pela parceria estabelecida.

Ao Prof. Dennys Cintra por me ajudar intensamente na quantificação dos ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), além de todo o apoio oferecido pelas alunas do Laboratório de Genômica Nutricional (LabGeN), Susana, Camila, Marcella e Thayane e à Thamires, do Laboratório de Nutrientes e Reparo Tecidual (LabNutre).

Ao Programa do Pós-Graduação de Ciências da Nutrição, do Esporte e do Metabolismo (CNEM) pela excelência do programa oferecido. E, à toda Faculdade de Ciências Aplicadas (FCA) e Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP) por toda a receptividade de sempre.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

À FAPESP – Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Processo nº 2017/24578-2) pelo apoio financeiro essencial para realização dessa pesquisa.

E, por fim, a todos que contribuíram de alguma maneira para a excelência e conclusão da pesquisa.

EPÍGRAFE

*“Feliz aquele que transfere o que sabe e
aprende o que ensina”*

Cora Coralina

*“A mente que se abre a uma nova ideia
jamais voltará ao seu tamanho
original”*

Albert Einstein

RESUMO

Introdução: A obesidade é uma doença crônica, caracterizada pelo acúmulo excessivo de tecido adiposo, que se apresenta sob diversos fenótipos. Há indivíduos obeso/sobrepeso metabolicamente saudáveis (*metabolically healthy obese* - MHO), obeso/sobrepeso metabolicamente não saudáveis (*metabolically unhealthy obese* - MUO), e peso normal metabolicamente não saudáveis (*metabolically unhealthy normal weight* - MUNW). Os mecanismos fisiopatológicos subjacentes ao desenvolvimento de cada fenótipo encontram-se parcialmente elucidados. Evidências sugerem que a microbiota intestinal modula as homeostases energética e glicêmica via produção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), produzidos a partir da fermentação de fibras dietéticas pela microbiota intestinal. **Objetivo:** Comparar as concentrações fecais de AGCC entre os fenótipos MHO, MUO, MUNW e um grupo com peso normal metabolicamente saudável, e investigar a associação dos AGCC com adiposidade corporal, componentes das homeostases energética e glicêmica e consumo alimentar. **Métodos:** Estudo transversal, parte do *Nutritionists' Health Study*, com 111 mulheres em idade fértil, distribuídas entre os quatro fenótipos metabólicos. Mulheres com IMC < 25 kg/m² foram classificadas como peso normal e ≥ 25 kg/m² como obeso/sobrepeso. A definição de saúde metabólica levou em consideração a ausência de alterações nos níveis pressóricos, glicêmicos, lipêmicos e de doença cardiovascular. Foi realizada a avaliação de composição corporal por DEXA. Os componentes das homeostases energética (gasto energético de repouso, flexibilidade metabólica e taxa de oxidação de substratos) e glicêmica (resistência à insulina, secreção de insulina e GLP-1) foram avaliados no teste de refeição padrão mista associado à calorimetria indireta com protocolo de 180 minutos. O consumo alimentar (energia, macronutrientes e fibras) foi avaliado por questionário de frequência alimentar. Os AGCC foram quantificados nas fezes por cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas. **Resultados:** As participantes tinham em média 28 ± 5 anos e 25,6 ± 5,0 de IMC e a frequência dos fenótipos foi de 33,9% peso normal metabolicamente saudável, 15,3% MUNW, 25,4% MHO e 25,4% MUO. As concentrações de AGCC não diferiram entre os quatro fenótipos. Houve associação inversa entre as concentrações de propionato e butirato e os níveis de IMC e adiposidade central. Propionato e acetato associaram-se inversamente com AUC de glicemia; propionato correlacionou positivamente com o índice insulinogênico e com a AUC de GLP-1. Os AGCC totais e acetato correlacionaram positivamente com o gasto energético de repouso (GER); e propionato e butirato correlacionaram positivamente com GER ajustado para peso corporal. O propionato correlacionou inversamente com a taxa de oxidação de carboidratos no jejum, e os AGCC totais, propionato e butirato fecais obtiveram correlação positiva com a taxa de oxidação de lipídeos 60 min. após o consumo da refeição padrão. Não houve associação entre o consumo alimentar e os AGCC. **Conclusão:** Os achados não sustentam que a determinação de AGCC nas fezes ajude a diferenciar os fenótipos metabólicos. No entanto, maiores concentrações de AGCC fecal estiveram associadas com menor acúmulo de adiposidade corporal principalmente central, maiores taxas de GER e de oxidação de lipídeos e níveis de GLP-1 no período pós-prandial, em paralelo a uma melhor função de célula-beta, e menor incursão glicêmica após o estímulo oral. **Palavras chaves:** Ácidos graxos de cadeia curta; Fenótipo metabólico da obesidade; Obesidade; Adiposidade; Homeostase energética; Homeostase glicêmica; Consumo alimentar.

ABSTRACT

Introduction: Obesity is a chronic disease, characterized by excessive accumulation of fat tissue, which presents itself under several phenotypes. There are individuals metabolically healthy obese - MHO, metabolically unhealthy obese - MUO and metabolically unhealthy normal weight - MUNW. The pathophysiological mechanisms underlying the development of each phenotype are partially elucidated. Evidence suggests that the intestinal microbiota modulates the energy and glycemic homeostasis via the production of short-chain fatty acids (SCFA), produced through the fermentation of dietary fibers by the intestinal microbiota. **Objective:** Compare the fecal concentrations of SCFA between the phenotypes MHO, MUO, MUNW and a metabolically healthy normal weight group, and investigate the association of AGCC with body adiposity, components of energy and glycemic homeostasis and food consumption. **Methods:** A cross-sectional study, part of the Nutritionists' Health Study, with 111 women of fertile age, distributed among the four metabolic phenotypes. Women with BMI < 25 kg/m² were classified as normal weight and ≥ 25 kg/m² as obese/overweight. The definition of metabolic health took into account the absence of changes in blood pressure levels, glycemic, lipemic and cardiovascular disease. The evaluation of body composition was performed by DEXA. The components of energy homeostasis (resting energy expenditure, metabolic flexibility and substrate oxidation rate) and glycemic (insulin resistance, insulin secretion and GLP-1) were evaluated in the standard mixed-meal tolerance test associated with indirect calorimetry with 180-minute protocol. The food consumption (energy, macronutrients and fibers) was evaluated by a food frequency questionnaire. The SCFA were quantified in the feces by gas chromatography coupled to the mass spectrometer. **Results:** The participants had on average 28 ± 5 years and 25.6 ± 5.0 BMI and the frequency of phenotypes was 33.9% normal metabolically healthy weight, 15.3% MUNW, 25.4% MHO and 25.4% MUO. SCFA concentrations did not differ between the four phenotypes. There was an inverse association between the concentrations of propionate and butyrate and the levels of BMI and central adiposity. Propionate and acetate were inversely associated with AUC of glycemia; propionate correlated positively with the insulinogenic index and AUC of GLP-1. Total SCFA and acetate correlated positively with resting energy expenditure (REE); and propionate and butyrate correlated positively with GER adjusted for body weight. Propionate correlated inversely with the oxidation rate of carbohydrates in fasting, and total SCFA, propionate and fecal butyrate obtained positive correlation with the oxidation rate of lipids 60 minutes after the consumption of the standard mixed-meal. There was no association between food consumption and SCFA. **Conclusion:** The findings do not support that the determination of SCFA in feces helps to differentiate metabolic phenotypes. However, higher concentrations of fecal SCFA were associated with lower accumulation of mainly central body adiposity, higher rates of REE and lipid oxidation and levels of GLP-1 in the postprandial period, in parallel with a better beta cell function, and lower glycemic incursion after oral stimulation.

Keywords: Short-chain fatty acids; Obesity metabolic phenotypes; Obesity; Adiposity; Energy homeostasis; Glycemic homeostasis; Dietary intake.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Diferenças das alterações metabólicas entre obeso/sobrepeso metabolicamente saudável (MHO) e obeso/sobrepeso metabolicamente não saudável (MHU)	27
Figura 2. Dinâmica da flexibilidade metabólica e inflexibilidade metabólica	31
Figura 3. Diagrama com a descrição da amostra estudada e do status final dos indivíduos triados e incluídos para cada um dos fenótipos	42
Figura 4. Protocolo experimental para avaliação das concentrações séricas de glicose, insulina, GLP-1 e homeostase energética	47
Figura 5. Fórmulas para cálculo das taxas de oxidação de substratos	47
Figura 6. Taxa de oxidação de carboidratos (A) e lipídeos (B) durante o teste de refeição padrão associado ao teste de calorimetria indireta nas 105 participantes estudadas	56
Figura 7. Correlações entre AGCC fecais e taxa de oxidação de substratos nas 105 participantes estudadas submetidas ao teste de refeição padrão associado ao teste de calorimetria indireta.....	57

LISTAS DE TABELAS

Tabela 1. Exemplos da variedade de definições utilizadas para definir e classificar os fenótipos metabólicos.....	28
Tabela 2. Caracterização das 111 participantes estudadas de acordo com parâmetros clínicos, antropométricos, composição corporal e dados bioquímicos.....	50
Tabela 3. Caracterização das participantes estudadas segundo parâmetros da homeostase glicêmica e energética, consumo alimentar e concentração fecal de AGCC.....	51
Tabela 4. Associações entre concentração fecal de AGCC com estado de saúde, parâmetros antropométricos, composição corporal e fenótipo metabólico nas 111 participantes estudadas.....	53
Tabela 5. Correlações entre AGCC fecais e consumo de energia, macronutrientes e fibra alimentar, homeostase energética e glicêmica nas 105 participantes estudadas.....	54

LISTA DE ABRAVIATURAS E SIGLAS

ADA	<i>American Diabetes Association</i>
AGCC	Ácido graxo de cadeia curta
AMP	Adenosina monofosfato
AMPK	Proteína quinase ativada por monofosfato de adenosina
ATP	Adenosina trifosfato
AUC	Área abaixo da curva
CAAE	Certificado de Apresentação para Apreciação Ética
CC	Circunferência da cintura
CO ₂	Dióxido de carbono
CQ	Circunferência do quadril
DAS	Diâmetro abdominal sagital
DCV	Doença cardiovascular
DEXA	<i>Dual-energy X-ray absorptiometry</i>
DM2	Diabetes mellitus tipo 2
EDTA	Ácido etilenodiaminotetracético
ENS	Sistema nervoso entérico
GER	Gasto energético de repouso
GLP-1	<i>Glucagon like peptide-1</i>
GPR41/FFAR3	Receptor de ácido graxo livre 3
GPR43/FFAR2	Receptor de ácido graxo livre 2
HDAC	Histona deacetilase
HDL	<i>High density lipoprotein</i>
H ₂ O	Água
HOMA-IR	<i>Homeostatic Model Assessment - insulin resistance</i>
HPLC	<i>High performance liquid chromatography</i>
IGN	Gliconeogênese intestinal
IL-1	Interleucina 1
IL-6	Interleucina 6
IMC	Índice de massa corporal
JNK-1	Quinase c-Jun N-terminal
MHO	<i>Metabolically Healthy Obesity/Overweight</i>
MHNW	<i>Metabolically Healthy Normal Weight</i>

MUNW	<i>Metabolically Unhealthy Normal Weight</i>
MUO	<i>Metabolically Unhealthy Obesity/Overweight</i>
NDSR	<i>Nutrition Data System for Research</i>
NFkB	Fator nuclear kappa B
NU	Nitrogênio urinário
Nutri-HS	<i>Nutritionists' Health Study</i>
O ₂	Oxigênio
OGIS	<i>Oral Glucose Insulin Sensitivity</i>
OGTT	<i>Oral Glucose Tolerance Test</i>
OMS	Organização Mundial da Saúde
PAD	Pressão arterial diastólica
PAS	Pressão arterial sistólica
PEP	Fosfoenolpiruvato
PYY	Peptídeo YY
QR	Quociente respiratório
SLC5A8	Gene que codifica o transportador de monocarboxilato acoplado o sódio tipo 1
TAV	Tecido adiposo visceral
TG	Triglicerídeos
TNF- α	Fator de necrose tumoral
TOS	Taxa de oxidação de substratos
USDA	<i>United States Department of Agriculture</i>

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	17
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	18
2.1. Obesidade: prevalências, definição e avaliação	18
2. 1. 1. Fisiopatologia da obesidade	21
2. 1. 2. Fenótipos Metabólicos	22
2.2. Homeostase energética.....	28
2. 3. Homeostase glicêmica.....	30
2. 4. Ácidos Graxos de Cadeia Curta	31
2. 4. 1. Consumo alimentar e produção intestinal de ácidos graxos de cadeia curta.....	34
2. 4. 2. Ácidos graxos de cadeia curta e homeostase energética	35
2. 4. 3. Ácidos graxos de cadeia curta e homeostase glicêmica	37
2. 5. Estudos epidemiológicos com profissionais da área da saúde	38
3. JUSTIFICATIVA	39
4. OBJETIVOS	40
4. 1. Objetivo geral.....	40
4. 2. Objetivos específicos.....	40
5. MATERIAIS E MÉTODOS	40
5. 1. Delineamento do estudo e local de realização do estudo	40
5. 2. Aspectos éticos.....	40
5. 3. Casuística e critérios de elegibilidade	41
5. 4. Coleta de dados	42
5. 5. Avaliação da pressão arterial, antropometria e composição corporal	43
5. 6. Classificação dos fenótipos metabólicos.....	43
5. 7. Procedimentos analíticos.....	44
5. 8. Avaliação do consumo alimentar	44
5. 9. Avaliação da homeostase glicêmica e energética.....	45
5. 9. 1. Cálculo da homeostase energética.....	46
5. 9. 2. Cálculo da homeostase glicêmica.....	47
5. 10. Dosagens fecais de AGCC	47
5. 11. Análises estatísticas.....	48
6. RESULTADOS	48
7. DISCUSSÃO	57
8. CONCLUSÃO	63
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	64
ANEXOS	84
ANEXO 1. Orientações para coleta dos exames bioquímicos e de composição corporal.	84

ANEXO 2. Orientações para a coleta de fezes e para o teste de refeição mista padrão associado à calorimetria indireta	85
ANEXO 3. Opções de cardápio para a última refeição da noite que antecede o teste de refeição mista padrão	86

1. INTRODUÇÃO

Considerada por muitos a doença do século XXI, a obesidade é uma doença crônica, de etiologia multifatorial, não transmissível e recidivante, sendo caracterizada pelo acúmulo excessivo de tecido adiposo, acompanhado de inflamação sistêmica de baixo grau¹. A obesidade é fator de risco para o desenvolvimento de diabetes *mellitus* tipo 2 (DM2), doenças cardiovasculares (DCV), alguns tipos de cânceres, doenças pulmonares, entre outras². Sua fisiopatologia, apesar de bastante estudada, ainda apresenta lacunas a serem compreendidas.

A expansão do tecido adiposo é considerada um elemento central da inflamação relacionada à obesidade, a qual possui estreita relação com a resistência à insulina³. Estudos recentes defendem a hipótese de que cada indivíduo tem o seu próprio limite de expansão do tecido adiposo subcutâneo, a partir do qual pode ocorrer comprometimento da homeostase metabólica. Apesar de a maioria dos indivíduos com excesso de peso apresentarem alterações cardiometabólicas, uma quantidade considerável de pessoas que apresenta excesso de peso não possui alterações metabólicas ou inflamatórias⁴. Indivíduos com este fenótipo metabólico são denominados como “obeso/sobrepeso metabolicamente saudáveis” ou *metabolically healthy obese* (MHO) e apresentam menor risco de doenças cardiovasculares e hepáticas. Adicionalmente, apresentam sensibilidade à insulina preservada, independentemente da quantidade de gordura corporal⁵. Em contrapartida, há um subconjunto de indivíduos com peso normal e com alterações cardiometabólicas chamados de “peso normal metabolicamente não saudáveis” ou *metabolically unhealthy normal weight* (MUNW)⁶. O reconhecimento destes dois fenótipos tem servido como modelo humano de estudo para a compreensão dos mecanismos subjacentes que promovem o ganho de peso, o acúmulo de gordura corporal e o desenvolvimento das alterações e doenças cardiometabólicas relacionadas à obesidade.

Por muitos anos as pesquisas científicas focaram isoladamente na ingestão energética como principal fator de risco de obesidade. Atualmente, vem sendo dada cada vez mais ênfase ao gasto energético, aos seus componentes e à oxidação dos substratos energéticos⁷; ⁸. O método de maior precisão e acurácia para avaliação do gasto energético em repouso (GER) é o teste de calorimetria indireta, sendo um método não-invasivo que mensura o gasto energético, taxa de utilização dos substratos, o quociente respiratório (QR), e a flexibilidade metabólica de cada indivíduo⁹. O teste de calorimetria indireta associado aos testes dinâmicos de avaliação da homeostase glicêmica, como o teste de refeição mista padrão, são uma ferramenta importante para investigar parâmetros de resistência à insulina e secreção de insulina no estudo da obesidade e de suas alterações metabólicas.

Não obstante, estudos recentes vem demonstrando que a microbiota intestinal pode desempenhar um importante papel no desenvolvimento da obesidade e de alterações no metabolismo da glicose, por meio da produção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC)^{10; 11; 12}, os quais são produzidos no cólon pela fermentação bacteriana das fibras alimentares e desempenham efeitos locais e periféricos, melhorando a sensibilidade à insulina, controlando o apetite, reduzindo a adiposidade corporal e visceral, reduzindo acúmulo de gordura hepática, entre outros efeitos metabólicos favoráveis^{12; 13; 14}.

Apesar do crescente número de estudos experimentais que tem investigado a relação dos AGCC na fisiopatologia da obesidade^{15; 16; 17}, ainda são escassos estudos em humanos que exploram a associação dos AGCC com componentes da homeostase energética (gasto energético de repouso, quociente respiratório e flexibilidade metabólica) e glicêmica (secreção de insulina e resistência à insulina) nos diferentes fenótipos metabólicos da obesidade. Considerando que as modificações hormonais que ocorrem na menopausa afetam a adiposidade corporal e possivelmente a homeostase glicêmica, a avaliação de mulheres em idade fértil é mais apropriada para investigar fatores de risco de doenças cardiometabólicas.

Neste contexto, essa dissertação é parte do Estudo de Saúde de Nutricionistas (*Nutritionists' Healthy Study* – Nutri-HS), uma coorte desenvolvida com estudantes e egressos de cursos de graduação em Nutrição com o objetivo principal de investigar transversal e prospectivamente potenciais fatores de risco para doenças crônicas não transmissíveis.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Obesidade: prevalências, definição e avaliação

O aumento acelerado da prevalência de obesidade vem gerando impactos negativos na qualidade de vida da população e sobrecarga aos sistemas de saúde. No Brasil, segundo dados do Ministério da Saúde, a prevalência da obesidade passou de 11,8% em 2006 para 20,3% em 2019. Com mais de 55% da população apresentando excesso de peso¹⁸. No âmbito mundial, muitos países vêm mostrando aumento da prevalência da obesidade e sobrepeso nas últimas três décadas tanto em adultos e crianças¹⁹. Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), em 2016, cerca de 39% da população mundial apresentava sobrepeso, e, 13% da população estava obesa²⁰. Além disso, a maior prevalência da obesidade é observada em homens de países ocidentais desenvolvidos, como nos Estados Unidos (15,7%) e em mulheres na Ásia central, Oriente Médio e norte da África¹. Segundo dados do *Global Burden of Disease Study*, ao analisar dados de sobrepeso e obesidade de adultos de 195 países entre os anos de 1980 e 2015, identificou-se maior prevalência entre as mulheres comparada aos homens, especialmente

naquelas em idade fértil²¹. A obesidade é um fator de risco independente para o desenvolvimento de doenças como DM2, hipertensão arterial, dislipidemias, doença cardiovascular aterosclerótica, doenças osteoarticulares, doenças psiquiátricas e alguns tipos de cânceres^{2; 22}. Portanto, a obesidade configura um dos principais problemas de saúde pública, possuindo grande relevância tanto no sistema de saúde quanto na qualidade de vida do indivíduo obeso²³. O cenário epidemiológico brasileiro atual aponta a relevância das doenças crônicas não-transmissíveis para mortalidade, oriundo, em grande parte, da transição nutricional e da crescente longevidade da nossa população²⁴.

A obesidade é definida como o acúmulo, excessivo ou anormal, de gordura corporal², tendo caráter de doença crônica não transmissível, heterogênea e recidivante, resultante da relação entre o ambiente obesogênico e predisposição genética²⁴. O aumento do sedentarismo somado ao aumento da ingestão calórica, caracterizada por alimentos ricos em gorduras e açúcares, são determinantes cruciais para o elevado ganho de peso^{22; 24; 25}. Ademais, algumas condições, como o *status* socioeconômico, comportamento ambiental e pessoal e as interações genótipo-fenótipo devem ser ponderadas para entender a obesidade, podendo afetar negativamente a ingestão alimentar, a oxidação de nutrientes, a termogênese dos alimentos, a oxidação dos ácidos graxos armazenados e o acúmulo de gordura no tecido adiposo²⁶.

Tendo etiologia multifatorial, a obesidade pode possuir uma base orgânica como a ingestão excessiva de calorias e o sedentarismo, como também pode ser influenciada por alguns fatores ambientais como a poluição, e por fim, pode ter origem genética, psicogênica, medicamentosa e neurológica. Além disso, ela pode ser classificada de acordo com a distribuição de gordura corporal, podendo ser categorizada em três tipos: (i) androide, com maior acúmulo de gordura na parte superior do tronco, tendo elevado risco de desenvolver doenças cardiometabólicas e está relacionada a presença de maior quantidade de tecido adiposo visceral; (ii) ginoide, com predomínio de gordura na parte inferior do tronco, principalmente nos quadris, estando relacionada com risco aumentado de desenvolver varizes e artrose; e a (iii) mista, caracterizada pelo acúmulo generalizado de gordura no corpo²⁷.

O índice de massa corporal (IMC) é uma importante ferramenta para a classificação e diagnóstico de obesidade, um indicador consagrado e acessível na pesquisa científica e na prática clínica para avaliação da adiposidade corporal²⁴. Este índice é calculado pela divisão entre peso corporal em quilogramas e altura em metros elevada ao quadrado, resultando num valor comumente utilizado para indicar adiposidade corporal². É caracterizado como sobrepeso aquele indivíduo que apresentar IMC entre 25 kg/m² a 29,9 kg/m² e obesidade aquele que possuir IMC acima de 30 kg/m²²⁴. Apesar de o IMC ser uma ferramenta popularmente utilizada

para o diagnóstico de obesidade, ele não é capaz de diferenciar massa muscular e tecido adiposo, não refletindo a composição e a distribuição de gordura corporal²⁴. No entanto, considerando a facilidade, simplicidade e custos de diversos métodos, existem outras ferramentas que contribuem para o diagnóstico da distribuição da gordura corporal no excesso de peso, como a circunferência da cintura, o diâmetro abdominal sagital e a circunferência do quadril^{28; 29; 30}.

A circunferência da cintura (CC) mostra-se como um bom preditor do acúmulo de gordura abdominal, podendo complementar o IMC para monitoramento e triagem da adiposidade corporal e de alterações metabólicas²⁸, sendo de grande importância para identificar a obesidade androide e o perfil de síndrome metabólica (obesidade central, dislipidemia, hipertensão, intolerância à glicose e resistência à insulina). Assim, a CC permite o aprimoramento adicional de riscos à saúde relacionados a obesidade, determinada pelo IMC. Além de ser uma importante ferramenta para avaliar a redução do risco cardiovascular após a adoção de estilo de vida saudável³⁰.

O diâmetro abdominal sagital (DAS) também é uma medida que avalia a obesidade central, sendo bom indicador de gordura visceral, pois ao realizar a medida, a gordura subcutânea é deslocada pela gravidade, uma vez que a avaliação é realizada em decúbito dorsal, o que facilita a localização dos pontos fixos de referência anatômica da coluna lombar^{31 32; 33}. Acredita-se que o DAS seja um importante fator preditor de doença cardiovascular, independente do IMC³⁴, além de estar associado com resistência à insulina, componentes da síndrome metabólica, inflamação e diabetes^{35; 36; 37}.

Enquanto a CC e o DAS apresentam forte associação positiva com o desenvolvimento de doenças cardiometabólicas, a circunferência do quadril (CQ), quando ajustada para IMC ou CC, possui associação inversa com o desenvolvimento de alterações metabólicas. Esta é uma importante medida antropométrica que reflete o acúmulo de gordura subcutânea no quadril, caracterizada como gordura protetora contra doenças cardiometabólicas³⁸. Este efeito protetor se baseia na regulação da liberação e absorção de ácidos graxos e ao efeito benéfico de adipocinas (adiponectina e leptina) relacionados ao tecido adiposo gluteofemoral^{39; 40}.

Existem métodos referência para uma acurada e detalhada avaliação da composição corporal, como a tomografia computadorizada, a ressonância magnética e mais recentemente a densitometria com dupla emissão de raios X (do inglês *dual-energy X-ray absorptiometry* – DEXA). O princípio da DEXA é a absorciometria de fóton duplo com uma fonte de raios X que emite feixes em duas faixas de energia. Assim, de acordo com a atenuação dos raios ao

passarem pelos tecidos, são determinados os diferentes compartimentos da composição corporal. O principal pressuposto é de que a massa óssea, o tecido adiposo e a massa magra livre de massa óssea possuem coeficientes de atenuação constantes e diferentes⁴¹. Além disso, os modernos equipamentos de DEXA são capazes de mensurar a composição corporal total e regional, determinando a composição corporal através de três principais compartimentos corporais: massa muscular, tecido adiposo e osso⁴². Sendo assim, é uma ferramenta de grande utilidade na determinação da composição corporal total, troncular e apendicular. Ademais, é possível a avaliação da adiposidade ginoide, androide e visceral. A gordura visceral é estimada a partir da diferença entre a massa total de gordura da região androide e a quantidade total de gordura subcutânea da mesma região⁴³. Apesar de ser um método de baixa exposição à radiação, rápido, de fácil aplicação e de grande acurácia, seu uso ainda é limitado devido ao alto custo de aquisição do equipamento, necessidade de capacitação profissional e manutenção de alto custo^{41; 42; 43}.

