

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO – UFRJ

PRISCILA DOS SANTOS GOMES OLIVARES

**COMPOSIÇÃO DA MICROBIOTA INTESTINAL E PERFIS LIPÍDICO E GLICÍDICO
EM ONÍVOROS OBESOS**

Rio de Janeiro/ RJ

2019

Priscila dos Santos Gomes Olivares

COMPOSIÇÃO DA MICROBIOTA INTESTINAL
E PERFIS LIPÍDICO E GLICÍDICO EM
ONÍVOROS OBESOS.

Dissertação de mestrado apresentada ao programa de pós-graduação em medicina (cardiologia) da universidade federal do rio de janeiro, como requisito final para obtenção do grau de mestre em ciências (área de concentração - cardiologia).

Orientadoras:

Prof^ª. Dr^ª. Glorimar Rosa

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

Rio de Janeiro/ RJ

2019

Priscila dos Santos Gomes Olivares

COMPOSIÇÃO DA MICROBIOTA INTESTINAL
E PERFIS LIPÍDICO E GLICÍDICO EM
ONÍVOROS OBESOS.

Dissertação de mestrado apresentada ao programa de pós-graduação em medicina (cardiologia) da universidade federal do rio de janeiro, como requisito final para obtenção do grau de mestre em ciências (área de concentração - cardiologia).

Aprovada em: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

PROFESSOR DR ROBERTO COURY PEDROSA

PROFESSORA DR^a LEILA SICUPIRA CARNEIRO DE SOUZA LEÃO

PROFESSORA DR^a SOFIA KIMI UEHARA

AGRADECIMENTOS

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

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

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

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

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

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

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

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

Aos amigos que conheci na UFRJ e que tanto me apoiaram com palavras de incentivo e carinho nos momentos de desânimo.

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

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

RESUMO

OLIVARES, Priscila dos Santos Gomes. COMPOSIÇÃO DA MICROBIOTA INTESTINAL E PERFIS LIPÍDICO E GLICÍDICO EM ONÍVOROS. Rio de Janeiro, 2019. Dissertação (Mestrado em Cardiologia)- Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2019.

INTRODUÇÃO: A obesidade e o sobrepeso, reconhecidos como importantes fatores de risco para a doença cardiovascular, têm aumentado em todos os países, representando um grande desafio e um problema de saúde pública. Foi identificado um subgrupo de obesos, metabolicamente saudáveis (ObMS), que apesar do peso elevado, não possuem síndrome metabólica. Há evidências recentes sugerindo o envolvimento da microbiota intestinal na regulação energética, assim como no processo inflamatório, sendo apontada como fator intermediário entre componentes ambientais e comportamentais e a ocorrência de obesidade e distúrbios metabólicos. **OBJETIVO:** Investigar a composição da microbiota intestinal e perfis glicídico e lipídico de onívoros obesos.

MÉTODOS: Estudo transversal com indivíduos onívoros, de ambos sexos. Foram avaliadas as variáveis clínicas (massa corporal (MC), índice de massa corporal (IMC), perímetros de cintura (PC), perímetro do quadril (PQ) e pescoço (PP), razão cintura/estatura (RCest), clínicas (pressão arterial), dietéticas, bioquímicas (colesterol total – CT, lipoproteína de baixa densidade - LDL, lipoproteína de alta densidade – HDL, triglicerídeos - TG, lipoproteína de muita baixa densidade – VLDL, glicemia, insulina, HOMA-IR). Uma amostra de fezes foi recebida de cada participante para análise da microbiota em pools de 4 indivíduos. Realizou-se, para as variáveis paramétricas, o teste T-Student para comparação entre 2 grupos e o ANOVA para 3 grupos. Para as variáveis não paramétricas, utilizou-se os testes Mann Whitney e o teste de kruskal wallis para comparação entre 2 e 3 grupos, respectivamente. Utilizou-se o programa estatístico SPSS versão 25. Foram considerados significativos valores de $p < 0,05$.

RESULTADOS: Não foram observadas diferenças significativas na composição nutricional da dieta entre indivíduos eutróficos, com sobrepeso e obesos. Foram observadas diferenças significativas para VLDL ($p < 0,0001$), TG $p < 0,0001$, ICAST 1 ($p = 0,011$), insulina ($p = 0,005$) e HOMA-IR ($p = 0,001$) de acordo com o IMC. A prevalência de ObMNS entre os obesos da nossa

população foi de 58%. Foram observadas diferenças significativas entre ObMS e ObMNS nos valores de circunferência da cintura ($p=0,030$), relação cintura-estatura ($p=0,018$), IMC ($p=0,046$), níveis de insulina ($p<0,001$) e HOMA-IR ($p<0,001$). Os pools de DNA das amostras de fezes foram encaminhados para um laboratório especializado para análise.

CONCLUSÕES: A ingestão energética, de macronutrientes e fibras e a atividade física não foram capazes de explicar sozinhos o estado nutricional da população estudada. Podemos supor que outros fatores, além dos hormonais e psicológicos podem levar ao quadro de obesidade e justificar as diferenças metabólicas neste grupo.

PALAVRAS CHAVES: Padrão alimentar, dieta, microbiota intestinal, obesidade, obeso metabolicamente saudável, doenças cardiovasculares, intolerância à glicose.

ABSTRACT

OLIVARES, Priscila dos Santos Gomes. COMPOSITION OF INTESTINAL MICROBIOTE AND LIPID AND GLYCIDIC PROFILES IN OMNIVOS. Rio de Janeiro, 2019. Dissertation (Master in Cardiology) - School of Medicine, Federal University of Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2019.

INTRODUCTION: Obesity and overweight, recognized as important risk factors for cardiovascular disease, have been increasing in all countries, representing a major challenge and a public health problem. We identified a subgroup of obese, metabolically healthy (ObMS) who, despite their heavy weight, do not have metabolic syndrome. There is recent evidence suggesting the involvement of the intestinal microbiota in energy regulation, as well as in the inflammatory process, being pointed as an intermediate factor between environmental and behavioral components and the occurrence of obesity and metabolic disorders. **OBJECTIVE:** To investigate the composition of intestinal microbiota and glycidic and lipid profiles of obese omnivores.

METHODS: Cross-sectional study with omnivorous individuals of both sexes. Clinical variables (body mass (MC), body mass index (BMI), waist perimeter (PC), hip perimeter (PC) and neck (PP), waist / height ratio (RCest), clinical (blood pressure) were evaluated. dietary, biochemical (total cholesterol - TC, low density lipoprotein - LDL, high density lipoprotein - HDL, triglycerides - TG, very low density lipoprotein - VLDL, glycemia, insulin, HOMA-IR). feces was received from each participant for microbiota analysis in pools of 4 individuals, for the parametric variables, the T-Student test for comparison between 2 groups and the ANOVA for 3 groups. Mann Whitney test and Kruskal wallis test for comparison between 2 and 3 groups, respectively, using the SPSS version 25 statistical program.

RESULTS: No significant differences in dietary nutritional composition were observed between overweight and obese eutrophic individuals. Significant differences were observed for VLDL ($p < 0.001$), TG $p < 0.001$, ICAST 1 ($p = 0.011$), insulin ($p = 0.005$) and HOMA-IR ($p = 0.001$) according to BMI. The prevalence of ObMNS among the obese in our population was 58%. Significant differences were observed between ObMS and ObMNS in waist circumference ($p = 0.030$), waist-to-height ratio ($p = 0.018$), BMI ($p = 0.046$), insulin levels ($p < 0.001$) and HOMA-IR ($p < 0.001$). DNA pools of stool samples were sent to a specialized laboratory for analysis.

CONCLUSIONS: Energy intake, macronutrient and fiber intake, and physical activity alone could not explain the nutritional status of the population studied. We can assume that factors other than hormonal and psychological may lead to obesity and justify the metabolic differences in this group.

KEY WORDS: Dietary pattern, diet, intestinal microbiota, obesity, metabolically healthy obese, cardiovascular disease, glucose intolerance.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Quadro 1 - Classificação do IMC em Adultos	32
Quadro 2 - Perímetro da cintura e risco de complicações metabólicas associados à obesidade	33
Quadro 3 - Ponto de corte/sensibilidade e especificidade da RCEst como discriminador de risco coronariano elevado.....	33
Quadro 4 - Perímetro do pescoço e Risco Cardiovascular	34
Quadro 5 - Classificação da pressão arterial segundo a medida casual	35
Fluxograma 1 – Seleção dos voluntários	38

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Características sociodemográficas de acordo com IMC	39
Tabela 2 - Composição corporal e pressão arterial dos participantes de acordo com IMC	40
Tabela 3 - Perfil lipídico e glicídico de acordo com IMC clínico	41
Tabela 4 – Composição nutricional da dieta de acordo com IMC	41
Tabela 5 – Descrição do consumo de adoçantes artificiais	42
Tabela 6 - Características sociodemográficas de ObMS e ObMNS	42
Tabela 7 – Composição corporal e pressão arterial de OMS e OMNS	43
Tabela 8 - Perfil lipídico e glicídico de acordo de OMS e OMNS	44

LISTA DE ANEXOS

Anexo A – Aprovação do CEP	53
Anexo B - Termo de consentimento livre e esclarecido TCLE	54
Anexo C – Questionário de informações gerais	57
Anexo D – Questionário de frequência de uso de adoçantes artificiais	61
Anexo E - Questionário internacional de atividade física –versão curta –IPAQ	63
Anexo F - Registro Alimentar de 3 dias	66

Sumário

1 INTRODUÇÃO.....	14
2 REVISÃO DA LITERATURA	15
2.1 Doenças Cardiovasculares	15
2.2 Fatores de risco cardiovasculares	16
2.3 Fenótipo do obeso metabolicamente saudável e não saudável	17
2.4 Padrões alimentares associados ao excesso de peso.....	18
2.5 Microbiota Intestinal	19
2.6 Microbiota Intestinal, obesidade e risco cardiometabólico.....	20
3 JUSTIFICATIVA	22
4 HIPÓTESE	23
5 OBJETIVOS.....	24
5.1 OBJETIVO GERAL.....	24
5.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	24
6 MÉTODOS.....	25
6.1 ASPECTOS ÉTICOS	25
6.2 LOCAL DO ESTUDO	25
6.3 DELINEAMENTO DO ESTUDO.....	25
6.4 DEFINIÇÃO DE OBESOS METABOLICAMENTE SAUDÁVEIS.....	26
6.5 AMOSTRAGEM	26
6.6 POPULAÇÃO DO ESTUDO	26
6.6.1 CRITÉRIOS DE ELEGIBILIDADE.....	27
6.6.1.1 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO.....	27
6.6.1.2 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO.....	27
6.7 COLETA DE AMOSTRAS.....	27
6.8 AVALIAÇÃO BIOQUÍMICA	28
6.9 EXTRAÇÃO DO DNA E SEQUENCIAMENTO GENÉTICO	29
6.10 AVALIAÇÃO ANTROPOMÉTRICA.....	31
6.11 AVALIAÇÃO DA PRESSÃO ARTERIAL.....	34
6.12 AVALIAÇÃO DO CONSUMO ALIMENTAR E DO CONSUMO DE ADOÇANTES	35
6.13 AVALIAÇÃO DO GRAU DE ATIVIDADE FÍSICA.....	36
6.14 ANÁLISE ESTATÍSTICA	37

7 RESULTADOS	37
7.1 VOLUNTÁRIOS	38
7.2 CARACTERIZAÇÃO DA POPULAÇÃO DE ESTUDO	38
8 DISCUSSÃO	45
9 LIMITAÇÕES	47
10 CONCLUSÃO	47
11 CRONOGRAMA DE EXECUÇÃO	48
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	49
ANEXOS.....	58

1 INTRODUÇÃO

As doenças cardiovasculares ainda são a principal causa de morte no Brasil e no mundo (SIQUEIRA; SIQUEIRA-FILHO; LAND, 2017; WHO, 2014a) apesar de uma progressiva redução na mortalidade nas últimas décadas (MANSUR; FAVARATO, 2016a; MARINHO; PASSOS; FRANÇA, 2016). A obesidade e o sobrepeso, reconhecidos como importantes fatores de risco para a doença cardiovascular, têm aumentado em todos os países, representando um grande desafio e um problema de saúde pública (GERALDO; PINTO-E-SILVA, 2016; JARDIM, 2019). Foi identificado um subgrupo de obesos, que apesar do peso elevado, não possuem síndrome metabólica e, portanto, possuem um perfil e prognóstico mais favoráveis quando comparados aos outros obesos, mesmo com IMC semelhantes e percentual de gordura parecidos. Estes obesos são chamados metabolicamente saudáveis (ObMS) (DE CASTRO PIMENTEL et al., 2015; ECKEL et al., 2018).

A causa fundamental da obesidade e excesso de peso é um desequilíbrio energético entre calorias consumidas e calorias gastas. As mudanças ocorridas no estilo de vida da população levaram ao aumento do sedentarismo e a uma mudança nos padrões alimentares, com aumento do consumo de alimentos ricos em energia, gorduras, açúcares livres, sódio, e baixo valor nutricional (KANAS et al., 2013; MOZAFFARIAN et al., 2011; WHO, 2018a; ZAMBERLAN et al., 2013).

