

UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
FACULDADE DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Carolina Silva Riolino

**Influência da abordagem nutricional e clínica do tratamento da obesidade na relação
Firmicutes e Bacteroidetes da microbiota intestinal em adolescentes**

Juiz de Fora

2024

Carolina Silva Riolino

**Influência da abordagem nutricional e clínica do tratamento da obesidade na relação
Firmicutes e Bacteroidetes da microbiota intestinal em adolescentes**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Juiz de Fora como requisito para o título de mestre.

Orientador: Prof. Dr. Cláudio Galuppo Diniz

Coorientadora: Profa. Dra. Carla Lanna

Juiz de Fora

2024

Ficha catalográfica elaborada através do programa de geração automática da Biblioteca Universitária da UFJF, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Silva Riolino, Carolina.

Influência da abordagem nutricional e clínica do tratamento da obesidade na relação Firmicutes e Bacteroidetes da microbiota intestinal em adolescentes / Carolina Silva Riolino. -- 2024.

49 f.

Orientador: Cláudio Galuppo Diniz

Coorientadora: Carla Lanna

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Instituto de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Imunologia e Genética, 2024.

1. Obesidade. 2. Adolescentes. 3. Nutrição. 4. Microbiota intestinal. 5. Firmicutes/Bacteroidetes. I. Galuppo Diniz, Cláudio, orient. II. Lanna, Carla, coorient. III. Título.

Carolina Silva Riolino

Influência da abordagem nutricional e clínica do tratamento da obesidade na relação Firmicutes e Bacteroidetes da microbiota intestinal em adolescentes

Dissertação
apresentada ao
Programa de Pós-
graduação em
Ciências Biológicas
da Universidade
Federal de Juiz de
Fora como requisito
parcial à obtenção do
título de Mestre em
Ciências Biológicas.
Área de
concentração: Imunologia
& Doenças
Infectoparasitárias.

Aprovada em 30 de setembro de 2024.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Cláudio Galuppo Diniz - Orientador

Universidade Federal de Juiz de Fora

Profª. Drª. Alessandra Barbosa Ferreira Machado

Universidade Federal de Juiz de Fora

Drª. Thais Oliveira de Paula

Universidade Federal de Viçosa

Juiz de Fora, 23/09/2024.



Documento assinado eletronicamente por **Claudio Galuppo Diniz, Professor(a)**, em 03/10/2024, às 21:42, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Alessandra Barbosa Ferreira Machado, Professor(a)**, em 04/10/2024, às 10:30, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Thais Oliveira de Paula, Usuário Externo**, em 08/10/2024, às 10:09, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no Portal do SEI-Uffj (www2.uffj.br/SEI) através do ícone Conferência de Documentos, informando o código verificador **1997251** e o código CRC **738AD0AA**.

RESUMO

A obesidade é um problema multifatorial cada vez mais prevalente nos dias de hoje, especialmente em indivíduos de menor idade devido a características específicas desse grupo. Esse problema de saúde tem como origem um desequilíbrio entre a ingestão e gasto calórico, porém também é influenciado por diversos fatores, como a predisposição genética, resistência a insulina, variáveis comportamentais, nutricionais, bioquímicas, sociais e até mesmo, como sugerem alguns estudos, pela composição microbiológica dos indivíduos. Esses estudos apontam que a microbiota intestinal é intimamente conectada com a saúde de seus hospedeiros, afetando diversos processos biológicos, neurológicos, inflamatórios e patogênicos. Sendo indentificado que os filos Firmicutes e Bacteroidetes e a medida da razão entre eles pode ser relevante e estar correlacionada com a prevalência dessa comorbidade. Com o auxílio de exames bioquímicos e levantamento de dados comportamentais e nutricionais, o acompanhamento nutricional adequado surge como uma alternativa ao tratamento desta comorbidade. Uma abordagem eficaz pode evitar deficiências nutricionais, excessos alimentares, além de incentivar o consumo de uma dieta variada, com diferentes grupos de alimentos frescos e minimamente processados, promovendo hábitos alimentares e comportamentais, melhorando assim vários indicadores associados a obesidade. Este estudo avaliou o impacto do acompanhamento nutricional nos indicadores clínicos para controle da obesidade de pacientes adolescentes e correlação com alterações na microbiota pela medida da relação Firmicutes e Bacteroidetes no metagenoma fecal. De 35 indivíduos na amostra, 11 voluntários concluíram todas as etapas do estudo longitudinal com 6 meses de duração. Os dados colhidos por meio do acompanhamento clínico e laboratorial apontam que apesar da melhora na média do IMC (de 31,7 para 29,6) e na qualidade da alimentação, com alterações relevantes no aumento da ingestão de carboidratos (50,6% para 55,7%) e redução na ingestão de lipídeos (de 25,9% para 20,6%) não houve alterações significativas na maioria dos indicadores clínicos, sendo destacada apenas uma alteração no índice de HOMA Beta que teve sua média reduzida de 413,2 para 286,6 durante o período analisado o que parece refletir na melhora da secreção da insulina pelo pâncreas. A variação da média dos valores da relação Firmicutes/Bacteroidetes entre as avaliações foi discreta, mas relevante, de 3,02 para 1,89. Por meio de uma análise de correspondência múltipla, foi possível notar que embora a alteração global na microbiota e o quantitativo de ingestão calórica não tenham seguido um padrão de agrupamento, todos os outros parâmetros se correlacionaram positivamente com a evolução dos participantes no período avaliado, porém a relação Firmicutes/Bacteroidetes apresentou pouca influência ou relevância no desfecho clínico dos participantes o que sugere que a estrutura global da microbiota do trato gastrointestinal pela medida a razão Firmicutes/Bacteroidetes não foi um marcador adequado, neste estudo, para medir, relacionar ou estratificar o sucesso clínico dos participantes, se comparado com outros marcadores bioquímicos ou nutricionais. Esses resultados podem auxiliar no tratamento da obesidade em indivíduos com menor idade, porém também evidenciam que o desenvolvimento de novos trabalhos com esse perfil dos participantes necessita ser mais explorado, visto que há características bioquímicas, microbiológicas, sociais e antropométricas específicas para essa população.

Palavras-chave: obesidade; adolescentes; nutrição; microbiota intestinal; Firmicutes; Bacteroidetes

ABSTRACT

Obesity is a multifactorial problem that is increasingly prevalent today, particularly among younger individuals due to specific characteristics of this group. This health issue originates from an imbalance between calorie intake and expenditure, but is also influenced by various factors such as genetic predisposition, insulin resistance, behavioral, nutritional, biochemical, social variables, and, as some studies suggest, the microbiological composition of individuals. These studies indicate that the gut microbiota is closely connected with the health of its hosts, affecting various biological, neurological, inflammatory, and pathogenic processes. It has been identified that the Firmicutes and Bacteroidetes phyla and the ratio between them may be relevant and correlated with the prevalence of this comorbidity. With the aid of biochemical tests and the collection of behavioral and nutritional data, appropriate nutritional follow-up emerges as an alternative for treating this comorbidity. An effective approach can prevent nutritional deficiencies and excessive food intake, as well as encourage a varied diet with different groups of fresh and minimally processed foods, promoting healthy eating habits and behaviors, thereby improving several indicators associated with obesity. This study assessed the impact of nutritional follow-up on clinical indicators for obesity control in adolescent patients and the correlation with changes in microbiota through the measurement of the Firmicutes/Bacteroidetes ratio in fecal metagenome. Out of 35 individuals in the sample, 12 completed all stages of the 6-month longitudinal study. Data collected from clinical and laboratory follow-ups indicate that despite improvements in the average BMI (from 31.7 to 29.6) and diet quality, with significant changes in carbohydrate intake (from 50.6% to 55.7%) and reduction in lipid intake (from 25.9% to 20.6%), there were no significant changes in most clinical indicators, with only a notable reduction in the HOMA Beta index from 413.2 to 286.6 during the analyzed period, reflecting improved insulin secretion by the pancreas. The variation in the average Firmicutes/Bacteroidetes ratio between assessments was small but relevant, from 3.02 to 1.89. Through multiple correspondence analysis, it was noted that although the global change in microbiota and calorie intake did not follow a clustering pattern, all other parameters correlated positively with participant progress during the study period. However, the Firmicutes/Bacteroidetes ratio had little influence or relevance on the clinical outcome, suggesting that this microbiota ratio was not an adequate marker for measuring, relating, or stratifying clinical success in this study compared to other biochemical or nutritional markers. These findings may assist in treating obesity in younger individuals but also highlight that further research with this participant profile needs to be more thoroughly explored, given the specific biochemical, microbiological, social, and anthropometric characteristics of this population.