2. 1. 1. Fisiopatologia da obesidade

A fisiopatologia da obesidade, apesar de amplamente discutida e estudada, ainda apresenta importantes lacunas e vem se mostrando cada vez mais complexa. Evolutivamente, os humanos e seus predecessores tiveram que sobreviver a longos períodos de desnutrição, em que aqueles com maior capacidade de acumular energia nesses períodos de escassez alimentar estavam mais aptos a sobreviver nessas condições^{25; 44}. Portanto, a seleção natural possivelmente contribuiu para o desenvolvimento de um genótipo que favorecesse o maior acúmulo de energia com menor gasto energético. Os seres humanos que, em tese, poderiam suportar períodos mais longos de jejum, assim como armazenar e mobilizar energia com mais eficiência, podem ter se reproduzido mais do que aqueles sem essas adaptações, consequentemente levando a super-representação de variáveis genéticas que favorecem a capacidade de comer mais rápido, de maior absorção energética e maior expansão do tecido adiposo, devido ao grande acúmulo energético⁴⁵.

É consenso que uma das principais causas da obesidade seja o desequilíbrio energético a longo prazo, representado por um consumo calórico que excede o gasto energético⁴⁵, acarretando em ganho de peso e podendo culminar em diversas alterações metabólicas no organismo humano⁴⁶. O acúmulo de lipídeos no tecido adiposo, especialmente os triglicerídeos, ocorre associado ao aumento do volume do músculo esquelético para sustentar este novo peso, da gordura intra-hepática e de outros órgãos e tecidos. Ao longo do tempo, o ganho de peso, leva ao acúmulo de lipídeos em muitos compartimentos corporais. Os tecidos

adiposo branco subcutâneo e o visceral retém grande parte dos lipídeos armazenados no corpo, sendo a maioria desses adipócitos chamados de brancos, com predomínio de acúmulo de triglicerídeos. Existem também os adipócitos termogênicos, marrom e bege, responsáveis pela liberação de energia, ricos em mitocôndrias e estão presentes no corpo humano em quantidades variadas e relativamente pequenas⁴⁶.

Os adipócitos brancos são importantes células metabólicas e são responsáveis pelo armazenamento de lipídeos, síntese e secreção de adipocinas e hormônios, em que a taxa de produção e secreção desses metabólitos são diretamente dependentes da quantidade de tecido adiposo. Uma secreção excessiva de citocinas pró-inflamatórias pode levar a inflamação sistêmica de baixo grau, devido ao recrutamento de macrófagos e outras células do sistema imunológico. Essas células imunes são as responsáveis por promover alteração da sinalização celular das adipocinas e aumentar a secreção de citocinas pró-inflamatórias como Fator de Necrose Tumoral - α (TNF- α) e Interleucina 6 (IL-6). Com o passar do tempo, ocorre disfunção celular, hipóxia tecidual e apoptose de adipócitos, contribuindo para a evolução da resistência à insulina, a qual também é influenciada pelos altos níveis de ácidos graxos livres e intermediários lipídicos (ceramidas), que são liberados na hidrólise dos adipócitos^{46; 47}. Não obstante, na obesidade, o tecido adiposo subcutâneo pode não expandir adequadamente, fazendo com que o excedente energético seja armazenado de forma ectópica em outros tecidos envolvidos na homeostase metabólica, como o músculo esquelético, fígado e tecido adiposo visceral, como consequência, ocorre o agravamento da resistência à insulina⁴⁸.

A resistência à insulina é uma das principais alterações metabólicas da obesidade, do DM2 e da síndrome metabólica, e está intimamente associada com o tecido adiposo intra-abdominal. Alguns estudos têm demonstrado que a ativação de vias pró-inflamatórias envolvendo o fator nuclear *kappa B* (NF- κ B) e/ou *quinase c-Jun N-terminal* (JNK-1) em tecidos dependentes de insulina (adiposo, fígado e músculo) pode ser um mecanismo subjacente para a instalação e manutenção da resistência à insulina^{49; 50}. Esses mediadores inflamatórios podem interagir com o sistema nervoso simpático, sistema renina angiotensina aldosterona e com outros órgãos, como o pâncreas e fígado (esteatose hepática), promovendo diversas alterações metabólicas e fisiopatológicas envolvidas na obesidade^{47; 50}.

2. 1. 2. Fenótipos Metabólicos

A obesidade tem sido amplamente associada com altos riscos de complicações cardiovasculares, hiperglicemia, hipertrigliceridemia e diabetes, e essas associações não se apresentam de maneira linear⁴. Além disso, cada indivíduo tem o seu próprio limite de expansão

do tecido adiposo subcutâneo, a partir do qual haverá comprometimento da sua homeostase metabólica. Este comprometimento parece ser maior com o aumento de acúmulo de gordura visceral, independente do IMC, embora a contribuição do tecido adiposo subcutâneo também não deva ser subestimada ⁵¹.

Em 1981, foi observado que uma parcela de indivíduos classificados como peso normal para determinada altura apresentava características metabólicas similares às encontradas em indivíduos com obesidade, como hiperinsulinemia, hipertrigliceridemia e doença coronariana prematura⁶. Essas evidências demonstraram que os portadores deste fenótipo de obesidade (indivíduos com peso normal e com alterações metabólicas) poderiam explicar a maior prevalência de DM2 e DCV em pessoas com um IMC de 20-27 kg/m² que ganharam quantidades modestas de peso na vida adulta (2-10 kg de massa adiposa). Estes indivíduos foram chamados de “peso normal metabolicamente não saudáveis (do inglês *Metabolically Unhealthy Normal Weight* - MUNW)”⁶. Neles, a ocorrência de alterações metabólicas é atribuída a disfunção do tecido adiposo subcutâneo, devido a infiltração de macrófagos inflamatórios, enquanto que o tecido adiposo visceral parece não ser muito afetado⁵².

De acordo com uma ampla gama de estudos^{53; 54; 55; 56}, os indivíduos MUNW possuem um risco cardiovascular cerca de uma a três vezes maior do que pessoas com “peso normal metabolicamente saudável (do inglês *Metabolically Healthy Normal Weight* – MHNW)”. Além disso, este risco foi maior do que o risco relativo nos indivíduos obesos/sobrepeso metabolicamente saudáveis⁵⁷. No estudo conduzido por Männistö et al.⁵⁸, foi observado que o baixo consumo de cereais e vegetais e a alta ingestão de alimentos industrializados, sedentarismo e fumo estiveram associados ao excesso de gordura corporal em indivíduos com peso e circunferência da cintura normais⁵⁸. Ademais, o aumento de gordura corporal, da relação gordura androide e ginoide e de tecido adiposo visceral são geralmente identificados com o fenótipo MUNW segundo Lu et al.⁵⁹, o qual mostrou que esses mesmos indivíduos obtiveram um risco elevado em desenvolver síndrome metabólica⁵⁹.

Por outro lado, há uma parcela dos indivíduos obesos ou com sobrepeso⁴ aparentemente resistentes ao desenvolvimento de alterações metabólicas, os quais vem sendo chamados de “obesos/sobrepeso metabolicamente saudáveis (do inglês *Metabolically Healthy Obese* – MHO)”. Comparados aos obesos/sobrepeso metabolicamente não saudáveis (do inglês *Metabolically Unhealthy Obese* – MUO), estes indivíduos têm sido caracterizados por apresentar resistência à insulina de baixa intensidade e atenuada por hiperinsulinemias compensatórias^{60; 61}; menor acúmulo de gordura ectópica e visceral^{62; 63}, incluindo depósitos de

gordura no músculo e fígado; adipócitos de tamanho menor; menor infiltrado de células inflamatórias no tecido adiposo⁶⁴; secreção normal de adipocinas⁶⁵; além de melhor condicionamento físico⁶⁶, como demonstrado na figura 1. Apesar dos MHO apresentarem menor risco cardiometabólico que o fenótipo MUO, este risco ainda é maior do que em indivíduos MHNW⁶⁰.

O conceito de obesidade metabolicamente saudável foi proposto em 1950, em estudo observacional conduzido por Jean Vague⁵. Atualmente este conceito vem sendo empregado em diversos estudos e, em geral, o fenótipo MHO é mais prevalente em mulheres do que em homens e diminui com o avançar da idade⁶⁷.

Estudos envolvendo variáveis de estilo de vida vem apontando diferenças entre MHO e MUO. Ao avaliar a qualidade da dieta, Camhi et al.⁶⁸, mostraram que mulheres adolescentes MHO apresentaram maior consumo de frutas, grãos, carnes e feijão⁶⁸. Embora alguns estudos apontam que idade, ingestão alcoólica e sedentarismo são potenciais fatores para o desenvolvimento de um fenótipo desfavorável, há resultados conflitantes^{69; 70; 71}. Ao investigar sobre a prática de exercício físico, Phillips et al.⁷², não mostraram nenhum efeito da atividade física, tabagismo ou ingestão alcoólica no desenvolvimento do fenótipo MUO⁷².

Segundo resultados de uma grande coorte conduzida por Stefan et al.⁷³, na qual os indivíduos foram estratificados de acordo com a classificação do IMC, foi possível associar maior quantidade de gordura hepática e adiposidade abdominal aos MUO. Ao fenótipo MHO foi associada maior secreção e sensibilidade à insulina, aptidão cardiorrespiratória e maior acúmulo de tecido adiposo subcutâneo⁷³. Hajian-Tilaki et al.⁷⁴, apontaram que as medidas antropométricas que indicam obesidade abdominal foram significativamente maiores para MUO quando comparado ao MHO⁷⁴, a despeito dos grupos apresentarem graus semelhantes de obesidade avaliadas pelo IMC. Não obstante, em estudo conduzido por Klöting et al.⁷⁵, foi possível observar que MHO possuía menor infiltrado de células imunológicas nos depósitos de gordura visceral e hepática, menor tamanho dos adipócitos e melhor secreção de adipocina. No entanto, há evidências de que na presença de secreção de mediadores pró-inflamatórios, diabetogênicos e aterogênicos, possa ocorrer a transição do fenótipo MHO para MUO⁷⁵.

Os fenótipos metabólicos não são estáticos, podendo se modificar do estado metabolicamente saudável para o não saudável e vice-versa. Indivíduos obesos em tratamento para perda de peso à longo prazo podem sofrer ciclos de perda de peso e, se não modificado o estilo de vida adequadamente, pode recuperá-los acompanhados pela mudança para um fenótipo metabólico desfavorável⁶⁰. De fato, no estudo *Whitehall II*, cerca de 50% dos obesos, inicialmente saudáveis, transformaram-se em obesos metabolicamente não saudáveis após 20

anos⁷⁶. Isso também foi confirmado no *Nurses' Healthy Study*, em que apenas 16% e 6% das mulheres MHO permaneceram saudáveis após 20 e 30 anos, respectivamente⁵⁵. Appleton et al.⁷⁷, demonstraram que MUO é um fenótipo transitório em cerca de 1/3 dos indivíduos com essa classificação⁷⁷. O mesmo foi observado em coorte conduzida por Espinosa et al.⁴, envolvendo 1805 pessoas com o fenótipo MHO e 3047 com o fenótipo MHNW, e concluíram que indivíduos MHO tem maior probabilidade de desenvolver complicações metabólicas futuras comparados aos MHNW, e, esta diferença é intensificada quando os indivíduos MHO ganham peso⁴. Desse modo, aponta-se que uma grande parcela de indivíduos MHO pode evoluir para um fenótipo desfavorável.

Até o momento, são escassas evidências sobre os fatores que atrasam o início ou protegem os obesos de desenvolver os distúrbios metabólicos⁷⁸. Os critérios utilizados para realizar a classificação dos MHO variam consideravelmente. Além disso, não existe um padrão universalmente aceito para definir os fenótipos, visto que há mais de 30 definições consagradas para realizar tal classificação^{67; 79}, algumas definições estão demonstradas na Tabela 1. A acurada classificação do fenótipo metabólico é de grande importância para melhorar as intervenções, principalmente em pacientes obesos. Assim sendo, van Vliet-Ostaptchouk et al.⁶⁷ conduziu um grande estudo de coorte intitulado *BioSHaRE-EU Healthy Obese Project*, reunindo 10 estudos europeus, sendo possível observar que o IMC foi uma boa medida para definir o *status* de obesidade. Ainda, a glicemia, pressão arterial, níveis plasmáticos de HDL e triglicerídeos, uso de anti-hipertensivos, hipoglicemiantes, hipolipemiantes e diagnóstico de doença cardiovascular foram parâmetros robustos e eficazes para a definição e classificação de saúde metabólica⁶⁷.

Apesar das características clínicas e metabólicas serem consenso para diferenciar os fenótipos metabólicos^{2; 63; 7}, há lacunas em relação aos mecanismos subjacentes que favorecem o seu desenvolvimento e a sua manutenção no longo prazo. Da mesma forma, ainda é discutível se o fenótipo obeso metabolicamente saudável é um fenótipo distinto e estável e se há relevância clínica no desenvolvimento de doenças cardiometabólicas⁶⁰. Para os que permanecem MHO, apesar do perfil metabólico saudável, podem existir impactos psicológicos negativos secundários à presença de obesidade, que afetam a qualidade de vida dos indivíduos obesos⁸⁰, além de estarem sujeitos a desenvolverem osteoartrite, doenças respiratórias como asma, anormalidades ginecológicas e dermatológicas e alguns tipos de câncer⁴⁸. Portanto, o diagnóstico de obesidade deve ser uma indicação para se iniciar um tratamento multiprofissional individualizado, mesmo naqueles sem alterações cardiometabólicas.

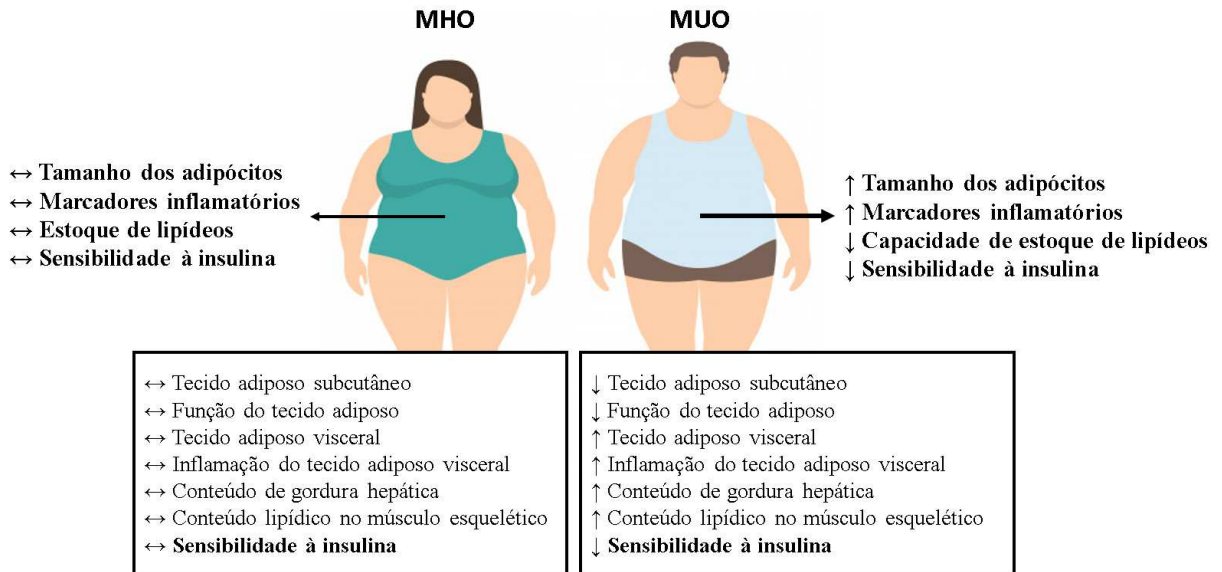


Figura 1. Diferenças das alterações metabólicas entre obeso/sobrepeso metabolicamente saudável (MHO) e obeso/sobrepeso metabolicamente não saudável (MHU) (Adaptado de Goossens, G. H., et al. **Obes Facts**, 2017⁴⁸).

Tabela 1. Exemplos da variedade de definições utilizadas para definir e classificar os fenótipos metabólicos.

	Ridiker, et al., 2003⁸¹	Aguilar-Salinas, et al., 2008⁸²	Meigs, et al., 2006⁸³	van Vilet-Ostaptchouk, et al., 2014⁶⁷	Espinosa, et al., 2018⁴
Glicemia (mg/dL)	Jejum ≥ 110	Jejum ≥ 126	Jejum: 100 - 125	Jejum ≥ 110 Pós-prandial ≥ 126	Jejum ≥ 100
Pressão arterial (PAS/PAD - mm Hg)	$\geq 135/85$	$\geq 140/90$	$\geq 130/85$	$\geq 130/85$	$\geq 135/85$
Parâmetros lipídicos					
HDL (mg/mL)	HDL < 50	HDL < 40	HDL < 50 (homens) HDL < 40 (mulheres)	HDL < 50 HDL < 40 (mulheres)	HDL < 50 (homens) HDL < 40 (mulheres)
TG (mg/dL)	TG ≥ 150		TG ≥ 150	TG ≥ 150	TG ≥ 150
Medicamentos	-	Antihipertensivos Antidiabéticos	Antihipertensivos	Hipoglicemiantes Antihipertensivos Hipolipemiantes	-
Outros parâmetros	CC > 88 cm (mulheres) CC > 102 cm (homens)	OGTT ≥ 200 mg/dL	CC > 88 cm (mulheres) CC > 102 cm (homens)	DCV DM2	-
IMC (kg/m²)	$\geq 26,7$	≥ 30	≥ 30	≥ 30	≥ 25
Ausência de saúde metabólica	Pelo menos 3 alterações metabólicas	Pelo menos 1 alteração metabólica	Pelo menos 2 alterações metabólicas	Pelo menos 1 alteração metabólica	Pelo menos 1 alteração metabólica

PAS: Pressão arterial sistólica; PAD: Pressão arterial diastólica; TG: Triglicerídeos; CC: Circunferência da cintura; IMC: Índice de massa corporal; OGTT: Teste de tolerância oral a glicose; DM2: Diabetes *mellitus* tipo 2; DCV: Doença cardiovascular;

2.2. Homeostase energética

O metabolismo humano é um dos processos mais finamente regulado em biologia. A manutenção da homeostase energética é um desafio devido à variação diária no gasto energético e na disponibilidade de alimentos, bem como na composição da dieta. O gasto energético basal é o principal componente do gasto energético diário (55% a 75%), e consequentemente, um importante fator regulador do balanço energético. Sabe-se que uma baixa taxa metabólica basal é considerada fator independente para ganho de peso. Além disso, o gasto energético basal é reduzido com o envelhecimento mesmo após ajuste para massa magra⁸⁴. Além da grande influência do gasto energético basal, sob condições termo-neutras o gasto energético total é também influenciado pela termogênese induzida pela dieta e gasto energético relacionado à atividade física. Ademais, o crescimento, a gravidez e a lactação também são adaptações fisiológicas que influenciam o gasto energético total⁸⁵.

A determinação do gasto energético é uma importante ferramenta na prática clínica, principalmente na prescrição dietética, para isso são comumente utilizadas equações preditivas do gasto energético, que geralmente levam em consideração variáveis como sexo, idade, peso e altura⁸⁶. Em estudo conduzido por Marra, et al.⁸⁷, foi possível observar que houve grande variação na predição do gasto energético. Quando as equações preditivas baseadas em composição corporal foram aplicadas, o gasto energético foi maior, comparada as equações que se baseiam apenas em peso. Todavia, todas as equações preditivas obtiveram acurácia muito baixa quando comparadas com a calorimetria indireta. O gasto energético foi subestimado em cerca de 50% dos indivíduos estudados⁸⁷. O mesmo aconteceu em estudo publicado por Poli, et al.⁸⁸, em que mulheres obesas apresentaram grandes diferenças entre o gasto energético mensurado por calorimetria indireta e o predito por fórmulas⁸⁸. Além disso, quando as equações preditivas são aplicadas em indivíduos que não compartilham as mesmas características do grupo em que a equação foi desenvolvida, há aumento da possibilidade de erros significativos, o que prejudica a devida eficiência da intervenção⁸⁹.

A calorimetria indireta é o método de avaliação do gasto energético não invasivo com maior precisão e acurácia, que mensura o gasto energético e a taxa de utilização dos substratos energéticos a partir do consumo de O₂ e da produção de CO₂ obtidos por análise do ar inspirado e expirado pelos pulmões. A relação entre o volume de CO₂ produzido e de O₂ consumido é referida como quociente respiratório (QR) e pode ser empregada para conhecer o tipo de substrato energético que está sendo oxidado, tanto no repouso quanto após estímulo oral com nutrientes. O QR próximo de 1,0 indica predominância na oxidação de carboidratos, e próximo de 0,7 indica maior oxidação de gorduras⁹. Segundo Aghamohammadi et al.⁹⁰, os

indivíduos obesos, em estado de repouso, têm QR predominantemente próximo a 1,0, indicativo de baixa oxidação de lipídeos e alta oxidação de carboidratos⁹⁰.

No teste de calorimetria indireta pode-se também calcular o nível de flexibilidade metabólica de cada indivíduo por meio da avaliação do QR. O termo “flexibilidade metabólica” foi descrito em 1999 por Kelley et al.⁹¹, quando estudaram a seleção do substrato energético do músculo esquelético em indivíduos magros e obesos depois do jejum noturno. E assim foi descoberto que o músculo esquelético de indivíduos magros apresentava uma melhor capacidade de se adaptar, mostrando preferência em oxidar o combustível ofertado nas infusões de insulina, sendo denominados como metabolicamente flexíveis⁹¹. Por outro lado, os pacientes obesos resistentes à insulina, não apresentaram resposta a infusão de insulina, permanecendo a maior preferência em utilizar carboidrato como combustível e uma certa resistência na oxidação de lipídeos no jejum em comparação aos indivíduos magros. Devido a essas respostas metabólicas alteradas, esses indivíduos foram caracterizados como metabolicamente inflexíveis⁹². Não obstante, Battaglia et al.⁹³ demonstraram que após o consumo de dieta hiperlipídica, indivíduos magros com flexibilidade metabólica adequada foram capazes de aumentar rapidamente a oxidação de lipídeos em detrimento de glicose, enquanto que o mesmo não aconteceu com os obesos. Isso poderia ser explicado pelo fato de indivíduos magros apresentarem uma expressão aumentada de genes envolvidos no transporte e oxidação de ácidos graxos⁹³.

Desse modo, a flexibilidade metabólica pode ser compreendida pela resposta adaptativa do metabolismo de um organismo para manter a homeostase energética, combinando com a disponibilidade e a demanda de substrato energético no jejum⁹⁴, conforme ilustrado na figura 2. Ademais, a flexibilidade metabólica pode sofrer influências como a composição variável das refeições, a atividade física e as flutuações ambientais^{95; 96}.

Em regra, o corpo humano pode usar adequadamente todos os macronutrientes como substrato energético, porém, a era moderna é caracterizada pelo alto e contínuo consumo de alimentos industrializados e hipercalóricos, que aliados ao sedentarismo reduzem a predileção da flexibilidade metabólica, favorecendo a redução de oxidação do substrato energético, com posterior acúmulo de gordura corporal^{97; 98}. Essa alteração possivelmente é causada pela competição de substrato e pela insensibilidade metabólica, centralizada na detecção distorcida de nutrientes, troca de substrato energético e consequente homeostase energética prejudicada⁹⁴.

Uma característica central da obesidade e das doenças cardiovasculares é a regulação deficiente de como os macronutrientes são metabolizados. O estado de inflexibilidade metabólica associa-se com a presença de obesidade, resistência à insulina, DM2 e hipertrigliceridemia⁹⁹. Diante disso, torna-se substancial estudar e investigar as variações do gasto energético, oxidação de substrato energético e a flexibilidade metabólica sob diferentes estímulos, como o consumo alimentar, entre os diferentes fenótipos metabólicos.

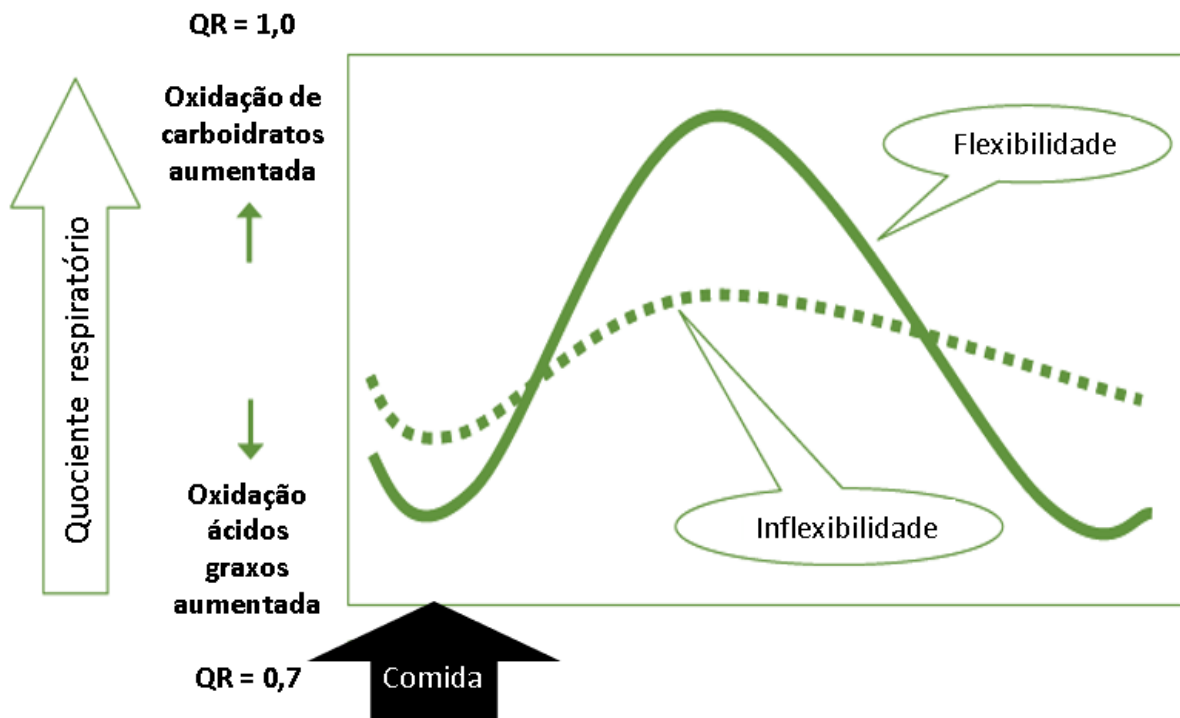


Figura 2. Dinâmica da flexibilidade metabólica e inflexibilidade metabólica.