Evidências recentes sugerem o envolvimento da microbiota intestinal na regulação energética, assim como no processo inflamatório, sendo apontada como fator intermediário entre componentes ambientais e comportamentais e a ocorrência de obesidade e distúrbios metabólicos (CANI et al., 2019; DELZENNE; CANI, 2011; MORAES et al., 2014). Embora vários fatores possam influenciar a dinâmica da microbiota intestinal, acredita-se que a dieta possa ser o fator mais importante na composição e na função bacteriana do intestino. A predominância de alimentos vegetais ou de origem animal na dieta parece ser um preditor da classificação de enterotipos, sendo o enterotipo 1 (*Bacteroides*), frequentemente observado em pacientes que consumiam uma dieta rica em proteínas e gorduras, e o enterotipo 2 (*Prevotella*), geralmente encontrado em indivíduos que consumiam uma dieta rica em carboidratos. Não existe uma definição clara que caracterize uma microbiota intestinal "saudável" em humanos, mas vários

estados de doença foram associados a alterações na composição bacteriana de mucosas fecais e intestinais, incluindo certas doenças cardiometabólicas, como obesidade, diabetes tipo 2 e doenças cardiovasculares (HANSEN et al., 2015; MORENO-INDIAS et al., 2014; SAAD; SANTOS; PRADA, 2016).

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Doenças Cardiovasculares

As doenças cardiovasculares são a principal causa de morte em todo o mundo e são responsáveis pelos mais altos custos em assistência médica (GO et al., 2014; WHO, 2014a). Em 2015, 17,7 bilhões de pessoas morreram por doenças cardiovasculares, representando 31% de todos os óbitos ocorridos no ano (WHO, 2018b). No Brasil as doenças cardiovasculares também predominam como a principal causa de mortalidade, representando 28% do total de óbitos ocorridos nos últimos cinco anos (SIQUEIRA; SIQUEIRA-FILHO; LAND, 2017; WHO, 2018b), apesar de uma progressiva redução na mortalidade por estas doenças nas última décadas (MANSUR; FAVARATO, 2016a; MARINHO; PASSOS; FRANÇA, 2016), com quedas de 3,3% ao ano (de 265,0/100 mil hab. para 183,3/100 mil hab.) (MALTA et al., 2014). No Rio de Janeiro ocorreu uma redução de 47,9% no período de 1990 a 2015 (MALTA et al., 2017). Nos países desenvolvidos, o controle dos fatores de risco e a melhoria nos tratamentos clínicos e intervencionistas são as principais justificativas para a redução da mortalidade por DCV, enquanto que nos países em desenvolvimento, como o Brasil, tais reduções podem ser atribuídas a melhoria das condições socioeconômicas (GABRIEL PORTO SOARES, CARLOS HENRIQUE KLEIN, NELSON ALBUQUERQUE DE SOUZA E SILVA, 2018; SOARES et al., 2015, 2016) e ao melhor acesso pela população ao sistema de saúde em regiões como Sul e Sudeste (MANSUR; FAVARATO, 2016b). No entanto, os custos das doenças cardiovasculares no Brasil cresceram nos últimos cinco anos, principalmente os custos com medicamentos (88%) e com previdência social (66%) indicando um aumento da população que está convivendo com a doença (SIQUEIRA; SIQUEIRA-FILHO; LAND, 2017).

De acordo com a OMS, o desenvolvimento da DCV está relacionada com fatores de risco

comportamentais (uso do tabaco, inatividade física, má alimentação e uso nocivo do álcool), metabólicos (Hipertensão Arterial Sistêmica - HAS, Diabetes Mellitus - DM, hipercolesterolemia, sobrepeso e OB) e gerais (idade, sexo, escolaridade e herança genética) (MENDIS S, PUSKA P, 2011). Estes fatores de risco estão muito bem estabelecidos pela literatura, a qual comprova a relação entre sua ocorrência e hábitos de vida diários dos indivíduos (MANSUR; FAVARATO, 2012).

2.2 Fatores de risco cardiovasculares

Com exceção do tabagismo que apresenta queda, os demais fatores de risco cardiovasculares se encontram em ascensão (SOARES et al., 2013). Em 2015 a prevalência mundial do tabagismo em ambos os sexos foi estimada em 20,2%, uma redução de 6,7% desde 2000 (WHO, 2018c). A frequência de adultos fumantes em um conjunto de 27 cidades no Brasil, reduziu de 15,7% em 2006 para 9,3% no ano de 2018, sendo quase duas vezes maior no sexo masculino (12,1%) do que no feminino (6,9%), e 2,4% declararam fumar 20 ou mais cigarros por dia e 7,6% são fumantes passivos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2019)

O número de adultos com pressão arterial elevada aumentou de 594 milhões em 1975 para 1,13 bilhão em 2015, com o aumento sendo observado em grande parte nos países de baixa e média renda (WHO, 2018b). No Brasil, a frequência de diagnóstico médico de hipertensão arterial foi de 24,7% em 2018 (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2019).

O diabetes é um importante causa de morbidade, mortalidade e custos do sistema de saúde em todo o mundo, sendo responsável por 3% de todas as mortes globais. Destas, 43% ocorrem prematuramente, antes de 70 anos de idade. De 1980 a 2014, o número de pessoas com diabetes quase quadruplicou, passando de 108 milhões para 422 milhões (WHO, 2016, 2018b; ZHOU et al., 2016). No Brasil, a frequência do diagnóstico de diabetes aumentou de 5,5% em 2006 para 7,7% em 2018 (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2019).

O sobrepeso e a obesidade tem aumentado em todos os países, representando um grande desafio e um problema de saúde pública em todo o mundo (GERALDO; PINTO-E-SILVA, 2016; JARDIM, 2019). A obesidade mundial quase triplicou entre 1975 e 2016. Em 2016, 39% dos adultos com 18 anos ou mais estavam acima do peso e 13% eram obesos (11% dos homens e

15% das mulheres) (WHO, 2014b, 2018b). Estima-se que, em 2025, cerca de 2,3 bilhões de adultos estejam com sobrepeso, e mais de 700 milhões com obesidade.

Segundo a Pesquisa de Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças crônicas por Inquérito Telefônico (Vigitel), de 2018, do Ministério da Saúde, houve um crescimento considerável de excesso de peso ($\text{IMC} \geq 25 \text{ kg/m}^2$) e obesidade ($\text{IMC} \geq 30 \text{ kg/m}^2$) entre a população brasileira. Mais da metade da população adulta (≥ 18 anos) apresenta excesso de peso (55,7%), um aumento de 30% quando comparado com percentual de 42,6% no ano de 2006. Com relação a obesidade o percentual passou de 11,8% em 2006 para 19,8% em 2018. No Rio de Janeiro o percentual de adultos com excesso de peso e obesidade foi de 57,7% e 22,4%, respectivamente (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2019).

2.3 Fenótipo do obeso metabolicamente saudável e não saudável

A obesidade é considerada um importante fator de risco para o desenvolvimento de diversas complicações metabólicas, que podem elevar o risco de doenças cardiovasculares (SCORSATTO et al., 2018). Foi identificado um subgrupo de obesos, que apesar do peso elevado, não possuem síndrome metabólica e, portanto, possuem um perfil e prognóstico mais favoráveis quando comparados aos outros obesos, mesmo com IMC semelhantes e percentual de gordura parecidos. Estes obesos são chamados metabolicamente saudáveis (ObMS) (DE CASTRO PIMENTEL et al., 2015; ECKEL et al., 2018; PRIMEAU et al., 2010).

Não existem critérios universalmente aceitos para definir obesidade metabolicamente saudável, mas métodos baseados na sensibilidade à insulina, como o índice derivado do teste de tolerância oral à glicose e a avaliação do modelo de homeostase (HOMA), tem sido utilizados (CALORI et al., 2011; DE CASTRO PIMENTEL et al., 2015). Embora o IMC seja utilizado para detectar indivíduos com sobrepeso e obesidade, ele não fornece informações suficientes sobre o percentual de gordura corporal e sobre as alterações metabólicas, o que o torna um indicador pouco sensível de risco cardiometabólico.

Os estudos sobre os riscos de DCV e mortalidade em indivíduos com ObMS são controversos (CALEYACHETTY et al., 2017; LI et al., 2019; ROBERSON et al., 2014; SEO; RHEE, 2014). Pimentel et al. 2015 verificaram que ObMS apresentaram um risco menor para DCV quando

comparados com indivíduos eutróficos metabolicamente não saudáveis. Lin et al. (2017) em uma revisão sistemática de 40 estudos, mostraram que ObMS tinham risco significativamente maior de anormalidades metabólicas incidentes em comparação com os sujeitos eutróficos metabolicamente saudáveis. Eckel et al. (2018) concluíram que mesmo quando a saúde metabólica é mantida por longos períodos, a obesidade continua sendo um fator de risco para doenças cardiovasculares, sendo os riscos mais altos para mulheres metabolicamente não saudáveis em todas as categorias de IMC. Estudos sugerem que este fenótipo possivelmente reflete um estágio de transição antes do início da disfunção metabólica. Muitos desses indivíduos deixarão de ser metabolicamente saudáveis dentro de 8 a 10 anos (HAMER et al., 2015; LIN et al., 2017; MONGRAW-CHAFFIN et al., 2018). Os mecanismos que poderiam explicar o perfil metabólico favorável dos indivíduos com ObMS são pouco compreendidos.

2.4 Padrões alimentares associados ao excesso de peso

A causa fundamental da obesidade e excesso de peso é um desequilíbrio energético entre calorias consumidas e calorias gastas. Globalmente, houve um aumento da inatividade física devido à natureza cada vez mais sedentária de muitas formas de trabalho, mudanças nos modos de transporte e aumento da urbanização. Além disso, o aumento da produção de alimentos processados e a mudança de estilo de vida levaram a uma mudança nos padrões alimentares. Atualmente, grande parte das refeições é realizada fora de casa e composta muitas vezes, de alimentos ricos em energia, gorduras, açúcares livres, sódio, e baixo valor nutricional (KANAS et al., 2013; MOZAFFARIAN et al., 2011; WHO, 2018a; ZAMBERLAN et al., 2013)

A dieta é um dos fatores de risco modificáveis mais importantes para doenças cardiovasculares e outras doenças não transmissíveis (WHO, 2003). A dieta da população brasileira ultrapassa as recomendações de consumo para densidade energética, proteína, açúcar livre, gordura *trans* e sódio, além de apresentar baixos teores de fibras e potássio (LOUZADA et al., 2015). Dados de três pesquisas de orçamentos familiares nas áreas metropolitanas do Brasil entre 1987-1988, 2002-2003 e 2008-2009 revelaram aumentos contínuos na participação de produtos prontos para consumo no total de calorias adquiridas, sobretudo entre produtos ultraprocessados (MARTINS et al., 2013). O consumo aumentado desses alimentos associado ao

sedentarismo, pode justificar a tendência crescente da prevalência de excesso de peso na população (CANELLA et al., 2014; MARTINS et al., 2013). Dado esse cenário, os adoçantes artificiais, também chamados adoçantes não nutritivos ou não calóricos, estão se tornando cada vez mais populares entre a população que busca controlar o peso corporal, pois estes fornecem sabor doce sem, no entanto, oferecer as calorias extras oriundas de alimentos e bebidas que contém adoçantes calóricos (KANAS et al., 2013; SUEZ et al., 2014; SYLVETSKY et al., 2012).

Evidências recentes têm sugerido o envolvimento da microbiota intestinal na regulação energética, assim como no processo inflamatório, sendo apontada como fator intermediário entre componentes ambientais e comportamentais e a ocorrência de obesidade e distúrbios metabólicos (CANI et al., 2019; DELZENNE; CANI, 2011; MORAES et al., 2014).

2.5 Microbiota Intestinal

O sistema gastrointestinal humano é densamente povoado por micro-organismos comensais e simbióticos, em sua maioria bactérias, mas também fungos, *archaea* e vírus. A este complexo ecossistema dá-se o nome de microbiota intestinal, que se estima abrigar dez vezes mais bactérias que o número de células que formam nosso organismo (ARUMUGAM et al., 2011). A identificação das comunidades bacterianas que habitam o sistema gastrointestinal pode ser realizada por meio da classificação taxonômica que distribui as bactérias em filos, classes, ordem, família, gênero e espécie (LANG; EISEN; ZIVKOVIC, 2014). Acredita-se que na maioria dos indivíduos, cerca de 90% das bactérias pertencem aos filos *Firmicutes* e *Bacteroidetes*, e o restante aos filos *Actinobacteria*, *Proteobacteria*, *Fusobacteria* e *Verrucomicrobia* (HARRIS et al., 2012).

Cada indivíduo possui uma microbiota única, sendo em parte definida geneticamente e em outra determinada por fatores, como tipo de parto, amamentação, idade, exercício, hábitos alimentares e uso de antibióticos (CLARKE et al., 2014; HWANG et al., 2015a; LOPEZ-LEGARREA et al., 2014; RAYMOND et al., 2016) Acredita-se que o desenvolvimento da microbiota intestinal se inicie ainda no útero e que a dieta materna na gravidez e na lactação provavelmente afete o conjunto de bactérias capazes de serem transferidas de mãe para filho (CHU et al., 2016a, 2016b).