Keywords: obesity; adolescents; nutrition; gut microbiota; Firmicutes; Bacteroidetes

Sumário

1 INTRODUÇÃO	5
2 REVISÃO DE LITERATURA	7
2.1 Obesidade.....	7
2.2 Abordagens clínicas e nutricionais para o tratamento da obesidade	8
2.3 Marcadores Bioquímicos.....	12
2.4 Microbiota Intestinal	14
2.4.1 Microbiota intestinal humana.....	14
2.4.2 Microbiota intestinal na saúde e nas doenças com foco na obesidade	15
3 OBJETIVOS	19
Objetivo geral.....	19
Objetivos específicos	19
4 MATERIAIS E MÉTODOS	20
4.1 Delineamento experimental.....	20
4.2 Seleção dos voluntários, coleta de amostras e consultas nutricionais e clínicas	21
4.3 Extração de DNA das amostras fecais	23
4.4 Avaliação da abundância relativa de Firmicutes e Bacteroidetes e determinação da relação Firmicutes/Bacteroidetes	23
4.5 Análise estatística.....	24
5 RESULTADOS.....	26
5.1 Características sociocomportamentais e epidemiológicas.....	26
5.2 Parâmetros Clínicos, Nutricionais e antropométricos	27
5.3 Avaliação da relação Firmicutes/Bacteroidetes	29
5.4 Correlação entre estrutura global da microbiota do trato gastrintestinal pela medida a razão Firmicutes/Bacteroidetes e as características clínicas e nutricionais.	31
6 DISCUSSÃO	33
7 CONCLUSÃO	38
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	39
ANEXO A	43
ANEXO B	44
ANEXO C	45
ANEXO D	46
ANEXO E	47

1 INTRODUÇÃO

A obesidade é um problema cada vez mais prevalente nos dias de hoje, com estimativas que sugerem que mais da metade da população mundial será afetada por essa condição até 2035. Sendo que, entre a população de menor idade, crianças e adolescentes, também é observada essa mesma tendência de aumento, com uma expectativa de que até 20% desse grupo seja afetado.

Esse problema de saúde tem como origem um desequilíbrio entre a ingestão e gasto calórico, porém, por ser multifatorial, é influenciado por diversos fatores, como a predisposição genética, resistência à insulina, variáveis comportamentais, nutricionais, bioquímicas, sociais e até mesmo, como sugerem alguns estudos, pela composição microbiológica dos indivíduos.

Estudos recentes apontam que a microbiota intestinal é intimamente conectada com a saúde de seus hospedeiros, afetando diversos processos biológicos, neurológicos, inflamatórios e patogênicos. Sendo identificado que os filos Firmicutes e Bacteroidetes e a medida da razão entre eles pode ser relevante e estar correlacionada com a prevalência da obesidade nos indivíduos.

É relevante destacar que a compreensão e tratamento de tal condição mostram-se especialmente necessários em indivíduos entre 10 e 20 anos, eis que nessa etapa da vida diversos dos fatores relevantes para a obesidade estão em constante mudança, muitas vezes não dependem apenas desse grupo e podem levar a uma permanência da ou ao agravamento de tal condição nas fases adultas do ciclo de vida desses sujeitos.

Nesse contexto, com o auxílio de exames bioquímicos e levantamento de dados comportamentais e nutricionais, o acompanhamento nutricional adequado surge como uma alternativa ao tratamento desta comorbidade. Uma abordagem eficaz pode evitar deficiências nutricionais, excessos alimentares, além de incentivar o consumo de uma dieta variada, com diferentes grupos de alimentos frescos e minimamente processados, promovendo hábitos alimentares e comportamentais, melhorando assim vários indicadores associados a obesidade.

Diante disso, como forma de auxiliar o tratamento e entender melhor a relação da microbiota intestinal com essa doença, este trabalho busca avaliar o impacto do acompanhamento nutricional nos indicadores clínicos para controle da obesidade de

pacientes adolescentes e correlação com alterações na microbiota pela medida da relação Firmicutes e Bacteroidetes no metagenoma fecal.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Obesidade

A obesidade é um problema de saúde complexo e multifatorial que se manifesta através do acúmulo desregulado ou excessivo de gordura no corpo. Ela surge devido a um desequilíbrio entre a quantidade de energia consumida e gasta, juntamente com uma predisposição genética para o ganho de peso (SCUDIERO et al., 2019).

Recentemente, têm sido considerados fatores na abordagem da etiologia multifatorial da diabetes, uma vez que a alteração da relação entre os filos Bacteroidetes e Firmicutes tem sido associada ao aumento da permeabilidade intestinal. Essa permeabilidade intestinal aumentada permite a passagem de subprodutos bacterianos através da barreira intestinal, desencadeando respostas inflamatórias subsequentes que são características do diabetes (SCHEITHAUER et al., 2020).

De acordo com Atlas Mundial da Obesidade, publicado em 2023, todos os países apresentam uma grande população de indivíduos que convivem com a obesidade e estima-se que em 2035 mais de 4 milhões de pessoas podem ser afetadas, o que corresponde aumentar de 38% da população mundial em 2020 para mais de 50% em 2035. Pensando no público de menor idade, prevê-se que o aumento da incidência de obesidade seja mais significativo entre crianças e adolescentes, com a proporção de meninos obesos no mundo passando de 10% para 20% no período de 2020 a 2035, enquanto o número de meninas obesas aumentará de 8% para 18% (OMS, 2023).

A classificação da obesidade em adultos é tradicionalmente realizada por meio do Índice de Massa Corporal (IMC), no entanto, seu uso em crianças e adolescentes não é apropriado. Para o diagnóstico de crianças e adolescentes são adotadas curvas de IMC desenvolvidas pela Organização Mundial da Saúde em 2007 (ANEXO A) que incluem lactentes e até os 19 anos de idade e consideram os pontos de corte para sobrepeso e obesidade os percentis entre 85 e 97. Também são utilizadas curvas em score z para IMC. Elas são divididas entre gêneros e idades, sendo de 0 até 5 anos e de 5 a 19 anos.

Crianças com obesidade têm uma probabilidade de mais de 50% de se tornarem adultos obesos, enquanto crianças não obesas têm uma probabilidade de cerca de 10% de desenvolver condições comuns em adultos obesos, como diabetes tipo 2, dislipidemia e

hipertensão, e precisam enfrentar desafios psicossociais e emocionais (SCUDIERO et al., 2019).

É conhecido que o tecido adiposo desempenha um papel fundamental no armazenamento de energia e em atividades hormonais. Ele é composto por vários tipos de células, incluindo pré-adipócitos, adipócitos, células endoteliais e células do sistema imunológico. Nos últimos anos, tem havido uma crescente compreensão de que as comorbidades em pacientes obesos estão associadas à resposta inflamatória do tecido adiposo branco, que é considerado um órgão metabolicamente ativo com função endócrina (LUTKEMEYER et al., 2018).

2.2 Abordagens clínicas e nutricionais para o tratamento da obesidade

A obesidade é amplamente reconhecida como o principal fator de risco para uma variedade de doenças crônicas não transmissíveis, incluindo doenças cardiovasculares, diabetes tipo 2, hipertensão, doença arterial coronariana e certos tipos de câncer. Além dessas condições físicas, a obesidade também está associada a uma série de problemas psicológicos e deficiências funcionais, o que reforça a importância de um tratamento efetivo e abrangente para essa condição (CHAO; QUIGLEY; WADDEN, 2021).