O menor quociente respiratório (QR) indica maior oxidação de ácidos graxos, em contrapartida, um QR maior indica maior oxidação de carboidratos e baixa oxidação de ácidos graxos, sendo a flexibilidade metabólica demonstrada pela linha contínua e a inflexibilidade metabólica pela tracejada. (Imagem adaptada de E. Coperleijn, et al. **Obesity reviews**, 2009¹⁰⁰).

2. 3. Homeostase glicêmica

A glicose é uma das principais fontes de energia para todas as células, sendo absorvida pelos enterócitos para a corrente sanguínea, a partir da digestão dos alimentos. O corpo é capaz de regular os níveis de glicemia em um intervalo normal de 70 a 100 mg/dL em 1 a 3 horas após uma refeição, mantendo os níveis glicêmicos dentro de uma estreita faixa de normalidade de 4 a 6 mM. Essas importantes respostas metabólicas acontecem através de hormônios específicos produzidos no pâncreas desempenham importante papel na homeostase glicêmica^{101; 102}. Um desses hormônios é a insulina, com efeitos anabólicos, é produzida e

secretada pelas células β pancreáticas. Após as refeições, em resposta ao aumento dos níveis plasmáticos de glicose e aminoácidos, a secreção de insulina facilita o transporte de glicose nas células para ser metabolizada e produzir energia na forma de adenosina trifosfato (ATP) e/ou armazenada na forma de glicogênio, desse modo, a glicemia retorna rapidamente ao nível pré-prandial em um curto período de tempo¹⁰¹.

A célula-beta pancreática é a mais complexa das células endócrinas. Sua principal função é manter a secreção de insulina para suprir os tecidos corporais em quantidade suficiente e com tempo de resposta finamente regulado para manter a glicemia dentro de uma estreita faixa de normalidade¹⁰³. Esta regulação sugere a existência de comunicação (*crosstalk*) entre o pâncreas e os tecidos alvo da insulina. Em adultos não diabéticos com diferentes níveis de IMC foi demonstrado que a oxidação de substratos energéticos no jejum, especialmente de glicose, esteve positivamente correlacionada com a sensibilidade da célula-beta à glicose⁹⁹.

A associação da calorimetria indireta com testes dinâmicos que envolvem estímulos com macronutrientes, como o teste de refeição mista padrão, possibilita a investigação do metabolismo dos substratos energéticos em vias oxidativas e não oxidativas. Há consenso de que as técnicas de clamp avaliem bem a sensibilidade à insulina e secreção de insulina sob diferentes aspectos. Contudo, estes testes são custosos em sua execução no tocante ao tempo requerido e aos recursos financeiros dispendidos, o que limita suas aplicações a amostras pequenas. Os testes com estímulo oral têm como principal vantagem o fato de proporcionar um estímulo mais fisiológico ao indivíduo, que se assemelha às condições de vida livre nas quais os nutrientes passam pelo processo digestivo e absoritivo antes de alcançarem a corrente sanguínea. O teste de refeição mista padrão tem vantagens sobre o teste de tolerância oral à glicose (OGTT) por ser mais tolerável aos indivíduos e o mais fisiológico de todos¹⁰⁴.

Assim sendo, para os diferentes fenótipos metabólicos da obesidade, investigações relacionadas às variantes do metabolismo glicêmico em jejum e sob estímulo alimentar são escassas e poderão auxiliar na compreensão dos fatores que influenciam o desenvolvimento dos fenótipos.

2. 4. Ácidos Graxos de Cadeia Curta

Evidências crescentes vêm revelando a importância da microbiota intestinal nas diferentes doenças crônicas não transmissíveis, principalmente naquelas que se relacionam com o metabolismo glicêmico¹⁰ e energético^{11; 12; 105}. Estudos vêm demonstrando que anormalidades na composição da microbiota intestinal podem contribuir para o desbalanço na homeostase

energética, incluindo efeitos negativos do metabolismo do tecido adiposo, hepático e no músculo¹⁰⁶.

O trato gastrointestinal humano é constituído por aproximadamente 10^{13} a 10^{14} de bactérias distribuídas em mais de 2000 diferentes espécies, contribuindo em mais de 1 quilograma do peso corporal¹⁰⁷. No entanto, a composição da microbiota pode ser afetada por alguns fatores intrínsecos, como pH, motilidade intestinal, muco e peptídeos microbianos e também por fatores extrínsecos, como medicamentos (laxantes e antibióticos, por exemplo)¹⁰⁸ e componentes dietéticos¹⁰⁶. Quando em equilíbrio, as bactérias intestinais podem desempenhar importantes funções no metabolismo humano. Elas são responsáveis por realizar a fermentação de alguns tipos de carboidratos, como o amido resistente e as fibras dietéticas, que são resistentes à digestão do trato gastrointestinal superior, e chegam íntegros no intestino grosso, ficando disponíveis para a fermentação anaeróbica das bactérias residentes, resultando nos principais ânions produzidos pela microbiota, os ácidos graxos de cadeia curta (AGCC)^{109; 110; 111}. Trata-se de ácidos orgânicos compostos de 1 a 6 carbonos que são absorvidos e metabolizados pelas células intestinais^{109; 110; 111}. Os principais e mais encontrados são acetato (C2), propionato (C3) e butirato (C4), que compõem de 90 a 95% de todos os AGCC presentes no cólon¹¹⁰. São produzidos diariamente cerca de 500 a 600 mmol de AGCC, que dependem do consumo de alimentos fontes de fibras e tem concentrações colônicas aproximadas de 60%, 20% e 20%, respectivamente¹⁰⁵, o que depende diretamente do substrato, da composição da microbiota e do tempo de trânsito gastrointestinal^{105; 112; 113}.

Apesar de serem produzidos no intestino grosso e poderem ser utilizados como fonte de energia pelas próprias células intestinais (40%), eles também podem ser absorvidos e desempenhar inúmeras funções metabólicas nos tecidos periféricos (60%)¹¹⁴, podendo auxiliar na melhora da sensibilidade à insulina^{13; 14}, no controle do apetite e ingestão alimentar^{115; 116; 117}, na redução de adiposidade^{12; 118} e no controle do peso corporal^{110; 111; 119}.

O acetato ($C_2H_3O_2$) é principalmente gerado pela metilação redutiva de CO_2 , podendo ser produzido tanto pela fermentação bacteriana de fibras como também de maneira endógena durante a oxidação de ácidos graxos e no metabolismo de glicose e aminoácidos¹²⁰. Trata-se do AGCC de maior abundância na corrente sanguínea, pois apenas uma pequena parcela desse metabólico é extraída pelo fígado, ficando mais disponível para exercer funções em outros órgãos, podendo ser encontrado em concentrações médias entre 5 a 220 $\mu\text{mol/L}$ ^{121; 122}. Além disso, o acetato possui maior afinidade pelos receptores acoplados a proteína G, o GPR41 (FFAR3) e GPR43 (FFAR2), expressos no intestino grosso e delgado, tecidos adiposo, hepático, muscular esquelético e nas células beta pancreáticas, ou seja, apresenta funções em

vários tecidos sensíveis à insulina¹¹⁹. Após a absorção, o acetato intracelular pode ser convertido a acetil-CoA, através da acetato tioquinase¹²³ e incorporado ao ciclo de Krebs. Ademais, pode promover efeitos na fosforilação da enzima Proteína Quinase Ativada por Monofosfato de Adenosina (AMPK), participando do processo de produção de energia celular. Além disso, estudos demonstram que o acetato pode aumentar a síntese de ácidos graxos, através de mecanismos epigenéticos em estudos *in vitro* e regular favoravelmente a pressão arterial, por possuir afinidade com receptores envolvidos no controle pressórico^{119; 124}.

O propionato ($C_3H_5O_2$) vem demonstrando grande capacidade de se ligar a receptores específicos e desencadear papéis importantes, principalmente estimulando a liberação de hormônios intestinais envolvidos na regulação do apetite e no metabolismo da glicose, como o *glucagon like peptide-1* (GLP1) e o peptídeo YY (PYY)¹²⁵. Trata-se de um AGCC que é rapidamente absorvido pela circulação hepática, podendo ser encontrado na corrente sanguínea em concentrações inferiores a $13 \mu\text{mol/L}$ ¹⁰⁶. O propionato é um dos principais e mais potentes agonistas do GPR43, que é largamente expresso nas células do sistema imunológico, nos adipócitos, enterócitos e hepatócitos¹²⁵. Outro importante efeito deste AGCC é a síntese de ácidos graxos e de colesterol, devido à redução de H_2O e sua possível incorporação nos hepatócitos. Esse mecanismo pode explicar o provável efeito hipocolesterolêmico das fibras alimentares¹²⁶.

O butirato ($C_4H_7O_2$) pode ser produzido por duas maneiras: pela fosforilação do butiril-CoA, que leva a formação de butirilfosfato e posterior transformação em butirato através da enzima butirato quinase e pela transferência da porção CoA do butiril-CoA para o acetato através da enzima butiril-CoA:acetato-CoA transferase, resultando na produção de butirato e acetil-CoA. Além disso, recentes análises metagenômicas identificaram que o butirato também pode ser sintetizado através de proteínas, como a lisina¹²⁷. Trata-se de um AGCC encontrado em baixas concentrações na circulação sanguínea ($\leq 12 \mu\text{mol/L}$)¹²², no entanto, pode desempenhar importantes funções no metabolismo celular e na geração de energia. Este é o principal AGCC que é utilizado como fonte de energia pelos enterócitos¹²⁸, porém, este metabólito não exerce apenas função local, podendo exercer importantes papéis metabólicos através do eixo cérebro-intestino¹²⁷. Alguns estudos *in vitro* e *in vivo*^{129; 130} demonstraram que o butirato pode aumentar a secreção de GLP-1 e PYY, assim como o propionato.

2. 4. 1. Consumo alimentar e produção intestinal de ácidos graxos de cadeia curta

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS)¹³¹, a alimentação saudável constitui uma importante ferramenta para auxiliar no controle das doenças crônicas não transmissíveis¹³¹. Além disso, a Organização orienta que mais de 55% do consumo energético seja proveniente de carboidratos, porém, deve-se atentar a qualidade do carboidrato que é consumido. Como por exemplo, as fibras alimentares, as quais são carboidratos e devem ser consumidas de 25 a 30 gramas ao dia¹³².

A fibra alimentar é um termo geral utilizado para aqueles carboidratos indigestíveis, que são resistentes a ação das enzimas e somente são quebrados através da fermentação das bactérias intestinais¹³³. As fibras podem ser classificadas em: solúveis e insolúveis. As solúveis, como pectina, goma e inulina, se dissolvem facilmente em água, formam géis e são facilmente fermentadas pela microbiota, as insolúveis, lignana e celulose, não são solúveis em água, não formam géis e sofrem uma limitada fermentação bacteriana. Assim, as bactérias residentes do intestino possuem maior habilidade em fermentar as fibras solúveis para produzir os AGCC¹⁰. Sabe-se que a dieta tem a capacidade de modular a composição microbiana intestinal, pois diferentes componentes da dieta são responsáveis por moldar a seletividade, riqueza e diversidade da microbiota¹³⁴.

Ensaio clínico e estudos experimentais têm investigado a relação entre o consumo de fibra alimentar e a produção intestinal de AGCC. Em um recente ensaio clínico randomizado, conduzido por Mueller et al.¹²⁰, 164 participantes foram distribuídos em três diferentes grupos e orientados a seguir uma dieta específica por seis semanas: o primeiro possuía um cardápio com maior concentração de carboidratos, o segundo com mais proteínas e o terceiro com predominância de gordura insaturada, todos contendo a mesma concentração de fibras dietéticas. Ao final da intervenção, o acetato sérico teve aumento para os três grupos, acompanhado de redução nos níveis de insulinemia e glicemia de jejum. O grupo com predominância de proteína teve maiores concentrações de acetato e propionato quando comparado ao grupo de carboidratos¹²⁰. Segundo os autores, isso pode ser explicado pela troca entre a fermentação sacarolítica e proteolítica. Estudos vêm demonstrando que uma dieta baseada em proteínas vegetais e animais, podem ter diversos efeitos na composição bacteriana da microbiota, e, consequentemente afetar a produção de AGCC, mostrando que, apesar da importância das fibras alimentares, os macronutrientes também exercem influência nas concentrações séricas e fecais de AGCC^{120;135}. O mesmo foi demonstrado por Miranda et al.¹², cujo estudo mostrou que o consumo de gorduras se correlacionou negativamente com acetato

sérico e positivamente com butirato sérico, em 96 adolescentes do sexo feminino¹². No entanto, Yamamura et al.¹³⁶, não mostraram diferença significativa entre o consumo alimentar de macronutrientes e fibras alimentares com os AGCC séricos e fecais¹³⁶.

Em estudo experimental conduzido por Li et al.¹⁰, ratos Wistar diabéticos e saudáveis foram distribuídos em três grupos: controle, dieta rica em fibras solúveis e dieta rica em fibras insolúveis; os autores observaram que o tratamento com fibras alimentares (solúveis e insolúveis) promoveu redução significativa nos níveis lipêmicos e glicêmicos em ratos saudáveis e diabéticos, respectivamente. Além disso, o grupo com dieta rica em fibra solúvel obteve maiores concentrações cecais de propionato, comparado aos demais grupos¹⁰.

Maiores concentrações fecais de AGCC podem ser resultado de uma maior produção colônica e/ou de uma menor absorção intestinal desses ácidos graxos. Ademais, a microbiota do obeso pode estar formada por uma menor concentração de espécies bacterianas que utilizam os AGCC como fonte energética¹³⁷. Inequivocamente, o consumo dietético vem demonstrando potenciais efeitos nas concentrações séricas e fecais de AGCC, influenciando assim a homeostase metabólica.

2. 4. 2. Ácidos graxos de cadeia curta e homeostase energética

Estudos realizados com animais vêm demonstrando que a suplementação oral de alguns AGCC pode ser eficaz no controle de peso corporal através de vários mecanismos^{138; 139}. Em animais, foi demonstrado que o tratamento com AGCC reduziu o ganho de peso e a adiposidade^{140; 141}. Em camundongos tratados com dieta hiperlipídica e butirato, as análises na câmara metabólica revelaram que os animais desenvolveram termogênese adaptativa com aumento na oxidação de gorduras. Na musculatura esquelética e no tecido adiposo marrom foi identificado aumento da função mitocondrial¹⁷. A administração oral de acetato, em ratos tratados com dieta hiperlipídica sem redução na ingestão alimentar promoveu diminuição na gordura corporal total e no conteúdo hepático de lipídeos. Em paralelo houve aumento na expressão hepática de proteínas relacionadas à termogênese^{15; 17}.

Den Besten et al.¹⁶ conduziram um estudo no qual distribuíram ratos machos CB57B1/6J em dois grupos, intervenção e controle. No primeiro, os animais consumiam dieta hiperlipídica com acetato de sódio, no outro, apenas ingeriam a dieta hiperlipídica isolada. Foi observada perda de peso corporal através do aumento do gasto energético e da oxidação lipídica e melhora da sensibilidade à insulina no grupo intervenção comparado ao grupo controle. Este benefício foi atribuído à desregulação da atividade do PPAR γ (receptores ativados por proliferadores de peroxissoma tipo gama), promovendo a ativação da cadeia de UCP2-AMPK-

ACC, além de aumento da relação AMP/ATP, estimulando o metabolismo oxidativo no fígado e tecido adiposo via AMPK¹⁶. A AMPK atua como indicadora dos estoques de energia celular e como reguladora chave da homeostase metabólica. Evidências sugerem que a AMPK pode ser ativada pelos AGCC de forma direta e indireta¹⁴, proporcionando redução do acúmulo de gordura corporal, da esteatose hepática, da hipertrigliceridemia e melhora da sensibilidade à insulina¹³⁸. Além disso, em camundongos nocaute para o receptor FFA33, observa-se menor gasto energético comparados aos camundongos normais pareados para o mesmo nível de atividade física¹⁴². Em estudo conduzido por Ridaura, et al¹⁴³, o qual transplantou a microbiota fecal de gêmeos humanos discordantes para a obesidade em camundongos *germ-free*, foi possível observar que aqueles camundongos que receberam o transplante da microbiota obesa apresentaram adiposidade aumentada, redução nas concentrações cecais de AGCC, monossacarídeos e dissacarídeos¹⁴³.

Outros estudos também vêm demonstrando a redução da adiposidade corporal associada com maiores concentrações séricas de AGCC^{106; 119; 139; 144}. Os AGCC parecem ter um papel modulador do peso corporal através da regulação da ingestão energética via produção de hormônios anorexígenos¹⁴⁵, no aproveitamento de energia¹⁴⁶, na modulação do sistema nervoso simpático¹⁴⁷ e na gliconeogênese intestinal¹⁴⁰. Em 2018, Chambers et al.¹⁴⁸ mostraram que a suplementação oral de 6,8 g de propionato de sódio aumentou a oxidação lipídica e o gasto energético em 18 voluntários saudáveis comparados ao grupo controle que ingeriu apenas cloreto de sódio. Ademais, houve aumento da secreção plasmática pós-prandial de PYY e GLP-1 e, conseqüente redução da ingestão alimentar. Ao final das 24 semanas de intervenção, houve redução significativa do peso corporal, gordura intra-abdominal e do conteúdo hepático de lipídeos¹⁴⁸. Entretanto, outro recente estudo, apontou que a suplementação diária de 4g de butirato de sódio por 4 semanas em homens saudáveis e com síndrome metabólica não mostrou diferença no gasto energético e nos níveis fecais e séricos de butirato, mas nos indivíduos saudáveis houve melhora significativa da resistência à insulina periférica e hepática¹³.

Em humanos tem sido demonstrada maior concentração de AGCC nas fezes de indivíduos obesos em comparação aos magros^{118; 149; 150}. Estes resultados têm apoiado a hipótese de maior captação ou aproveitamento de energia no obeso, como explicação para o ganho de peso adicional¹⁵¹, bem como devido ao perfil da microbiota do obeso, que é mais eficiente em realizar a fermentação de substratos comparado a microbiota do magro^{150; 152}.

Apesar de vários estudos *in vivo* e *in vitro* apontarem potenciais benefícios dos AGCC no controle do peso corporal, principalmente através do aumento do gasto energético,

os estudos em humanos ainda são insuficientes para demonstrar o real benefício na perda e manutenção do peso a longo prazo, principalmente em indivíduos obesos.

2. 4. 3. Ácidos graxos de cadeia curta e homeostase glicêmica

Os AGCC também têm sido alvo de estudo no metabolismo dos carboidratos. Em ratos tratados com dieta hiperlipídica, a administração de butirato preveniu o desenvolvimento de resistência à insulina, intolerância à glicose e obesidade¹⁷. Em animais, demonstrou-se que os AGCC melhoram o quadro metabólico no DM2, pois alteram a função das células beta-pancreáticas via inibição de histonas deacetilases, promovendo desenvolvimento das células-beta e redução da apoptose¹⁵³.

Estudos vem demonstrando que as concentrações séricas e fecais dos três principais AGCC estão positivamente associados com níveis plasmáticos em jejum de GLP-1, e negativamente associados com glicerol, triacilglicerol e ácidos graxos livres^{120; 154}. Os AGCC estimulam a secreção de GLP-1 pelas células enteroendócrinas L via ativação da proteína G acoplada ao FFAR2, estimulando a secreção de insulina^{116; 117; 154}. Um recente estudo conduzido por Rosado et al.¹⁵⁵, teve como objetivo avaliar os efeitos do amido resistente da banana verde na esteatose hepática e produção cecal de AGCC em camundongos obesos alimentados com dieta hiperlipídica. Para isso, os camundongos foram distribuídos em quatro grupos: dieta controle, dieta controle + banana verde, dieta hiperlipídica e dieta hiperlipídica + banana verde. Os autores demonstraram que o grupo hiperlipídica + banana verde obteve menor ganho de peso, melhora no tecido hepático e em marcadores hepáticos séricos, ou seja, potencial redução da lipogênese hepática. Esses benefícios foram atribuídos ao aumento de AGCC que ocorreu, podendo estar envolvido na modulação dos níveis de proteínas hepáticas presentes no metabolismo lipídico, bem como, de AMPK, impactando na gliconeogênese e lipogênese. Em paralelo, houve redução da insulinemia, que possivelmente foi mediada pelos AGCC, através da melhora do controle glicêmico e da resposta das células beta pancreáticas. Ou seja, a adição da banana verde, composta principalmente por amido resistente, foi eficaz no aumento da produção de AGCC, na diminuição da expressão de genes envolvidos na lipogênese e no aumento da expressão de proteínas transportadoras envolvidas no metabolismo lipídico¹⁵⁵.

Estudos demonstram que a suplementação de butirato é eficaz na redução da liberação de citocinas pró-inflamatórias pelo fígado (TNF-alfa, IL-1 β e IL-6), o que contribui para diminuição da resistência à insulina¹⁵⁶. Em camundongos parcialmente diabéticos sob ação de estreptozotocina que receberam dietas contendo amido resistente, foi observada melhora na sensibilidade à insulina mensurada pelo teste de tolerância oral à glicose¹¹⁵. Em ratos Goto-

Kakizaki, magros e diabéticos tipo 2, a inclusão de amido resistente à dieta melhorou a sensibilidade à insulina e aumentou a massa pancreática comparado aos controles¹⁵⁷.

Recentes estudos apontam que os AGCC, através da ligação com o receptor FFA2, podem desempenhar potenciais benefícios na sensibilidade à insulina. Em cultura de ilhotas pancreáticas humanas, um tratamento de 24 horas com 1mM de propionato foi eficaz para reduzir a morte celular induzida por citocinas. Em paralelo, um pré-tratamento com 1mM de acetato de sódio foi eficaz na reversão das mortes celulares, evidenciando efeitos indiretos do acetato e propionato na preservação das ilhotas pancreáticas contra ácidos graxos livres e citocinas pró-inflamatórias¹⁵⁸.

Uma série de questões que permeiam o metabolismo dos AGCC ainda precisam ser investigadas em humanos. São inexistentes estudos que investigaram a associação de cada AGCC com parâmetros de homeostase energética (gasto energético de repouso, flexibilidade metabólica e oxidação de substratos energéticos) e glicêmica em indivíduos com os diferentes fenótipos metabólicos da obesidade. Assim sendo, permanecem lacunas sobre a relevância clínica do consumo de fibras dietéticas, em indivíduos com diferentes fenótipos metabólicos da obesidade, na produção dos AGCC e sua associação com a homeostase energética e glicêmica, reforçando assim, a importância de estudar tais relações para personalizar e aprimorar as intervenções terapêuticas.

2. 5. Estudos epidemiológicos com profissionais da área da saúde

Análises envolvendo a temática Nutrição e Metabologia, ancoradas em estudos de base populacional, vêm sendo conduzidas. Experiências estrangeiras de coortes de profissionais da saúde têm motivado a condução de estudos visando à identificação de determinantes de problemas de saúde pública e à proposição de meios para sua resolução ou controle^{55; 159}.

O *Nurses' Health Study* – NHS⁵⁵, iniciado em 1976, tem trazido contribuições relevantes sobre a transitoriedade dos fenótipos metabólicos da obesidade e sobre o papel dos hábitos de vida na saúde de mulheres enfermeiras americanas. Os pesquisadores escolheram este profissional em função do nível educacional, possibilitando responder com precisão questionários tecnicamente formulados e motivação para participar do estudo de longa duração. Na mesma linha, o *Health Professionals Follow-Up Study* – HPFS¹⁵⁹ tem buscado investigar aspectos da saúde do homem, envolvendo 51.529 dentistas, farmacêuticos, veterinários, fisioterapeutas e outros.

No Brasil, são escassas iniciativas semelhantes aos estudos de profissionais da saúde desenvolvidos em outros países. Em 2014, pesquisadores da Universidade de São Paulo

(USP) deram início ao Estudo de Saúde das Nutricionistas ou *Nutritionists' Health Study* – Nutri-HS, cujo principal objetivo tem sido conhecer hábitos de vida, consumo alimentar, perfil sociodemográfico, antecedentes familiares de doenças crônicas não transmissíveis, perfil antropométrico e de composição corporal, perfil metabólico relativo aos fatores de risco cardiovascular clássicos e emergentes, e a composição da microbiota intestinal; investigando as relações entre estes parâmetros. O fato da Faculdade de Saúde Pública (FSP) da USP abrigar um Curso de Graduação em Nutrição representa condição propícia para o desenvolvimento de estudo em alunos e egressos deste curso. Em 2017, dentro da temática da obesidade, pesquisadores da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP) iniciaram um novo braço do Nutri-HS, cujo objetivo tem sido estudar os mecanismos subjacentes associados aos fenótipos metabólicos da obesidade.

3. JUSTIFICATIVA

A elevação da prevalência de obesidade no Brasil e no mundo vem gerando impactos negativos na qualidade de vida da população e sobrecarga aos sistemas de saúde. A obesidade caracteriza-se por sua etiologia multifatorial e por uma apresentação heterogênea entre os indivíduos acometidos, cuja fisiopatologia ainda apresenta lacunas a serem compreendidas. O reconhecimento dos diferentes fenótipos metabólicos da obesidade - “obeso/sobrepeso metabolicamente saudáveis” ou *metabolically healthy obese* e “peso normal metabolicamente não saudáveis” ou *normal weight metabolically unhealthy* tem proporcionado um modelo humano ímpar de estudo para a compreensão dos mecanismos subjacentes que promovem o ganho de peso, o acúmulo de gordura corporal, e o desenvolvimento das alterações e doenças cardiometabólicas relacionadas à obesidade.

Considerando a potencial capacidade de modulação das homeostases energética e glicêmica pelos AGCC produzidos pela microbiota intestinal a partir da fermentação das fibras dietéticas, uma série de questões que permeiam o metabolismo dos AGCC ainda precisam ser investigadas em humanos. São escassos estudos em humanos que investigaram a associação dos AGCC com parâmetros de homeostase energética (gasto energético de repouso, flexibilidade metabólica e oxidação de substratos energéticos) e glicêmica (resistência à insulina e secreção de insulina), assim como nos diferentes fenótipos metabólicos da obesidade. Não obstante, permanecem lacunas sobre a relevância clínica do consumo de fibras dietéticas e macronutrientes na produção dos AGCC e sua associação com a homeostase energética e glicêmica, em indivíduos com diferentes fenótipos metabólicos da obesidade, sendo oportuno estudar tais relações.