Embora vários fatores possam influenciar a dinâmica da microbiota intestinal, acredita-se que a dieta possa ser o fator mais importante na composição e na função bacteriana do intestino (SHEFLIN et al., 2017). Enterotipos são agrupamentos de sequências metagenômicas fecais associadas a redes de gêneros dominantes, podendo ser usados para separar indivíduos em agrupamentos. A predominância de alimentos vegetais ou de origem animal na dieta parece ser um preditor da classificação de enterotipos, sendo o enterotipo 1 (*Bacteroides*), frequentemente observado em pacientes que consumiam uma dieta rica em proteínas e gorduras, e o enterotipo 2 (*Prevotella*), geralmente encontrado em indivíduos que consumiam uma dieta rica em carboidratos. Apesar de a composição da microbiota intestinal de um indivíduo adulto ser relativamente estável ao longo da vida, algumas intervenções dietéticas podem modificar a composição da microbiota (ARON-WISNEWSKY; CLÉMENT, 2016; KNIGHT, 2015). A disponibilidade de substratos específicos através da dieta pode favorecer o crescimento de gêneros ou espécies capazes de explorá-los, assim como a modulação das condições físico-químicas no intestino (LOBACH; ROBERTS; ROWLAND, 2019).

Em particular, as diferenças induzidas pela dieta em metabolitos microbianos, como ácidos graxos de cadeia curta (SCFA), ácidos graxos de cadeia ramificada (BCFA), ácidos biliares secundários e produtos de degradação proteica, têm o potencial de modular o ambiente do hospedeiro para prevenção ou promoção de doenças (SHEFLIN et al., 2017).

2.6 Microbiota Intestinal, obesidade e risco cardiometabólico

Não existe uma definição clara que caracterize uma microbiota intestinal "saudável" em humanos, mas vários estados de doença foram associados a alterações na composição bacteriana de mucosas fecais e intestinais, incluindo certas doenças cardiometabólicas, como obesidade, diabetes tipo 2 e doenças cardiovasculares (HANSEN et al., 2015; MORENO-INDIAS et al., 2014; SAAD; SANTOS; PRADA, 2016). Estes pacientes, frequentemente exibem enriquecimento ou depleção de certos grupos bacterianos em sua microbiota residente em comparação com indivíduos saudáveis (ARON-WISNEWSKY; CLÉMENT, 2016; SONNENBURG; BÄCKHED, 2016; WOTING; BLAUT, 2016).

Estudos sugeriram um papel da microbiota intestinal na patogênese da aterosclerose em indivíduos com uma dieta rica em fosfatidilcolina (com as principais fontes, incluindo ovos, fígado, carne bovina e suína) ou L-carnitina (presente na carne vermelha) através da formação do metabólito trimetilamina (TMA) e conversão em N-óxido de trimetilamina (TMAO), capaz de reduzir o transporte reverso de colesterol e a síntese de ácidos biliares, potencialmente atenuando a via normal de eliminação do colesterol intestinal (HEIANZA et al., 2017; KOETH et al., 2013; LI et al., 2017; TANG et al., 2013; TRØSEID et al., 2015; WANG et al., 2011; WARRIER et al., 2015). Existem evidências de que o IMC é um das principais covariáveis das variações de microbiomas, e que a obesidade está associada a alterações na composição da microbiota intestinal (BRAHE et al., 2015; SILVA-JUNIOR et al., 2017). Pesquisadores observaram que indivíduos com baixa diversidade bacteriana foram caracterizados por adiposidade geral mais acentuada, resistência à insulina e dislipidemia e fenótipo inflamatório mais pronunciado quando comparados a indivíduos com alta diversidade bacteriana (LE CHATELIER et al., 2013).

Os mecanismos envolvidos na relação entre a composição da microbiota intestinal e doenças metabólicas que elevam o risco cardiovascular não estão totalmente claros. Acredita-se que a interação entre a dieta e a microbiota intestinal poderia modular a permeabilidade do intestino, especialmente naqueles indivíduos que habitualmente consomem dieta com alto teor de gorduras, uma vez que os Lipopolissacarídeos (LPS) da parede bacteriana interagem com a lipoproteína de baixa densidade (LDL), estimulando sua oxidação e levando a um influxo de moléculas pró-inflamatórias como interleucina-1 e fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) pelos macrófagos, transformando-os em células espumosas e desencadeando o processo aterosclerótico (KANAS et al., 2013; ROGLER; ROSANO, 2014).

Sugere-se também que o *Fasting Induced Adipose Factor* (FIAF) - um inibidor da lipase de lipoproteína (LPL), produzido pelo intestino, fígado e tecido adiposo - quando suprimido pela ação da microbiota intestinal, aumente a atividade da LPL determinando maior absorção de ácidos graxos e acúmulo de triglicerídeos nos adipócitos (BÄCKHED et al., 2004).

Outro mecanismo proposto envolve a via da 5'-monofosfato-adenosina proteína quinase (AMP-Q), que regula o metabolismo energético celular. Quando inibida, essa enzima ativa processos anabólicos e bloqueia catabólicos, desempenhando um importante papel na regulação do apetite e do metabolismo de ácidos graxos e da glicose, o que favorece a adiposidade corporal e a geração de resistência à insulina (BÄCKHED et al., 2007).

Há importantes lacunas no conhecimento sobre como a alimentação poderia alterar a composição da microbiota intestinal. Não sabemos se a função da microbiota intestinal é alterada através de intervenções dietéticas específicas ou se mudanças na produção de metabolitos e na expressão de genes refletem o potencial funcional existente que é ativado através da entrega de precursores alimentares, sendo necessários mais estudos para avançar a compreensão.

3 JUSTIFICATIVA

As mudanças ocorridas no estilo de vida e nos hábitos alimentares nas últimas décadas, levaram ao aumento da obesidade e de distúrbios do metabolismo glicídico e lipídico, que favorecem a ocorrência de DCV. Compreender as alterações no metagenoma microbiano do intestino podem contribuir para definir subconjuntos de indivíduos adultos com diferentes perfis de risco metabólico e, assim, contribuir para resolver parte da heterogeneidade associada a fenótipos relacionados à adiposidade e fornecer subsídios para o planejamento de intervenções voltadas para a prevenção de DCV, configurando uma oportunidade de se estudar o eixo coração-intestino.

4 HIPÓTESE

As diferenças metabólicas entre indivíduos onívoros eutróficos, com sobrepeso e obesos metabolicamente saudáveis e não saudáveis está relacionada com a composição da microbiota intestinal.

5 OBJETIVOS

5.1 OBJETIVO GERAL

Investigar a composição da microbiota intestinal e perfis glicídico e lipídico de onívoros.

5.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Caracterizar o padrão dietético dos grupos estudados.
- ✓ Identificar a proporção dos principais filos e classes de bactérias da microbiota intestinal associados a composição corporal.
- ✓ Investigar a composição da microbiota intestinal de obesos metabolicamente não saudáveis.
- ✓ Verificar se existe relação entre o consumo habitual de adoçantes artificiais, produtos dietéticos e ultraprocessados com a composição da microbiota intestinal.

6 MÉTODOS

6.1 ASPECTOS ÉTICOS

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

6.2 LOCAL DO ESTUDO

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

6.3 DELINEAMENTO DO ESTUDO

Trata-se de estudo transversal com indivíduos de ambos os sexos, com idade de 18 até 59 anos. Os indivíduos foram recrutados no Centro de Extensão e Pesquisa em Nutrição Clínica do HUCFF. A Divulgação da pesquisa foi feita por meio de cartazes no Hospital Universitário Clementino Fraga Filho – HUCFF e no Centro de Ciências da Saúde - CCS, redes sociais e whatsapp. Os procedimentos da pesquisa e os critérios de inclusão e exclusão foram transmitidos aos interessados via whatsapp ou e-mail. Os voluntários que referiam estar dentro dos critérios da pesquisa foram agendados para coleta dos dados e orientados a levar um registro alimentar de 3 dias (sendo 1 dia de final de semana e 2 dias durante a semana), e uma pequena amostra de fezes congeladas no dia do atendimento. No dia agendado foi feita a leitura e assinatura do termo de

consentimento livre e esclarecido (TCLE) pelo participante. Em seguida, foi realizada a aferição do peso e estatura para o cálculo do índice de massa corporal (IMC), avaliação antropométrica, aferição da pressão arterial, coleta de amostra de sangue em jejum de 12 horas para realização das análises laboratoriais, e o recolhimento da amostra fecal do participante. Através de questionários foi realizada a coleta de informações gerais, sobre história de doença atual e pregressa, terapia medicamentosa atual e hábitos de vida (ANEXO C), consumo de adoçantes (ANEXO D), nível de atividade física (MATSUDO et al., 2001) (ANEXO E) e registro alimentar de 3 dias (ANEXO F). O kit para coleta de fezes, composto de saco plástico com fecho hermético e colher descartável, foi entregue previamente aos participantes.

Para análise estatística os indivíduos foram inicialmente divididos em 3 grupos de acordo com o IMC (eutróficos, sobrepesos e obesos). Posteriormente os indivíduos obesos foram classificados em obesos metabolicamente saudáveis e não saudáveis de acordo com o ponto de corte estabelecido para o índice HOMA (DE CASTRO PIMENTEL et al., 2015).

6.4 DEFINIÇÃO DE OBESOS METABOLICAMENTE SAUDÁVEIS

Os indivíduos obesos foram classificados como metabolicamente saudáveis se possuísem valores de índice HOMA $\leq 2,78$ (DE CASTRO PIMENTEL et al., 2015).

6.5 AMOSTRAGEM

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

6.6 POPULAÇÃO DO ESTUDO

Indivíduos adultos, de ambos os sexos, com idade entre 18 e 59 anos, onívoros, residentes na cidade do Rio de Janeiro.

6.6.1 CRITÉRIOS DE ELEGIBILIDADE

6.6.1.1 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

Indivíduos adultos com idade de 18 até 59 anos, onívoros.

6.6.1.2 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

- ✓ Indivíduos portadores das seguintes doenças crônicas não transmissíveis: Diabetes, Insuficiência hepática, Câncer, Doenças intestinais inflamatórias, Insuficiência renal;
- ✓ Mulheres em período de gestação/lactação;
- ✓ Uso de suplementos alimentares, pré e/ou probióticos (últimos 2 meses);
- ✓ Uso de antibióticos (últimos 2 meses);
- ✓ Indivíduos com história recente (últimos 2 meses) de disbiose;
- ✓ Indivíduos vegetarianos;
- ✓ Uso de laxantes;
- ✓ Etilismo auto relatado, pois está relacionado ao aumento da pressão arterial e por alterar a concentração de lipoproteínas séricas. Dose-limitante/dia: 15ml/g etanol para mulheres. 30ml/g etanol para homens (OMS);
- ✓ Uso de substâncias corticoides, por interferir no metabolismo dos glicídios, causando hiperglicemia e edema.

6.7 COLETA DE AMOSTRAS

Foram coletadas amostras de sangue, no CEPENUC-HUCFF, por profissional habilitado, no período da manhã, após jejum mínimo de 12 horas e máximo de 14 horas. O sangue foi coletado em 03 tubos com gel. Após 30 minutos da coleta, os tubos contendo sangue foram centrifugados (4000 rpm, 15 min) com uso de centrífuga de bancada da marca Spinlab, para a obtenção de soro. Uma alíquota de soro foi separada e armazenada a 4° C por no máximo 7 dias e posteriormente

enviada ao Laboratório de Lípidos da Universidade do Estado do Rio de Janeiro - Lablip, coordenado pelo Prof. Dr. José Firmino Neto, para análise de perfil lipídico e glicemia.

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

6.8 AVALIAÇÃO BIOQUÍMICA

Todas as análises bioquímicas foram realizadas por meio dos kits comerciais BioSystems SA e a leitura realizada em Analisador Automático A15 marca BioSystems AS seguindo informações abaixo:

- ✓ Triglicerídios – pelo método Glicerol Fosfato Oxidase/Peroxidase (FOSSATI; PRENCIPE, 1982) ajustando a leitura para comprimento de onda de 500nm. Os resultados serão expressos em mg/dL.
- ✓ Colesterol total – pelo método Colesterol Oxidase/Peroxidase (ALLAIN et al., 1974) ajustando a leitura para comprimento de onda de 500nm. Os resultados serão expressos em mg/dL.
- ✓ HDL-colesterol direto – pelo método Detergente Direto (WARNICK; NAUCK; RIFAI, 2001) ajustando a leitura para comprimento de onda de 600/700nm. Os resultados serão expressos em mg/dL.
- ✓ Glicemia – pelo método Glicose Oxidase/Peroxidase (TRINDER, 1969) ajustando a leitura para comprimento de onda de 500nm. Os resultados serão expressos em mg/dL.
- ✓ O LDL-c e VLDL-c serão calculados segundo a fórmula de (FRIEDEWALD; LEVY; FREDRICKSON, 1972) válida somente se triglicerídeos <400mg/dL.

- ✓ Insulina – Obtido pelo soro e analisado pelo método ELISA (*Ultra Sensitive Insulin ELISA Kit*, DRG) no aparelho BRIO 2 Radim. Os resultados foram expressos em $\mu\text{IU/mL}$.
- ✓ A resistência à insulina (RI) será estimada pelo método HOMA-IR (*Homeostasis Model Assessment Insulin Resistance*) (RADZIUK, 2014) multiplicando-se a glicose em jejum (mmol/L) pela insulina de jejum ($\mu\text{IU/mL}$) e dividindo-se por 22,5.
- ✓ Índice de Castelli I = Colesterol Total / Colesterol HDLc (CASTELLI; ABBOTT; MCNAMARA, 1983).
- ✓ Índice de Castelli II = Colesterol LDLc / Colesterol HDLc (CASTELLI; ABBOTT; MCNAMARA, 1983).