O tratamento da obesidade está intrinsecamente ligado à redução do peso corporal e pode ser abordado por meio de diversas estratégias de perda de peso, incluindo intervenções no estilo de vida. Embora o exercício físico desempenhe um papel fundamental em qualquer abordagem eficaz de perda de peso, estudos têm demonstrado efeitos adicionais significativos quando combinado com uma dieta de restrição calórica. Nesse sentido, diferentes tipos de dieta, como aquelas com baixo teor de gordura, baixo teor de carboidratos ou seguindo o padrão alimentar mediterrâneo, têm sido utilizadas para alcançar esse objetivo. Essas abordagens dietéticas têm demonstrado benefícios na promoção da perda de peso e melhora dos fatores de risco associados à obesidade (LEITNER et al., 2017).

De acordo com Simonson et al. (2020), dietas com alto teor de proteínas têm despertado interesse no manejo da obesidade devido às propriedades da proteína dietética. Estudos demonstraram que a ingestão de proteínas pode promover a saciedade, reduzindo a sensação de fome e auxiliando no controle do apetite. Além disso, a digestão e o metabolismo das proteínas demandam maior gasto energético, o que pode contribuir para um maior dispêndio calórico ao longo do dia. Além desses efeitos, dietas ricas em proteínas

também podem favorecer a mudança da composição corporal, estimulando o aumento da massa magra em detrimento do tecido adiposo. Esses achados sugerem que as dietas com alto teor de proteínas podem desempenhar um papel relevante no manejo da obesidade, fornecendo benefícios adicionais além da simples restrição calórica.

Um déficit energético diário de 500-750 kcal pode ser prescrito com base em estimativas de gasto energético. Essas recomendações incluem uma distribuição de macronutrientes que varia entre 45% a 65% de carboidratos, 20% a 35% de gordura (sendo menos de 10% de gordura saturada) e 10% a 35% de proteína. Essa abordagem visa fornecer os nutrientes necessários para uma dieta saudável, enquanto se alcança o déficit calórico necessário para promover a perda de peso (CHAO; QUIGLEY; WADDEN, 2021).

A obesidade na infância tem sido associada ao fenômeno conhecido como "rastreamento" ou "tracking", que indica a tendência de a obesidade persistir ao longo da vida, desde a infância até a idade adulta. Especificamente, a presença de obesidade durante a puberdade aumenta o risco de desenvolver obesidade na idade adulta. Existe uma forte associação entre o *status* de obesidade durante a puberdade e a presença de obesidade na vida adulta. Esse fenômeno ressalta a importância de abordagens preventivas e intervencionistas precoces para lidar com a obesidade na infância, a fim de reduzir os riscos associados e promover uma saúde ótima ao longo da vida adulta (SHINODA et al., 2023).

De acordo com as diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes (2023), é necessário fazer rastreamento de jovens e crianças que apresentam sobrepeso ou obesidade, assim como, os eutróficos, mas que apresentam fatores de risco, como histórico familiar de obesidade e diabetes. A Diretriz reforça que é preciso sempre considerar fatores clínicos e interferentes laboratoriais na interpretação dos resultados dos exames solicitados para diagnóstico de Diabetes Mellitus tipo 2 e pré-diabetes, principalmente os de glicemia em jejum.

Ainda conforme a diretriz, é recomendado adotar uma abordagem de restrição calórica combinada com a prática regular de atividade física para promover a perda de peso e reduzir o risco de desenvolver diabetes tipo 2. Além disso, é aconselhado o consumo adequado de fibras, com uma ingestão diária entre 25 a 30g, a redução do consumo de bebidas açucaradas (naturais ou adicionadas) e uma dieta balanceada, que inclua restrição de carboidratos simples ou refinados de rápida absorção. Em indivíduos com função renal preservada, recomenda-se o consumo de proteínas entre 15% a 20% do valor energético total diário, podendo variar entre 1 a 1,5g/kg/dia. Programas estruturados, como grupos de

mudança de estilo de vida e educação nutricional, são fortemente recomendados para melhorar a adesão, promover a redução de peso e alcançar um melhor controle glicêmico em indivíduos com diabetes tipo 2 e pré-diabetes (Diagnóstico do diabetes e rastreamento do diabetes tipo 2, 2021).

Foi observada uma associação entre níveis elevados de colesterol e o índice de massa corporal (IMC), sendo que crianças com obesidade apresentaram mais que o dobro de risco de hipercolesterolemia em comparação às não obesas. As consequências do colesterol elevado, quando combinadas com outros fatores de risco, representam um problema global de saúde pública. Do ponto de vista clínico, a vigilância e a detecção precoce dos fatores de risco associados à hipercolesterolemia são essenciais para a implementação de ações preventivas, destacando-se a importância do combate à obesidade infantil (CORONELLI; MOURA, 2003).

Os hábitos alimentares têm sido objeto de diversos estudos com o objetivo de avaliar qualitativa e quantitativamente a dieta humana, bem como observar a relação entre a ingestão de nutrientes e o desenvolvimento de morbidades. A identificação precoce de práticas alimentares inadequadas desperta o interesse de pesquisadores, estudantes e familiares para a implementação de programas de educação alimentar. Esses programas visam adotar medidas corretivas, com foco especial em crianças e adolescentes, a fim de promover uma alimentação adequada de acordo com suas necessidades individuais, contribuindo assim para a prevenção de determinadas doenças (FILHO; HOLANDA, 2006).

Cavalcante e colaboradores (2004) certificam que a avaliação do consumo alimentar desempenha um papel crítico tanto na pesquisa em nutrição e saúde quanto no desenvolvimento de programas voltados para essas áreas. No entanto, para realizar essa avaliação de forma precisa, são necessários métodos apropriados para estimar o consumo de alimentos e nutrientes em diferentes grupos populacionais. Os métodos dietéticos visam coletar informações sobre a dieta e podem ser classificados em qualitativos e quantitativos. Essa classificação se define em duas categorias: métodos que registram o consumo atual de alimentos, como pesagem de alimentos, registro alimentar e recordatório de 24 horas, e métodos que recordam o consumo passado de alimentos, como histórico dietético e questionários de consumo alimentar. A escolha do método a ser utilizado deve se basear nos objetivos da pesquisa ou no tipo de estudo, levando em consideração também os recursos disponíveis. Além disso, é fundamental selecionar instrumentos de avaliação do consumo

que sejam validados, tenham boa reprodutibilidade e representem de forma precisa a dieta do indivíduo em questão.

O método do Recordatório de 24 horas (R24h) consiste em obter informações escritas ou verbais sobre a ingestão alimentar das últimas 24 horas, incluindo dados sobre os alimentos consumidos e informações sobre o peso ou tamanho das porções. Para auxiliar nesse processo, o profissional pode utilizar recursos como álbuns de fotografias, modelos tridimensionais de alimentos ou medidas caseiras. É importante que o indivíduo descreva detalhadamente o tipo de alimento consumido, bem como o tamanho e volume da porção. Essa forma de quantificação pode ser realizada usando unidades específicas, como uma fatia, uma banana média, uma bala ou um pacote de biscoitos. No contexto brasileiro, tem havido avanços significativos nesse método, com o desenvolvimento de *softwares*, tabelas de medidas caseiras, álbuns fotográficos que apresentam diferentes formas de porcionamento e marcas comerciais de alimentos comuns. Uma das vantagens do R24h é a sua aplicação rápida e o período de recordação imediato, o que favorece a participação do indivíduo. Além disso, esse método não requer que o indivíduo seja alfabetizado e, desde que as informações sejam coletadas após o consumo, tende a ter menos impacto no comportamento alimentar (FISBERG; MARCHIONI; COLUCCI, 2009; FILHO; HOLANDA, 2006; MARCHIONI; SLATER; FISBERG, 2004).