4. OBJETIVOS

4. 1. Objetivo geral

Comparar as concentrações fecais de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) em mulheres em idade fértil segundo a presença dos fenótipos: peso normal metabolicamente saudável; peso normal metabolicamente não saudável; obeso/sobrepeso metabolicamente saudável; e obeso/sobrepeso metabolicamente não saudável.

4. 2. Objetivos específicos

- Associar as concentrações fecais de AGCC com adiposidade corporal;
- Associar as concentrações fecais de AGCC com a saúde metabólica;
- Correlacionar as concentrações fecais de AGCC com o consumo de energia, macronutrientes e fibra dietética;
- Correlacionar as concentrações fecais de AGCC com componentes da homeostase energética (gasto energético de repouso, flexibilidade metabólica e taxa de oxidação de substratos)
- Correlacionar as concentrações fecais de AGCC com componentes da homeostase glicêmica (resistência à insulina e secreção de insulina).

5. MATERIAIS E MÉTODOS

5. 1. Delineamento do estudo e local de realização do estudo

Trata-se de um estudo de delineamento transversal que é parte de um estudo de maior abrangência intitulado *Nutritionists' Health Study* – Nutri-HS. A presente dissertação de mestrado é um subestudo dentro do estudo Nutri-HS USP-São Paulo, a qual foi conduzida na UNICAMP, no Laboratório de Investigação do Metabolismo e Diabetes (LIMED) de 2018 a 2020.

5. 2. Aspectos éticos

Ambos estudos (NutriHS-USP e NutriHS-UNICAMP) possuem aprovação de seus respectivos comitês de ética - CAAE UNICAMP: 79775817.4.1001.5404. Todos os interessados foram esclarecidos, orientados e concordaram com o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) do Nutri-HS braço USP e UNICAMP disponíveis na plataforma online (<http://www.fsp.usp.br/nutrihs/index.html>).

5. 3. Casuística e critérios de elegibilidade

No tocante à captação de voluntários, a meta inicial era a inclusão de 120 voluntárias distribuídas igualmente entre os fenótipos metabólicos (peso normal metabolicamente saudável, peso normal metabolicamente não saudável, obeso/sobrepeso metabolicamente saudável e obeso/sobrepeso metabolicamente não saudável), contudo, **248** indivíduos acessaram o website do Nutri-HS (*e-NutriHS*) (<http://www.fsp.usp.br/nutrihs/index.html>) e preencheram os questionários online do estudo, **127** foram até o laboratório LIMED e passaram pela avaliação inicial (*hábitos de vida, antropometria, composição corporal e perfil bioquímico, o que resultou na inclusão do voluntário no banco de dados geral do Nutri-HS*), e destas, **111** preencheram os critérios de inclusão e entregaram as amostras fecais, **105** retornaram para realizar o teste de refeição mista padrão e a calorimetria indireta. A Figura 3 ilustra o número de triados e incluídos para cada um dos fenótipos.

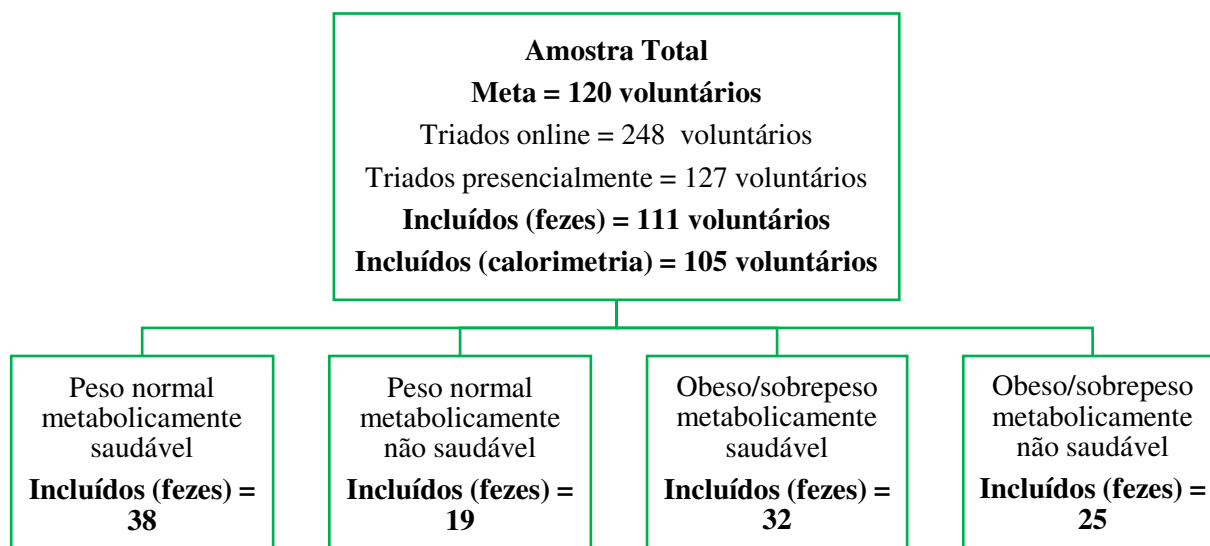


Figura 3. Diagrama com a descrição da amostra estudada e do *status* final dos indivíduos triados e incluídos para cada um dos fenótipos.

Os critérios de inclusão foram: sexo feminino, idade entre 18 e 45 anos, IMC entre 18,5 e 40 kg/m² e ser estudante de nutrição ou nutricionista. Não foram incluídos: homens, gestantes e lactantes, portadores de diabetes tipo 1 ou tipo 2 segundo critérios da *American Diabetes Association* (ADA)¹⁶⁰, uso de medicamentos com efeito na glicemia e na sensibilidade à insulina, uso de probióticos ou antibióticos nos últimos 3 meses, evidência clínica ou laboratorial de doença cardíaca, renal, hepática e de doença sistêmica grave como câncer e AIDS.

Ações de sensibilização sobre a importância do Nutri-HS foram realizadas. A página do estudo em uma rede social foi alimentada com conteúdo científico durante toda a

coleta de dados, objetivando divulgar o estudo para o público alvo. A equipe do estudo desenvolveu pequenas palestras presenciais e vídeos para divulgar a pesquisa, sob autorização dos respectivos coordenadores do curso de nutrição em 11 instituições da macrorregião da cidade de Campinas/SP. Foram também enviados e-mails de divulgação do estudo aos coordenadores dos cursos de graduação em Nutrição de faculdades e universidades que distavam um raio de 300 km da UNICAMP. Além disso, houve divulgação presencial do estudo em três eventos científicos, sendo dois sediados na UNICAMP e um no Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL). A Associação Paulista de Nutrição – APAN auxiliou na divulgação do estudo para seus associados. Na tentativa de concluir a captação de voluntários com os perfis metabólicos e de adiposidade pré-definidos para o presente estudo, ao final, foi realizado contato telefônico com as voluntárias que participaram da primeira chamada do estudo Nutri-HS realizada na Faculdade de Saúde Pública da USP.

5. 4. Coleta de dados

Por meio de questionários estruturados, com preenchimento eletrônico, disponibilizado através de senhas específicas e individuais, foram obtidos dados sociodemográficos, de hábitos de vida e consumo alimentar.

O estudo incluiu as seguintes etapas:

Etapa 1 – Realização de cadastramento no site, com aceite do TCLE e preenchimento do questionário de frequência alimentar. Ao final, ocorreu o agendamento com orientações de preparo para a primeira coleta presencial (Anexo 1).

Etapa 2 – Avaliação antropométrica, da composição corporal por DEXA e coleta sanguínea para posterior caracterização do fenótipo metabólico. Entrega do kit contendo coletor de fezes, coletor de urina 12 horas e de orientações para a realização do teste de calorimetria indireta e teste de refeição mista padrão (Anexo 2).

Etapa 3 – Coleta da amostra de fezes e urina e aferição da pressão arterial, com posterior teste de calorimetria indireta associado ao teste de refeição mista padrão.

Além disso, com o objetivo de facilitar a logística da coleta de dados foi elaborado, por toda a equipe de pós-graduandos do estudo, um Procedimento Operacional Padrão. Neste documento é possível encontrar todas as instruções e orientações para a realização das avaliações e análises que foram feitas em todas as etapas de coleta de dados.

5. 5. Avaliação da pressão arterial, antropometria e composição corporal

A pressão arterial foi obtida por esfigmomanômetro de mercúrio com adequação do manguito à circunferência braquial, segundo normas da Sociedade Brasileira de Cardiologia¹⁶¹.

O peso foi obtido em balança digital com precisão de 0,1 kg, em que a avaliada foi posicionada em pé, no centro da plataforma da balança, com os braços estendidos ao longo do corpo¹⁶² e a estatura foi obtida em estadiômetro fixado na parede com precisão de 0,1 cm, em que a avaliada foi posicionada em pé, com os pés unidos, calcanhares, cintura pélvica, cintura escapular e região occipital em contato com a escala do estadiômetro, com o olhar num ponto fixo a sua frente¹⁶², ambos foram utilizados para a determinação do IMC²⁴. A circunferência da cintura foi obtida com o indivíduo ereto, usando fita métrica flexível e inelástica, com precisão de 0,1 cm, localizando-se o ponto médio entre a última costela e a crista ilíaca, a voluntária permaneceu em pé, parada, com os músculos abdominais relaxados e com o peso corporal distribuído igualmente nos dois pés, separados aproximadamente em 30 cm¹⁶³.

Para a obtenção dos parâmetros da composição corporal, como o percentual de gordura corporal total, percentual de gordura androide e ginoide e a massa em gramas de tecido adiposo visceral (TAV), foi utilizado o densitômetro de dupla emissão com fonte de raio-X (GE-Healthcare Lunar iDEXA), o qual dispõe de *software* que permite avaliar os diferentes compartimentos corporais. O controle de qualidade do instrumento foi realizado diariamente, seguindo as instruções do fabricante.

As participantes foram colocadas em decubito dorsal na mesa do equipamento com o corpo alinhado com o eixo horizontal central. Os braços foram posicionados paralelamente ao corpo, mas sem tocá-lo e com as mãos apoiadas na mesa. As pernas foram totalmente estendidas e os pés fixados um ao lado do outro com o auxílio de uma faixa com velcro, para que os pés não fossem movimentados durante o exame. As digitalizações e as regiões de interesse foram analisadas e ajustadas manualmente de acordo com as instruções da equipe técnica do fabricante¹⁶⁴.

5. 6. Classificação dos fenótipos metabólicos

Para realizar a classificação do fenótipo metabólico utilizou-se a proposta mais estrita do *BioShare Health Obese Project*⁶⁷, o qual considera o IMC e cinco parâmetros cardiometabólicos. Foram consideradas eutróficas ou com peso normal as mulheres com IMC entre 18,5 e 24,9 kg/m²; e obeso/sobrepeso as mulheres com IMC ≥ 25 kg/m², segundo os critérios da Organização Mundial da Saúde². A definição de saúde metabólica, considerou a ausência de alteração nos seguintes parâmetros⁶⁷: pressão arterial sistólica ≥ 130 mmHg ou

diastólica ≥ 85 mmHg, ou uso de medicação antihipertensiva; glicemia de jejum ≥ 110 mg/dL ou glicemia não de jejum ≥ 140 mg/dL, ou uso de hipoglicemiante oral; HDL-colesterol < 50 mg/dL ou uso de medicação para tratamento de baixos níveis de HDL; triglicérides ≥ 150 mg/dL ou em tratamento para hipertrigliceridemia; e diagnóstico de doença cardiovascular. Indivíduos com uma ou mais alterações nos critérios de saúde metabólica foram classificados como metabolicamente obesos.

5. 7. Procedimentos analíticos

Após jejum de 12 horas, foram realizadas dosagens bioquímicas para caracterização do perfil lipídico (LDL-colesterol, HDL-c, triglicérides e colesterol total) e enzimas hepáticas, estes parâmetros foram analisados por métodos colorimétricos e enzimáticos e o LDL-c foi calculado pela equação de Friedwald¹⁶⁵. A hemoglobina glicada foi dosada por cromatografia líquida de alta performance (HPLC). As glicemias de jejum e pós estímulo oral foram mensuradas em tempo real, durante o teste de refeição mista padrão, pelo bioanalisador YSI 2700 com coeficiente de variação de 2%. Os níveis de insulina e GLP-1 foram analisados por ensaio imunométrico ELISA. A excreção urinária de nitrogênio foi calculada pelo método enzimático UV por meio da dosagem de ureia urinária. As dosagens de GLP-1 foram realizadas no Laboratório de Investigação do Metabolismo e Diabetes (LIMED), e as demais dosagens realizadas pelo laboratório de Patologia do Hospital das Clínicas da UNICAMP.

5. 8. Avaliação do consumo alimentar

A avaliação do hábito alimentar foi realizada por meio de QFA (questionário de frequência alimentar) previamente validado para a população adulta do estado de São Paulo¹⁶⁶. Este QFA conta com 101 alimentos, com três opções de porções (pequena, média e grande), sendo apresentadas em gramas e medidas caseiras. É possível avaliar a frequência do consumo de cada alimento no período de um ano, através do número de vezes que a voluntária consome cada alimento (0 a 10 vezes) e o tempo de consumo (por dia, semana, mês ou ano). Este questionário foi preenchido eletronicamente na plataforma online *e-Nutri-HS* e seus dados tem como principal base de dados a tabela norte-americana do USDA - *National Nutrient Database for Standard Reference* (<http://ndb.nal.usda.gov/>). Foi calculado o equivalente a um dia alimentar referente ao consumo total diário de energia, macronutrientes e fibras alimentares total, insolúvel e solúvel, de acordo com os dados de composição nutricional.

5. 9. Avaliação da homeostase glicêmica e energética

O gasto energético de repouso (GER), o quociente respiratório (QR) e a flexibilidade metabólica foram mensurados pelo teste de calorimetria indireta no equipamento VMAX 29 N Encore, com sistema canopy, segundo o protocolo proposto por Fullmer, et al.⁹. As voluntárias foram orientadas a não consumirem bebidas alcóolicas e a não realizarem atividade física moderada/vigorosa 48 horas antes do teste. Fumantes foram orientados a não fumar nas 2,5 horas que antecedem a chegada ao laboratório. Na noite anterior, as voluntárias consumiram uma das três opções de refeições padronizadas (Anexo 3) contendo 600 calorias, 60% de carboidrato, 22% de gordura, 18% proteína e aproximadamente 8g de fibras totais¹⁶⁷, pois a padronização da última refeição garante acurácia na avaliação do QR e da oxidação dos substratos energéticos¹⁶⁸. No dia do exame, o monitor do aparelho permaneceu ligado por 30 minutos antes do início do teste para estabilização. O equipamento foi calibrado com gás de concentração conhecida. A sala foi mantida entre 22 e 25°C, com iluminação natural e com o mínimo de ruídos possível. As voluntárias chegaram ao laboratório às 7:00h, em jejum nas 12 horas, para minimizar qualquer efeito térmico residual da dieta. Além disso, foram orientadas a coletar toda a urina produzida neste período de 12 horas em coletor específico. Ao chegar ao laboratório foram pesadas após esvaziarem suas bexigas em coletor específico e permaneceram em repouso, na posição supina, por 30 minutos até o início das avaliações.

Após o repouso inicial, a avaliação do metabolismo energético foi realizada por 30 minutos para a determinação do GER, do QR e da taxa de oxidação de substratos de jejum. Não foi permitido dormir e a voluntária foi orientada a não se mexer⁹. Ao final, foi solicitado as voluntárias para realizarem uma nova coleta de urina, mesmo que estivessem com a sensação de bexiga vazia. Na sequência, um cateter venoso foi colocado na região antecubital para coleta de sangue. As voluntárias receberam uma refeição líquida de 524 kcal (Nutren 1.5®) em 340 mL, com distribuição calórica de uma refeição balanceada, composta por 75g de carboidratos, 19g de proteínas e 16,3g de lipídios, que era ingerida em até 5 minutos¹⁶⁹. As voluntárias permaneceram em repouso durante o teste. Amostras de sangue foram coletadas nos tempos - 15, 0 (antes da ingestão alimentar), 30 (após o final da ingestão alimentar), 60, 120 e 180 minutos. Foram utilizados para a coleta tubos secos, tubos com EDTA com diprotina A, inibidor de protease que impede que o GLP-1 seja degradado. Glicose e insulina foram dosados em todos os tempos avaliados. O GLP-1 foi dosado nos tempos 0, 30, 60, 120 e 180 minutos. A calorimetria indireta foi realizada ao final dos 20 minutos que antecedem cada coleta de sangue. Ao final do exame foi realizada a última coleta de urina. O volume total de urina foi computado, reservado em alíquotas e analisado pelo laboratório de Patologia do Hospital das Clínicas da

UNICAMP. O nitrogênio urinário foi mensurado como marcador da oxidação de proteínas. O protocolo está demonstrado na Figura 4.

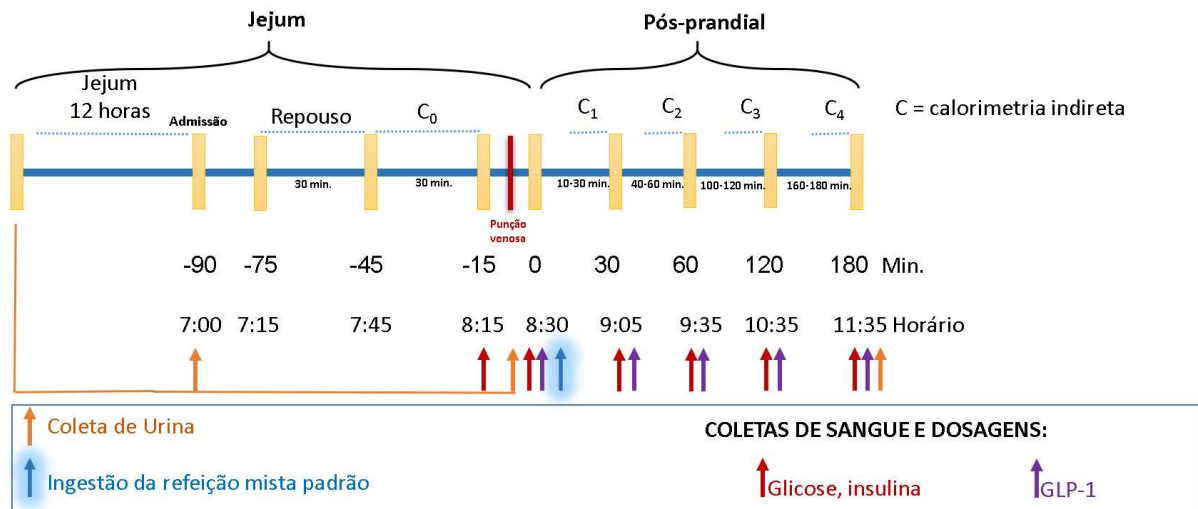


Figura 4. Protocolo experimental para avaliação das concentrações séricas de glicose, insulina GLP-1 e homeostase energética.

5. 9. 1. Cálculo da homeostase energética

As taxas de oxidação de substratos (TOS): lipídeo e carboidrato^{170; 171}; e o QR foram calculados nos tempos 0, 30, 60, 120 e 180 min. usando equações padrão para consumo de oxigênio, produção de dióxido de carbono e excreção de nitrogênio urinário e o GER foi calculado através da equação de Weir, a qual é definida por: $GER (kcal/dia) = [3,9 (VO_2) + 1,1 (VCO_2)] \times 1,44 - 1,99 \times NU$. Onde, VO_2 trata-se do consumo de oxigênio, VCO_2 é o volume da produção de dióxido de carbônico e NU é correspondente a excreção de nitrogênio urinário¹⁷¹. Para o cálculo do GER foi levado em consideração apenas os últimos 20 minutos do teste de calorimetria indireta, considerado *stead state*, em que o coeficiente de variação foi inferior a 5% para todas as variáveis (O_2 , CO_2 e QR)¹⁷². Além disso, o GER foi ajustado de acordo com kg de peso corporal, o qual foi calculado através da divisão do GER pelo kg de peso corporal. A flexibilidade metabólica foi representada pelo delta entre o quociente respiratório pós-prandial e o QR de jejum, nos tempos 30, 60, 120 e 180 min.⁹¹. Também foram calculadas as áreas abaixo da curva (AUC) para a taxa de oxidação de lipídeos e carboidratos durante o teste de refeição mista padrão, através do método trapezoidal. As taxas de oxidação dos substratos para cada um dos tempos foram calculadas através das fórmulas apresentadas na figura 5.

$$\text{Carboidratos} = ((4,55 \times \text{VCO}_2) - (3,21 \times \text{VO}_2)) \times 1,44 - (2,87 \times \text{NU})$$

$$\text{Lipídeos} = (1,67 \times (\text{VO}_2 - \text{VCO}_2)) \times 1,44 - (1,93 \times \text{NU})$$

Figura 5. Fórmulas para cálculo das taxas de oxidação de substratos.

5. 9. 2. Cálculo da homeostase glicêmica

A sensibilidade à insulina foi avaliada pelo índice HOMA-IR (Modelo de Avaliação da Homeostase para Resistência à Insulina)¹⁷³, calculado a partir dos níveis de glicemia e insulinemia basal, segundo a fórmula: insulina basal x glicemia basal (mmol)/22,5; e pelo *Oral Glucose Insulin Sensitivity* - OGIS¹⁷⁴, para as dosagens de glicose e insulina obtidas durante o teste de refeição padrão. O OGIS foi calculado segundo os métodos descritos por Mari et al.¹⁴⁶ utilizando a planilha disponível em: <http://webmet.pd.cnr.it/ogis/>. O OGIS derivado do teste de refeição mista padrão apresenta forte correlação ($r = 0,82$) com o OGIS obtido no teste de tolerância oral à glicose¹⁷⁵. Para a determinação da secreção de insulina foi calculado o índice insulinogênico ($\Delta\text{T30Insulina}/\Delta\text{T30glicemia}$)¹⁷⁶.

Além disso, foram também determinadas as áreas sob as curvas (AUC) de glicemia, insulina e GLP-1 durante o teste de refeição mista padrão utilizando-se o padrão trapezoidal¹⁷⁷.

5. 10. Dosagens fecais de AGCC

Foram realizadas dosagens fecais de 111 voluntárias para os três principais AGCC (acetato, propionato e butirato), no entanto, para butirato foram apresentados resultados de apenas 108, devido a não detecção desse metabólito nas amostras fecais de três voluntárias. As amostras fecais foram coletadas pelas voluntárias de acordo com as orientações anexadas no Anexo 2. Imediatamente após a entrega, as fezes foram separadas em alíquotas em criotubos específicos e armazenados em freezer -80°C . Para realizar a quantificação de acetato, butirato e propionato foi aplicado o método proposto por Fellows, et al.¹⁷⁸. Resumidamente, as amostras fecais foram descongeladas, pesadas e homogeneizadas em água. Após, o cloreto de sódio, ácido cítrico e ácido clorídrico 1M foram adicionados, junto ao padrão interno (ácido caprílico) e solubilizados em butanol. Novamente, as amostras foram homogeneizadas em vortex e centrifugadas a 13000 rpm, a 25°C , por 15 minutos. Para a construção da curva de calibração, em concentrações de 0,015 a 0,1 mg/mL, utilizou-se os AGCC acetato, butirato e propionato (Sigma-Aldrich).

As análises dos AGCC foram realizadas através da cromatografia gasosa acoplada à espectrômetro de massas (modelo GCMS-QP2010 Ultra; Shimadzu) com coluna Stabilwax

(Restec Corporation, USA) com dimensões entre 30 m × 0.25 mm de diâmetro interno e revestido com camada de 0,2 µm de polietilenoglicol. Através do injetor automático, 1 µL foi injetado à temperatura inicial de 250°C, usando *split* de 25:1. O gás hélio puro foi utilizado como gás de arraste, com taxa de fluxo constante em 1,0 mL/min. As condições do espectrômetro de massas foram de: tensão de ionização a 70 eV, temperatura da fonte de íons a 200°C, modo de varredura completa na faixa de massa entre 35 a 500, com velocidade de 0,2s/varredura. Ainda, o tempo de duração de cada análise foi de 11,95 minutos.

As dosagens de AGCC fecais foram realizadas no Laboratório de Genômica Nutricional (LabGeN), localizado na Faculdade de Ciências Aplicadas da UNICAMP.

5. 11. Análises estatísticas

A construção do banco de dados e as análises estatísticas foram realizadas no software IBM SPSS Statistics 24.0. As variáveis quantitativas foram apresentadas em mediana e intervalo interquartil (p25 – p75) e as qualitativas em percentual. Os valores mínimos e máximos foram apresentados para variáveis de caracterização da amostra, com o objetivo de apresentar a amplitude de variação de alguns parâmetros. As variáveis antropométricas e de composição corporal - IMC, circunferência da cintura, gordura corporal total, gordura androide e ginoide, relação gordura androide-ginoide e tecido adiposo visceral - foram categorizadas em tercís, com o objetivo de se comparar as participantes no extremo de menor adiposidade (1º tercil) com o restante da amostra (2º e 3º tercís). O teste de Kolmogorov Smirnov foi aplicado para verificar a normalidade das variáveis. Para as variáveis que aderiram ao teste de normalidade foram aplicados o Teste T de *Student* para a comparação de médias entre dois grupos independentes e o teste de correlação de Pearson para avaliar a correlação entre duas variáveis quantitativas. Para as variáveis que não apresentaram distribuição normal foram utilizados: o teste de Mann Whitney para a comparação de médias entre dois grupos independentes; o teste de Kruskal Wallis com teste post hoc de Duncan para a comparação de médias entre três ou mais grupos independentes; a análise de variância de dois fatores de Friedman por postos para a comparação de três ou mais grupos dependentes associado à comparação múltipla por pares; e a correlação de Spearman para avaliar a correlação entre duas variáveis quantitativas. Foi adotado como nível de significância um $p < 0,05$.