Os pontos de corte do perfil lipídico e glicídico foram baseados nas diretrizes da Sociedade Brasileira de Cardiologia de 2019 (SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA, 2019) e para o perfil glicídico foram consideradas as diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes de 2018 (SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES, 2018).

6.9 EXTRAÇÃO DO DNA E SEQUENCIAMENTO GENÉTICO

O DNA bacteriano será extraído de 200 mg de amostra fecal utilizando o *kit* comercial “Norgen® DNA stool kit” seguindo as instruções do fabricante, no Laboratório de Biofísica da UFRJ. A quantificação de DNA extraído das fezes será feita no NanoDrop (ThermoScientific) e a qualidade do material genético avaliada através de eletroferese em gel de agarose 1%. Após extração e quantificação do DNA as amostras foram armazenadas em freezer -80°C até o momento realização do pool e sequenciamento genético. Os pools foram realizados de 4 em 4 amostras de DNA, onde cada amostra teve um volume diferente de pipetagem determinado pelo cálculo de sua concentração de DNA por microlitro, de modo que fosse pipetado volume que correspondesse a 2000ng/ul, para que houvesse a mesma concentração de DNA de cada amostra no pool.

O sequenciamento genético para determinação da composição da microbiota foi realizado pela empresa GENONE genética avançada, a partir da plataforma Ion S5 XL-30k reads, com obtenção das unidades taxonômicas pela amplificação das regiões 16S (V3-V4).

A montagem das sequências para posterior determinação das unidades taxonômicas foram atribuídas às amostras com base em seu código de barras exclusivo; as leituras de extremidade pareada foram mescladas usando FLASH (V1.2.7, <http://ccb.jhu.edu/software/FLASH/>), uma ferramenta de análise precisa projetada para mesclar leituras de extremidade emparelhadas quando pelo menos algumas leituras sobrepõem a leitura gerada a partir da extremidade oposta do mesmo fragmento de DNA, e a sequências de emenda foram chamadas de tags brutas (MAGOČ; SALZBERG, 2011)

A filtragem de qualidade nas tags brutas foi realizada sob condições específicas de filtragem para obtenção das etiquetas limpas de acordo com o QIIME (V1.7.0, <http://qiime.org/index.html>) (CAPORASO JG, KUCZYNSKI J, STOMBAUGH J, BITTINGER K, BUSHMAN FD, COSTELLO EK, FIERER N, GONZALEZ-PEÑA A, GOODRICH JK, 2010).

As tags foram comparadas com o banco de dados de referência (banco de dados Gold, http://drive5.com/uchime/uchime_download.html) utilizando UCHIME algoritmo (algoritmo UCHIME, http://www.drive5.com/usearch/manual/uchime_algo.html) para detectar as sequências de quimera e em seguida, as sequências quiméricas foram removidas, sendo então as tags efetivas finalmente obtidas (HAAS et al., 2011).

A análise de sequências foi realizada pelo software Uparse (Uparse v7.0.1001, <http://drive5.com/uparse/>) as sequências com $\geq 97\%$ de similaridade foram atribuídas mesmos OTUs, a sequência representativa de cada OTU foi rastreada (EDGAR, 2013).

Para cada sequência representativa, foi utilizado o banco de dados GreenGene (<http://greengenes.lbl.gov/cgi-bin/nph-index.cgi>) (DESANTIS et al., 2006), com base no algoritmo do classificador RDP (Versão 2.2, <http://sourceforge.net/projects/rdp-classifier/>) para as informações taxonômicas (WANG et al., 2007).

Para relação filogenética de diferentes OTUs e a diferença de espécies dominantes em diferentes grupos o alinhamento de múltiplas sequências foi conduzida usando o software MUSCLE (Versão 3.8.31, <http://www.drive5.com/muscle/>) (EDGAR, 2004).

As informações de abundância das OTUs foram normalizadas usando um padrão de número de sequência correspondente à amostra com menor sequência. Análise subsequente de alfa

diversidade e diversidade beta foram realizadas com base nesses dados normalizados de saída.

A diversidade alfa é aplicada na análise da complexidade da diversidade de espécies para uma amostra através de seis índices, incluindo espécies observadas, Chao1, Shannon, Simpson, ACE e good-coverage. Todos esses índices nas amostras foram calculados com o QIIME (Versão 1.7.0) e exibido com o software R (Versão 2.15.3).

Dois índices foram selecionados para identificar a riqueza da Comunidade: Chao, o estimador Chao1 (<http://www.mothur.org/wiki/Chao>) e ACE, o estimador da ACE (<http://www.mothur.org/wiki/Ace>). Foram também utilizados dois índices para identificar a diversidade comunitária: Shannon, o índice Shannon (<http://www.mothur.org/wiki/Shannon>) e Simpson, o índice Simpson (<http://www.mothur.org/wiki/Simpson>). O índice para a profundidade de sequenciamento foi caracterizado pelo Good-coverage(<http://www.mothur.org/wiki/Coverage>).

A análise da diversidade beta foi utilizada para avaliar diferenças de amostras em complexidade de espécies, a diversidade Beta foi calculada pelo software QIIME (versão 1.7.0).

A análise de cluster foi precedida pela análise de componentes principais que foi aplicada para reduzir a dimensão das variáveis originais usando o FactoMineR no software R (versão 2.15.3).

A Análise de Coordenadas Principais foi realizada a partir de dados complexos e multidimensionais, uma matriz de distância entre as amostras obtidas foi transformada em um novo conjunto de eixos ortogonais, pelos quais o fator máximo de variação é demonstrado pela primeira coordenada principal e a segunda máxima pela segunda coordenada principal, e assim por diante.

A análise das coordenadas principais foi exibida pelo programa estatístico WGCNA e pelo ggplot2 no software R (versão 2.15.3).

O método de grupo de pares não ponderado com cluster de médias aritméticas foi realizado como um tipo de método hierárquico de *clustering* para interpretar a matriz de distância usando ligação média e foi conduzido pelo software QIIME (Versão 1.7.0).

6.10 AVALIAÇÃO ANTROPOMÉTRICA

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

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

$$\text{IMC} = \frac{\text{MC (kg)}}{\text{E (m)}^2}$$

Quadro 1. Classificação do IMC – Adultos	
Categorias	IMC (Kg/m²)
Magreza	< 18,5
Eutrofia	18,5 – 24,9
Sobrepeso	25,0 – 29,9
Obesidade Grau 1	30,0 – 34,9
Obesidade Grau 2	35,0 – 39,9
Obesidade Grau 3	> 40,0

Fonte: (WHO, 1998)

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

O quadro abaixo mostra valores de limite de perímetro da cintura associados ao

desenvolvimento de complicações relacionadas à obesidade.

Quadro 2. Perímetro da cintura e risco de complicações metabólicas associadas à Obesidade.	
	Elevado
Homens	≥ 90 cm
Mulheres	≥ 80 cm

Fonte:(IDF, 2005)

- ✓ Perímetro do quadril (cm): será aferido na porção maior da região glúteo-femoral, utilizando-se a fita métrica inelástica, estando o indivíduo em posição ortostática, abdômen relaxado, braços ao lado do corpo e os pés juntos.
- ✓ A RCEst foi obtida pela razão do perímetro da cintura (m) dividido pela medida da estatura (m) apresentando como ponto de corte 0,50 para homens e mulheres (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA PARA O ESTUDO DA OBESIDADE E DA SÍNDROME METABÓLICA, 2016). Essa medida tem sido fortemente associada a fatores de risco. Segue abaixo a fórmula utilizada para cálculo da RCEst (HAUN; PITANGA; LESSA, 2009)

$RCEst = \text{Perímetro da cintura(m)}/\text{Estatura(m)}$

Quadro 3. Ponto de coorte/sensibilidade e especificidade da RCEst como discriminador de risco coronariano elevado.			
RCEst	Pontos de corte	Sensibilidade	Especificidade
Homens	0,52	68%	54%
Mulheres	0,53	67%	68%

Fonte: Pitanga (2006)

- ✓ Relação Cintura-Quadril (RCQ): determinada por meio da seguinte equação:

$$RCQ = \frac{\text{Cintura (cm)}}{\text{Quadril (cm)}}$$

Uma relação superior a 1,0 para os indivíduos do sexo masculino e 0,8 para os do sexo feminino é indicativo de obesidade andróide e risco aumentado de doenças relacionadas com a obesidade.

- ✓ **Perímetro do pescoço:** será mensurado com o indivíduo em pé, com a cabeça posicionada no plano horizontal, circundando o pescoço com fita métrica inelástica no ponto médio, ao nível da cartilagem cricotireoidea, entre ponto médio da coluna cervical até ao meio-anterior do pescoço. Em homens a medida será feita abaixo da proeminência laríngea e aplicada perpendicular ao longo eixo do pescoço (PREIS et al., 2010).

O ponto de corte para risco cardiovascular encontra-se no quadro abaixo:

Quadro 4. Perímetro do pescoço e Risco Cardiovascular	
	Elevado
Homens	≥ 40,5 cm
Mulheres	≥ 34,2 cm

Fonte: Preis, (2010)

6.11 AVALIAÇÃO DA PRESSÃO ARTERIAL

A pressão arterial sistêmica (PA) será medida utilizando-se o esfigmomanômetro adulto com manguito 38 x 16 cm. A PA será aferida após cinco minutos de repouso na posição sentada, com pernas descruzadas, pés apoiados no chão, dorso recostado na cadeira e relaxado. O braço direito deverá estar posicionado na altura do átrio esquerdo, livre de roupas, apoiado, com a palma da mão voltada para cima e o cotovelo ligeiramente fletido. Para a ausculta será utilizado o estetoscópio marca Littman Cardiology III® (SBC, 2016), cujo diafragma foi posicionado, sem compressão excessiva, sobre a artéria braquial, na fossa cubital. O quadro abaixo apresenta a classificação da pressão arterial de acordo com a medida casual.

Quadro 5. Classificação da pressão arterial de acordo com a medida casual		
	PAS (mmHg)	PAD (mmHg)
Normal	≤ 120	≤ 80
Pré – hipertensão	121 – 139	81 – 89
Hipertensão estágio 1	140 – 159	90 – 99
Hipertensão estágio 2	160 – 179	100 – 109
Hipertensão estágio 3	≥ 180	≥ 110
Quando a PAS e a PAD situam-se em categorias diferentes, a maior deve ser utilizada para classificação da PA.		
Considera-se hipertensão sistólica isolada se PAS ≥ 140 mm Hg e PAD < 90 mm Hg, devendo a mesma ser classificada em estágios 1,2 e 3.		

Fonte: (SBC, 2016)

6.12 AVALIAÇÃO DO CONSUMO ALIMENTAR E DO CONSUMO DE ADOÇANTES

O consumo alimentar foi analisado por meio do registro alimentar de 3 dias. Os registros tiveram as medidas caseiras identificadas e convertidas para gramatura segundo Tabela de Equivalentes, Medidas Caseiras e Composição Química dos Alimentos (PACHECO, 2006). Algumas receitas foram padronizadas e convertidas para a quantidade em gramas de cada ingrediente por medida caseira consumida, por exemplo: estrogonofe, sopa de legumes etc. Em seguida esses dados foram inseridos no programa *Food Processor* versão 7.2 (EshaResearch, Salem, EUA, 1998). A avaliação da adequação na composição dietética nutricional foi feita com base nas *Dietary Reference Intakes, 2006*, na recomendação da OMS (WHO, 2003), na IV Diretriz Brasileira Sobre Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia (SBC, 2007) e nas Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes (SBD, 2018)

Os alimentos foram considerados na sua versão em que eram consumidos; cru ou cozidos. Deve ser ressaltado que os alimentos incluídos na análise foram selecionados de acordo com a realidade brasileira, visto que o programa se baseia na tabela de composição de alimentos da

USDA, a qual possui muitos alimentos enriquecidos com vitaminas e minerais, então serão selecionadas as versões dos alimentos semelhantes aos consumidos no Brasil. O consumo de adoçantes artificiais foi estimado através de um questionário específico, adaptado do questionário elaborado por Zanini; Araújo; Martínez-Mesa (2011), composto por 14 questões fechadas e abertas. Os participantes foram questionados quanto ao uso de adoçantes artificiais e de alimentos processados com adoçantes, tipo de adoçante mais utilizado, frequência e forma de uso, ou seja, se utilizavam na forma líquida ou em pó, e quantas gotas/sachês costumavam utilizar. Assim como no estudo de Zanini; Araújo; Martínez-Mesa (2011), e Tavares, (2013), foi considerado “usuário regular de adoçante” o indivíduo que tenha utilizado adoçante artificial ou alimento processado com adoçante artificial em ao menos quatro dias na semana anterior à entrevista.

Para determinar a quantidade de adoçante ingerida por bebidas dietéticas foi realizada a média da quantidade presente nas principais marcas de bebidas consumidas (ROSSONI; GRAEBIN; MOURA, 2007), resultando em 60mg/100ml de bebida.

Como ferramenta de apoio, foi utilizado álbum fotográfico com os tamanhos de porções de alimentos *in natura* e preparações e um cartaz ilustrativo com imagens dos principais adoçantes artificiais disponíveis no mercado.