De acordo com a definição da OMS, a adolescência é uma fase da vida que abrange a faixa etária dos 10 aos 20 anos, caracterizada por transformações físicas, psicológicas e comportamentais intensas. No contexto nutricional, os adolescentes representam um grupo de alto risco devido ao estilo de vida e ao consumo elevado de energia e gordura, principalmente por meio de lanches. O consumo excessivo de lanches não apenas afeta a ingestão diária de macronutrientes, mas também de vitaminas e minerais. A frequência diária de consumo de lanches é uma preocupação, pois está diretamente relacionada à qualidade da dieta e ao aumento da prevalência de obesidade (Sociedade Brasileira de Pediatria, 2012).

As recomendações para adolescentes, de acordo com o manual de orientação do departamento de nutrição da Sociedade Brasileira de Pediatria (2012, p.61), são:

1. Dar preferência a uma dieta variada, que inclua todos os grupos alimentares, conforme preconizado na pirâmide de alimentos, evitando-se o consumo de refrigerantes, balas e outras guloseimas.
2. Priorizar o consumo de carboidratos complexos em detrimento dos simples (não ultrapassar 25% do valor calórico total diário).

3. O consumo de frutas, verduras e legumes deve ser diário e variado (> 5 porções/ dia); a quantidade de sucos naturais, quando oferecidos, não deve ultrapassar o máximo de 240 mL/dia.
4. O consumo de gorduras saturadas deve ser restrito (30% do valor energético total): <2% de gorduras trans (para profilaxia de aterosclerose na vida adulta), 10% de monoinsaturadas, <300 mg de colesterol e 10% de poli-insaturadas (n-6:n-3; 5 a 10:1)
5. Estimular o consumo de peixes marinhos duas vezes por semana
6. A ingestão de sal deve ser controlada (< 5 g/dia) para prevenção de hipertensão arterial
7. O consumo de cálcio deve ser apropriado (cerca de 1300mg/dia) para permitir a formação adequada da massa óssea e a prevenção da osteoporose na vida adulta.
8. Orientar o adolescente e a família sobre a importância de ler e interpretar corretamente o rótulo dos alimentos industrializados.
9. Avaliar a presença de fatores de risco de distúrbios nutricionais: fumo, poucas horas de sono, ingestão de álcool e energéticos.
10. Incentivar o consumo de alimentos ricos em zinco e ferro
11. Reduzir o consumo de refrigerantes e sucos artificiais.
12. Estimular a prática de atividade física.

Uma abordagem eficaz para evitar deficiências nutricionais e excessos alimentares é incentivar o consumo de uma dieta variada, que contenha porções adequadas de cada grupo alimentar principal, de acordo com a rotina alimentar da família. A inclusão de alimentos de diferentes grupos, como cereais integrais, frutas, legumes, proteínas magras e laticínios, proporciona uma ampla gama de nutrientes essenciais para o organismo. Além disso, é importante estar atento à qualidade dos alimentos, dando preferência aos alimentos frescos, minimamente processados e evitando o consumo excessivo de alimentos ultra processados. Promover hábitos alimentares saudáveis desde a infância e envolver toda a família no planejamento e preparação das refeições são estratégias importantes para estabelecer uma alimentação equilibrada e sustentável ao longo da vida (BRASIL, 2014).

2.3 Marcadores Bioquímicos

Existe uma forte relação entre valores de exames bioquímicos e obesidade, devido ao impacto da obesidade em doenças metabólicas, cardiovasculares e inflamatórias. Os exames associados com exames de imagens e/ou físicos podem ser cruciais no diagnóstico ou na prevenção de doenças (EVIA-VISCARRA, 2019).

A obesidade, é um fator de risco significativo para o desenvolvimento da resistência à insulina, que precede o diabetes tipo 2. A resistência à insulina ocorre quando as células

do corpo, dos músculos, fígado e tecido adiposo, não respondem adequadamente à insulina, levando a um aumento compensatório na secreção de insulina pelo pâncreas (ROSSO, 2017). De acordo com a Sociedade Brasileira de Diabetes, os exames que envolvem o controle e diagnóstico da diabetes são: Glicemia em jejum, insulina em jejum, índice HOMA Ir e hemoglobina glicada. O índice de HOMA Beta também é utilizado para controle da doença e tem como finalidade avaliar a resistência à insulina. O HOMA Ir por sua vez, avalia a atividade pancreática.

A dislipidemia também está associada com a obesidade e é caracterizada por altos níveis de triglicerídeos, colesterol, baixo HDL e níveis elevados de partículas pequenas e densas de LDL que são mais aterogênicas (SMITH, et al, 2019).

Outros marcadores usados no tratamento da obesidade são os marcadores inflamatórios como a Proteína C-Reativa (PCR), que indicam inflamações e risco cardiovascular elevado. Citocinas Inflamatórias: IL-6 (Interleucina-6) e TNF- α (Fator de Necrose Tumoral alfa) que são liberados pelo tecido adiposo e estão diretamente envolvidos na resistência à insulina. Adipocinas: Leptina e adiponectina que são hormônios derivados do tecido adiposo que afetam diretamente o metabolismo da glicose e dos lipídios (ROSSO et al, 2017).

Uma revisão literária realizada por Hoq e colaboradores (2020) demonstra a dificuldade em encontrar valores de referências padronizados para pacientes pediátricos, o que dificulta o diagnóstico e desfecho clínico. Em outra análise sistemática, Tahmasebi et al (2017) destaca que os valores de referência devem ser compostos de uma população de indivíduos que sejam representativos da população local, já que idade, sexo e etnia podem interferir nos resultados laboratoriais, portanto, essa definição se torna desafiadora. O estudo destaca ainda que a variação do IMC de acordo com a idade, os valores de referência tendem a mudar, portanto é importante ter valores de subpopulações para que possa diminuir a chance de erros.

A Sociedade Brasileira de Pediatria, através do departamento científico de Nutrologia reuniu dados de referência para exames laboratoriais em um manual de obesidade na infância e adolescência (2019) e aborda as principais doenças e desfechos clínicos encontrados nessa faixa etária. Os valores de referências estão esquematizados em um quadro, de acordo com exame e faixa etária (ANEXO B).

2.4 Microbiota Intestinal

2.4.1 Microbiota intestinal humana

O trato gastrointestinal humano é um dos ecossistemas microbianos mais densamente povoados já documentados, abrigando uma grande variedade de microrganismos, como bactérias, fungos e vírus. A microbiota intestinal humana exibe uma diversidade significativa de microrganismos, demonstrando resiliência e estabilidade em termos de sua estrutura. Ela é capaz de se recuperar para o seu estado inicial após intervenções de curto prazo e estabelece uma relação simbiótica fundamental com o seu hospedeiro e pode ser descrita como um “órgão virtual” (RINNINELLA et al., 2019; MCGUINNESS et al., 2022).

A composição da microbiota intestinal e os fatores que influenciam sua estabilidade são distintos entre bebês e adultos. Nos bebês, o estabelecimento da microbiota intestinal é um processo em constante mudança. Acredita-se que a primeira colonização da microbiota intestinal ocorra durante o nascimento (Geng et al., 2020). Entretanto, nesse estudo, Geng e colaboradores (2020) constataram que bactérias estão presentes na placenta humana, sugerindo que a transmissão de bactérias residentes da mãe para o filho pode ocorrer durante a gestação. Nos recém-nascidos, o microbioma e a microbiota intestinal é composto principalmente por bactérias como *Enterococcus*, *Escherichia/Shigella*, *Streptococcus* e *Rothia*. À medida que os bebês crescem, o microbioma intestinal entre 1 e 6 meses de idade é caracterizado pela colonização de *Bifidobacterium* e *Collinsella* e à medida que atingem 12 meses de idade, a especiação da microbiota intestinal se assemelha mais à dos adultos. No entanto, a microbiota não é totalmente estabelecida até pelo menos 2 anos de idade, e só alcança a complexidade da microbiota adulta aos 3 anos de idade.

Rinniela e colaboradores (2019) constataram que a idade gestacional no momento do nascimento é um fator crucial que influencia a colonização do microbioma intestinal. A composição da microbiota em bebês nascidos prematuramente, com menos de 37 semanas, difere daquela em bebês nascidos a termo. Isso ocorre devido aos desafios enfrentados na colonização da microbiota de bebês prematuros, devido à imaturidade dos órgãos e a fatores ambientais, como o uso de antimicrobianos, internação hospitalar e alimentação enteral.