6. RESULTADOS

A amostra estudada foi composta por 111 mulheres, sendo 60,4% nutricionistas e 39,6% estudantes de nutrição, com mediana (intervalo interquartil) de idade de 28 (24 – 31)

anos. Segundo valores de IMC, 49,6% apresentaram peso normal. As medianas dos níveis pressóricos, do perfil lipídico e glicêmico de jejum estavam dentro da faixa de normalidade e a maioria (59%) das participantes foram classificadas como metabolicamente saudáveis. Em relação a classificação do fenótipo metabólico, 33,9% foram classificadas com peso normal metabolicamente saudável, 15,3% peso normal metabolicamente obeso, 25,4% obeso/sobrepeso metabolicamente saudável e, 25,4% como obeso/sobrepeso metabolicamente obeso. Na tabela 2 encontra-se a caracterização da amostra estudada segundo idade, pressão arterial, parâmetros antropométricos, de composição corporal e bioquímicos e fenótipo metabólico.

Tabela 2 – Caracterização das 111 participantes estudadas de acordo com parâmetros clínicos, antropométricos, composição corporal e dados bioquímicos.

	Mediana (IQ)	Mínimo – Máximo
Idade (anos)	28 (24 - 31)	19 - 42
Pressão arterial sistólica (mmHg)	110 (100 – 110)	80 - 150
Pressão arterial diastólica (mmHg)	70 (70-80)	60 - 100
<i>Antropometria e composição corporal - DXA</i>		
Índice de massa corporal (kg/m ²)	25,2 (21,4 – 28,4)	17,5 – 40,0
Circunferência da cintura (cm)	79 (72 – 88)	61 – 123
Gordura corporal total (%)	38,2 (32,3 – 44,4)	23,8 – 54,7
Gordura ginoide (%)	43,7 (38,4 – 43,6)	28,0 – 60,9
Gordura androide (%)	35,8 (27,4 – 47,1)	15,2 – 60,0
Relação gordura androide/ginoide	0,83 (0,72 – 0,97)	0,45 – 1,24
Tecido adiposo visceral (g)	180 (87 – 563)	13 – 1283
<i>Dados bioquímicos</i>		
Hemoglobina glicada (%)	5,1 (4,9 – 5,3)	4,2 – 6,1
Colesterol total (mg/dL)	164 (149 – 190)	95 – 288
LDL-colesterol (mg/dL)	94 (76 – 111)	38 – 167
HDL-colesterol (mg/dL)	55 (49 – 67)	26 – 108
Triglicerídeos (mg/dL)	76 (60 – 107)	28 – 167
Glicemia jejum (mg/dL)	84 (81– 89)	59– 105
<i>Fenótipo</i>		
Peso normal, n (%)	58 (49,6)	–
Metabolicamente saudável, n (%)	69 (59)	–
Peso normal metabolicamente saudável, n (%)	40 (33,9)	–

Peso normal metabolicamente não saudável, n (%)	18 (15,3)	-
Obeso/sobrepeso metabolicamente saudável, n (%)	30 (25,4)	-
Obeso/sobrepeso metabolicamente não saudável, n (%)	30 (25,4)	-

IQ = interval interquartil

Na tabela 3 encontra-se a caracterização da amostra estudada segundo parâmetros da homeostase glicêmica e energética, consumo alimentar e concentração fecal de AGCC. As participantes eram, em sua maioria, normoglicêmicas com valores de hemoglobina glicada dentro da normalidade e baixos níveis de resistência à insulina segundo o índice HOMA-IR.

Tabela 3 – Caracterização das participantes estudadas segundo parâmetros da homeostase glicêmica e energética, consumo alimentar e concentração fecal de AGCC.

	n	Mediana (IQ)
<i>Homeostase glicêmica</i>		
Hemoglobina glicada (%)	111	5,1 (4,9 – 5,3)
Glicemia jejum (mg/dL)	105	82,7 (78,6 – 86,3)
Insulinemia jejum (mU/L)	105	5,7 (3,9 – 8,6)
HOMA-IR	105	1,17 (0,78 – 1,68)
OGIS	105	452,7 (413,0 – 493,2)
Índice Insulinogênico	105	64,2 (30,9 – 100,4)
<i>Homeostase energética</i>		
GER (kcal/dia)	105	1167,9 (1078,1 – 1250,4)
GER (kg de peso corporal/dia)	105	17,6 (16,5 – 19,3)
Quociente respiratório de repouso	105	0,83 (0,80 – 0,85)
Flexibilidade Metabólica t _{30 min} ,	105	0,02 (0,00 – 0,05)
Flexibilidade Metabólica t _{60 min} ,	105	0,10 (0,06 – 0,12)
Flexibilidade Metabólica t _{120 min} ,	105	0,06 (0,03 – 0,09)
Flexibilidade Metabólica t _{180 min} ,	105	0,05 (0,02 – 0,08)
<i>Consumo alimentar</i>		
Ingestão de energia (kcal/dia)	108	1960 (1605 – 2359)
Ingestão de carboidratos (gramas/dia)	108	217,0 (166,4 – 297,3)
Ingestão de proteínas (gramas/dia)	108	80,4 (66,5 – 100,0)
Ingestão de gorduras (gramas/dia)	108	77,9 (65,1 – 98,6)
Ingestão de fibras totais (gramas/dia)	108	21,7 (17,1 – 28,6)
Ingestão de fibras solúveis (gramas/dia)	108	6,0 (4,7 – 8,1)
Ingestão de fibras insolúveis (gramas/dia)	108	15,9 (12,1 – 20,5)

Ácidos graxos de cadeia curta fecais

AGCC Total (mg/g)	111	2,57 (1,45 – 3,60)
Acetato (mg/g)	111	1,17 (0,72 – 2,31)
Propionato (mg/g)	111	0,50 (0,29 – 0,79)
Butirato (mg/g)	108	0,40 (0,23 – 0,91)

HOMA-IR = *Homeostatic Model Assessment*; OGIS = *Oral Glucose Insulin Sensitivity*; GER = Gasto energético de repouso.

Na tabela 4 encontram-se as associações das concentrações dos AGCC fecais com o estado de saúde metabólica, com parâmetros antropométricos e de composição corporal e com o fenótipo metabólico. As concentrações fecais de AGCC total [$p = 0,039$], propionato [$p = 0,026$] e butirato [$p = 0,047$] estiveram significativamente maiores nas participantes que apresentaram IMC no 1º tercil ($\text{IMC} < 25 \text{ kg/m}^2$) comparadas às participantes classificadas no 2º e 3º tercis. Além disso, butirato e propionato fecais apresentaram concentrações significativamente maiores em mulheres classificadas no 1º tercil para circunferência da cintura ($\text{CC} < 81,5\text{cm}$) [$p = 0,010$; $p = 0,017$, respectivamente] e tecido adiposo visceral ($\text{TAV} < 428\text{g}$) comparadas às do 2º e 3º tercil [$p = 0,018$]. Não houve diferença significativa das concentrações fecais dos AGCC entre os fenótipos metabólicos.

Na tabela 5 encontram-se as correlações entre os AGCC fecais e os parâmetros da homeostase glicêmica e energética e do consumo alimentar. A concentração fecal de AGCC total correlacionou-se positivamente com o GER [$p = 0,049$], AUC de lipídeos [$p = 0,045$] e índice insulínogênico [$p = 0,047$]. As concentrações de acetato fecal apresentaram correlação positiva com GER [$p = 0,039$] e negativa com AUC de glicemia [$p = 0,040$]. O propionato fecal esteve positivamente correlacionado com a AUC de GLP-1 [$p = 0,030$], com o índice insulínogênico [$p = 0,041$], com o GER ajustado para peso corporal [$p = 0,013$] e com a AUC de lipídeos [$p = 0,036$], além de apresentar correlação negativa com AUC de glicemia [$p = 0,039$]. Por fim, a concentração fecal de butirato se correlacionou positivamente com o GER ajustado para peso corporal [$p = 0,025$]. Não houve correlação estatística significativa entre os AGCC com o QR de repouso, com a flexibilidade metabólica, e com o consumo alimentar de energia, macronutrientes e fibras.

Tabela 4 – Associações entre concentração fecal de AGCC com estado de saúde, parâmetros antropométricos, composição corporal e fenótipo metabólico nas 111 participantes estudadas.

		AGCC Total (mg/g) (n = 111)	p	Acetato (mg/g) (n= 111)	p	Propionato (mg/g) (n = 111)	p	Butirato (mg/g) (n = 108)	p
Estado de saúde metabólica									
- Saudável		2,54 (1,55 – 3,19)	0,801	1,16 (0,74 - 1,89)	0,658	0,50 (0,32 - 0,73)	0,981	0,36 (0,25 - 0,82)	0,870
- Não saudável		2,63 (1,24 – 4,11)		1,21 (0,70 - 2,59)		0,53 (0,27 - 0,82)		0,45 (0,14 - 0,95)	
Medidas antropométricas e DEXA									
- Índice de massa corporal	1º Tercil	2,79 (2,03 – 3,47)	0,132	1,17 (1,00 - 1,78)	0,487	0,61 (0,41 - 0,92)	0,026	0,65 (0,31 - 1,16)	0,047
	2º e 3º Tercil	2,44 (1,22 – 3,79)		1,17 (0,63 - 2,38)		0,47 (0,26 - 0,72)		0,34 (0,20 - 0,81)	
- Circunferência da cintura	1º Tercil	2,69 (2,02 – 3,35)	0,413	1,15 (0,92 - 1,59)	0,895	0,59 (0,44 - 0,92)	0,017	0,64 (0,33 - 1,16)	0,010
	2º e 3º Tercil	2,56 (1,22 – 3,79)		1,21 (0,64 - 2,59)		0,46 (0,26 - 0,72)		0,32 (0,17 - 0,81)	
- % gordura corporal	1º Tercil	2,53 (1,95 – 3,54)	0,549	1,18 (0,94 - 1,90)	0,391	0,52 (0,42 - 0,73)	0,260	0,52 (0,25 - 1,07)	0,373
	2º e 3º Tercil	2,70 (1,24 – 3,79)		1,17 (0,63 - 2,32)		0,47 (0,26 - 0,82)		0,34 (0,22 - 0,91)	
- Gordura androide	1º Tercil	2,54 (1,88 – 3,39)	0,560	1,21 (0,92 – 1,98)	0,436	0,53 (0,43 – 0,73)	0,163	0,49 (0,24 – 1,07)	0,552
	2º e 3º Tercil	2,63 (1,29 – 3,79)		1,16 (0,63 – 2,32)		0,47 (0,26 – 0,79)		0,38 (0,23 – 0,91)	
- Gordura ginoide	1º Tercil	2,69 (1,67 – 3,69)	0,370	1,17 (0,94 – 2,03)	0,520	0,58 (0,43 – 0,81)	0,130	0,57 (0,31 – 1,07)	0,174
	2º e 3º Tercil	2,58 (1,26 – 3,68)		1,17 (0,64 – 2,22)		0,47 (0,27 – 0,77)		0,34 (0,22 – 0,82)	
- Relação androide-ginoide	1º Tercil	2,61 (1,67 – 4,03)	0,454	1,18 (0,77 – 2,03)	0,644	0,61 (0,41 – 0,86)	0,030	0,51 (0,23 – 1,07)	0,445
	2º e 3º Tercil	2,62 (1,34 – 3,35)		1,16 (0,70 – 2,32)		0,47 (0,26 – 0,72)		0,35 (0,24 – 0,91)	
- Tecido adiposo visceral	1º Tercil	2,63 (1,81 – 3,58)	0,421	1,16 (0,92 - 1,63)	0,644	0,62 (0,42 - 0,85)	0,018	0,77 (0,33 - 1,19)	0,018
	2º e 3º Tercil	2,62 (1,29 – 3,79)		1,18 (0,70 - 2,66)		0,46 (0,26 - 0,74)		0,34 (0,19 - 0,69)	
Fenótipo Metabólico									
	MHNW	2,54 (1,61 – 3,31)	0,908	1,15 (0,92 - 1,78)	0,797	0,51 (0,40 - 0,73)	0,625	0,41 (0,28 - 0,80)	0,834
	MUNW	2,47 (1,29 – 4,08)		1,15 (0,78 - 2,03)		0,56 (0,27- 1,03)		0,46 (0,13- 1,16)	
	MHO	2,53 (2,22 – 3,15)		1,16 (0,63 - 2,39)		0,46 (0,26- 0,74)		0,33 (0,17- 0,86)	
	MUO	2,74 (1,22 – 4,15)		1,31 (0,67 - 2,89)		0,50 (0,29- 0,76)		0,39 (0,23- 0,87)	

MHNW = Metabolically healthy normal weight; MUNW = Metabolically unhealthy normal weight; MHO = Metabolically healthy obesity; MUO = Metabolically unhealthy obesity.

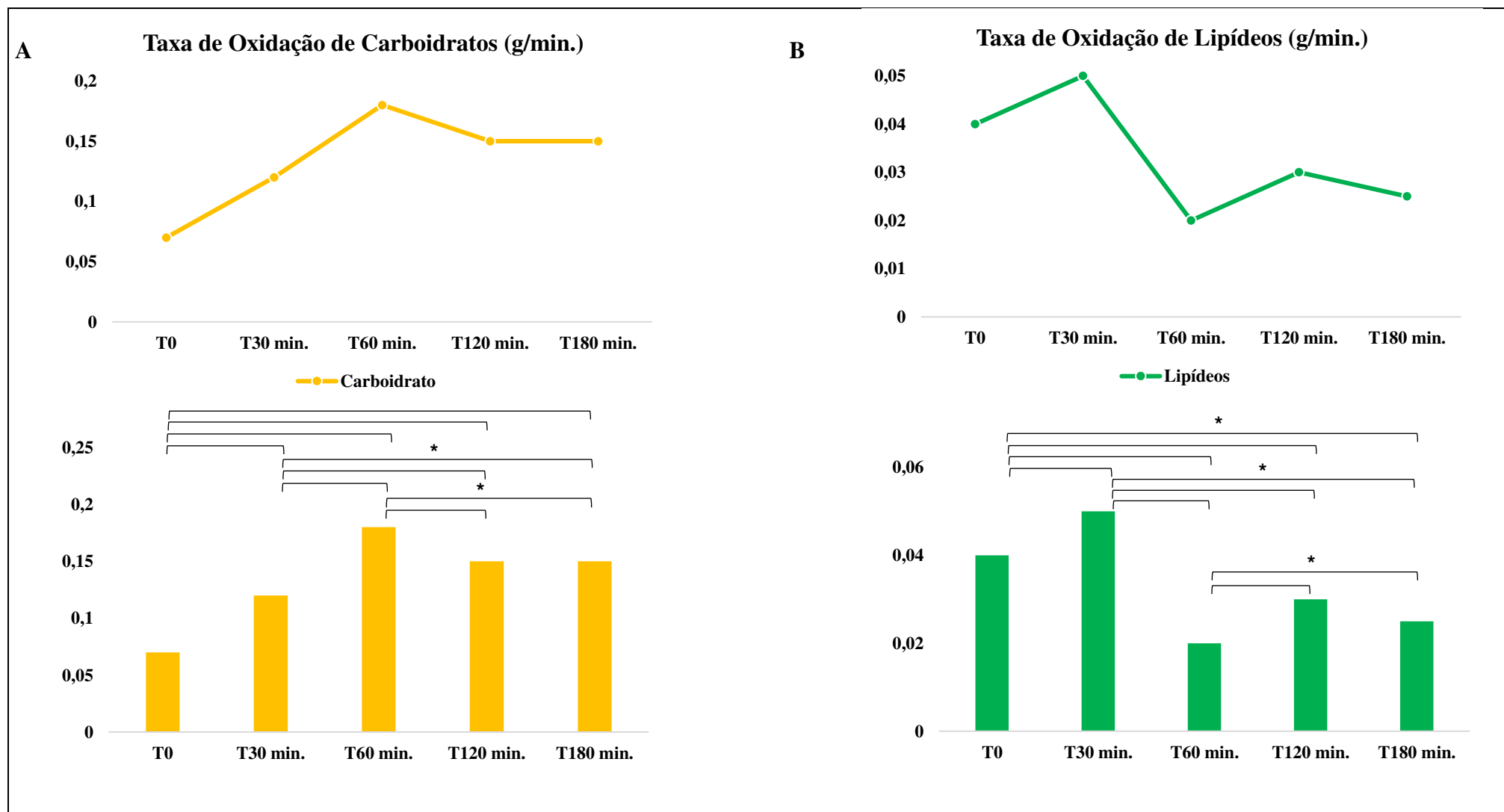
Tabela 5 – Correlações entre AGCC fecais e consumo de energia, macronutrientes e fibra alimentar, homeostase energética e glicêmica nas 105 participantes estudadas.

	AGCC Total		Acetato		Propionato		Butirato	
	r	p	r	p	r	p	r	p
<i>Consumo alimentar</i>								
Energia	0,010	0,924	0,043	0,670	0,020	0,987	-0,032	0,754
Carboidratos	0,052	0,604	0,060	0,549	0,023	0,822	0,021	0,842
Proteínas	-0,019	0,851	0,014	0,887	-0,008	0,938	0,000	0,997
Gorduras	0,001	0,990	0,015	0,882	0,016	0,872	-0,023	0,825
Fibras totais	-0,116	0,248	-0,048	0,633	-0,124	0,216	-0,059	0,564
Fibras solúveis	-0,009	0,927	0,002	0,988	0,002	0,987	0,014	0,894
Fibras insolúveis	-0,116	0,106	-0,081	0,421	-0,167	0,095	-0,083	0,420
<i>Homeostase glicêmica</i>								
Hemoglobina glicada	-0,053	0,591	0,026	0,792	-0,136	0,163	-0,034	0,733
Glicemia jejum	-0,062	0,547	-0,174	0,086	-0,045	0,661	-0,014	0,892
Insulinemia jejum	0,150	0,141	0,114	0,262	0,017	0,865	0,043	0,679
GLP-1	-0,105	0,361	-0,121	0,292	-0,012	0,915	-0,101	0,386
AUC _{mtt} Glicemia	-0,191	0,060	-0,209	0,040	-0,210	0,039	-0,106	0,308
AUC _{mtt} Insulinemia	0,134	0,190	0,134	0,187	0,024	0,816	0,029	0,777
AUC _{mtt} GLP-1	0,099	0,345	0,047	0,653	0,221	0,033	0,084	0,430
HOMA-IR	0,173	0,088	0,161	0,113	0,032	0,752	-0,008	0,940
OGIS	-0,011	0,912	-0,059	0,566	0,084	0,408	0,133	0,198
Índice insulinogênico	0,202	0,047	0,062	0,545	0,219	0,030	0,096	0,357
<i>Homeostase energética</i>								
GER	0,204	0,049	0,214	0,039	-0,077	0,454	-0,073	0,486
GER (kg de peso corporal)	0,129	0,205	0,050	0,625	0,249	0,013	0,230	0,025
Quociente respiratório _{repouso}	-0,047	0,649	0,044	0,666	-0,130	0,203	-0,029	0,783
Flexibilidade Metabólica t _{30 min} ,	-0,004	0,970	-0,070	0,501	0,120	0,245	-0,001	0,991
Flexibilidade Metabólica t _{60 min} ,	-0,051	0,628	-0,064	0,547	-0,001	0,992	-0,056	0,598
Flexibilidade Metabólica t _{120 min} ,	-0,006	0,952	-0,053	0,618	0,000	0,998	0,041	0,704
Flexibilidade Metabólica t _{180 min} ,	0,116	0,254	0,079	0,439	0,118	0,245	0,042	0,683
AUC _{mtt} Carboidratos	-0,046	0,654	0,019	0,851	-0,137	0,178	-0,121	0,242
AUC _{mtt} Lipídeos	0,203	0,045	0,151	0,137	0,214	0,036	0,077	0,457

HOMA-IR = *Homeostatic Model Assessment*; OGIS = *Oral Glucose Insulin Sensitivity*; GER = Gasto energético de repouso; AUC = área abaixo da curva;

Ao analisar as taxas de oxidação dos substratos energéticos apresentadas na figura 6, observa-se que ao longo do teste de refeição mista padrão todas elas mostram oscilação com diferença estatística significativa. A taxa de oxidação de carboidratos no jejum foi significativamente menor que os demais tempos (T30, 60, 120 e 180 min.), além disso, todas as taxas de oxidação de carboidratos diferiram entre si [$p < 0,01$], exceto entre o tempo 120 e 180 min.. O maior pico foi observado no tempo 60 minutos (figura 6A). Para os lipídeos, a taxa de oxidação no jejum foi significativamente menor comparado ao tempo 30min., no entanto, significativamente maior que nos demais tempos [$p < 0,01$]. Além disso, o tempo 30 min. foi o que apresentou maior oxidação lipídica comparado aos demais tempos (figura 6B). Entre o tempo 120 e 180 min. não houve diferença estatística.

Na figura 7 encontram-se as correlações entre AGCC fecal e taxa de oxidação de substratos energéticos. O propionato fecal esteve inversamente correlacionado com a taxa de oxidação de carboidratos no jejum [$p = 0,033$], e tanto o propionato [$p = 0,021$], como o butirato [$p = 0,024$] e AGCC total fecal [$p = 0,016$] estiveram positivamente correlacionados com a oxidação lipídica no tempo 60 min. Para os demais tempos das taxas de oxidação não houve correlação significativa (dados não apresentados).



Teste de Friedman; * $p < 0,01$.

Figura 6. Taxa de oxidação de carboidratos (A) e lipídeos (B) durante o teste de refeição padrão associado ao teste de calorimetria indireta nas 105 participantes estudadas.

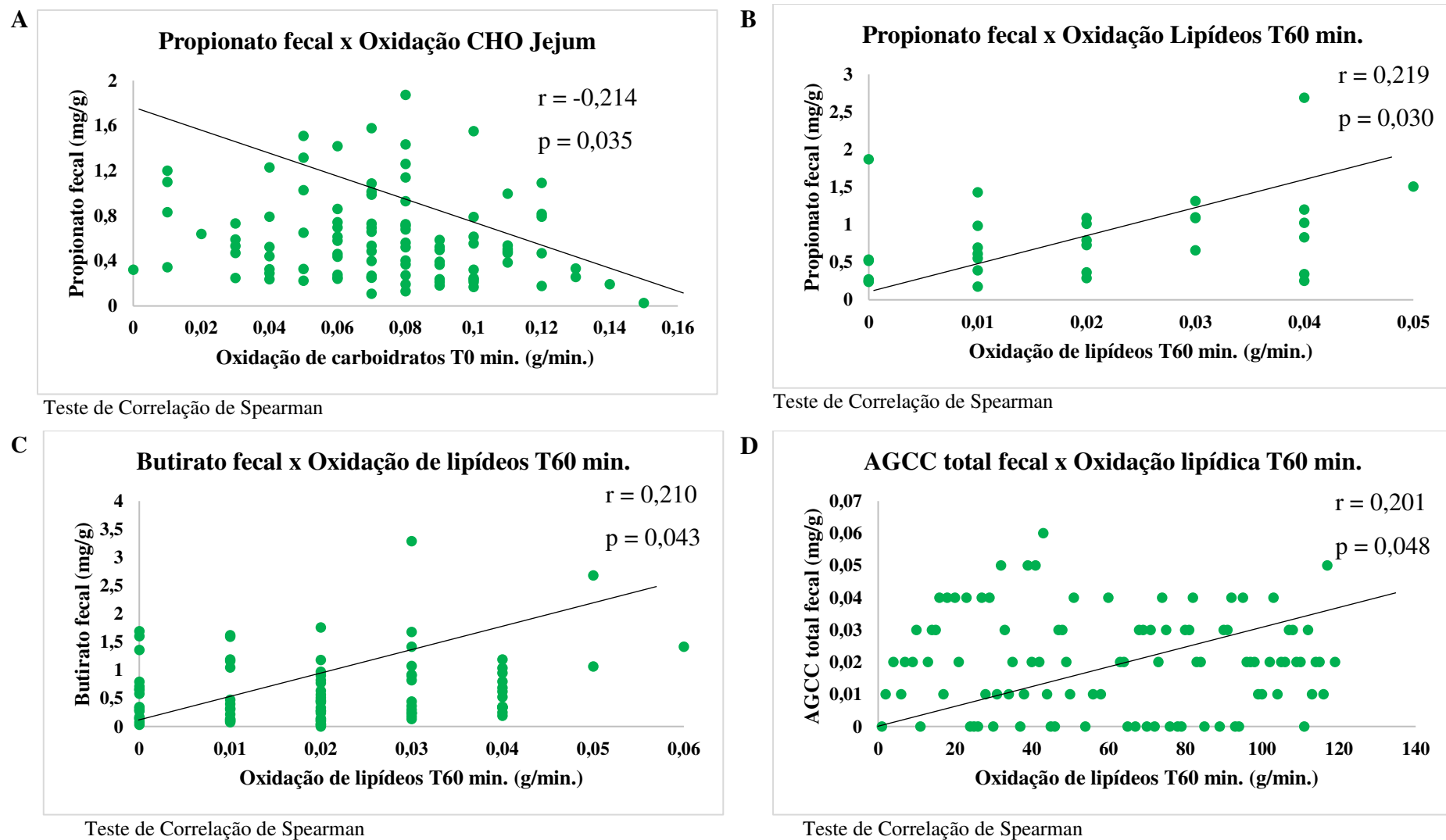


Figura 7. Correlações entre AGCC fecais e taxa de oxidação de substratos nas 105 participantes estudadas submetidas ao teste de refeição padrão associado ao teste de calorimetria indireta.

7. DISCUSSÃO

Com a elevação acelerada da prevalência mundial de obesidade, o papel dos ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) tem sido cada vez mais estudado, uma vez que estudos *in vitro* e *in vivo* tem demonstrados efeitos favoráveis na adiposidade corporal^{106; 134; 179} e no metabolismo da glicose^{17; 141; 180}. Em paralelo, o reconhecimento dos diferentes fenótipos metabólicos da obesidade tem proporcionado um modelo humano singular de estudo para a compreensão dos mecanismos subjacentes que promovem o ganho de peso, o acúmulo de gordura corporal, e o desenvolvimento das alterações e doenças cardiometabólicas relacionadas à obesidade. Utilizando o teste de calorimetria indireta associado ao teste de refeição mista padrão, e a avaliação da composição corporal por DEXA, o presente estudo investigou a hipótese de que as concentrações fecais de AGCC estariam associadas aos diferentes fenótipos metabólicos da obesidade (MHNW, MUNW, MHO, MUO), ao perfil de adiposidade corporal, aos componentes das homeostases energética e glicêmica e ao consumo de macronutrientes e fibra alimentar.