Para identificação dos alimentos e bebidas ultraprocessados, foi utilizado o sistema NOVA de classificação de alimentos com base na natureza, extensão e finalidade do processamento de alimentos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014; MONTEIRO et al., 2017)

6.13 AVALIAÇÃO DO GRAU DE ATIVIDADE FÍSICA

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

- ✓ Irregularmente ativo A – Realiza 10 minutos contínuos de atividade física, seguindo pelo menos um dos critérios citados: frequência – 5 dias/semana ou duração – 150 minutos/semana;

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

6.14 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram expressos como média \pm desvio padrão ou mediana e intervalo interquartil. O teste de normalidade empregado foi o Shapiro-Wilk. Para as análises estatísticas de comparação entre as variáveis categóricas foi utilizado o teste Qui-quadrado χ^2 . Para as variáveis com distribuição normal, realizou-se o teste T para amostras independentes para comparações entre 2 grupos ou o ANOVA para comparações entre 3 grupos. Para as variáveis não paramétricas o teste de Mann-Whitney, para comparação dos resultados entre 2 grupos, e o teste de kruskal-wallis para comparação dos resultados entre 3 grupos.

Todas as análises foram conduzidas usando o pacote estatístico SPSS versão 25.0. Foram considerados resultados estatisticamente significativos aqueles com valores de $p < 0,05$.

7 RESULTADOS

7.1 VOLUNTÁRIOS

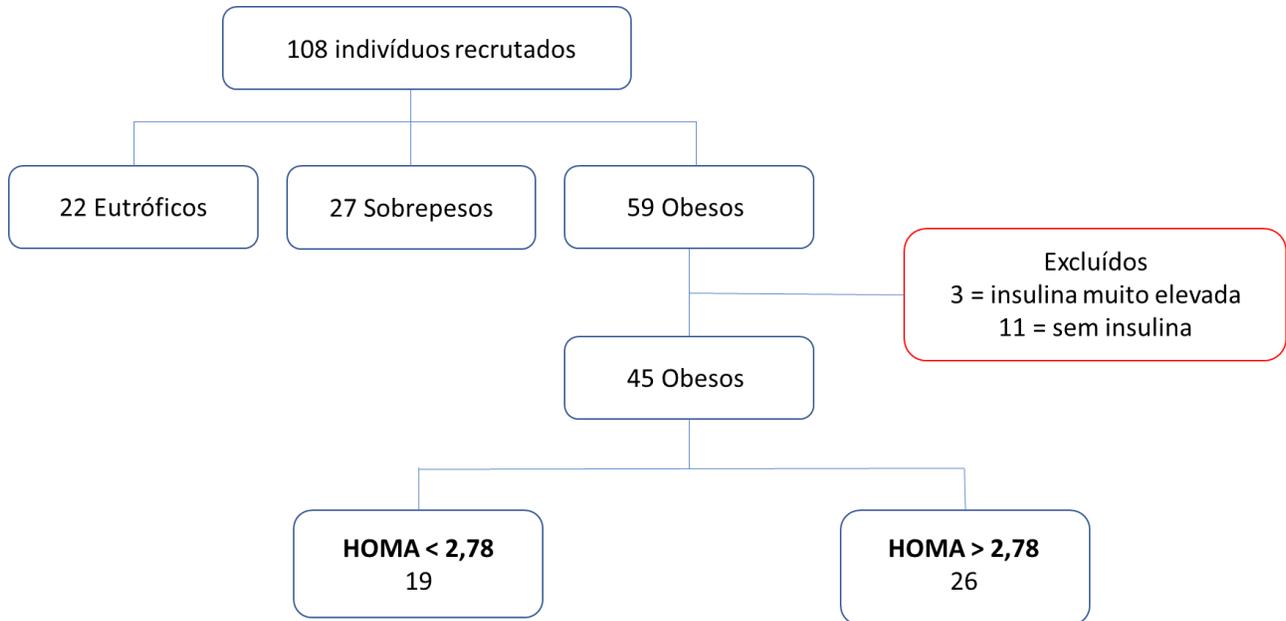


Figura 1. Fluxograma de seleção dos voluntários

O teste de insulina será replicado nos 11 indivíduos em que não foi possível obter o resultado, a partir de alíquotas extras armazenadas no dia da coleta.

7.2 CARACTERIZAÇÃO DA POPULAÇÃO DE ESTUDO

Na tabela 1 foram descritas as características sociodemográficas dos indivíduos de acordo com o IMC. Em todos os grupos, a maioria dos participantes era do sexo feminino, não brancos, possuíam mais de 12 anos de estudo e residência própria. A média de idade variou de 35,92 anos a 40,61 anos. Com relação ao nível socioeconômico a maioria dos participantes relatou ter renda per capita de até 2 salários-mínimos (SM). Não houve diferença significativa destas características entre os grupos. O percentual de bebedores sociais e tabagistas foi maior entre os eutróficos e sobrepesos, respectivamente. Com relação ao nível de atividade física a proporção de indivíduos classificados como irregularmente ativos ou sedentários foi similar entre eutróficos e sobrepesos, enquanto nos obesos foi 71%.

Tabela 1 - Características sociodemográficas de acordo com IMC

Variáveis	EUT (22)	SOB (27)	OB (59)	p valor
	% (n)	% (n)	% (n)	
Idade (anos)	35,92 ± 8,12	40,61 ± 10,46	40,25 ± 10,60	*0,884
Sexo % (n)				**0,492
Masculino	9,1% (2)	18,5% (5)	20,3% (12)	
Feminino	90,9% (20)	81,5% (22)	79,7% (47)	
Cor da pele - não brancos	63,7% (14)	60% (15)	62,7% (37)	**0,863
Estado civil - sem companheiro	50% (11)	72% (18)	44,1% (26)	**0,218
Escolaridade ≥ 12anos	95,5% (21)	88% (22)	84,7% (50)	**0,425
Moradia – Própria	70% (21)	69,7% (23)	69,7% (23)	**0,993
HAS	4,5% (1)	16% (4)	23,7% (14)	**0,129
Dislipidemia	4,5% (1)	1,7% (1)	0	**0,514
DVC	4,5% (1)	4% (1)	3,4% (2)	**0,969
Bebedores sociais	60% (18)	30,3% (10)	30,3% (10)	**0,054
Tabagistas	4,5% (1)	11,5% (3)	5,1% (3)	**0,356
Nível de atividade física				**0,098
Muito ativo ou ativo	50% (11)	48,1% (13)	28,8% (17)	
Sedentário ou irregularmente ativo	50% (11)	51,9% (14)	71,2% (42)	
Renda per capita				**0,223
0 < SM ≤ 1	30% (6)	50% (11)	54,7% (29)	
1 < SM ≤ 2	40% (8)	22,7% (5)	24,5% (13)	
2 < SM	30% (6)	27,2% (6)	20,8% (11)	

Valores expressos em média ± desvio padrão ou frequência (n). *Para as variáveis com distribuição normal, realizou-se o teste T para amostras independentes para comparações entre grupos. **Teste Qui-quadrado χ^2 para variáveis categóricas. SM=salário mínimo R\$998,00.

A tabela 2 apresenta a composição corporal e a pressão arterial dos indivíduos de acordo com o IMC. Houve diferença significativa para todas as variáveis antropométricas analisadas e para a pressão sistólica.

Tabela 2. Composição corporal e pressão arterial de acordo com IMC

Variáveis	EUT (22)	SOB (27)	OB (59)	p valor
Massa corporal (Kg)	58,05 (52,28-65,57)	74 (69,3-80,2)	93 (81,1-104,9)	**0,000
IMC (Kg/m²)	22,39 (20,88-23,67)	28,25 (26,76-28,92)	34,5 (32-38,8)	**0,000
PC (cm)	73,50 (67,75-76,75)	85 (82-92)	100 (94-109)	**0,000
PP (cm)	32 (31-32,35)	35 (33-38)	37 (35-41)	**0,000
PQ (cm)	97 (93,8-102,25)	107 (104-109,7)	120 (112-128)	**0,000
RCest	0,44 (0,41-0,47)	0,53 (0,5-0,57)	0,62 (0,57-0,66)	**0,000
RCQ	0,73 (0,7-0,78)	0,78 (0,77-0,9)	0,84 (0,78-0,91)	**0,000
Gordura %	22,88 ± 5,48	30,47 ± 6,19	39,43 ± 6,02	*0,000
PAS (mmHg)	112,5 (100-120)	120 (115-120)	120 (120-130)	**0,000
PAD (mmHg)	80 (70-80)	80 (75-80)	80 (70-80)	**0,467

Valores expressos em média ± desvio padrão ou mediana e intervalo interquartil. *Para as variáveis com distribuição normal, realizou-se o teste T para amostras independentes para comparações entre grupos. **Para as variáveis não paramétricas o teste de kruskal wallis, para comparação dos resultados entre os grupos estudados. Em negrito, valores considerados estatisticamente significativos p < 0,05.

MC: massa corporal; IMC: índice de massa corporal; PC: Perímetro da cintura; PP: Perímetro do pescoço; RCest: razão cintura/estatura; RCQ: razão cintura/quadril; PAS: pressão arterial sistólica; PAD: pressão arterial diastólica

Na tabela 3 foram descritos o perfil lipídico e glicídico dos grupos de acordo com IMC. Diferenças estatísticas significativas só foram observadas para os valores de TG, VLDL, insulina e HOMA-IR.

Tabela 3. Perfil lipídico e glicídico de acordo com IMC

Variáveis	EUT (21)	SOB (26)	OB (56)	p valor
CT (mg/dL)	182 (155,5-219,5)	214 (174,5-237)	202 (180-230)	0,167
LDL (mg/dL)	108 (85-137,5)	131 (97,25-166)	119 (97,25-145)	0,213
HDL (mg/dL)	62 (53,5-70)	52 (47-63)	55 (48-61,75)	0,589
VLDL (mg/dL)	13 (10-19)	20,5 (14,75-25)	23 (17-31,75)	0,000
TG (mg/dL)	66 (51,5-95,5)	102,5 (73,50-124,75)	115 (83,5-159)	0,000
ICAST 1	3,89 (2,57-3,68)	4,08 (2,76-4,68)	3,76 (3,35-4,19)	0,011
ICAST 2	1,61 (1,36-2,29)	2,59 (1,35-3,24)	2,16 (1,39-2,55)	0,163

Glicose (mg/dL)	78 (68,87)	80 (74-86,5)	83 (76,25-93)	0,067
Insulina (μUI/ml)	7 (2-14)	13 (5-16)	15 (10-22)	0,005
HOMA-IR	1,38 (0,42-2,31)	2,43 (1,08-3,88)	3,32 (2,04-4,5)	0,001

Valores expressos em mediana e intervalo interquartil. Teste de kruskal wallis, para comparação dos resultados entre os grupos estudados. Em negrito, valores considerados estatisticamente significativos $p < 0,05$.

CT: Colesterol total; HDL: lipoproteína de alta densidade; LDL: lipoproteína de baixa densidade. VLDL: lipoproteína de muita baixa densidade. TG: Triglicérides; IAV: índice de adiposidade visceral

A tabela 4 descreve a composição nutricional da dieta dos participantes. Não foram observadas diferenças significativas na dieta entre os grupos.

Tabela 4. Composição nutricional da dieta de acordo com IMC

	EUT (7)	SOB (12)	OB (16)	p-valor
Calorias (Kcal)	1451 (1171-1759)	1203 (940-1692)	1254 (1081-1888)	0,665
Proteínas % do VET	25 (20-35)	29 (19-36)	27 (14-33)	0,890
Carboidratos (g)	151 (140-189)	167 (93-205)	151 (140-217)	0,939
Gorduras % do VET	25 (19-35)	26 (15-33)	27 (17-38)	0,789
Fibra alimentar (g)	22 (12-27)	12 (7-21)	12 (8-22)	0,285
Açúcares % do VET	2,9 (1,8-6,8)	11 (5-17)	11 (3-22)	0,083
Potássio (mg)	1571 (1069-2319)	1171 (866-1635)	1182 (848-1369)	0,237
Sódio (mg)	1117 (441-2916)	1107 (809-2838)	1552 (1185-2538)	0,471
Colesterol (mg)	188 (139-223)	203 (132-295)	303 (95-475)	0,680
Gordura Sat % do VET	7 (5-10)	10 (5-13)	8 (5-15)	0,611
Gordura MI (g)	6,2 (2,7-17,5)	9 (2,3-16)	6 (2-20)	0,975
Gordura PI (g)	2,6 (1,4-4,8)	2,2 (0,7-4,3)	2,2 (1,1-4,8)	0,843
Gordura trans (g)	0,32 (0,01-0,79)	0,1 (0-0,78)	0,25 (0-2,2)	0,530

Valores expressos em mediana e intervalo interquartil. Para as variáveis não paramétricas foi realizado o teste de kruskal wallis, para comparação dos resultados entre os grupos estudados. Em negrito, valores considerados estatisticamente significativos $p < 0,05$.

A tabela 5 descreve o consumo de adoçantes artificiais. O percentual de indivíduos que relataram consumir adoçantes foi de 42%.

Tabela 5. Descrição do consumo de adoçantes artificiais.

Indivíduos que consomem adoçantes artificiais	42% (45)
Por qual motivo começou a usar adoçantes?	
Para perder peso	43,2% (19)
Acredita ser mais saudável que o açúcar	34,1% (15)
Por recomendação ou influência de outra pessoa	18,2% (8)
História de DM na família	4,5% (2)
Quantidade ingerida	
Média de gotas/sachê por dia	10 ± 14,25
Mediana de gotas/sachê por dia	6
Esguicham o adoçante	11,36% (5)
Utiliza produtos diet?	
Sim	41% (18)
Não	59% (26)

Valores expressos em média ± desvio padrão ou frequência.