O método de parto pode influenciar as diferenças na composição da microbiota intestinal em bebês, e essas diferenças podem persistir por pelo menos 6 meses após o nascimento. Por exemplo, após o parto vaginal, observou-se um enriquecimento de

Bacteroides na microbiota intestinal de bebês entre 3 e 6 meses de idade. Por outro lado, espécies como *Hungatella* foram mais abundantes em bebês nascidos por cesariana. A alimentação é outro fator crucial que pode determinar a diversidade da colonização microbiana intestinal. Enquanto a amamentação favorece o desenvolvimento de microbiomas saudáveis nos bebês, a alimentação com fórmula pode resultar em uma maior diversificação dos microbiomas. Além disso, a administração de antimicrobianos pode causar alterações rápidas na diversidade da composição da microbiota intestinal, reduzindo os níveis de bactérias benéficas em um curto período de tempo. Mudanças dietéticas, como a introdução de alimentos complementares, também têm potencial para afetar a diversidade da composição microbiana intestinal (MANCO et al., 2010).

A diversidade da microbiota aumenta com a idade até alcançar uma composição estável de microbiota adulta, na qual três filos bacterianos predominam: Firmicutes, Bacteroidetes e Actinobacteria, sendo as duas primeiras mais dominantes. Essa configuração é o resultado da maturação da microbiota, influenciada por fatores como genética, ambiente, dieta, estilo de vida e fisiologia intestinal. A interação complexa desses elementos molda o desenvolvimento da microbiota ao longo do tempo, culminando em uma comunidade microbiana diversificada e equilibrada na fase adulta (GENG et al., 2020).

2.4.2 Microbiota intestinal na saúde e nas doenças com foco na obesidade

A microbiota intestinal tem uma importante conexão com a saúde de seus hospedeiros como funções metabólicas: fermentações de amido resistente, celulose, hemiceluloses, polissacarídeos sem amido, pectinas e gomas que são considerados carboidratos não digeríveis, transformados em energia. Também é possível extrair energia dos oligossacarídeos e álcoois de açúcar. E também participam da fermentação dos ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), como acetato, propionato e butirato. A microbiota também atua na conversão de compostos nitrogenados endógenos e dietéticos em amônia e proteína microbiana, além da absorção de sal e água e na proteólise de aminoácidos para formar ácidos graxos de cadeia ramificada. São responsáveis pela síntese de vitaminas B e K, além da decomposição de lipídeos complexos e colesterol. Atuam no metabolismo de xenobióticos e tem uma grande importância como barreira protetora, que impossibilita a penetração de microorganismos patogênicos para a corrente sanguínea do hospedeiro (MANCO et al., 2010).

Uma área de pesquisa promissora é o estudo do eixo microbiota-intestino-cérebro, que descreve a comunicação bidirecional entre a microbiota intestinal - o ecossistema de trilhões de bactérias, vírus, archaea e fungos - e o sistema nervoso central do hospedeiro. Acredita-se que essa via de sinalização bioquímica, também conhecida como eixo intestino-cérebro, tenha influência sobre o funcionamento cognitivo e o humor por meio de mecanismos neurais, metabólicos, hormonais e imunológicos. A microbiota intestinal desempenha um papel fundamental dentro desse eixo: diferentes espécies bacterianas regulam a produção de neurotransmissores e seus precursores (como serotonina, GABA e triptofano), podem secretar e regular proteínas e metabólitos essenciais envolvidos na liberação de neuropeptídeos e hormônios intestinais, como o *Faecalibacterium prausnitzii* e o *Clostridium leptum*, bem como o fator neurotrófico derivado do cérebro. Além disso, as vias nervosas aferentes vagais e espinhais mediam a comunicação neural entre os microrganismos intestinais e o sistema nervoso central, e a microbiota intestinal modula a sinalização imunológica do intestino para o cérebro, por meio da indução de citocinas (SIMPSON et al., 2021).

Nas últimas décadas, foi observado que a presença de inflamação crônica de baixo grau, também conhecida como metainflamação, desempenha um papel significativo no desenvolvimento da resistência à insulina e progressão para diabetes tipo 2 (DM2). Essa metainflamação tem sido associada a alterações na ação e secreção da insulina. Estudos indicam que a microbiota intestinal pode ser um importante mediador da metainflamação observada na obesidade e DM2, condições que também estão associadas a alterações na composição da microbiota intestinal (SCHEITHAUER et al., 2020; IATCU; STEEN; COVASA, 2021; NAGPAL et al., 2016).

A inflamação de baixo grau está amplamente relacionada a distúrbios nas vias metabólicas de glicose, como observado em indivíduos com obesidade e DM2. Citocinas diversas estão aumentadas na circulação de pessoas com síndrome metabólica e exercem efeitos negativos no metabolismo dos tecidos periféricos. O tecido adiposo foi identificado como um dos primeiros tecidos em que a inflamação foi fortemente correlacionada com a resistência à insulina (SCHEITHAUER et al., 2020).

Em um estudo observacional realizado por Letchumanan e colaboradores (2022), observou-se uma forte ligação entre alterações na composição da microbiota intestinal e diversos distúrbios metabólicos, incluindo diabetes. Vários mecanismos moleculares microbianos têm sido propostos como contribuintes para o desenvolvimento e a progressão

do diabetes tipo 2. Em um outro estudo foi identificado que a quantidade de Bacteroidetes foi acentuadamente menor em crianças obesas do que em crianças com peso normal, resultando em uma relação Firmicutes e Bacteroidetes reduzida.

Numerosos estudos têm demonstrado uma relação significativa entre alterações no perfil da microbiota intestinal e o desenvolvimento de diabetes. Especificamente, a alteração da relação do filo Firmicutes e Bacteroidetes tem sido associada ao aumento da permeabilidade intestinal, permitindo a passagem de subprodutos bacterianos através da barreira intestinal e desencadeando respostas inflamatórias características do diabetes. Por outro lado, certas bactérias têm sido identificadas como protetoras, reduzindo o risco de desenvolvimento de diabetes ao diminuir marcadores pró-inflamatórios e preservar a integridade da barreira intestinal. Estudos revelaram que *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus plantarum* e *Lactobacillus casei*, *Roseburia intestinalis*, *Akkermansia muciniphila* e *Bacteroides fragilis* estão associados a melhora dos parâmetros do metabolismo da glicose, ao aumentar a sensibilidade à insulina e supressão citocinas pró-inflamatórias (IATCU; STEEN; COVASA, 2021)

A obesidade é um desafio significativo para a saúde pública e afeta várias faixas etárias. No entanto, é durante a infância e adolescência que ela assume um papel especialmente importante, devido à complexidade do tratamento, à alta probabilidade de persistir na idade adulta e à associação com outras doenças crônicas não transmissíveis que podem surgir precocemente. Um ambiente obesogênico refere-se a um conjunto de fatores que têm sido associados ao aumento do risco de desenvolver obesidade. Isso inclui aspectos como a exposição excessiva a propagandas que promovem alimentos não saudáveis, o estímulo ao consumo de alimentos "fast food" e a disponibilidade fácil de alimentos calóricos nas prateleiras dos supermercados. Esses fatores contribuem para a criação de um ambiente que facilita a escolha de alimentos pouco saudáveis e promove o consumo excessivo de calorias (FISBERG et al., 2016).

Além disso, a influência familiar desempenha um papel crucial no desenvolvimento da obesidade entre crianças e adolescentes. Os hábitos alimentares e comportamentos relacionados à alimentação dentro da família podem ter um impacto significativo no ganho de peso. Se os membros da família têm hábitos pouco saudáveis, como a ingestão frequente de alimentos ultra processados, a tendência de consumo inadequado pode ser transmitida às crianças e adolescentes (ALVES et al, 2023).