Os principais achados do presente estudo foram:

- 1) As concentrações fecais de AGCC não diferiram entre os quatro fenótipos estudados;
- 2) Maiores concentrações fecais de propionato e butirato estiveram presentes em participantes com menor IMC e adiposidade central (circunferência da cintura e tecido adiposo visceral);
- 3) No teste de refeição padrão, as concentrações de propionato e acetato fecais apresentaram correlação inversa com AUC de glicemia; e o propionato fecal apresentou correlação positiva com o índice insulinogênico e com a AUC do hormônio incretínico GLP-1;
- 4) No teste de calorimetria indireta, as concentrações fecais de AGCC total, acetato, propionato e butirato estiveram correlacionadas positivamente com o gasto energético de repouso.
- 5) As concentrações de propionato fecal e AGCC totais tiveram correlação positiva com a AUC de lipídeos durante o teste de refeição mista padrão, além disso, o propionato fecal apresentou correlação inversa com a taxa de oxidação de carboidratos no jejum, e os AGCC totais, propionato e butirato fecais apresentaram correlação positiva com a taxa de oxidação de lipídeos 60 minutos após o consumo da refeição mista padronizada.
- 6) As concentrações fecais de AGCC não obtiveram correlação significativa com o consumo de energia, macronutrientes e fibras alimentares.

O presente estudo é pioneiro em investigar as concentrações fecais de AGCC entre os diferentes fenótipos metabólicos da obesidade. Esperava-se que as concentrações fecais mais altas de AGCC fossem encontradas nos fenótipos metabolicamente saudáveis (MHNW e MHO), mas essa hipótese não foi sustentada no presente estudo. Especula-se que a ausência de diferenças dos AGCC entre os quatro fenótipos estudados possa ser pelo fato de as participantes metabolicamente não saudáveis terem alterações cardiometabólicas não tão severas. Outro ponto que pode ter contribuído é a avaliação exclusiva das fezes, visto que a análise no sangue poderia trazer um retrato sistêmico. Existe apenas um estudo que investigou tal associação, que foi conduzido na Holanda por Telle-Hansen, et al.¹⁸¹, em que 30 participantes foram classificadas de acordo com três fenótipos metabólicos da obesidade: peso normal, obeso metabolicamente saudável e obeso metabolicamente não saudável, sendo observada maiores concentrações séricas de propionato em indivíduos com o fenótipo MHO comparados aos MUO.

No tocante à composição corporal, os dados do presente estudo evidenciaram uma maior concentração de propionato e butirato fecal nas participantes com menores níveis de adiposidade corporal segundo valores de IMC, e principalmente com menor acúmulo de adiposidade abdominal (tecido adiposo visceral e circunferência da cintura). Estudos transversais em humanos têm demonstrado que indivíduos com maior adiposidade corporal possuem maiores concentrações fecais de AGCC, como o estudo conduzido por Miranda, et al.¹², o qual demonstrou que mulheres com maior circunferência da cintura apresentaram maiores concentrações de propionato sérico. O mesmo foi apontado por Teixeira et al.¹⁸², em que se observaram que a circunferência da cintura em mulheres esteve positivamente correlacionada com as concentrações fecais de AGCC. Contudo, Dugas, et al.¹⁸³ demonstraram que maiores concentrações fecais de AGCC em indivíduos com peso normal foram associadas a um ganho de peso menor¹⁸³. Ao contrário dos achados do presente estudo, os trabalhos publicados indicam que indivíduos com peso normal possuem menores concentrações de AGCC nas fezes em comparação aos obesos^{118; 149; 184}. Esta inconsistência entre os achados do presente estudo e os resultados encontrados na literatura podem ser explicados pelas diferenças de adiposidade corporal entre as amostras estudadas, uma vez que uma significativa parcela das participantes do presente estudo apresentava sobrepeso e não obesidade. Algumas hipóteses têm sido formuladas para explicar esta relação, os AGCC contribuem com aproximadamente 200 kcal/dia para a manutenção do equilíbrio energético, porém evidências sugerem que o indivíduo obeso possui maior captação ou aproveitamento de energia, contribuindo para o desequilíbrio energético¹⁵¹. Sendo assim, especula-se que este maior aproveitamento energético

possa contribuir para a lipogênese e acúmulo de lipídeos nos adipócitos^{152; 185}, ademais estudos apontam que a microbiota do indivíduo obeso pode ter mais eficiência para a fermentação dos substratos comparada à microbiota do indivíduo com peso normal^{150; 186; 187}. Os estudos experimentais e ensaios clínicos conduzidos até o presente momento apontam que a suplementação oral com AGCC pode ser eficaz na redução do peso corporal^{17; 111; 148; 187}. Chambers, et al.¹⁴⁸ demonstraram que a suplementação oral de propionato de sódio aumentou a oxidação lipídica e o gasto energético em humanos, com redução significativa no peso corporal, gordura intra-abdominal e conteúdo lipídico hepático¹⁴⁸. Além disso, Kondo et al.¹⁵ mostrou que o consumo de acetato em uma bebida por 12 semanas em participantes obesos promoveu redução de peso, gordura corporal e gordura visceral¹⁵. Seguindo a mesma linha, Vadder, et al.¹⁴⁰ mostrou que ratos que consumiam dieta enriquecida com butirato ou propionato, após 10 dias, apresentaram redução do peso corporal¹⁴⁰. Hong, et al.¹⁸⁸ demonstraram que a suplementação oral de butirato de sódio em camundongos promoveu a redução do peso corporal e de acúmulo de lipídeos¹⁸⁸. No entanto, existem poucos estudos que avaliaram a distribuição de gordura corporal, mensuradas por DXA, com as concentrações fecais de AGCC.

Em relação à homeostase glicêmica, as concentrações fecais de acetato e propionato estiveram inversamente correlacionados com a AUC de glicemia do teste de refeição mista padrão e o propionato fecal apresentou correlação positiva com AUC de GLP-1 e com o índice insulínogênico, evidenciando uma associação favorável dos AGCC na manutenção do metabolismo da glicose. Estes achados são corroborados com dados na literatura, principalmente em estudos envolvendo animais, os quais vem apontando que a administração de AGCC pode melhorar a sensibilidade à insulina, a resposta glicêmica e aumentar a saciedade^{13; 115; 155; 156}. Os AGCC são importantes moléculas de sinalização para pelo menos dois receptores acoplados a proteína G – GPR41 e GPR43^{189; 190}. Esses receptores, além de se ligarem aos AGCC, são também importantes meios de ligação para a produção e liberação de GLP-1¹⁹¹. Em roedores, Psichas, et al.¹¹⁶, demonstraram que a infusão colônica de propionato foi eficaz para aumentar as concentrações plasmáticas de GLP-1. Na mesma linha, Chambers et al.¹⁴⁸ demonstraram que a suplementação de propionato de sódio em pacientes obesos promoveu o aumento das concentrações plasmáticas de GLP-1. Segundo Rosado, et al.¹⁵⁵, o consumo de banana verde em camundongos obesos que possuíam dieta hiperlipídica foi eficaz no aumento das concentrações de AGCC sérico e, em paralelo, houve redução da insulinemia, melhorando o controle glicêmico e a resposta das células beta pancreáticas. Na mesma linha, Freeland et al.¹⁹² demonstraram que mulheres com sobrepeso que receberam infusão de acetato

tiveram aumento da concentração plasmática de GLP-1 em comparação com aquelas que receberam solução salina. Hong et al.¹⁸⁸, mostraram que a suplementação oral com butirato de sódio por 10 dias em camundongos C57BL/6 com dieta hiperlipídica foi eficaz para a redução da insulinemia e glicemia de jejum. Recentemente, Zhao, et al.¹⁹³ demonstraram que pessoas com DM2 ao adotarem uma dieta rica em fibras por 12 semanas apresentaram melhora do controle glicêmico (hemoglobina glicada < 7%) quando comparadas aos diabéticos que seguiam dieta controle. Além disso, o estudo identificou que aqueles que seguiam a dieta rica em fibras apresentaram aumento da abundância e diversidade de bactérias intestinais produtoras de AGCC^{188; 193}. Sakakibara, et al.¹⁹⁴ demonstraram que camundongos diabéticos que seguiram uma dieta rica em ácido acético por 8 semanas apresentaram redução da glicemia e da hemoglobina glicada, além de redução do acúmulo de lipídeos hepáticos. Por fim, em estudo conduzido por Gao, et al.¹⁷, a administração de butirato de sódio em ratos obesos resultou em redução do HOMA-IR comparado ao grupo controle. Por outro lado, em nosso estudo, HOMA-IR, OGIS e hemoglobina glicada não apresentaram correlação com as concentrações fecais de AGCC. Esses resultados podem ter sido influenciados pela presença de tolerância normal à glicose na maioria das participantes em todos os grupos estudados, bem como pelos baixos níveis de resistência à insulina. Especula-se que se tivesse sido utilizado o teste de clamp euglicêmico hiperinsulinêmico - padrão ouro para avaliação da sensibilidade à insulina, diante de sua acurácia e precisão, talvez pudéssemos detectar associações significantes com os AGCC.

Em relação a homeostase energética, butirato, propionato e AGCC totais fecais apresentaram correlação positiva com a taxa de oxidação lipídica 60 min. após o consumo da refeição mista padrão e, também, propionato e AGCC totais apresentaram correlação positiva com a AUC de oxidação de lipídeos. Além disso, os AGCC totais e acetato fecais apresentaram correlação positiva com GER; e propionato e butirato fecais se correlacionaram positivamente com o GER ajustado para peso corporal. Esses achados são confirmados por dados na literatura^{144; 179; 195}. Van der Beek, et al.¹⁹⁶ avaliaram a taxa de oxidação de substrato energético de homens com obesidade e sobrepeso, através da calorimetria indireta com circuito aberto, e demonstraram que a infusão de acetato de sódio diretamente no cólon distal levou ao aumento da oxidação lipídica comparados ao grupo que recebeu cloreto de sódio. Em estudo conduzido por Gao, et al.¹⁷, a administração de butirato de sódio em ratos obesos foi efetivo para redução do peso corporal, e os autores atribuíram este benefício ao aumento do GER e ao aumento da oxidação lipídica, avaliados através da câmara metabólica. Este aumento foi explicado pela regulação positiva da expressão de genes envolvidos na termogênese do PPAR γ ^{17; 106}. O mesmo foi discutido por den Besten, et al.¹³⁸, os quais evidenciaram que camundongos com dieta

hiperlipídica quando suplementados com acetato, propionato e butirato estiveram protegidos da obesidade, através do aumento do GER e da troca da oxidação de carboidratos pela oxidação lipídica, sendo estes parâmetros avaliados através do teste de calorimetria indireta. O mesmo foi demonstrado por Li, et al.¹⁹⁷, em que após a suplementação de butirato por uma semana houve aumento da taxa de oxidação lipídica, em detrimento da taxa de oxidação de carboidratos. Em estudo conduzido por Canfora et al.¹⁷⁹, a administração no cólon distal de um mix contendo os três principais AGCC em 12 homens normoglicêmicos com sobrepeso ou obesidade, promoveu o aumento da oxidação de lipídeos no jejum e do GER, mensurados por calorimetria indireta, os quais também foram correlacionados com o aumento das concentrações plasmáticas de acetato. Vadder et al.¹⁴⁰ apontaram que a explicação para esses potenciais efeitos é a gliconeogênese intestinal (IGN), em que o propionato pode induzir a IGN através do eixo cérebro-intestino, sendo essa comunicação mediada pelo receptor FFA3 presente na veia porta. Por fim, o aumento da oxidação de gorduras por AGCC e o aumento da capacidade oxidativa do músculo esquelético podem melhorar a flexibilidade metabólica. Acarretando numa possível inibição parcial da lipólise intracelular nos adipócitos induzida principalmente pelo acetato, tendo como resultado um reduzido acúmulo de gordura e aprimoramento da ação da insulina nos tecidos periféricos¹⁷⁹. A ausência de correlações com a taxa de oxidação de substratos nos demais tempos e a flexibilidade metabólica, pode-se ser pelo fato de estudos envolvendo a administração cecal e retal de butirato isotopicamente marcado em humanos apontarem que apenas 25% e 35% de butirato são oxidados dentro de um período de 4 horas ou 12 horas, respectivamente^{179; 198; 199}.

No presente estudo, ao contrário do esperado, não houve correlações significantes entre os AGCC fecais com o consumo energético, de macronutrientes e de fibras alimentares. Esta ausência de associação pode ser explicada pelo método de avaliação do consumo alimentar empregado, uma vez que o questionário de frequência alimentar aplicado avaliou o hábito alimentar ao longo do último ano e não o hábito recente, o qual pode ter influenciado mais fortemente a composição dos AGCC nas fezes. As fibras alimentares quando fermentadas por bactérias intestinais produzem os AGCC. Diversos estudos sugerem que as fibras alimentares estão positivamente associadas com as concentrações séricas e fecais de AGCC^{200; 201; 202}, como em estudo conduzido por Costabile, et al.²⁰³, em que a suplementação de polidextrose foi eficaz para o aumento de bactérias produtoras de butirato (*Ruminococcus intestinalis*) em 31 voluntários saudáveis. Por outro lado, algumas investigações com intervenções com fibras dietéticas a longo prazo em humanos apresentam nenhum ou pequenos efeitos, principalmente, nas concentrações séricas de AGCC^{204; 205}.

O presente estudo apresenta limitações. Dentre as potenciais falhas, podemos apontar que o viés de seleção contemplou predominantemente mulheres jovens e instruídas, com pequenas anormalidades presentes nos participantes classificados nos fenótipos metabolicamente não saudáveis, consequentemente nossos resultados podem não ser extrapolados à população geral. Como aplicamos o critério de definição para a saúde metabólica mais rigoroso proposto pelo “*BioSHaRE-EU Healthy Obese Project*”, as participantes do estudo com fenótipo metabolicamente não saudável, na maioria das vezes, apresentavam alteração em apenas um ou dois parâmetros. Desse modo, um estudo composto por pacientes com saúde metabólica mais deteriorada poderá demonstrar diferenças nos AGCC entre os fenótipos. Todavia, o estudo apresenta pontos fortes, como as avaliações de composição corporal e os parâmetros da homeostase energética serem realizadas através do DEXA e da calorimetria indireta, respectivamente, equipamentos padrão ouro para essas avaliações, além de se tratar de uma amostra estritamente composta por mulheres em idade fértil, considerando que as modificações hormonais comuns na menopausa poderiam afetar a adiposidade corporal e, consequentemente, a homeostase glicêmica. Ademais, as participantes eram nutricionistas ou estudantes de nutrição o que nos garante maior robustez e acurácia para o preenchimento do QFA e também por estarem conscientes sobre a relevância do estudo e a importância em contribuir com a pesquisa nos fornecendo dados de questionários de boa qualidade, aumentando a reprodutibilidade dos mesmos de maneira mais confiável.

Por fim, entende-se que a quantificação dos AGCC séricos poderia aprimorar e expandir o campo de investigação dos achados do presente estudo em paralelo à avaliação de outros extratos populacionais. Considerando que os principais estudos que investigaram os papéis dos AGCC no metabolismo energético e glicêmico foram conduzidos em modelo animal, são necessários estudos de coorte e intervenção com humanos para investigar se os possíveis efeitos positivos dos AGCC se traduzem em benefícios para a perda e controle do peso corporal, melhora da sensibilidade à insulina e de parâmetros bioquímicos associados ao risco cardiometabólico. Considerando que a amostra do presente estudo foi composta por mulheres jovens, acredita-se que acompanhamento de longo prazo dessas voluntárias possa abrir novas oportunidades de investigação e responder se há relação de causa e efeito dos AGCC na história natural da obesidade e do DM2, fornecendo subsídios para planejar intervenções com um novo foco terapêutico

8. CONCLUSÃO

Maiores concentrações de AGCC fecal estiveram associadas com menor acúmulo de adiposidade corporal principalmente central; maiores taxas de gasto energético de repouso; maiores taxas de oxidação de lipídeos; e maiores níveis de GLP-1, melhor função de célula-beta e menor incursão glicêmica no período pós-prandial. Por outro lado, não foi possível discriminar os diferentes fenótipos metabólicos de adiposidade baseado na determinação dos AGCC fecais. Esses achados reforçam o conceito de que os AGCC estão imbricados na manutenção da homeostase energética, glicêmica e da adiposidade corporal.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 NCD Risk Factor Collaboration (NCD-RisC). Trends in adult body-mass index in 200 countries from 1975 to 2014: a pooled analysis of 1698 population-based measurement studies with 19.2 million participants. **Lancet**, v. 387, n. 10026, p. 1377-1396, Apr 2 2016. ISSN 0140-6736. Disponível em: < [http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736\(16\)30054-x](http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736(16)30054-x) >.
- 2 World Health Organization. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation. **World Health Organ Tech Rep Ser**, v. 894, p. i-xii, 1-253, 2000. ISSN 0512-3054 (Print)0512-3054. Disponível em: < <http://dx.doi.org/> >.
- 3 BRANDÃO, I.; MARTINS, M. J.; MONTEIRO, R. Metabolically Healthy Obesity—Heterogeneity in Definitions and Unconventional Factors. In: (Ed.). **Metabolites**, v.10, 2020. ISBN 2218-1989 (Electronic).
- 4 ESPINOSA DE YCAZA, A. E.; DONEGAN, D.; JENSEN, M. D. Long-term metabolic risk for the metabolically healthy overweight/obese phenotype. **Int J Obes (Lond)**, v. 42, n. 3, p. 302-309, 03 2018. ISSN 1476-5497. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29064474> >.
- 5 VAGUE, J. The degree of masculine differentiation of obesities: a factor determining predisposition to diabetes, atherosclerosis, gout, and uric calculous disease. **Am J Clin Nutr**, v. 4, n. 1, p. 20-34, 1956 Jan-Feb 1956. ISSN 0002-9165. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/13282851> >.
- 6 RUDERMAN, N. et al. The metabolically obese, normal-weight individual revisited. **Diabetes**, v. 47, n. 5, p. 699-713, May 1998. ISSN 0012-1797. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9588440> >.
- 7 HUME, D. J.; YOKUM, S.; STICE, E. Low energy intake plus low energy expenditure (low energy flux), not energy surfeit, predicts future body fat gain. **Am J Clin Nutr**, v. 103, n. 6, p. 1389-96, 06 2016. ISSN 1938-3207. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27169833> >.
- 8 APOSTOLOPOULOU, M. et al. Metabolic flexibility and oxidative capacity independently associate with insulin sensitivity in individuals with newly diagnosed type 2 diabetes. **Diabetologia**, v. 59, n. 10, p. 2203-7, 10 2016. ISSN 1432-0428. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27376543> >.
- 9 FULLMER, S. et al. Evidence analysis library review of best practices for performing indirect calorimetry in healthy and non-critically ill individuals. **J Acad Nutr Diet**, v. 115, n. 9, p. 1417-1446.e2, Sep 2015. ISSN 2212-2672 (Print)2212-2672. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.jand.2015.04.003> >.
- 10 LI, L. et al. Effects of insoluble and soluble fibers isolated from barley on blood glucose, serum lipids, liver function and caecal short-chain fatty acids in type 2 diabetic and normal rats. **Food Chem Toxicol**, v. 135, p. 110937, Jan 2020. ISSN 0278-6915. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2019.110937> >.

- 11 FARUP, P. G.; LYDERSEN, S.; VALEUR, J. Are Nonnutritive Sweeteners Obesogenic? Associations between Diet, Faecal Microbiota, and Short-Chain Fatty Acids in Morbidly Obese Subjects. **J Obes**, v. 2019, p. 4608315, 2019. ISSN 2090-0708. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1155/2019/4608315> >.
- 12 MIRANDA, V. P. N. et al. Abundance of Gut Microbiota, Concentration of Short-Chain Fatty Acids, and Inflammatory Markers Associated with Elevated Body Fat, Overweight, and Obesity in Female Adolescents. **Mediators of Inflammation**, v. 2019, 2019/12/17 2019. ISSN 0962-9351. Disponível em: < <https://www.hindawi.com/journals/mi/2019/7346863/> >.
- 13 BOUTER, K. et al. Differential metabolic effects of oral butyrate treatment in lean versus metabolic syndrome subjects. In: (Ed.). **Clin Transl Gastroenterol**, v.9, 2018. ISBN 2155-384X (Electronic).
- 14 HU, G. X. et al. Activation of the AMP activated protein kinase by short-chain fatty acids is the main mechanism underlying the beneficial effect of a high fiber diet on the metabolic syndrome. **Med Hypotheses**, v. 74, n. 1, p. 123-6, Jan 2010. ISSN 0306-9877. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.mehy.2009.07.022> >.
- 15 KONDO, T. et al. Acetic acid upregulates the expression of genes for fatty acid oxidation enzymes in liver to suppress body fat accumulation. **J Agric Food Chem**, v. 57, n. 13, p. 5982-6, Jul 8 2009. ISSN 0021-8561. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1021/jf900470c> >.
- 16 DEN BESTEN, G. et al. Short-Chain Fatty Acids Protect Against High-Fat Diet-Induced Obesity via a PPARgamma-Dependent Switch From Lipogenesis to Fat Oxidation. **Diabetes**, v. 64, n. 7, p. 2398-408, Jul 2015. ISSN 0012-1797. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.2337/db14-1213> >.
- 17 GAO, Z. et al. Butyrate improves insulin sensitivity and increases energy expenditure in mice. **Diabetes**, v. 58, n. 7, p. 1509-17, Jul 2009. ISSN 0012-1797. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.2337/db08-1637> >.
- 18 Ministério da Saúde - Secretaria de Vigilância em Saúde. Estimativas sobre frequência e distribuição sociodemográfica de fatores de risco e proteção para doenças crônicas nas capitais dos 26 estados brasileiros e Distrito Federal em 2019. 2020. ISSN 978-85-334-2765-5. Disponível em: <: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/vigitel_brasil_2019_vigilancia_fatores_risco.pdf >.
- 19 MARIE, N. G. et al. Global, regional, and national prevalence of overweight and obesity in children and adults during 1980-2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. **Lancet**, v. 384, n. 9945, p. 766-81, Aug 30 2014. ISSN 0140-6736. Disponível em: < [http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736\(14\)60460-8](http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736(14)60460-8) >.
- 20 World Helath Organization. Obesity and overweight. 2020. Disponível em: < <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight> >.

- 21 The GBD 2015 Obesity Collaborators. Health Effects of Overweight and Obesity in 195 Countries over 25 Years. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1614362>, 2017-06-12 2017. Disponível em: < <https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMoa1614362> >.
- 22 ANANDACOOMARASAMY, A. et al. The impact of obesity on the musculoskeletal system. **Int J Obes (Lond)**, v. 32, n. 2, p. 211-22, Feb 2008. ISSN 1476-5497. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17848940> >.
- 23 NIMPTSCH, K.; KONIGORSKI, S.; PISCHON, T. Diagnosis of obesity and use of obesity biomarkers in science and clinical medicine. **Metabolism**, v. 92, p. 61-70, Mar 2019. ISSN 0026-0495. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.metabol.2018.12.006> >.
- 24 Associação Brasileira para Estudos da Obesidade e da Síndrome Metabólica (ABESO). Diretrizes Brasileiras de Obesidade. 2016. Disponível em: < <http://www.abeso.org.br/diretrizes> >. Acesso em: 06/03.
- 25 CINTRA, D., ROPELLE, ER, PAULI, JR. **Obesidade e Diabetes: Fisiopatologia e Sinalização Celular**. 1ª ed. 2011.
- 26 GONZÁLEZ-MUNIESA, P. et al. Obesity. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 3, n. 1, p. 1-18, 2017-06-15 2017. ISSN 2056-676X2056-676X. Disponível em: < <https://www.nature.com/articles/nrdp201734> >.
- 27 ROSSI, L.; CARUSO, L.; GALANTE, A. P. **Avaliação Nutricional: Novas perspectivas**. In: KOOGAN, G. (Ed.), 2015. cap. 9, p.273-279.
- 28 PEIXOTO, M. D. R. G. et al. Circunferência da cintura e índice de massa corporal como preditores da hipertensão arterial. **Arq. Bras. Cardiol.**, v. 87, p. 462-470, 2006. ISSN 0066-782X. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0066-782X2006001700011&lng=en&nrm=iso >.
- 29 VASQUES, A. C. J. et al. Diferentes aferições do diâmetro abdominal sagital e do perímetro da cintura na predição do HOMA-IR. **Arq. Bras. Cardiol**, v. 93, p. 511-518, 2009. ISSN 0066-782X. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0066-782X2009001100012&lng=en&nrm=iso >.
- 30 ROSS, R. et al. Waist circumference as a vital sign in clinical practice: a Consensus Statement from the IAS and ICCR Working Group on Visceral Obesity. **Nature Reviews Endocrinology**, v. 16, n. 3, p. 177-189, 2020-02-04 2020. ISSN 1759-50371759-5037. Disponível em: < <https://www.nature.com/articles/s41574-019-0310-7> >.
- 31 CLERC, D. et al. Sagittal abdominal diameter is a better predictor than body mass index for duration of laparoscopic left colectomy. **World J Surg**, v. 39, n. 3, p. 769-75, Mar 2015. ISSN 0364-2313. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1007/s00268-014-2877-4> >.