Na tabela 6 foram descritas as características sociodemográficas dos ObMS e dos ObMNS. ObMNS possuem maior percentual de indivíduos sem companheiro e ObMS maior percentual de bebedores sociais, sendo a diferença entre os grupos significativa. Para as demais características não foram observadas diferenças significativas. ObMNS apresentaram maior percentual de indivíduos com dislipidemia e DCV. Indivíduos tabagistas só foram observados no grupo de ObMS.

Tabela 6 - Características sociodemográficas de ObMS e ObMNS

Variáveis	ObMS (19)	ObMNS (26)	p valor
	% (n)	% (n)	
Idade (anos)	41,31 ± 10,53	40,85 ± 10,69	*0,089
Sexo			**0,376
Masculino	15,8% (3)	26,9% (7)	
Feminino	84,2% (16)	73,1% (19)	
Cor da pele – não brancos	63,2% (12)	69,2% (18)	**0,867

Estado civil - sem companheiro	21,1% (4)	53,8% (14)	**0,033
Escolaridade ≥ 12anos	89,5% (17)	76,9% (20)	**0,277
Moradia – Própria	63,2% (12)	61,5% (16)	**0,949
HAS	26,3% (5)	26,9% (7)	**0,619
Dislipidemia	0	3,8% (1)	**0,578
DVC	0	3,8% (1)	**0,578
Bebedores sociais	63,2% (12)	23,1% (6)	**0,008
Tabagistas	10,5% (2)	0	**0,226
Nível de atividade física			**0,341
Muito ativo ou ativo	31,6% (6)	19,2% (5)	
Sedentário ou irregularmente ativo	68,4% (13)	80,8% (21)	
Renda per capita			**0,223
0 < SM ≤ 1	43,8% (7)	48% (12)	
1 < SM ≤ 2	43,8% (7)	20% (5)	
2 < SM	12,6% (2)	32% (8)	

Valores expressos em média ± desvio padrão ou frequência (n). *Para as variáveis com distribuição normal, realizou-se o teste T para amostras independentes para comparações entre grupos. **Teste Qui-quadrado χ^2 para variáveis categóricas. SM=salário mínimo R\$998,00.

Os dados de composição corporal e PA dos voluntários obesos estão descritos na tabela 7. O IMC médio foi de 34,34 kg/m² para o grupo ObMS e 39,89 kg/m² para o grupo ObMNS. Foi observada diferença estatística significativa entre os grupos somente para as variáveis IMC, PC, RCest.

Tabela 7. Composição corporal e pressão arterial de ObMS e ObMNS

Variáveis	ObMS (19)	ObMNS (26)	p valor
Massa corporal (Kg)	90,44 ± 10,90	108,27 ± 27,74	*0,005
IMC (Kg/m²)	34,14 (31,63-36,29)	36,4 (33,65-46,41)	**0,046
PC (cm)	100 (86-105)	106 (96,5-127,2)	**0,030
PP (cm)	36 (35-38,2)	38,7 (36,37-43,25)	**0,088
PQ (cm)	118 (110,9-122)	123 (113,35-132,5)	**0,100

RCest	0,6 (0,53-0,64)	0,65 (0,59-0,74)	**0,018
RCQ	0,84 (0,77-0,89)	0,87 (0,78-0,92)	**0,223
Gordura %	38,361 ± 6,31	40,15 ± 5,97	*0,354
PAS (mmHg)	120 (115-130)	120 (120-130)	**0,839
PAD (mmHg)	80 (70-80)	80 (70-80)	**0,616

Valores expressos em média ± desvio padrão ou mediana e intervalo interquartil. *Para as variáveis com distribuição normal, realizou-se o teste T para amostras independentes para comparações entre grupos. **Para as variáveis não paramétricas o teste de Mann-Whitney, para comparação dos resultados entre os grupos estudados. Em negrito, valores considerados estatisticamente significativos p <0,05.

MC: massa corporal; IMC: índice de massa corporal; PC: Perímetro da cintura; PP: Perímetro do pescoço; RCest: razão cintura/estatura; RCQ: razão cintura/quadril; PAS: pressão arterial sistólica; PAD: pressão arterial diastólica.

O perfil lipídico e glicídico dos grupos de obesos estão descritos nas tabelas 8. Apesar de ObMNS apresentarem médias maiores para todos os parâmetros, foi observada diferença estatística significativa somente para insulina e HOMA-IR.

Tabela 8. Perfil lipídico e glicídico de obesos saudáveis e não saudáveis

Variáveis	ObMS (19)	ObMNS (26)	p valor
CT (mg/dL)	199 (178-213)	209 (193,5-236,25)	0,115
LDL (mg/dL)	115 (87-130)	132,5 (105,5-149,5)	0,089
HDL (mg/dL)	59 (48-63)	52,5 (48,75-62,25)	0,589
VLDL (mg/dL)	23 (16-32)	24,5 (18,5-32)	0,468
TG (mg/dL)	127,26 ± 68,01	121,5 (92,5-162)	0,428
ICAST 1	3,47 (3,26-4,03)	3,87 (3,46-4,28)	0,093
ICAST 2	1,9 (1,42-2,27)	2,21 (1,33-2,65)	0,183
Glicose (mg/dL)	80 (75-88)	90 (78,5-96,5)	0,053
Insulina (µUI/ml)	8 (5-13)	19 (16-27)	0,000
HOMA-IR	1,55 (0,88-2,4)	4,16 (3,41-6,74)	0,000

Valores expressos em média ± desvio padrão ou mediana e intervalo interquartil. *Para as variáveis com distribuição normal, realizou-se o teste T para amostras independentes para comparações entre grupos. **Para as variáveis não paramétricas o teste de Mann-Whitney, para comparação dos resultados entre os grupos estudados. Em negrito, valores considerados estatisticamente significativos p <0,05.

CT: Colesterol total; HDL: lipoproteína de alta densidade; LDL: lipoproteína de baixa densidade. VLDL: lipoproteína de muita baixa densidade. TG: Triglicerídeos; IAV: índice de adiposidade visceral

8 DISCUSSÃO

Na avaliação da composição nutricional da dieta de indivíduos eutróficos, com sobrepeso e obesos, a partir do registro alimentar de 3 dias, não foram observadas diferenças significativas entre os grupos. Ao investigar a ingestão de nutrientes e a inadequação da ingestão de micronutrientes em indivíduos com peso adequado e com excesso de peso, (ARAUJO et al., 2019) também encontrou poucas diferenças na ingestão de acordo com o status do peso, sugerindo que o desenvolvimento da obesidade entre adultos brasileiros, pode não ser afetado pela ingestão inadequada de nutrientes. No presente estudo, a mediana de ingestão calórica foi maior entre os eutróficos que entre os obesos. Os indivíduos no geral apresentaram elevada ingestão proteica (mediana de 26 a 29%) e adequado consumo de gorduras totais (< 30%), segundo recomendações da WHO (2003) para manutenção da saúde e prevenção de doenças crônicas não transmissíveis. A ingestão de fibras estava abaixo das recomendações da WHO (2003) e da SBC (2017), principalmente entre indivíduos com sobrepeso e obesos. Uma dieta rica em fibras (> 25g) está associada à um menor risco de doenças crônicas não transmissíveis, como DVC, DM e obesidade (VERONESE et al., 2018). Com relação a ingestão de açúcar, indivíduos com sobrepeso e obesos apresentaram mediana de ingestão acima da recomendação da OMS (2015), de limitar a ingestão de açúcares a menos de 10% da ingestão calórica total. Siri-Tarino et al. (2010) concluíram que o consumo elevado de açúcar de adição aumenta o risco de DCV, independente de outros componentes da dieta e do peso corporal. O consumo de gordura saturada (mediana de 7% a 10% do VET) e o consumo de sódio (mediana de 1107 a 1505 mg), estava de acordo com as recomendações da SBC (2017, 2019) em todos os grupos estudados.

Em nossa população de estudo observamos uma prevalência de 42% de consumidores de adoçantes, semelhante a prevalência encontrada no estudo de Tavares (2013) (44,1%). Assim como no estudo de (PIENIZ et al., 2007) e Zanini e col. (2011), a maioria dos indivíduos referiram consumir adoçantes para perder peso. Já Geraldo verificou que a maior motivação para o consumo foi o desejo de não engordar. Observa-se que todos os estudos têm a comum a preocupação com o peso, o que demonstra a convicção dos consumidores, de que esses produtos auxiliam no controle das calorias ingeridas. O consumo de ultraprocessados cresce

exponencialmente entre brasileiros, ao mesmo tempo em que ocorre uma redução significativa no consumo dos alimentos in natura ou minimamente processados (MARTINS et al. 2013; MONTEIRO et al. 2013). Estudos mostraram (DE DEUS MENDONÇA et al., 2017; HALL et al., 2019; MENDONÇA et al., 2016) que o consumo de alimentos ultraprocessados foi associado a um risco maior de sobrepeso, obesidade e hipertensão.

Uma revisão sistemática com meta-análise baseada em estimativas de 40 estudos, mostrou que um terço da população obesa era metabolicamente saudável (LIN et al., 2017). A prevalência de ObMNS no presente estudo foi de 58%, enquanto de ObMS foi 42%, semelhante ao encontrado em outros estudos epidemiológicos e clínicos que sugerem que a prevalência de indivíduos com OMS possa variar entre 10 e 40% (PRIMEAU et al., 2010). SCORSATTO et al., (2018), no entanto, encontraram prevalência de 75,7% em sua população de estudo, enquanto WANG et al., (2015) relataram prevalência de 7,27%. A diferenças de prevalência entre os estudos podem ser atribuídas a idade, etnia, tamanho da amostra, fatores ambientais e genéticos e definição inconsistente de saúde metabólica.

De Castro Pimentel et al., 2015 encontraram diferenças significativas em quase todos os aspectos antropométricos ao comparar indivíduos ObMS e indivíduos ObMNS, com ObMS apresentando menores valores de Massa corporal, IMC, circunferência do pescoço e cintura, razão cintura-quadril (RCQ) e percentual de gordura. Os autores observaram ainda diferenças significativas nos níveis de glicose, insulina, HOMA-IR, triglicerídeos e VLDL.

Outros estudos também mostraram que indivíduos com ObMS apresentam um perfil lipídico no sangue mais favorável, com níveis mais baixos de triglicerídeos e HDL, em comparação com indivíduos ObMNS. Os resultados da pressão arterial em indivíduos com ObMS são menos consistentes (PRIMEAU et al., 2010). Esses achados não foram confirmados no presente estudo, onde foram observadas diferenças significativas apenas na circunferência da cintura (95,37 vs 110,49) e na relação cintura-estatura (0,58 vs 0,67), com valores menores no grupo de ObMS. Scorsatto et al. (2018) verificaram que a circunferência da cintura foi eficiente para na identificação de mulheres ObMS com o ponto de corte de 108,2 cm. Berezina et al. (2015) também concluíram que o fenótipo ObMS estava associado com menor circunferência da cintura. Hamer et al. (2015) acompanharam 2.422 homens e mulheres durante mais de 8 anos como parte do *English Longitudinal Study of Ageing* e enfatizaram que o progresso para um estado metabólico não saudável estava associado com um aumento significativo na circunferência da

cintura. Quando consideramos os indivíduos obesos, como regra, todos apresentam valores de CC superiores aos pontos de corte propostos pela IDF e pelo NCEP-ATP III.

Com relação aos dados bioquímicos, nossa população não apresentou diferenças significativas no perfil lipídico dos grupos e na glicemia de jejum, mas sim nos níveis de insulina e HOMA-IR. Hwang et al. (2015b) também não observaram diferenças nos níveis de glicose no plasma em jejum e na pressão arterial entre os dois grupos. No entanto, verificaram que indivíduos com futura conversão para ObMNS apresentaram níveis significativamente mais baixos de colesterol HDL e triglicerídeos, além de maior resistência à insulina, em comparação com indivíduos nos quais a ObMS persistiu durante o acompanhamento.

A ausência de diferenças no nível de atividade física e na ingestão diária de energia e composição de macronutrientes entre os dois grupos, sugerem que a ingestão e gasto de energia não são os principais determinantes para a conversão em um fenótipo metabolicamente prejudicial em indivíduos com ObMS, assim como observado por (HWANG et al., 2015b) em seu estudo.

9 LIMITAÇÕES

O tamanho da amostra, foi pequena e os participantes não eram representativos para a população-alvo.

A complexidade e elevado custo das análises de sequenciamento genético não permitiram uma investigação mais profunda e precisa acerca da composição da microbiota intestinal nos diferentes grupos de indivíduos.