De acordo com a literatura, sugere-se que a microbiota de crianças obesas apresenta

uma proporção mais elevada de Firmicutes em relação aos Bacteroidetes, em comparação com a microbiota de crianças eutróficas (Rinninella et al., 2019). Além disso, foram observadas proporções relativas baixas de *Bifidobacterium vulgatus* e altas concentrações de *Lactobacillus* spp. na microbiota obesa. Borgo et al. (2017) confirmaram que a obesidade está associada a níveis elevados de Firmicutes, como Ruminococcaceae, e níveis reduzidos de Bacteroidetes, como Bacteroidaceae e Bacteroides. Os ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) foram encontrados em maior quantidade em crianças obesas, sugerindo uma maior utilização de substratos. Esses achados indicam que a alteração da microbiota intestinal pode contribuir para a fisiopatologia da obesidade, e o aumento da proporção de Firmicutes para Bacteroidetes está associado a uma maior produção de ácidos graxos de cadeia curta e captação de energia proveniente da fermentação bacteriana.

Do exposto, considerando-se a inter-relação entre microbiota e desequilíbrio como componentes da etiologia multifatorial da obesidade, especialmente em crianças, foi proposto um estudo multidisciplinar longitudinal que buscava que adolescentes obesos que fossem admitidos em ambulatório de obesidade na Universidade Federal de Juiz de Fora e submetidos a tratamento nutricional e endócrino sob supervisão de equipe que envolve médico endocrinologias e nutricionista acompanhados por 6 meses.

3 OBJETIVOS

Objetivo geral

Avaliar o impacto do acompanhamento nutricional nos indicadores clínicos para controle da obesidade de participantes adolescentes e correlação com os resultados obtidos da microbiota pela medida da relação Firmicutes e Bacteroidetes no metagenoma fecal.

Objetivos específicos

Identificar o estado nutricional de adolescentes com diagnóstico clínico de obesidade atendidos em intervalos de 6 meses;

Avaliar e comparar exames bioquímicos pré e pós-tratamento nutricional e clínico;

Identificar e avaliar resistência à insulina e propor tratamento clínico e nutricional.

Avaliar, aspectos da relação entre a estrutura global da microbiota do trato gastrintestinal dos participantes pela medida a razão Firmicutes/Bacteroidetes nos momentos de abordagem clínica e nutricional.

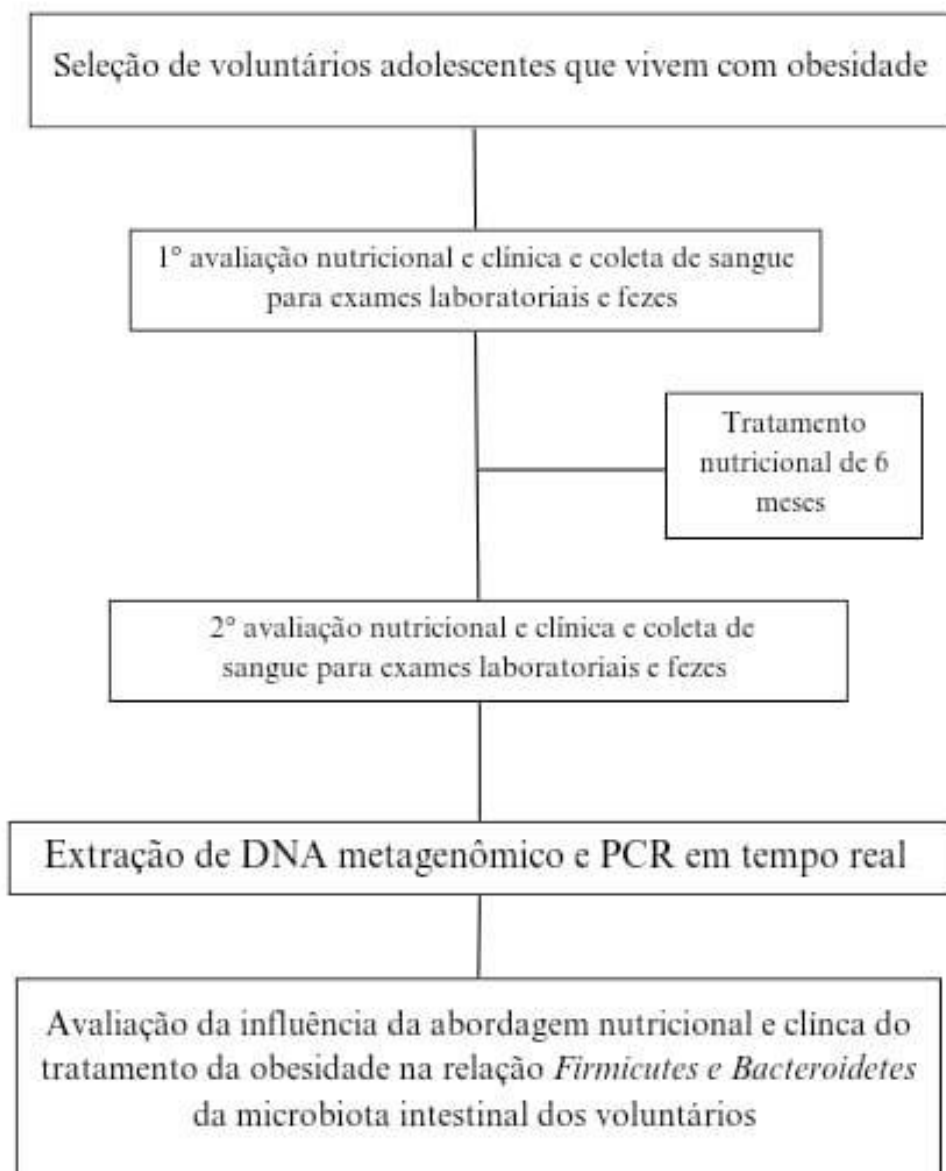
4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Delineamento experimental

Este é um estudo prospectivo, longitudinal e de intervenção, para o qual jovens com diagnóstico clínico de obesidade foram abordados em dois momentos distintos, no Ambulatório de Obesidade da Fundação IMEPEN sob coordenação da professora doutora Carla Lanna, médica endocrinologista do Departamento de Fisiologia e Biofísica do Instituto de Ciências Biológicas da UFJF. Na primeira abordagem (primeira consulta), foram convidados a participar desse estudo crianças e jovens que buscaram o serviço médico para tratamento de obesidade. Desses pacientes, foram coletados dados sociodemográficos, clínico-epidemiológicos e nutricionais. A partir da avaliação médica foi proposta uma abordagem não farmacológica, experimental, para controle da obesidade, que consistiu em prescrição nutricional.

Na segunda consulta, seis meses após a prescrição nutricional, esses pacientes foram novamente avaliados quanto aos parâmetros, clínicos e nutricionais. Os dados foram tabulados para avaliação de hábitos nutricionais, que foram relacionados ao controle da obesidade. Nos dois momentos de abordagem dos pacientes, foi solicitada coleta de espécimes fecais para estudo comparativo da composição da microbiota intestinal pela determinação da abundância relativa de grupos bacterianos indicadores para estabelecimento da razão Firmicutes/Bacteroidetes. A alteração na composição global da microbiota intestinal nas diferentes amostras fecais foi relacionada com os dados clínico-epidemiológicos e nutricionais. Em conjunto, essas características foram relacionadas ao controle da obesidade por abordagem não farmacológica.

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Estudos em Seres Humanos da Universidade Federal de Juiz de Fora, CEP com parecer 001/2010, CAAE: 0001.0.180.000-10. Os participantes ou seus responsáveis legais assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (ANEXO C), de acordo com a resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde.



Fluxograma 01. Delineamento experimental do protocolo de estudo envolvendo as etapas clínicas e laboratoriais. Em cinza, etapas desenvolvidas dentro do projeto de Mestrado. A etapa de abordagem das participantes foi realizada na clínica de Nutrição e a etapa laboratorial no Centro de Estudos em Microbiologia do ICB/UFJF.