- 32 VATIER, C.; POITOU, C.; CLÉMENT, K. **Evaluation of Visceral Fat in Massive Obesity**. Nutrition in the Prevention and Treatment of Abdominal Obesity: Watson, R.R., Ed.; Academic Press: 67–77 p. 2014.
- 33 ZAZAI, R. et al. Sagittal Abdominal Diameter does not Predict Metabolic Traits Better than Waist Circumference-Related Measures of Abdominal Obesity in Obese Subjects. **Exp Clin Endocrinol Diabetes**, v. 126, n. 10, p. 619-627, Nov 2018. ISSN 0947-7349. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1055/s-0043-121568> >.
- 34 XIAO, H. et al. Sagittal abdominal diameter and Framingham risk score in non-dialysis chronic kidney disease patients. **Int Urol Nephrol**, v. 50, n. 9, p. 1679-1685, Sep 2018. ISSN 0301-1623. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1007/s11255-018-1861-6> >.
- 35 DA SILVA, C. C. et al. Sagittal abdominal diameter resembles waist circumference as a surrogate marker of insulin resistance in adolescents-Brazilian Metabolic Syndrome Study. **Pediatr Diabetes**, v. 19, n. 5, p. 882-891, 08 2018. ISSN 1399-5448. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29573519> >.
- 36 RISERUS, U. et al. Sagittal abdominal diameter is a strong anthropometric marker of insulin resistance and hyperproinsulinemia in obese men. **Diabetes Care**, v. 27, n. 8, p. 2041-6, Aug 2004. ISSN 0149-5992 (Print)0149-5992. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.2337/diacare.27.8.2041> >.
- 37 VASQUES, A. C. et al. Sagittal Abdominal Diameter as a Surrogate Marker of Insulin Resistance in an Admixed Population--Brazilian Metabolic Syndrome Study (BRAMS). **PLoS One**, v. 10, n. 5, p. e0125365, 2015. ISSN 1932-6203. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0125365> >.
- 38 CAMERON, A. J. et al. The influence of hip circumference on the relationship between abdominal obesity and mortality. **Int J Epidemiol**, v. 41, n. 2, p. 484-94, Apr 2012. ISSN 1464-3685. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22266094> >.
- 39 MANOLOPOULOS, K. N.; KARPE, F.; FRAYN, K. N. Gluteofemoral body fat as a determinant of metabolic health. **Int J Obes (Lond)**, v. 34, n. 6, p. 949-59, Jun 2010. ISSN 1476-5497. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20065965> >.
- 40 CAMERON, A. J.; MAGLIANO, D. J.; SÖDERBERG, S. A systematic review of the impact of including both waist and hip circumference in risk models for cardiovascular diseases, diabetes and mortality. **Obes Rev**, v. 14, n. 1, p. 86-94, Jan 2013. ISSN 1467-789X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23072327> >.
- 41 MANCINI, M., GELONEZE B, SALLES, JEN, LIMA, JG, CARRA, MK. **Tratado de Obesidade**. 2. ed. 2015.

- 42 INFANTE, J. R. et al. The usefulness of densitometry as a method of assessing the nutritional status of athletes. Comparison with body mass index. **Rev Esp Med Nucl Imagen Mol**, v. 32, n. 5, p. 281-5, 2013 Sep-Oct 2013. ISSN 2253-8070. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23164671> >.
- 43 OFENHEIMER, A. et al. Reference values of body composition parameters and visceral adipose tissue (VAT) by DXA in adults aged 18-81 years-results from the LEAD cohort. **Eur J Clin Nutr**, Mar 2020. ISSN 1476-5640. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32123345> >.
- 44 NEEL, J. V. Diabetes mellitus: a "thrifty" genotype rendered detrimental by "progress"? **Am J Hum Genet**, v. 14, p. 353-62, Dec 1962. ISSN 0002-9297. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/13937884> >.
- 45 BLÜHER, M. Obesity: global epidemiology and pathogenesis. **Nat Rev Endocrinol**, v. 15, n. 5, p. 288-298, 05 2019. ISSN 1759-5037. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30814686> >.
- 46 HEYMSFIELD, S. B.; WADDEN, T. A. Mechanisms, Pathophysiology, and Management of Obesity. **N Engl J Med**, v. 376, n. 15, p. 1492, 04 2017. ISSN 1533-4406. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28402780> >.
- 47 ORTIZ, V. E.; KWO, J. Obesity: physiologic changes and implications for preoperative management. **BMC Anesthesiol**, v. 15, p. 97, Jul 2015. ISSN 1471-2253. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26141622> >.
- 48 GOOSSENS, G. H. The Metabolic Phenotype in Obesity: Fat Mass, Body Fat Distribution, and Adipose Tissue Function. **Obes Facts**, v. 10, n. 3, p. 207-215, 2017. ISSN 1662-4033. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28564650> >.
- 49 RAJALA, M. W.; SCHERER, P. E. Minireview: The adipocyte--at the crossroads of energy homeostasis, inflammation, and atherosclerosis. **Endocrinology**, v. 144, n. 9, p. 3765-73, Sep 2003. ISSN 0013-7227. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12933646> >.
- 50 NEELS, J. G.; OLEFSKY, J. M. Inflamed fat: what starts the fire? **J Clin Invest**, v. 116, n. 1, p. 33-5, Jan 2006. ISSN 0021-9738. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16395402> >.
- 51 VIRTUE, S.; VIDAL-PUIG, A. It's not how fat you are, it's what you do with it that counts. **PLoS Biol**, v. 6, n. 9, p. e237, Sep 2008. ISSN 1545-7885. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18816166> >.
- 52 MORENO-INDIAS, I. et al. Adipose tissue infiltration in normal-weight subjects and its impact on metabolic function. **Transl Res**, v. 172, p. 6-17.e3, 06 2016. ISSN 1878-1810. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26829067> >.
- 53 ECKEL, N. et al. Metabolically healthy obesity and cardiovascular events: A systematic review and meta-analysis. **Eur J Prev Cardiol**, v. 23, n. 9, p. 956-66, 06

2016. ISSN 2047-4881. Disponível em: <
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26701871> >.

- 54 FAN, J. et al. Combined effect of obesity and cardio-metabolic abnormality on the risk of cardiovascular disease: a meta-analysis of prospective cohort studies. **Int J Cardiol**, v. 168, n. 5, p. 4761-8, Oct 2013. ISSN 1874-1754. Disponível em: <
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23972953> >.
- 55 ECKEL, N. et al. Transition from metabolic healthy to unhealthy phenotypes and association with cardiovascular disease risk across BMI categories in 90 257 women (the Nurses' Health Study): 30 year follow-up from a prospective cohort study. **Lancet Diabetes Endocrinol**, v. 6, n. 9, p. 714-724, Sep 2018. ISSN 2213-8587. Disponível em: <
[http://dx.doi.org/10.1016/s2213-8587\(18\)30137-2](http://dx.doi.org/10.1016/s2213-8587(18)30137-2) >.
- 56 LASSALE, C. et al. Separate and combined associations of obesity and metabolic health with coronary heart disease: a pan-European case-cohort analysis. **Eur Heart J**, v. 39, n. 5, p. 397-406, 02 2018. ISSN 1522-9645. Disponível em: <
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29020414> >.
- 57 SCHULZE, M. B. Metabolic health in normal-weight and obese individuals. **Diabetologia**, v. 62, n. 4, p. 558-566, 04 2019. ISSN 1432-0428. Disponível em: <
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30569272> >.
- 58 MÄNNISTÖ, S. et al. Dietary and lifestyle characteristics associated with normal-weight obesity: the National FINRISK 2007 Study. **Br J Nutr**, v. 111, n. 5, p. 887-94, Mar 2014. ISSN 1475-2662. Disponível em: <
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24229475> >.
- 59 LU, Y. C. et al. Dual-energy X-ray absorptiometry-assessed adipose tissues in metabolically unhealthy normal weight Asians. **Sci Rep**, v. 9, n. 1, p. 17698, Nov 2019. ISSN 2045-2322. Disponível em: <
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31776349> >.
- 60 BLÜHER, M. Metabolically Healthy Obesity. **Endocr Rev**, Mar 2020. ISSN 1945-7189. Disponível em: <
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32128581> >.
- 61 PRIMEAU, V. et al. Characterizing the profile of obese patients who are metabolically healthy. **Int J Obes (Lond)**, v. 35, n. 7, p. 971-81, Jul 2011. ISSN 1476-5497. Disponível em: <
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20975726> >.
- 62 PEPPA, M. et al. Body composition determinants of metabolic phenotypes of obesity in nonobese and obese postmenopausal women. **Obesity (Silver Spring)**, v. 21, n. 9, p. 1807-14, Sep 2013. ISSN 1930-739X. Disponível em: <
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23696298> >.
- 63 OGORODNIKOVA, A. D. et al. Ectopic fat and adipokines in metabolically benign overweight/obese women: the Kronos Early Estrogen Prevention Study. **Obesity (Silver Spring)**, v. 21, n. 8, p. 1726-33, Aug 2013. ISSN 1930-739X. Disponível em: <
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23670850> >.

- 64 BADOUD, F. et al. Molecular insights into the role of white adipose tissue in metabolically unhealthy normal weight and metabolically healthy obese individuals. **FASEB J**, v. 29, n. 3, p. 748-58, Mar 2015. ISSN 1530-6860. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25411437> >.
- 65 BLÜHER, M. Are metabolically healthy obese individuals really healthy? **Eur J Endocrinol**, v. 171, n. 6, p. R209-19, Dec 2014. ISSN 1479-683X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25012199> >.
- 66 SÉNÉCHAL, M. et al. Cardiorespiratory fitness and adiposity in metabolically healthy overweight and obese youth. **Pediatrics**, v. 132, n. 1, p. e85-92, Jul 2013. ISSN 1098-4275. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23796736> >.
- 67 VAN VLIET-OSTAPTCHOUK, J. V. et al. The prevalence of metabolic syndrome and metabolically healthy obesity in Europe: a collaborative analysis of ten large cohort studies. **BMC Endocr Disord**, v. 14, p. 9, Feb 1 2014. ISSN 1472-6823 (Print)1472-6823. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1186/1472-6823-14-9> >.
- 68 CAMHI, S. M. et al. Healthy eating index and metabolically healthy obesity in U.S. adolescents and adults. **Prev Med**, v. 77, p. 23-7, Aug 2015. ISSN 1096-0260. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25937589> >.
- 69 LEE, K. Metabolically obese but normal weight (MONW) and metabolically healthy but obese (MHO) phenotypes in Koreans: characteristics and health behaviors. **Asia Pac J Clin Nutr**, v. 18, n. 2, p. 280-4, 2009. ISSN 0964-7058. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19713189> >.
- 70 BRADSHAW, P. T.; MONDA, K. L.; STEVENS, J. Metabolic syndrome in healthy obese, overweight, and normal weight individuals: the Atherosclerosis Risk in Communities Study. **Obesity (Silver Spring)**, v. 21, n. 1, p. 203-9, Jan 2013. ISSN 1930-739X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23505187> >.
- 71 DU, T. et al. Nontraditional risk factors for cardiovascular disease and visceral adiposity index among different body size phenotypes. **Nutr Metab Cardiovasc Dis**, v. 25, n. 1, p. 100-7, Jan 2015. ISSN 1590-3729. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25159728> >.
- 72 PHILLIPS, C. M. et al. Defining metabolically healthy obesity: role of dietary and lifestyle factors. **PLoS One**, v. 8, n. 10, p. e76188, 2013. ISSN 1932-6203. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24146838> >.
- 73 STEFAN, N. et al. Identification and characterization of metabolically benign obesity in humans. **Arch Intern Med**, v. 168, n. 15, p. 1609-16, Aug 2008. ISSN 1538-3679. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18695074> >.
- 74 HAJIAN-TILAKI, K.; HEIDARI, B. Metabolically healthy obese and unhealthy normal weight in Iranian adult population: Prevalence and the associated factors. **Diabetes Metab Syndr**, v. 12, n. 2, p. 129-134, 2018 Apr - Jun 2018. ISSN 1878-0334. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29196231> >.

- 75 KLÖTING, N. et al. Insulin-sensitive obesity. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, v. 299, n. 3, p. E506-15, Sep 2010. ISSN 1522-1555. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20570822> >.
- 76 BELL, J. A. et al. The natural course of healthy obesity over 20 years. **J Am Coll Cardiol**, v. 65, n. 1, p. 101-102, Jan 2015. ISSN 1558-3597. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25572516> >.
- 77 APPLETON, S. L. et al. Diabetes and cardiovascular disease outcomes in the metabolically healthy obese phenotype: a cohort study. **Diabetes Care**, v. 36, n. 8, p. 2388-94, Aug 2013. ISSN 1935-5548. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23491523> >.
- 78 PATAKY, Z.; BOBBIONI-HARSCH, E.; GOLAY, A. Open questions about metabolically normal obesity. **Int J Obes (Lond)**, v. 34 Suppl 2, p. S18-23, Dec 2010. ISSN 0307-0565. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1038/ijo.2010.235> >.
- 79 SMITH, G. I.; MITTENDORFER, B.; KLEIN, S. Metabolically healthy obesity: facts and fantasies. **J Clin Invest**, v. 129, n. 10, p. 3978-3989, Oct 1 2019. ISSN 0021-9738. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1172/jci129186> >.
- 80 JOKELA, M. et al. Association of metabolically healthy obesity with depressive symptoms: pooled analysis of eight studies. **Mol Psychiatry**, v. 19, n. 8, p. 910-4, Aug 2014. ISSN 1476-5578. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24296976> >.
- 81 RIDKER, P. M. et al. C-reactive protein, the metabolic syndrome, and risk of incident cardiovascular events: an 8-year follow-up of 14 719 initially healthy American women. **Circulation**, v. 107, n. 3, p. 391-7, Jan 28 2003. ISSN 0009-7322. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1161/01.cir.0000055014.62083.05> >.
- 82 AGUILAR-SALINAS, C. A. et al. High adiponectin concentrations are associated with the metabolically healthy obese phenotype. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 93, n. 10, p. 4075-9, Oct 2008. ISSN 0021-972X (Print)0021-972x. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1210/jc.2007-2724> >.
- 83 MEIGS, J. B. et al. Body mass index, metabolic syndrome, and risk of type 2 diabetes or cardiovascular disease. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 91, n. 8, p. 2906-12, Aug 2006. ISSN 0021-972X (Print)0021-972x. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1210/jc.2006-0594> >.
- 84 BELL, C. et al. High energy flux mediates the tonically augmented beta-adrenergic support of resting metabolic rate in habitually exercising older adults. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 89, n. 7, p. 3573-8, Jul 2004. ISSN 0021-972X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15240648> >.
- 85 SOARES, M. J.; MÜLLER, M. J. Resting energy expenditure and body composition: critical aspects for clinical nutrition. **Eur J Clin Nutr**, v. 72, n. 9, p. 1208-1214, 09

2018. ISSN 1476-5640. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30185843> >.
- 86 WILLIS, E. A. et al. Predicting resting energy expenditure in young adults. **Obes Res Clin Pract**, v. 10, n. 3, p. 304-14, 2016 May-Jun 2016. ISSN 1871-403X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26210376> >.
- 87 MARRA, M. et al. Prediction and evaluation of resting energy expenditure in a large group of obese outpatients. **Int J Obes (Lond)**, v. 41, n. 5, p. 697-705, May 2017. ISSN 0307-0565. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1038/ijo.2017.34> >.
- 88 POLI, V. F. et al. Resting energy expenditure in obese women: comparison between measured and estimated values. **Br J Nutr**, v. 116, n. 7, p. 1306-1313, Oct 2016. ISSN 1475-2662. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27641466> >.
- 89 OROZCO-RUIZ, X. et al. Development and validation of new predictive equation for resting energy expenditure in adults with overweight and obesity. **Clin Nutr**, v. 37, n. 6 Pt A, p. 2198-2205, 12 2018. ISSN 1532-1983. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29169857> >.
- 90 AGHAMOHAMMADI, V. et al. The association between total antioxidant capacity and resting metabolic rate (RMR) / respiratory quotient (RQ) in overweight and obese woman. **Diabetes Metab Syndr**, v. 13, n. 4, p. 2763-2767, 2019 Jul - Aug 2019. ISSN 1878-0334. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31405705> >.
- 91 KELLEY, D. E. et al. Skeletal muscle fatty acid metabolism in association with insulin resistance, obesity, and weight loss. **Am J Physiol**, v. 277, n. 6, p. E1130-41, 12 1999. ISSN 0002-9513. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10600804> >.
- 92 KELLEY, D. E.; MANDARINO, L. J. Fuel selection in human skeletal muscle in insulin resistance: a reexamination. **Diabetes**, v. 49, n. 5, p. 677-83, May 2000. ISSN 0012-1797. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10905472> >.
- 93 BATTAGLIA, G. M. et al. Effect of exercise training on metabolic flexibility in response to a high-fat diet in obese individuals. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, v. 303, n. 12, p. E1440-5, Dec 2012. ISSN 1522-1555. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23047988> >.
- 94 SMITH, R. L. et al. Metabolic Flexibility as an Adaptation to Energy Resources and Requirements in Health and Disease. **Endocr Rev**, v. 39, n. 4, p. 489-517, 08 2018. ISSN 1945-7189. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29697773> >.
- 95 CARSTENS, M. T. et al. Fasting substrate oxidation in relation to habitual dietary fat intake and insulin resistance in non-diabetic women: a case for metabolic flexibility? **Nutr Metab (Lond)**, v. 10, n. 1, p. 8, Jan 2013. ISSN 1743-7075. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23317295> >.

- 96 VAN OMMEN, B. et al. Challenging homeostasis to define biomarkers for nutrition related health. **Mol Nutr Food Res**, v. 53, n. 7, p. 795-804, Jul 2009. ISSN 1613-4133. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19517455> >.
- 97 SPEAKMAN, J. R. Evolutionary perspectives on the obesity epidemic: adaptive, maladaptive, and neutral viewpoints. **Annu Rev Nutr**, v. 33, p. 289-317, 2013. ISSN 1545-4312. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23862645> >.
- 98 LÓPEZ-OTÍN, C. et al. Metabolic Control of Longevity. **Cell**, v. 166, n. 4, p. 802-821, Aug 2016. ISSN 1097-4172. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27518560> >.
- 99 GALGANI, J. E.; MORO, C.; RAVUSSIN, E. Metabolic flexibility and insulin resistance. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, v. 295, n. 5, p. E1009-17, Nov 2008. ISSN 0193-1849. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18765680> >.
- 100 CORPELEIJN, E.; SARIS, W. H.; BLAAK, E. E. Metabolic flexibility in the development of insulin resistance and type 2 diabetes: effects of lifestyle. **Obes Rev**, v. 10, n. 2, p. 178-93, Mar 2009. ISSN 1467-789X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19207879> >.
- 101 YANG, J. Enhanced skeletal muscle for effective glucose homeostasis. **Prog Mol Biol Transl Sci**, v. 121, p. 133-63, 2014. ISSN 1878-0814. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24373237> >.
- 102 RÖDER, P. V. et al. Pancreatic regulation of glucose homeostasis. **Exp Mol Med**, v. 48, p. e219, Mar 2016. ISSN 2092-6413. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26964835> >.
- 103 FERRANNINI, E.; MARI, A. Beta cell function and its relation to insulin action in humans: a critical appraisal. **Diabetologia**, v. 47, n. 5, p. 943-56, May 2004. ISSN 0012-186X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15105990> >.
- 104 STATEN, M. A.; KELLEY, D. E. Using oral challenge testing to assess insulin action and secretion with mathematical modeling. **Diabetes**, v. 63, n. 4, p. 1188-90, Apr 2014. ISSN 1939-327X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24651802> >.
- 105 DALILE, B. et al. The role of short-chain fatty acids in microbiota–gut–brain communication. **Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology**, v. 16, n. 8, p. 461-478, 2019-05-23 2019. ISSN 1759-5053. Disponível em: < <https://www.nature.com/articles/s41575-019-0157-3> >.
- 106 CANFORA, E. E. et al. Gut Microbial Metabolites in Obesity, NAFLD and T2DM. **Nature reviews. Endocrinology**, v. 15, n. 5, 2019 May 2019. ISSN 1759-5037. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30670819> >.

- 107 ALMEIDA, A. et al. A new genomic blueprint of the human gut microbiota. **Nature**, v. 568, n. 7753, p. 499-504, 2019-02-11 2019. ISSN 1476-4687/1476-4687. Disponível em: < <https://www.nature.com/articles/s41586-019-0965-1> >.
- 108 MAIER, L. et al. Extensive impact of non-antibiotic drugs on human gut bacteria. **Nature**, v. 555, n. 7698, p. 623-628, 2018-03-19 2018. ISSN 1476-4687/1476-4687. Disponível em: < <https://www.nature.com/articles/nature25979> >.
- 109 MACFARLANE, G. T.; MACFARLANE, S. Bacteria, Colonic Fermentation, and Gastrointestinal Health. January-February 2012 2012. Disponível em: < <https://www.ingentaconnect.com/content/aoac/jaoac/2012/00000095/00000001/art00007> >.
- 110 SOWAH, S. A. et al. Effects of Weight-Loss Interventions on Short-Chain Fatty Acid Concentrations in Blood and Feces of Adults: A Systematic Review. **Adv Nutr**, v. 10, n. 4, p. 673-684, Jul 1 2019. ISSN 2161-8313. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1093/advances/nmy125> >.
- 111 CANFORA, E. E.; JOCKEN, J. W.; BLAAK, E. E. Short-chain fatty acids in control of body weight and insulin sensitivity. **Nat Rev Endocrinol**, v. 11, n. 10, p. 577-91, Oct 2015. ISSN 1759-5029. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1038/nrendo.2015.128> >.
- 112 MACFARLANE, S.; MACFARLANE, G. T. Regulation of short-chain fatty acid production | **Proceedings of the Nutrition Society | Cambridge Core**. 2019. Disponível em: < <https://www.cambridge.org/core/journals/proceedings-of-the-nutrition-society/article/regulation-of-shortchain-fatty-acid-production/9F72ACBE8EE4BE71616589CEE6A777D7> >.
- 113 KOH, A. et al. From Dietary Fiber to Host Physiology: Short-Chain Fatty Acids as Key Bacterial Metabolites. **Cell**, v. 165, n. 6, p. 1332-1345, Jun 2 2016. ISSN 0092-8674. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2016.05.041> >.
- 114 GILL, P. A. et al. Successful elevation of circulating acetate and propionate by dietary modulation does not alter T-regulatory cell or cytokine profiles in healthy humans: a pilot study. **European Journal of Nutrition**, p. 1-11, 2019-10-24 2019. ISSN 1436-6215. Disponível em: < <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00394-019-02113-2> >.
- 115 ZHOU, J. et al. Dietary resistant starch upregulates total GLP-1 and PYY in a sustained day-long manner through fermentation in rodents. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, v. 295, n. 5, p. E1160-6, Nov 2008. ISSN 0193-1849 (Print)0193-1849. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1152/ajpendo.90637.2008> >.
- 116 PSICHAS, A. et al. The short chain fatty acid propionate stimulates GLP-1 and PYY secretion via free fatty acid receptor 2 in rodents. **Int J Obes (Lond)**, v. 39, n. 3, p. 424-9, Mar 2015. ISSN 0307-0565. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1038/ijo.2014.153> >.

- 117 TOLHURST, G. et al. Short-chain fatty acids stimulate glucagon-like peptide-1 secretion via the G-protein-coupled receptor FFAR2. **Diabetes**, v. 61, n. 2, p. 364-71, Feb 2012. ISSN 0012-1797. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.2337/db11-1019> >.
- 118 FERNANDES, J. et al. Adiposity, gut microbiota and faecal short chain fatty acids are linked in adult humans. In: (Ed.). **Nutr Diabetes**, v.4, 2014. p.e121-. ISBN 2044-4052 (Electronic).
- 119 HERNANDEZ, M. A. G. et al. The Short-Chain Fatty Acid Acetate in Body Weight Control and Insulin Sensitivity. **Nutrients**, v. 11, n. 8, Aug 18 2019. ISSN 2072-6643. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.3390/nu11081943> >.
- 120 MUELLER, N. T. et al. Effects of high-fiber diets enriched with carbohydrate, protein, or unsaturated fat on circulating short chain fatty acids: results from the OmniHeart randomized trial. **Am J Clin Nutr**, Jan 11 2020. ISSN 0002-9165. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1093/ajcn/nqz322> >.
- 121 BLOEMEN, J. G., et al. Short Chain Fatty Acids Exchange Across the Gut and Liver in Humans Measured at Surgery. **Clinical nutrition (Edinburgh, Scotland)**, v. 28, n. 6, 2009 Dec 2009. ISSN 1532-1983. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19523724> >.
- 122 BLOEMEN, J. G., et al. Short Chain Fatty Acids Exchange: Is the Cirrhotic, Dysfunctional Liver Still Able to Clear Them? **Clinical nutrition (Edinburgh, Scotland)**, v. 29, n. 3, 2010 Jun 2010. ISSN 1532-1983. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19897285> >.
- 123 BALLARD, F. J.; FROM THE COMMONWEALTH SCIENTIFIC AND INDUSTRIAL RESEARCH ORGANIZATION, D. O. N. B., KINTORE AVE., ADELAIDE, 5000, AUSTRALIA. Supply and utilization of acetate in mammals. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 25, n. 8, p. 773-779, 1972. ISSN 0002-9165. Disponível em: < <https://academic.oup.com/ajcn/article-pdf/25/8/773/24187915/773.pdf> >.
- 124 GAO, X. et al. Acetate Functions as an Epigenetic Metabolite to Promote Lipid Synthesis Under Hypoxia. **Nature communications**, v. 7, 06/30/2016 2016. ISSN 2041-1723. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27357947> >.
- 125 B. SONG, Y. Z. Z., C.B. ZHENG, F.N.LI, Y.H.DUAN, J.P. DENG. Propionate alleviates high-fat diet-induced lipid dysmetabolism by modulating gut microbiota in mice - Song - 2019 - Journal of Applied Microbiology - Wiley Online Library. **Society for Applied Microbiology**, 2019. Disponível em: < <https://sfamjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1111/jam.14389> >.
- 126 ARORA, T.; SHARMA, R.; FROST, G. Propionate. Anti-obesity and satiety enhancing factor? **Appetite**, v. 56, n. 2, p. 511-5, Apr 2011. ISSN 0195-6663. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.appet.2011.01.016> >.