10 CONCLUSÃO

A ingestão energética, de macronutrientes e fibras e a atividade física não foram capazes de explicar sozinhos o estado nutricional da população estudada. Podemos supor que outros fatores, além dos hormonais e psicológicos podem levar ao quadro de obesidade e justificar as diferenças metabólicas neste grupo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALLAIN, C. C. et al. Enzymatic Determination of Total Serum Cholesterol. **Clin. Chem.**, v. 20, n. 4, p. 470–475, 1974.
- ARAÚJO, M. C. et al. Are there differences in nutrient intake of Brazilian adults according to weight status? **Ciencia e Saude Coletiva**, v. 24, n. 7, p. 2411–2418, 2019.
- ARON-WISNEWSKY, J.; CLÉMENT, K. The gut microbiome, diet, and links to cardiometabolic and chronic disorders. **Nature Reviews Nephrology**, v. 12, n. 3, p. 169–181, 2016.
- ARUMUGAM, M. et al. Enterotypes of the human gut microbiome. **Nature**, v. 473, n. 12, p. 174–180, 2011.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA PARA O ESTUDO DA OBESIDADE E DA SÍNDROME METABÓLICA. Diretrizes brasileiras de obesidade 2016. **VI Diretrizes Brasileiras de Obesidade**, v. 4 edição, p. 7–186, 2016.
- BÄCKHED, F. et al. The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 101, n. 44, p. 15718–23, 2004.
- BÄCKHED, F. et al. Mechanisms underlying the resistance to diet-induced obesity in germ-free mice. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 104, n. 3, p. 979–984, 2007.
- BEREZINA, A. et al. Prevalence, Risk Factors, and Genetic Traits in Metabolically Healthy and Unhealthy Obese Individuals. **BioMed Research International**, v. 2015, p. 1–9, 2015.
- BRAHE, L. K. et al. Specific gut microbiota features and metabolic markers in postmenopausal women with obesity. **Nutrition and Diabetes**, v. 5, n. 6, p. e159-7, 2015.
- CALEYACHETTY, R. et al. Metabolically Healthy Obese and Incident Cardiovascular Disease Events Among 3.5 Million Men and Women. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 70, n. 12, p. 1429–1437, 2017.
- CALORI, G. et al. Prevalence, Metabolic features, and prognosis of metabolically healthy obese italian individuals: The cremona study. **Diabetes Care**, v. 34, n. 1, p. 210–215, 2011.
- CANELLA, D. S. et al. Ultra-processed food products and obesity in Brazilian households (2008-2009). **PLoS ONE**, v. 9, n. 3, p. 1–6, 2014.
- CANI, P. D. et al. Microbial regulation of organismal energy homeostasis. **Nature Metabolism**, v. 1, n. 1, p. 34–46, 2019.
- CAPORASO JG, KUCZYNSKI J, STOMBAUGH J, BITTINGER K, BUSHMAN FD, COSTELLO EK, FIERER N, GONZALEZ-PEÑA A, GOODRICH JK, G. J. ET AL. (2010) . 7:

335–336. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. **Nature methods**, v. 7, n. 5, p. 335–336, 2010.

CASTELLI, W. P.; ABBOTT, R. D.; MCNAMARA, P. M. Summary estimates of cholesterol used to predict coronary heart disease. **Circulation**, v. 67, n. 4, p. 730–734, 1983.

CHU, D. M. et al. The early infant gut microbiome varies in association with a maternal high-fat diet. **Genome Medicine**, v. 8, n. 1, p. 77, 2016a.

CHU, D. M. et al. Impact of maternal nutrition in pregnancy and lactation on offspring gut microbial composition and function. **Gut Microbes**, v. 7, n. 6, p. 459–470, 2016b.

CLARKE, S. F. et al. Exercise and associated dietary extremes impact on gut microbial diversity. **Gut**, v. 63, n. 12, p. 1913–1920, 2014.

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

DE DEUS MENDONÇA, R. et al. Ultra-processed food consumption and the incidence of hypertension in a mediterranean cohort: The seguimiento universidad de navarra project. **American Journal of Hypertension**, v. 30, n. 4, p. 358–366, 2017.

DELZENNE, N. M.; CANI, P. D. Interaction Between Obesity and the Gut Microbiota: Relevance in Nutrition. **Annual Review of Nutrition**, v. 31, n. 1, p. 15–31, 2011.

DESANTIS, T. Z. et al. Greengenes, a chimera-checked 16S rRNA gene database and workbench compatible with ARB. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 72, n. 7, p. 5069–5072, 2006.

ECKEL, N. et al. Transition from metabolic healthy to unhealthy phenotypes and association with cardiovascular disease risk across BMI categories in 90 257 women (the Nurses' Health Study): 30 year follow-up from a prospective cohort study. **The Lancet Diabetes and Endocrinology**, v. 6, n. 9, p. 714–724, 2018.

EDGAR, R. C. MUSCLE: Multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. **Nucleic Acids Research**, v. 32, n. 5, p. 1792–1797, 2004.

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

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

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

GABRIEL PORTO SOARES, CARLOS HENRIQUE KLEIN, NELSON ALBUQUERQUE DE

- SOUZA E SILVA, G. M. M. DE O. Evolução da Mortalidade por Doenças do Aparelho Circulatório e do Produto Interno Bruto per Capita nos Municípios do Estado do Rio de Janeiro. **International Journal of Cardiovascular Sciences**, v. 31, p. 123–132, 2018.
- GERALDO, A. P. G.; PINTO-E-SILVA, M. E. M. Nonnutritive sweeteners in Brazil: Current use and associated factors. **Journal of Human Growth and Development**, v. 26, n. 3, p. 297–306, 2016.
- GIBSON, R. S. **Principles of Nutritional Assessment by Rosalind S. Gibson**. [s.l: s.n.]. v. 5
- GO, A. S. et al. **Heart Disease and Stroke Statistics - 2014 Update: A report from the American Heart Association**. [s.l: s.n.]. v. 129
- HAAS, B. J. et al. Chimeric 16S rRNA sequence formation and detection in Sanger and 454-pyrosequenced PCR amplicons. **Genome Research**, v. 21, n. 3, p. 494–504, 2011.
- HALL, K. D. et al. Ultra-Processed Diets Cause Excess Calorie Intake and Weight Gain: An Inpatient Randomized Controlled Trial of Ad Libitum Food Intake. **Cell metabolism**, v. 30, n. 1, p. 67–77, 2019.
- HAMER, M. et al. Stability of metabolically healthy obesity over 8 years: The English Longitudinal Study of Ageing. **European Journal of Endocrinology**, v. 173, n. 5, p. 703–708, 2015.
- HANSEN, T. H. et al. The gut microbiome in cardio-metabolic health. **Genome Medicine**, v. 7, n. 33, p. 1–16, 2015.
- HARRIS, K. et al. Is the gut microbiota a new factor contributing to obesity and its metabolic disorders? **Journal of Obesity**, v. 2012, n. 782920, p. 1–14, 2012.
- HAUN, D. R.; PITANGA, F. J. G.; LESSA, I. Razão cintura/estatura comparado a outros indicadores antropométricos de obesidade como preditor de risco coronariano elevado. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 55, n. 6, p. 705–711, 2009.
- HEIANZA, Y. et al. Gut microbiota metabolites and risk of major adverse cardiovascular disease events and death: A systematic review and meta-analysis of prospective studies. **Journal of the American Heart Association**, v. 6, n. 7, p. pii: e004947, 2017.
- HWANG, I. et al. Alteration of gut microbiota by vancomycin and bacitracin improves insulin resistance via glucagon-like peptide 1 in diet-induced obesity. **FASEB Journal**, v. 29, n. 6, p. 2397–2411, 2015a.
- HWANG, Y. C. et al. Visceral abdominal fat accumulation predicts the conversion of metabolically healthy obese subjects to an unhealthy phenotype. **International Journal of Obesity**, v. 39, n. 9, p. 1365–1370, 2015b.
- IDF. **IDF Worldwide Definition of the Metabolic Syndrome | International Diabetes Federation Epidemiology and Prevention**, 2005. Disponível em: <<http://www.idf.org/metabolic->

syndrome>

- JARDIM, P. C. B. V. Overweight, the Cardiovascular Risk of the Century. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 113, n. 2, p. 185–187, 2019.
- KANAS, A. F. et al. The use of artificial sweeteners: does it really contribute to weight loss? **Rev Med**, v. 92, n. 1, p. 1–12, 2013.
- KNIGHT, R. Dietary effects on human gut microbiome diversity. **The British journal of nutrition**, v. 113, p. S1–S5, 2015.
- KOETH, R. A et al. NIH Public Access. **Nat med**, v. 19, n. 5, p. 576–585, 2013.
- LANG, J. M.; EISEN, J. A.; ZIVKOVIC, A. M. The microbes we eat: abundance and taxonomy of microbes consumed in a day's worth of meals for three diet types. **PeerJ**, v. 2, n. e659, p. 2–39, 2014.
- LE CHATELIER, E. et al. Richness of human gut microbiome correlates with metabolic markers. **Nature**, v. 500, n. 7464, p. 541–546, 2013.
- LI, H. et al. Metabolically healthy obese phenotype and risk of cardiovascular disease: Results from the China Health and Retirement Longitudinal Study. **Archives of Gerontology and Geriatrics**, v. 82, n. 10, p. 1–7, 2019.
- LI, X. S. et al. Gutmicrobiota-dependent trimethylamine N-oxide in acute coronary syndromes: A prognostic marker for incident cardiovascular events beyond traditional risk factors. **European Heart Journal**, v. 38, n. 11, p. 814–824, 2017.
- LIN, H. et al. The prevalence, metabolic risk and effects of lifestyle intervention for metabolically healthy obesity: A systematic review and meta-analysis. **Medicine (United States)**, v. 96, n. 47, 2017.
- LOBACH, A. R.; ROBERTS, A.; ROWLAND, I. R. Assessing the in vivo data on low/no-calorie sweeteners and the gut microbiota. **Food and Chemical Toxicology**, v. 124, p. 385–399, 2019.
- LOPEZ-LEGARREA, P. et al. The influence of Mediterranean, carbohydrate and high protein diets on gut microbiota composition in the treatment of obesity and associated inflammatory state. **Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition**, v. 23, n. 3, p. 360–368, 2014.
- LOUZADA, M. L. DA C. et al. Alimentos ultraprocessados e perfil nutricional da dieta no Brasil Ultra-processed foods and the nutritional dietary profile in Brazil. **Rev Saúde Pública**, v. 49, n. 38, p. 1–11, 2015.
- MAGOČ, T.; SALZBERG, S. L. FLASH: Fast length adjustment of short reads to improve genome assemblies. **Bioinformatics**, v. 27, n. 21, p. 2957–2963, 2011.
- MALTA, D. C. et al. Mortalidade por doenças crônicas não transmissíveis no Brasil e suas regiões, 2000 a 2011. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 23, n. 4, p. 599–608, 2014.

- MALTA, D. C. et al. Mortality due to noncommunicable diseases in Brazil, 1990 to 2015, according to estimates from the Global Burden of Disease study. **Sao Paulo Medical Journal**, v. 135, n. 3, p. 213–221, 2017.
- MANSUR, A. DE P.; FAVARATO, D. Trends in Mortality Rate from Cardiovascular Disease in Brazil, 1980-2012. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 107, n. 1, p. 20–25, 2016a.
- MANSUR, A. DE P.; FAVARATO, D. Mortality due to cardiovascular diseases in women and men in the five Brazilian regions, 1980-2012. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 107, n. 2, p. 137–146, 2016b.
- MARINHO, F.; PASSOS, V. M. DE A.; FRANÇA, E. B. Novo século, novos desafios: mudança no perfil da carga de doença no Brasil de 1990 a 2010. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 25, n. 4, p. 713–724, 2016.
- MARTINS, A. P. B. et al. Increased contribution of ultra-processed food products in the Brazilian diet (1987-2009). **Revista de Saude Publica**, v. 47, n. 4, p. 656–665, 2013.
- MATSUDO, S. et al. Questionario internacional de atividade fisica (IPAQ): estudo de validade e reprodutibilidade no brasil. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 6, n. 2, p. 6–18, 2001.
- MENDIS S, PUSKA P, N. Global atlas on cardiovascular disease prevention and control. **World Health Organization**, p. 2–14, 2011.
- MENDONÇA, R. DE D. et al. Ultraprocessed food consumption and risk of overweight and obesity: the University of Navarra Follow-Up (SUN) cohort study. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 104, p. 1433–1440, 2016.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Guia Alimentar para a População Brasileira Guia Alimentar para a População Brasileira**. [s.l: s.n.].
- MINISTÉRIO DA SAÚDE, B. **Vigitel Brasil 2018. Vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico: estimativas sobre frequência e distribuição sociodemográfica de fatores de risco e proteção para doenças crônicas nas capitais dos 26 estados br**. [s.l: s.n.].
- MONGRAW-CHAFFIN, M. et al. Metabolically Healthy Obesity, Metabolic Syndrome, and Cardiovascular Risk. **J Am Coll Cardiol**, v. 71, n. 17, p. 1857–1865, 2018.
- MONTEIRO, C. A. et al. The un Decade of Nutrition, the NOVA food classification and the trouble with ultra-processing. **Public Health Nutrition**, v. 21, n. 1, p. 5–17, 2017.
- MORAES, A. C. F. DE et al. Microbiota intestinal e risco cardiometabólico: mecanismos e modulação dietética. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 58, n. 4, p. 317–327, 2014.
- MORENO-INDIAS, I. et al. Impact of the gut microbiota on the development of obesity and type

2 diabetes mellitus. **Gut microbiota and obesity**, v. 5, n. APR, p. 1–10, 2014.

MOZAFFARIAN, D. et al. Changes in Diet and Lifestyle and Long- Term Weight Gain in Women and Men. **N Engl J Med**, v. 364, p. 2392–404, 2011.

PIENIZ, S. et al. Avaliação do consumo de edulcorantes na cidade de Santa Maria, RS. **Higiene Alimentar**, v. 21, n. 154, p. 34–38, 2007.