4.2 Seleção dos voluntários, coleta de amostras e consultas nutricionais e clínicas

Foram recrutados voluntários, no período de setembro de 2021 a maio de 2023, na comunidade de Juiz de Fora. Para a seleção dos voluntários foram usados os seguintes critérios de inclusão, além da assinatura do TCLE: idade de 6 a 30 anos (ANEXO C); IMC classificado como sobrepeso ou obesidade. Critérios de não inclusão: obesidade secundária

a endocrinopatias e/ou doenças crônicas, uso de glicocorticoides e hormônios.

Dessa forma, foram selecionados 35 indivíduos que prosseguiram para as consultas nas quais foram colhidas informações clínicas e antropométricas, foram orientados sobre as condutas de forma individual e encaminhados para a coleta de espécimes de sangue e fecal. Dos indivíduos selecionados, concluíram as etapas do estudo 12 voluntários de idade de 12 a 19 anos e que estavam dentro do critério de inclusão.

Durante a consulta, foi realizada anamnese a fim de identificar a história pregressa e hábitos dos voluntários e de suas famílias. Além disso, foram colhidas informações como o recordatório de 24 horas (ANEXO D) para, a partir dele, orientar quanto a dieta e recomendações nutricional (ANEXO E). No exame físico foram aferidos o peso e altura, ambos em balança digital com estadiômetro acoplado calibrados rotineiramente. Para a aferição do peso, o indivíduo foi colocado em posição central, ereto, usando o mínimo de roupas possível, descalço e com os pés juntos. Com o voluntário na mesma posição e olhando para o horizonte, utilizando um estadiômetro vertical acoplado à balança, foi aferida a altura.

Para os exames bioquímicos, foram coletadas amostras sanguíneas pelo laboratório Neolab, localizado no município de Juiz de Fora – MG. Os voluntários foram orientados a comparecer ao laboratório estando em jejum de 12 horas. Foram avaliados exames de glicemia, insulina, colesterol total, triglicérides e HDL. Os parâmetros de LDL, VLDL, HOMA IR e HOMA BETA foram obtidos através de suas respectivas fórmulas.

As amostras de fezes foram recebidas e aliqüotadas, em 3 tubos com 200mg, pelo mesmo laboratório. Foram armazenadas em freezers e depois transportadas até o Centro de Estudos em Microbiologia – CEMIC localizado na UFJF, onde foram armazenadas em freezers com temperatura -80°C .

Com relação às condutas nutricionais, foi avaliado o hábito alimentar de cada voluntário e prescrita dieta hipocalórica e hiper proteica, priorizando alimentos in natura ou minimamente processados. Na orientação também foram descritas as diferenças entre alimentos in natura, minimamente processados, processados e ultraprocessados, a fim de educar o paciente. Cada paciente e responsável também foi orientado quanto à ingestão adequada de água, sono, atividade física e o tempo de tela de aparelhos eletrônicos, como celular, tablet, computador, videogame e televisão.

Durante todo o período de acompanhamento, os pacientes foram contactados através de aplicativos de mensagens e a conduta nutricional foi reavaliada de acordo com a necessidade. Após 6 meses, o paciente retornou ao consultório onde, novamente, foram

reavaliados todos os parâmetros físicos e antropométricos e após a consulta, foi orientado sobre a nova coleta de amostras de sangue e fezes.

4.3 Extração de DNA das amostras fecais

Para extração de DNA metagenômico, foi utilizado kit comercial QIAampFast DNA Stool Mini Kit (Qiagen, Alemanha), de acordo com as instruções do fabricante com algumas modificações.

A partir das amostras de fezes que foram recebidas e aliquotadas, foi extraído DNA metagenômico para avaliação da relação Firmicutes e Bacteroidetes da microbiota fecal.

Inicialmente as amostras fecais foram solubilizadas em 1 ml de tampão TES e clarificadas por centrifugação (6.000 rpm, por 10 minutos). O sobrenadante foi recuperado para extração do DNA no kit comercial, de acordo com instruções do fabricante. Ao final do processo, o DNA extraído foi eluído em volume de 50µL e mantido em freezer - 20°C para estudos posteriores. A quantificação dos extratos de DNA foi realizada em espectrofotômetro do tipo NanoDrop™ Lite Spectrophotometer. Na integridade do DNA é avaliada por eletroforese em gel de agarose a 0,8% em tampão TBE 0,5X (Tris-HCl-Borato-EDTA). As corridas eletroforéticas foram realizadas em voltagem constante de 100V, 400 mA e inspeção visual da integridade do DNA sobre transluminador de luz ultravioleta (GE Healthcare, Reino Unido) após coloração dos géis com brometo de etídio. Foi utilizado o padrão de peso molecular 1kb DNA ladder (Promega, Madison, WI, USA).

4.4 Avaliação da abundância relativa de Firmicutes e Bacteroidetes e determinação da relação Firmicutes/Bacteroidetes

Para avaliação da abundância relativa de Firmicutes e Bacteroidetes foram realizados experimentos de PCR em tempo real utilizando-se como alvo porções conservadas de DNA codificadores para o RNA16s dos grupos bacterianos. Os valores de Cts obtidos nas reações de PCR em tempo real foram relacionados a valores obtidos a partir da utilização de Cts obtidos na amplificação regiões conservadas de DNA codificadores para o RNA16s do domínio Bacteria. Os oligonucleotídeos iniciadores utilizados são apresentados na tabela 1.

O volume final de cada reação foi de 10 µL. Para os grupos bacterianos Universal, Firmicutes e Bacteroidetes, a reação foi composta por 5 µL de SYBR Green Master Mix

(Qiagen, Alemanha), 0,4 µL de cada primer na concentração de 0,5 µmol/L, 0,5 µL de DNA molde (20ng/µL) e H₂O ultrapura qsp. A amplificação e detecção foram realizadas em máquina QuantStudioTM5 Real-time PCR System (Thermo Fisher Scientific, USA). As condições de reação estão apresentadas na tabela 1. Os valores de Ct e as configurações de base foram determinados automaticamente.

Tabela 1: Grupos bacterianos pesquisados, sequência dos primers utilizados e condições utilizadas nas reações de PCR em tempo real.

Grupo	Sequência	Condições da reação PCR em tempo real
Universal	F: ACTCCTACGGGAGGCAGCAG R: ATTACCGCGGCTGCTG	5' 95°C (5'' 95°C, 30'' 65°C) x 40
Firmicutes	F: GGAGYATGTGGTTTAATTCGAAGCA R: AGCTGACGACAACCATGCAC	5' 95°C (5'' 95°C, 30'' 64°C) x 40
Bacteroidetes	F: GGARCATGTGGTTTAATTCGATGAT R: AGCTGACGACAACCATGCAG	5' 95°C (5'' 95°C, 30'' 63°C) x 40

A abundância relativa (RA) dos grupos bacterianos Firmicutes e Bacteroidetes foi calculada, segundo a literatura (Orbe-Orihuela et al., 2018), considerando-se a expressão $RA = 2^{-\Delta Ct}$, isto é:

$$RA = 2^{-(Ct \text{ Firmicutes ou Bacteroidetes} - Ct \text{ Domínio Bacteria})}$$

A partir dos valores obtidos, a relação Firmicutes/Bacteroidetes foi calculada pela determinação da razão abundância relativa de um grupo pelo outro:

$$\text{Relação Firmicutes/Bacteroidetes} = \frac{RA \text{ Firmicutes}}{RA \text{ Bacteroidetes}}$$

4.5 Análise estatística

Para tratamento estatístico dos dados, as variáveis com distribuição similar à Normal foram analisadas pelo Teste t, onde $p < 0,05$ foi considerado significativo. Para análise da correlação entre as variáveis clínicas e nutricionais avaliadas e a relação Firmicutes/Bacteroidetes, foi realizada uma avaliação de Correspondência Múltipla, com auxílio do programa PAST 3.0. considerando-se a razão dos valores obtidos nos parâmetros clínicos, nutricionais e antropométricos obtidos em cada avaliação e a diferença entre a razão Firmicutes/Bacteroidetes na primeira e segunda avaliação. Os dados foram considerados significativos dentro do intervalo de confiança de 95%.