- 127 LIU, H. et al. Butyrate: A Double-Edged Sword for Health? **Adv Nutr**, v. 9, n. 1, p. 21-29, Jan 1 2018. ISSN 2161-8313. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1093/advances/nmx009> >.
- 128 YOSHIDA, H. **Propionate suppresses hepatic gluconeogenesis via GPR43/AMPK signaling pathway**. ISHII, M. Archives of Biochemistry and Biophysics. 672 2019.
- 129 KEIM, N. L.; MARTIN, R. J. Dietary whole grain–microbiota interactions: insights into mechanisms for human health. **Adv Nutr**, v. 5, n. 5, p. 556-7, Sep 2014. ISSN 2156-5376. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25469393> >.
- 130 YADAV, H. et al. Beneficial metabolic effects of a probiotic via butyrate-induced GLP-1 hormone secretion. **J Biol Chem**, v. 288, n. 35, p. 25088-97, Aug 2013. ISSN 1083-351X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23836895> >.
- 131 (CODEX), F. W. Guidelines on Nutrition Labelling CAC/GL 2-1. 1985.
- 132 PEREIRA, K. D. Resistant starch, the latest generation of energy control and healthy digestion. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 27, p. 88 - 92, 2007. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612007000500016&lng=en&nrm=iso >. Acesso em: 13 Mar. 2020.
- 133 FERNANDA SARMENTO ROLLA BERNAUD, T. C. R. Fibra alimentar – Ingestão adequada e efeitos sobre a saúde do metabolismo. Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia, 2013. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-27302013000600001 >{=pt >.
- 134 MAKKI, K. et al. The Impact of Dietary Fiber on Gut Microbiota in Host Health and Disease. **Cell host & microbe**, v. 23, n. 6, 06/13/2018 2018. ISSN 1934-6069. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29902436> >.
- 135 ZHERNAKOVA, A. et al. Population-based metagenomics analysis reveals markers for gut microbiome composition and diversity. **Science**, v. 352, n. 6285, p. 565-9, Apr 29 2016. ISSN 0036-8075 (Print)1095-9203 (Electronic). Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1126/science.aad3369> >.
- 136 YAMAMURA, R. et al. Associations of gut microbiota, dietary intake, and serum short-chain fatty acids with fecal short-chain fatty acids. In: (Ed.). **Biosci Microbiota Food Health**, v.39, 2020. p.11-7. ISBN 2186-6953 (Print)2186-3342 (Electronic).
- 137 TURNBAUGH, P. J. et al. A core gut microbiome in obese and lean twins. **Nature**, v. 457, n. 7228, p. 480-4, Jan 22 2009. ISSN 0028-0836. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1038/nature07540> >.
- 138 BESTEN, G. D. et al. Short-Chain Fatty Acids Protect Against High-Fat Diet-Induced Obesity via a PPAR-Dependent Switch From Lipogenesis to Fat Oxidation. **Diabetes**, v. 64, n. 7, p. 2398-2408, 2015. ISSN 0012-1797. Disponível em: < <https://www.rug.nl/research/portal/publications/shortchain-fatty-acids-protect-against->

highfat-dietinduced-obesity-via-a-ppardependent-switch-from-lipogenesis-to-fat-oxidation(589044c5-1536-4516-8851-386afc7d5db9)/export.html >.

- 139 GOFFREDO, M. et al. Role of Gut Microbiota and Short Chain Fatty Acids in Modulating Energy Harvest and Fat Partitioning in Youth. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 101, n. 11, p. 4367-4376, 2016. ISSN 0021-972X. Disponível em: < <https://academic.oup.com/jcem/article-pdf/101/11/4367/10530409/jcem4367.pdf> >.
- 140 DE VADDER, F. et al. Microbiota-generated metabolites promote metabolic benefits via gut-brain neural circuits. **Cell**, v. 156, n. 1-2, p. 84-96, Jan 16 2014. ISSN 0092-8674. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2013.12.016> >.
- 141 LIN, H. V. et al. Butyrate and propionate protect against diet-induced obesity and regulate gut hormones via free fatty acid receptor 3-independent mechanisms. **PLoS One**, v. 7, n. 4, p. e35240, 2012. ISSN 1932-6203. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0035240> >.
- 142 BELLAHCENE, M. et al. Male mice that lack the G-protein-coupled receptor GPR41 have low energy expenditure and increased body fat content. **Br J Nutr**, v. 109, n. 10, p. 1755-64, May 28 2013. ISSN 0007-1145. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1017/s0007114512003923> >.
- 143 RIDAURA, V. K. et al. Gut Microbiota From Twins Discordant for Obesity Modulate Metabolism in Mice. **Science (New York, N.Y.)**, v. 341, n. 6150, 09/06/2013 2013. ISSN 1095-9203. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24009397> >.
- 144 SUKKAR, A. H. et al. Regulation of energy expenditure and substrate oxidation by short chain fatty acids. **J Endocrinol**, May 1 2019. ISSN 0022-0795. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1530/joe-19-0098> >.
- 145 FROST, G. et al. The short-chain fatty acid acetate reduces appetite via a central homeostatic mechanism. **Nat Commun**, v. 5, p. 3611, Apr 29 2014. ISSN 2041-1723. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1038/ncomms4611> >.
- 146 MARI, A. et al. A model-based method for assessing insulin sensitivity from the oral glucose tolerance test. **Diabetes Care**, v. 24, n. 3, p. 539-48, Mar 2001. ISSN 0149-5992 (Print)0149-5992. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.2337/diacare.24.3.539> >.
- 147 KIMURA, I. et al. Short-chain fatty acids and ketones directly regulate sympathetic nervous system via G protein-coupled receptor 41 (GPR41). **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 108, n. 19, p. 8030-5, May 10 2011. ISSN 0027-8424. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.1016088108> >.
- 148 CHAMBERS, E. S. et al. Acute oral sodium propionate supplementation raises resting energy expenditure and lipid oxidation in fasted humans. **Diabetes Obes Metab**, v. 20, n. 4, p. 1034-1039, Apr 2018. ISSN 1462-8902. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1111/dom.13159> >.

- 149 SCHWIERTZ, A. et al. Microbiota and SCFA in lean and overweight healthy subjects. **Obesity (Silver Spring)**, v. 18, n. 1, p. 190-5, Jan 2010. ISSN 1930-7381. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1038/oby.2009.167> >.
- 150 RAHAT-ROZENBLOOM, S. et al. Evidence for greater production of colonic short-chain fatty acids in overweight than lean humans. **Int J Obes (Lond)**, v. 38, n. 12, p. 1525-31, Dec 2014. ISSN 0307-0565. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1038/ijo.2014.46> >.
- 151 TURNBAUGH, P. J. et al. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. **Nature**, v. 444, n. 7122, p. 1027-31, Dec 21 2006. ISSN 0028-0836. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1038/nature05414> >.
- 152 KIM, K. N.; YAO, Y.; JU, SY. Short Chain Fatty Acids and Fecal Microbiota Abundance in Humans With Obesity: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Nutrients**, v. 11, n. 10, 10/18/2019 2019. ISSN 2072-6643. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31635264> >.
- 153 PUDDU, A. et al. Evidence for the gut microbiota short-chain fatty acids as key pathophysiological molecules improving diabetes. **Mediators Inflamm**, v. 2014, p. 162021, 2014. ISSN 0962-9351. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1155/2014/162021> >.
- 154 MÜLLER, M. et al. Circulating but not faecal short-chain fatty acids are related to insulin sensitivity, lipolysis and GLP-1 concentrations in humans. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 1-9, 2019-08-29 2019. ISSN 2045-2322 2045-2322. Disponível em: < <https://www.nature.com/articles/s41598-019-48775-0> >.
- 155 ROSADO, C. P. et al. Resistant starch from green banana (*Musa* sp.) attenuates non-alcoholic fat liver accumulation and increases short-chain fatty acids production in high-fat diet-induced obesity in mice. **Int J Biol Macromol**, v. 145, p. 1066-1072, Feb 15 2020. ISSN 0141-8130. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.09.199> >.
- 156 MATTACE RASO, G. et al. Effects of sodium butyrate and its synthetic amide derivative on liver inflammation and glucose tolerance in an animal model of steatosis induced by high fat diet. **PLoS One**, v. 8, n. 7, p. e68626, 2013. ISSN 1932-6203. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0068626> >.
- 157 SHEN, L. et al. Dietary-resistant starch improves maternal glycemic control in Goto-Kakizaki rat. **Mol Nutr Food Res**, v. 55, n. 10, p. 1499-508, Oct 2011. ISSN 1613-4125. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1002/mnfr.201000605> >.
- 158 LIU, J. L. et al. Controversial Roles of Gut Microbiota-Derived Short-Chain Fatty Acids (SCFAs) on Pancreatic beta-Cell Growth and Insulin Secretion. **Int J Mol Sci**, v. 21, n. 3, Jan 30 2020. ISSN 1422-0067. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.3390/ijms21030910> >.

- 159 PAI, J. K.; MUKAMAL, K. J.; RIMM, E. B. Long-term alcohol consumption in relation to all-cause and cardiovascular mortality among survivors of myocardial infarction: the Health Professionals Follow-up Study. **Eur Heart J**, v. 33, n. 13, p. 1598-605, Jul 2012. ISSN 0195-668x. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1093/eurheartj/ehs047> >.
- 160 Standards of Medical Care in Diabetes—2016 Abridged for Primary Care Providers. In: (Ed.). **Clin Diabetes**, v.34, 2016. p.3-21. ISBN 0891-8929 (Print)1945-4953 (Electronic).
- 161 MALACHIAS, M. V. VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão. **Arq Bras Cardiol**, v. 107, n. 3 Suppl 3, p. 0, Sep 2016. ISSN 0066-782x. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.5935/abc.20160140> >.
- 162 NORGAN, N. G. A Review of: “Anthropometric Standardization Reference Manual”. Edited by T. G. LOHMAN, A. F. ROCHE and R. MARTORELL. (Champaign, IL.: Human Kinetics Books, 1988.) [Pp. vi+ 177.] £28.00. ISBN 087322 121 4. **<http://dx.doi.org/10.1080/00140138808966796>**, 30 May 2007 2007. Disponível em: < <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/00140138808966796> >.
- 163 World Health Organization. Young People's Health--A Challenge for Society. Report of a WHO Study Group on Young People and "Health for All by the Year 2000". **World Health Organization technical report series**, v. 731, 1986 1986. ISSN 0512-3054. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3085358> >.
- 164 MELLIS, M. G.; OLDROYD, B.; HIND, K. In Vivo Precision of the GE Lunar iDXA for the Measurement of Visceral Adipose Tissue in Adults: The Influence of Body Mass Index. **European journal of clinical nutrition**, v. 68, n. 12, 2014 Dec 2014. ISSN 1476-5640. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25315495> >.
- 165 FRIEDEWALD, W. T.; LEVY, R. I.; FREDRICKSON, D. S. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. **Clin Chem**, v. 18, n. 6, p. 499-502, Jun 1972. ISSN 0009-9147 (Print)0009-9147. Disponível em: < <http://dx.doi.org/> >.
- 166 SELEM, S. S. et al. Validity and reproducibility of a food frequency questionnaire for adults of Sao Paulo, Brazil. **Rev Bras Epidemiol**, v. 17, n. 4, p. 852-9, Dec 2014. ISSN 1415-790x. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1590/1809-4503201400040005> >.
- 167 LORENZEN, J. et al. The effect of milk proteins on appetite regulation and diet-induced thermogenesis. **Eur J Clin Nutr**, v. 66, n. 5, p. 622-7, May 2012. ISSN 0954-3007. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1038/ejcn.2011.221> >.
- 168 MILES-CHAN, J. L.; DULLOO, A. G.; SCHUTZ, Y. Fasting substrate oxidation at rest assessed by indirect calorimetry: is prior dietary macronutrient level and composition a confounder? **Int J Obes (Lond)**, v. 39, n. 7, p. 1114-7, Jul 2015. ISSN 0307-0565. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1038/ijo.2015.29> >.

- 169 ALSALIM, W. et al. Mixed meal ingestion diminishes glucose excursion in comparison with glucose ingestion via several adaptive mechanisms in people with and without type 2 diabetes. **Diabetes Obes Metab**, v. 18, n. 1, p. 24-33, Jan 2016. ISSN 1462-8902. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1111/dom.12570> >.
- 170 FRAYN, K. N. Calculation of substrate oxidation rates in vivo from gaseous exchange. <https://doi.org/10.1152/jappl.1983.55.2.628>, 1983 Aug 01 1983. Disponível em: < <https://journals.physiology.org/doi/abs/10.1152/jappl.1983.55.2.628> >.
- 171 FERRANNINI, E. The theoretical bases of indirect calorimetry: a review. **Metabolism**, v. 37, n. 3, p. 287-301, Mar 1988. ISSN 0026-0495 (Print)0026-0495. Disponível em: < [http://dx.doi.org/10.1016/0026-0495\(88\)90110-2](http://dx.doi.org/10.1016/0026-0495(88)90110-2) >.
- 172 BORGES, J. H. et al. Minimum Time to Achieve the Steady State and Optimum Abbreviated Period to Estimate the Resting Energy Expenditure by Indirect Calorimetry in Healthy Young Adults. **Nutr Clin Pract**, v. 31, n. 3, p. 349-54, Jun 2016. ISSN 1941-2452. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26888859> >.
- 173 MATTHEWS, D. R. et al. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. **Diabetologia**, v. 28, n. 7, p. 412-9, Jul 1985. ISSN 0012-186X (Print)0012-186x. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1007/bf00280883> >.
- 174 MARI, A.; FERRANNINI, E. Beta-cell function assessment from modelling of oral tests: an effective approach. **Diabetes Obes Metab**, v. 10 Suppl 4, p. 77-87, Nov 2008. ISSN 1462-8902. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1111/j.1463-1326.2008.00946.x> >.
- 175 RIJKELIJKHUIZEN, J. M. et al. Classical and model-based estimates of beta-cell function during a mixed meal vs. an OGTT in a population-based cohort. **Diabetes Res Clin Pract**, v. 83, n. 2, p. 280-8, Feb 2009. ISSN 0168-8227. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.diabres.2008.11.017> >.
- 176 SELTZER, H. S. Insulin Secretion in Response to Glycemic Stimulus: Relation of Delayed Initial Release to Carbohydrate Intolerance in Mild Diabetes Mellitus. **The Journal of clinical investigation**, v. 46, n. 3, 1967 Mar 1967. ISSN 0021-9738. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6023769> >.
- 177 PURVES, R. D. Optimum Numerical Integration Methods for Estimation of Area-Under-The-Curve (AUC) and Area-Under-The-Moment-Curve (AUMC). **Journal of pharmacokinetics and biopharmaceutics**, v. 20, n. 3, 1992 Jun 1992. ISSN 0090-466X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1522479> >.
- 178 FELLOWS, R. et al. Microbiota derived short chain fatty acids promote histone crotonylation in the colon through histone deacetylases. **Nat Commun**, v. 9, n. 1, p. 105, Jan 9 2018. ISSN 2041-1723. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1038/s41467-017-02651-5> >.

- 179 CANFORA, E. E. et al. Colonic Infusions of Short-Chain Fatty Acid Mixtures Promote Energy Metabolism in overweight/obese Men: A Randomized Crossover Trial. **Scientific reports**, v. 7, n. 1, 05/24/2017 2017. ISSN 2045-2322. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28539646> >.
- 180 REYNOLDS, A. et al. Carbohydrate Quality and Human Health: A Series of Systematic Reviews and Meta-Analyses. **Lancet (London, England)**, v. 393, n. 10170, 02/02/2019 2019. ISSN 1474-547X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30638909> >.
- 181 TELLE-HANSEN, V. H. et al. A Comprehensive Metabolic Profiling of the Metabolically Healthy Obesity Phenotype. **Lipids in health and disease**, v. 19, n. 1, 05/09/2020 2020. ISSN 1476-511X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32386512> >.
- 182 TEIXEIRA, T. F. S. et al. Higher Level of Faecal SCFA in Women Correlates With Metabolic Syndrome Risk Factors. **The British journal of nutrition**, v. 109, n. 5, 03/14/2013 2013. ISSN 1475-2662. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23200109> >.
- 183 DUGA, L. R. et al. Decreased Microbial Co-Occurrence Network Stability and SCFA Receptor Level Correlates With Obesity in African-origin Women. **Scientific reports**, v. 8, n. 1, 11/20/2018 2018. ISSN 2045-2322. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30459320> >.
- 184 FARUP, P. G.; VALEUR, J. Changes in Faecal Short-Chain Fatty Acids After Weight-Loss Interventions in Subjects With Morbid Obesity. **Nutrients**, v. 12, n. 3, 03/18/2020 2020. ISSN 2072-6643. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32197409> >.
- 185 FLINT, H. J. et al. Polysaccharide Utilization by Gut Bacteria: Potential for New Insights From Genomic Analysis. **Nature reviews. Microbiology**, v. 6, n. 2, 2008 Feb 2008. ISSN 1740-1534. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18180751> >.
- 186 RILEY, L. W.; RAPHAEL, E.; FAERSTEIN, E. Obesity in the United States - Dysbiosis From Exposure to Low-Dose Antibiotics? **Frontiers in public health**, v. 1, 12/19/2013 2013. ISSN 2296-2565. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24392444> >.
- 187 DE LA CUESTA-ZULUAGA, J. et al. Higher Fecal Short-Chain Fatty Acid Levels Are Associated with Gut Microbiome Dysbiosis, Obesity, Hypertension and Cardiometabolic Disease Risk Factors. **Nutrients**, v. 11, n. 1, Dec 27 2018. ISSN 2072-6643. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.3390/nu11010051> >.
- 188 HONG, J. et al. Butyrate Alleviates High Fat Diet-Induced Obesity Through Activation of Adiponectin-Mediated Pathway and Stimulation of Mitochondrial Function in the Skeletal Muscle of Mice. **Oncotarget**, v. 7, n. 35, 08/30/2016 2016. ISSN 1949-2553. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27528227> >.

- 189 ZHI, C. et al. Connection Between Gut Microbiome and the Development of Obesity. **European journal of clinical microbiology & infectious diseases : official publication of the European Society of Clinical Microbiology**, v. 38, n. 11, 2019 Nov 2019. ISSN 1435-4373. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31367997> >.
- 190 SAAD, M. J.; SANTOS, A.; PRADA, P. O. Linking Gut Microbiota and Inflammation to Obesity and Insulin Resistance. **Physiology (Bethesda, Md.)**, v. 31, n. 4, 2016 Jul 2016. ISSN 1548-9221. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27252163> >.
- 191 CHAMBERS, E. S.; MORRISON, D. J.; FROST, G. Control of Appetite and Energy Intake by SCFA: What Are the Potential Underlying Mechanisms? **The Proceedings of the Nutrition Society**, v. 74, n. 3, 2015 Aug 2015. ISSN 1475-2719. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25497601> >.
- 192 FREELAND, K. R.; TM, W. Acute Effects of Intravenous and Rectal Acetate on Glucagon-Like peptide-1, Peptide YY, Ghrelin, Adiponectin and Tumour Necrosis Factor-Alpha. **The British journal of nutrition**, v. 103, n. 3, 2010 Feb 2010. ISSN 1475-2662. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19818198> >.
- 193 ZHAO, L. et al. Gut bacteria selectively promoted by dietary fibers alleviate type 2 diabetes. 2018-03-09 2018. Disponível em: < <https://science.sciencemag.org/content/359/6380/1151> >.
- 194 SAKAKIBARA, S. et al. Acetic Acid Activates Hepatic AMPK and Reduces Hyperglycemia in Diabetic KK-A(y) Mice. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 344, n. 2, 06/02/2006 2006. ISSN 0006-291X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16630552> >.
- 195 CANFORA, E. E.; BLAAK, E. E. Acetate: A Diet-Derived Key Metabolite in Energy Metabolism: Good or Bad in Context of Obesity and Glucose Homeostasis? **Current opinion in clinical nutrition and metabolic care**, v. 20, n. 6, 2017 Nov 2017. ISSN 1473-6519. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28795972> >.
- 196 VAN DER BEEK, C. M. et al. Distal, Not Proximal, Colonic Acetate Infusions Promote Fat Oxidation and Improve Metabolic Markers in overweight/obese Men. **Clinical science (London, England : 1979)**, v. 130, n. 22, 11/01/2016 2016. ISSN 1470-8736. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27439969> >.
- 197 Li, Z. et al. Butyrate Reduces Appetite and Activates Brown Adipose Tissue via the Gut-Brain Neural Circuit. **Gut**, v. 67, n. 7, 2018 Jul 2018. ISSN 1468-3288. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29101261> >.
- 198 SIMPSON, E. J. et al. In vivo measurement of colonic butyrate metabolism in patients with quiescent ulcerative colitis. 2000-01-01 2000. Disponível em: < <https://gut.bmj.com/content/46/1/73> >.

- 199 BOETS, E. et al. Systemic Availability and Metabolism of Colonic-Derived Short-Chain Fatty Acids in Healthy Subjects: A Stable Isotope Study. **The Journal of physiology**, v. 595, n. 2, 01/15/2017 2017. ISSN 1469-7793. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27510655> >.
- 200 FREDSTROM, S. B. et al. Apparent Fiber Digestibility and Fecal Short-Chain Fatty Acid Concentrations With Ingestion of Two Types of Dietary Fiber. **JPEN. Journal of parenteral and enteral nutrition**, v. 18, n. 1, Jan-Feb 1994 1994. ISSN 0148-6071. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8164297> >.
- 201 MUELLER, N. T. et al. Effects of High-Fiber Diets Enriched With Carbohydrate, Protein, or Unsaturated Fat on Circulating Short Chain Fatty Acids: Results From the OmniHeart Randomized Trial. **The American journal of clinical nutrition**, v. 111, n. 3, 03/01/2020 2020. ISSN 1938-3207. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31927581> >.
- 202 MUSCOGIURI, G. et al. Gut microbiota: a new path to treat obesity. **International Journal of Obesity Supplements**, v. 9, n. 1, p. 10-19, 2019-04-12 2019. ISSN 2046-2174/2046-2174. Disponível em: < <https://www.nature.com/articles/s41367-019-0011-7> >.
- 203 COSTABILE, A. et al. Impact of Polydextrose on the Faecal Microbiota: A Double-Blind, Crossover, Placebo-Controlled Feeding Study in Healthy Human Subjects. **The British journal of nutrition**, v. 108, n. 3, 2012 Aug 2012. ISSN 1475-2662. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22099384> >.
- 204 DEWULF, E. M. et al. Insight Into the Prebiotic Concept: Lessons From an Exploratory, Double Blind Intervention Study With Inulin-Type Fructans in Obese Women. **Gut**, v. 62, n. 8, 2013 Aug 2013. ISSN 1468-3288. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23135760> >.
- 205 CANFORA, E. E.; BLAAK, E. E. The Role of Polydextrose in Body Weight Control and Glucose Regulation. **Current opinion in clinical nutrition and metabolic care**, v. 18, n. 4, 2015 Jul 2015. ISSN 1473-6519. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26049637> >.

ANEXOS

ANEXO 1. Orientações para coleta dos exames bioquímicos e de composição corporal.



Orientações para coleta dos exames de sangue:

- Chegar 20 min antes do horário agendado;
- Manter dieta habitual nos cinco dias anteriores à coleta;
- Evitar a prática de exercício físico vigoroso nas 24 horas anteriores a coleta;
- Realizar Jejum de 12 horas para a coleta de sangue (máximo de 14 horas);
- Não consumir bebida alcoólica nos últimos 3 dias que antecedem a coleta de sangue.

Orientações e restrições para o exame Composição corporal por Densitometria:

- Usar roupas SEM metal. Não poderá haver metal nem mesmo nas roupas íntimas. Para as mulheres, seria ideal o uso de top de ginástica. Caso prefira, você poderá trocar de roupa no local do exame.
- Não poderão realizar o exame mulheres grávidas ou com suspeita de gravidez.
- Não ter realizado exames contrastados nas últimas 72 horas antes do exame de composição corporal.
- Medicamentos à base de cálcio, deverão ser suspensos 24 horas antes da realização do exame.
- **Por favor, checar com seus pais (e, se possível, na carteirinha do hospital) qual foi seu peso e estatura ao nascer e sua idade gestacional!!! Checar também o peso de sua mãe antes da sua gestação e quantos quilos ela ganhou na sua gestação!!! Muito obrigada!!!**

Atenciosamente,
Equipe NutriHS-Campinas

ANEXO 2. Orientações para a coleta de fezes e para o teste de refeição mista padrão associado à calorimetria indireta.



Orientações para coleta das fezes:

- Trazer a amostra de fezes no coletor fornecido, conforme instruções abaixo:
- Não coletar durante o período menstrual ou quando houver sangramento local.
- Não deve estar usando antibióticos ou ter usado nos últimos 3 meses.
- Não deve estar usando medicamentos irritantes do trato gastrointestinal (anti-inflamatórios e vitamina C).
- Não utilizar laxantes para a coleta de fezes.
- Urinar no vaso sanitário antes da evacuação para não contaminar as fezes com urina.

Utilizar para coleta a pазinha que acompanha o coletor, retirando, quando for o caso, as partes que se mostram alteradas com muco, sangue, etc. Não há necessidade de encher coletor.

- Pode-se coletar a qualquer hora do dia. Se não puder entregar no mesmo dia, manter em geladeira até 03 dias desde a coleta até o momento da entrega. Não congelar.
- Descartar as fezes que entrarem em contato com a água do vaso sanitário.
- Tampar bem o frasco, identificar com seu nome completo a etiqueta fornecida que deverá ser colada no frasco.

Atenciosamente,
Equipe NutriHS-Campinas



Orientações e restrições para coleta de urina e exames de Calorimetria Indireta e Teste de Refeição Padrão

- Não ingerir bebidas alcóolicas e não realizar atividade física moderada/vigorosa 48 h antes do teste.
- Fumantes: não fumar nas 2,5 h que antecedem a chegada ao laboratório.
- Na noite anterior, consumir uma das três opções de refeição padronizada.
- Chegar ao laboratório às **7:00h** em ponto
- Realizar jejum de 12 horas (você deve parar de comer a partir das 19:30 horas)
- Após finalizar a refeição, você deve esvaziar a bexiga e, a partir de então toda a urina deve ser coletada no recipiente entregue durante 12 horas (toda urina que fizer depois das 19h30, deve ser colocada no recipiente que foi entregue).

Atenciosamente,
Equipe NutriHS

ANEXO 3. Opções de cardápio para a última refeição da noite que antecede o teste de refeição mista padrão.

Opção 1

Alimento	Quantidade
Salada Verde	01 prato de sobremesa
Cenoura ralada	02 colheres de sopa (40g)
Macarrão cozido	05 colheres de sopa (100g)
01 Tomate	1 unidade média para molho
Queijo mussarela	01 colher de sopa (30g)
Azeite extra virgem	01 colher de sobremesa (para temperar a salada)
Suco de laranja	01 copo (200 ml)

Opção 2

Alimento	Quantidade
Tomate	01 prato de sobremesa
Carne moída	02 colheres de sopa (40g)
Arroz integral	05 colheres de sopa (100g)
Feijão	1 Concha (86g)
Azeite extra virgem	01 colher de sobremesa (para temperar a salada)
Suco de laranja	01 copo grande (300 ml)

Opção 3

Alimento	Quantidade
Salada Verde	01 prato de sobremesa
Cenoura ralada	02 colheres de sopa (40g)
Tomate	04 fatias (80g)
Peito de frango desfiado	02 colheres de sopa (20g)
Pão de forma integral	02 fatias (50g)
Azeite extra virgem	01 colher de sobremesa (para temperar a salada)
Suco de laranja	01 copo (200 ml)
Morango	05 unidades (115g)