PREIS, S. R. et al. Neck circumference as a novel measure of cardiometabolic risk: The framingham heart study. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 95, n. 8, p. 3701–3710, 2010.

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

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

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

ROBERSON, L. L. et al. Beyond BMI: The “Metabolically healthy obese” phenotype & its association with clinical/ subclinical cardiovascular disease and all-cause mortality – a systematic review. **BMC Public Health**, v. 14, p. 1471–2458, 2014.

ROGLER, G.; ROSANO, G. The heart and the gut. **European Heart Journal**, v. 35, n. 7, p. 426–430, 2014.

ROSSONI, E.; GRAEBIN, L. B.; MOURA, R. P. DE. Adoçantes presentes na formulação de refrigerantes, sucos e chás diet e light\rSweeteners present in the formula of diet and light soft drinks, juices and teas. **Rev Fac Odontol P Alegre**, v. 48, n. 1/3, p. 5–11, 2007.

SAAD, M. J. A.; SANTOS, A.; PRADA, P. O. Linking gut microbiota and inflammation to obesity and insulin resistance. **Physiology**, v. 31, n. 4, p. 283–293, 2016.

SBC. IV Diretriz Brasileira Sobre Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 88, p. 1–19, 2007.

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

SBD. **DIRETRIZES DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES 2017-2018**. [s.l.: s.n.].

SCORSATTO, M. et al. Is it possible to easily identify metabolically healthy obese women? **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 111, n. 5, p. 733–737, 2018.

SEO, M. H.; RHEE, E. J. Metabolic and cardiovascular implications of a metabolically healthy obesity phenotype. **Endocrinology and Metabolism**, v. 29, n. 4, p. 427–434, 2014.

SHEFLIN, A. M. et al. Linking dietary patterns with gut microbial composition and function. **Gut Microbes**, v. 8, n. 2, p. 113–129, 2017.

SILVA-JUNIOR, V. L. DA et al. Obesity and gut microbiota - what do we know so far? **Medical Express**, v. 4, n. 4, p. 1–11, 2017.

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

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

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

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

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

SUEZ, J. et al. Artificial sweeteners induce glucose intolerance by altering the gut microbiota. **Nature**, v. 514, n. 7521, p. 181–6, 2014.

SYLVETSKY, A. C. et al. Low-calorie sweetener consumption is increasing in the United States. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 96, n. 3, p. 640–646, 2012.

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

TAVARES, C. F. **FACULDADE DE SAÚDE PÚBLICA Densidade energética da dieta e ingestão energética total segundo consumo de adoçantes e / ou alimentos processados com adoçantes Densidade energética da dieta e ingestão energética total segundo consumo de adoçantes e / ou alim**, 2013.

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

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

WANG, B. et al. Prevalence of Metabolically Healthy Obese and Metabolically Obese but Normal Weight in Adults Worldwide: A Meta-Analysis. **Hormone and Metabolic Research**, v.

47, n. 11, p. 839–845, 2015.

WANG, Q. et al. Naïve Bayesian classifier for rapid assignment of rRNA sequences into the new bacterial taxonomy. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 73, n. 16, p. 5261–5267, 2007.

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

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

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

WHO. **Physical status: the use and interpretation of anthropometry. Report of a WHO Expert Committee. World Health Organization technical report series**, 1995.

WHO. **Obesity: Preventing and Managing the Global Epidemic. Report of a WHO Consultation on Obesity. Geneva**. [s.l: s.n.].

WHO. Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases. **World Health Organization technical report series**, v. 916, p. i-viii-1-149- backcover, 2003.

WHO. on Noncommunicable Diseases. **World Health Organization**, 2014a.

WHO. Global status report on noncommunicable diseases 2014. **World Health**, p. 176, 2014b.

WHO. **Global Report on Diabetes**Isbn, 2016. Disponível em:
<<http://www.who.int/about/licensing/>>

WHO. **Healthy diet fact sheet number 394**, 2018a. Disponível em:
<www.who.int/mediacentre/factsheets/fs394/en/>

WHO. **NONCOMMUNICABLE DISEASES COUNTRY PROFILES 2018**. [s.l: s.n.].

WHO. **Who global report on trends in prevalence of tobacco smoking 2000-2025, second edition**. [s.l: s.n.].

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

ZAMBERLAN, E. C. et al. ANÁLISE DO CONSUMO ALIMENTAR DETERMINADO PELA AQUISIÇÃO DOMICILIAR NO BRASIL. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**, v. 10, n. 1, p. 336–345, 2013.

ZANINI, R. DE V.; ARAÚJO, C. L.; MARTÍNEZ-MESA, J. Utilização de adoçantes dietéticos entre adultos em Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil: um estudo de base populacional. **Cadernos**

de Saúde Pública, v. 27, n. 5, p. 924–934, 2011.

ZHOU, B. et al. Worldwide trends in diabetes since 1980: A pooled analysis of 751 population-based studies with 4.4 million participants. **The Lancet**, v. 387, n. 10027, p. 1513–1530, 2016.

ANEXOS

ANEXO A

APROVAÇÃO DO CEP

LISTA DE PROJETOS DE PESQUISA:									07/07/2018
Tipo	CAAE	Versão	Pesquisador Responsável	Comitê de Ética	Instituição	Origem	Última Apreciação	Situação	Ação
P	89033118.1.0000.5257	2	BIANCA DA SILVA OLIVEIRA	5257 - UFRJ - Hospital Universitário Clementino Fraga Filho da Universidade Federal do Rio de Janeiro / HUCFF- UFRJ		PO	PO	Aprovado	 

ANEXO B

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

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**Associação do consumo habitual de adoçantes artificiais e produtos dietéticos com alterações na microbiota intestinal e fatores de risco cardiovasculares**

Versão 2017

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

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

Para realizar este estudo faremos uma análise das bactérias do seu intestino (microbiota intestinal), através da coleta de uma amostra pequena de fezes. As fezes deverão ser entregues em saco plástico com fecho hemético, que será previamente fornecido pela responsável pela pesquisa. Também pediremos para o Sr. (a) responder alguns questionários contendo perguntas para obtenção de informações gerais (nome, sexo, idade, escolaridade, endereço, telefone de

contato, história familiar de doenças, uso de medicamentos etc.), perguntas sobre sua alimentação e seu estilo de vida. Além disso, avaliaremos sua pressão arterial, peso, estatura, circunferência da cintura, circunferência do quadril, circunferência do pescoço. Coletaremos 5 tubos de sangue (4 mL ou 1 colher de sobremesa cada), após jejum de 12 horas. As amostras de sangue serão armazenadas temporariamente no Laboratório do Centro de Pesquisa e Extensão em Nutrição Clínica do Hospital Universitário Clementino Fraga Filho/HUCFF/UFRJ para avaliar os exames de sangue, como a glicose, colesterol, triglicérides, LDL-colesterol, HDL-colesterol, insulina.

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

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

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

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

Em qualquer etapa do estudo, você terá acesso ao profissional responsável que poderá ser encontrado através do telefone: (21) 994681786 (Priscila dos Santos Gomes Olivares). Se você tiver alguma dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do Hospital Universitário Clementino Fraga Filho/HUCFF/UFRJ – R. Prof. Rodolpho Paulo Rocco, n.º 255 – Cidade Universitária/Ilha do Fundão – sala 01D-46/1º andar –

pelo telefone 3938-2480, de segunda a sexta-feira, das 8 às 16 horas, ou através do e-mail: cep@hucff.ufrj.br. O Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) é o órgão que tem como objetivo defender os interesses dos participantes da pesquisa no Brasil, além de contribuir no desenvolvimento da pesquisa de padrões éticos.

CONSENTIMENTO

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

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

 (Assinatura do (a) participante da pesquisa)

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

 (Assinatura do (a) Pesquisador Responsável)

ANEXO C

QUESTIONÁRIO PARA COLETA DE INFORMAÇÕES GERAIS

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

I. Dados Pessoais

Nome: _____ Código: _____

Endereço: _____

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

Data de nascimento: ____/____/____

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

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

() Tem companheiro(a)

Naturalidade: _____ Nacionalidade: _____

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

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

Renda per capita: _____

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

() outros _____

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

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

Escolaridade:

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

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

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

II. História da Doença Atual

<input type="checkbox"/> Doenças cardiovasculares	Há quanto tempo?
<input type="checkbox"/> Diabetes	Há quanto tempo?
<input type="checkbox"/> HAS	Há quanto tempo?
<input type="checkbox"/> Dislipidemia	Há quanto tempo?

Outros:

III. História Familiar (citar o grau de parentesco)

Obesidade: _____ Hipertensão: _____

Dislipidemia: _____ Diabetes Mellitus 2: _____

Doenças Cardiovasculares: _____

Outras: _____

IV. História Social

Tabagismo: Fuma Não fuma Ex-fumante

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

Se parou, há quanto tempo parou? _____

Etilismo: Bebe Não bebe Ex-etilista Há quanto tempo? _____

Frequência de Consumo? nunca ou menos de 1x/mês 1 a 3x/mês 1x/sem 2 a 4x/sem

1x/dia > 1x/dia. Quantidade de consumo por vez? _____ Tipo de

bebida: _____

V. Anamnese Alimentar

Orientação Prévia Nutricional? Sim Não

Caso positivo, qual o profissional que orientou? _____

Qual objetivo da dieta? _____

Atualmente está fazendo algum tipo de dieta? Sim Não

Apresenta alergia/intolerância a algum alimento? Sim Não

Qual? _____

Apresenta aversão a algum alimento? () Sim () Não

Qual? _____

Como considera seu apetite? () Normal () Reduzido () Aumentado

Alteração da função intestinal () Sim () Não

Frequência das evacuações: _____

Alterações gastrointestinais: () Diarréia () Constipação () Flatulência () Náuseas ()

Vômitos () azia () refluxo () eructação

Quantidade de água ingerida/dia : _____

Usa algum suplemento alimentar: () Sim () Não Qual? _____

Por indicação de algum profissional _____

Qual o consumo mensal de açúcar (tipo) na sua residência? _____

Qual o consumo familiar mensal de óleo/azeite? _____ Qual tipo? _____

Qual o consumo mensal de sal (tipo) na sua residência _____

Usa outros temperos industrializados/ervas? () Sim () Não

Quais _____

VI. Medicações atuais e nos últimos 3 meses:

Medicações	Dose/dia

Se mulher, utiliza contraceptivo: () Sim () Não

Qual? _____

Faz reposição hormonal? () Sim () Não Qual? _____

Alterou a medicação ao longo do estudo? () Sim () Não

Qual? _____

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

IX. Dados Laboratoriais

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

- () Sacarina e Ciclamato () Aspartame () Esteviosídeo () Sucralose () Acesulfame k
 () Não sabe () Outro _____

8. Em qual forma o(a) Sr(a) usa esse adoçante?

- () Líquida → Que cor é a embalagem? () Transparente () Branca
 () Pó → () Lata () Envelope
 () Comprimidos/Tablets

Pense no último dia, que não seja hoje, que o(a) Sr(a) usou adoçante nos líquidos:

9. Durante todo esse dia, quantas vezes o(a) Sr(a) usou adoçante?

- () 1 vez () 2 vezes () 3 vezes () 4 vezes () 5 vezes
 () 6 vezes () 7 vezes () 8 vezes () 9 vezes () 10 vezes

10. Quantos(as) <forma de utilização> o(a) Sr(a) usou em cada vez?

- () 1ª vez () 2ª vez () 3ª vez () 4ª vez () 5ª vez
 () 6ª vez () 7ª vez () 8ª vez () 9ª vez () 10ª vez

11. O(a) Sr(a) utiliza produtos diet/light?

- () Não () Sim

12. Que tipo de produto diet/light o(a) Sr(a) consome?

13. Desde <dia da semana> da semana passada até hoje, em quanto dias o (a) Sr(a) consumiu produtos diets/lights?

- () 1 dia () 2 dias () 3 dias () 4 dias () 5 dias () 6 dias () 7 dias

14. Quantas vezes por dia o(a) Sr(a) consome produtos diets/lights?

- () 1 vez () 2 vezes () 3 vezes () 4 vezes () 5 vezes
 () 6 vezes () 7 vezes () 8 vezes () 9 vezes () 10 vezes

ANEXO E

QUESTIONÁRIO INTERNACIONAL DE ATIVIDADE FÍSICA – VERSÃO CURTA

Nome: _____

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

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

Para responder as questões lembre que:

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

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

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

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

horas: _____ Minutos: _____

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

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

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

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

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

4a. Quanto tempo no total você gasta sentado durante um dia de semana?
_____horas ____minutos

4b. Quanto tempo no total você gasta sentado durante em um dia de final de semana?
_____horas ____minutos

CENTRO COORDENADOR DO IPAQ NO BRASIL– CELAFISCS - INFORMAÇÕES
ANÁLISE, CLASSIFICAÇÃO E COMPARAÇÃO DE RESULTADOS NO BRASIL

Tel-Fax: – 011-42298980 ou 42299643. E-mail: celafiscs@celafiscs.com.br

Home Page: www.celafiscs.com.br IPAQ Internacional: www.ipaq.ki.se

ANEXO F
REGISTRO ALIMENTAR DE 3 DIAS

Nome: _____ Código: _____

Data: ____/____/____ Dia da semana: _____ Foi um dia: () típico () atípico

Acorda: _____ h Dorme: _____ h

DESJEJUM	COLAÇÃO	ALMOÇO
LANCHE	JANTAR	CEIA

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