5 RESULTADOS

5.1 Características sociocomportamentais e epidemiológicas.

Dos 35 voluntários abordados, concluíram as 2 etapas do estudo, apenas 12 participantes, classificados como obesos. De acordo com os dados obtidos através das consultas, tendo em vista variáveis dados sociocomportamentais dos participantes, 8 (66,7%) se autodeclararam como pretos, 1 (8,3%) como pardos e 3 (25%) como brancos. Todos se declararam solteiros. Quanto ao nível de escolaridade, todos possuem educação fundamental e 25% estão finalizando a educação média. Em relação a renda (salários-mínimos), todos os 12 (100%) participantes declararam ter renda de 1 a 3 salários-mínimos. Foi questionado sobre a prática de atividade física regular prévia: dos voluntários, 7 (58,3%) afirmaram praticar atividade física regularmente, enquanto 5 (41,7%) não praticam atividade física regular, após a abordagem clínica e nutricional, todos iniciaram a prática regular de atividades físicas. Em relação aos parâmetros comportamentais, também foi questionado se algum voluntário havia acompanhamento profissional prévio sendo que nenhum deles relatou ter o acompanhamento. Nenhum dos sujeitos avaliados relatou, ainda, fazer uso de alimentos orgânicos, assim como nenhum participante relatou fazer uso de adoçantes, suplementos alimentares diversos, incluindo probióticos.

Tabela 02: Aspectos sociocomportamentais dos participantes

Característica	Quantidade	%
Autodeclaração de cor ou raça¹		
Preta	8	66,7
Parda	1	8,3
Branca	3	25
Estado civil – Solteiros	12	100
Declaração de escolaridade		
Educação Fundamental	12	100

Educação Média (cursando)	3	25
Renda ² : 1 a 3 salários-mínimos	12	100
Prática de atividade física regular		
Antes da intervenção	7	58,3
Após intervenção	12	100
Sem acompanhamento nutricional prévio	12	100
Fazem uso de alimentos orgânicos	0	0
Fazem uso de adoçantes	0	0
Suplementos alimentares	0	0

¹ Autodeclaração de cor ou raça de acordo com Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, com base na autodeclaração; ² Renda em salários-mínimos de acordo com o valor referência no Brasil no momento da coleta dos dados (R\$ 1.212,00).

5.2 Parâmetros Clínicos, Nutricionais e antropométricos

Com os dados obtidos, observou-se que a média de início da obesidade dos voluntários foi de 8,6 anos com um desvio padrão de 2,96 anos. Quanto aos valores antropométricos, os participantes apresentaram média de 85,7kg e IMC 31,71 kg/m², considerados acima do peso pelas curvas de acordo com a idade e gênero. Após a reavaliação, a média de peso entre os participantes foi de 82,6kg e IMC 29,6 kg/m².

Os dados do recordatório 24 horas foram obtidos através de entrevista e calculados pela Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TBCA), onde a média de ingestão em calorias na primeira avaliação foi de 2594 kcal/dia e ingestão de proteínas, carboidratos e lipídios foi de 23,4g, 50,6g e 25,9g, respectivamente. Já a ingestão de fibras teve uma média de 50,9g e desvio padrão de 20,5g (54,2±20,5). Na reavaliação, a média para ingestão em calorias foi de 2764 kcal/dia, 23,4g para proteínas, 55,7g para carboidratos e 20,6g para lipídios. A média para ingestão de fibras foi de 50,0g.

Em relação aos exames laboratoriais, obteve-se uma média para colesterol total de 153mg/dL na primeira avaliação e de 158mg/dL na segunda avaliação. A média de HDL na primeira avaliação foi de 44,4mg/dL e na segunda avaliação de 50,8mg/dL, Para os valores

de LDL, a média na avaliação foi de 100mg/dL e na reavaliação de 81mg/dL, de triglicerídeos de 85,4mg/dL na primeira e 87,3mg/dL na segunda. A glicemia e insulina tiveram média de 85,7mg/dL e 21,98 μ UI/mL na primeira avaliação e de 86,5mg/dL e 16,1 μ UI/mL na segunda avaliação o que sugere uma diminuição na resistência à insulina. Um fator relevante é o índice de HOMA Beta que na primeira avaliação apresentou uma média de 413,2 e na segunda, uma média de 286,6, que parece refletir na melhora da secreção da insulina pelo pâncreas. Os valores de HOMA IR não trouxeram relevância estatística, apresentando 4,73 de média na primeira avaliação e 3,39 na segunda avaliação.

Tabela 03. Parâmetros clínicos e nutricionais dos participantes

Parâmetros	Valores absolutos médios (desvio padrão)		Valor de p*
	Avaliação inicial	Reavaliação (6 meses)	
Clínicos			
Início da obesidade (anos)	8,6 \pm 2,96	Na	-
Colesterol Total (mg/dL)	153,1 \pm 33,2	158,4 \pm 36,7	0,419
HDL (mg/dL)	44,4 \pm 7,8	50,8 \pm 9,7	0,064
LDL (mg/dL)	100,7 \pm 32,0	81,04 \pm 34,0	0,118
VLDL (mg/dL)	23,9 \pm 22,2	24,3 \pm 24,6	0,869
Triglicérides	85,4 \pm 44,5	87,3 \pm 43,8	0,907
Glicemia (mg/dL)	85,7 \pm 11,9	86,5 \pm 7,3	0,839
Insulina (μ UI/mL)	21,9 \pm 12,7	16,1 \pm 14,0	0,115
HOMA IR	4,73 \pm 3,0	3,39 \pm 2,7	0,158
HOMA Beta	413,2 \pm 266,3	286,6 \pm 326,0	0,049
Antropométricos			
Massa Corporal (kg)	85,7 \pm 21,4	82,6 \pm 19,5	0,961

Índice massa corporal (kg/m ²)	31,7 ± 5,7	29,6 ± 6,0	0,019
Nutricionais (recordatório 24 horas)			
Ingestão hídrica (L)	1,3 ± 0,5	1,9 ± 0,4	0,001
Ingestão calórica (kcal/dia)	2594,9 ± 972,4	2764 ± 348	0,246
Ingestão de Proteína (%)	23,4 ± 4,2	23,4 ± 3,8	0,992
Ingestão de Carboidratos (%)	50,6 ± 6,2	55,7 ± 4,43	0,006
Ingestão de Lipídios (%)	25,9 ± 8,5	20,6 ± 5,4	0,044
Ingestão de Fibras (g)	50,9 ± 20,5	50,0 ± 10,6	0,448

*Variáveis verificadas quanto à significância pelo Teste t, considerando-se $p < 0,05$.

5.3 Avaliação da relação Firmicutes/Bacteroidetes

A partir do metagenoma fecal dos participantes foi determinada a relação Firmicutes/Bacteroidetes pela determinação da razão entre as abundâncias relativas dos dois grupos bacterianos. De maneira geral, os valores obtidos para a relação Firmicutes/Bacteroidetes na população amostrada encontram-se dentro do que seria considerado apropriado. Os valores variaram dentro do limite 0,5 – 10 sendo que para três dos pacientes valores menores do que 0,5 foram observados (Tabela 04).

Apesar de na maioria dos casos uma redução na relação Firmicutes/Bacteroidetes ter sido observada considerando cada participante no período compreendido entre a primeira e a segunda avaliação, outros fenômenos também foram observados. Para três dos participantes, um aumento na relação foi documentado, sendo a variação pequena se comparada aos outros dados obtidos (0,14 para 0,87; 0,31 para 0,34 e 1,13 para 1,2). Importante ressaltar que, nesses casos a relação Firmicutes/Bacteroidetes na amostra fecal da primeira avaliação para dois participantes estava fora dos valores mínimos geralmente relatados na literatura (0,5). Além disso, para dois dos participantes, uma variação muito discreta foi observada em relação aos outros dados obtidos (4,04 para 4,01 e 0,24 para 0,23).

Mesmo considerando-se os valores pouco expressivos observados para os dados dos participantes com diminuição na relação Firmicutes/Bacteroidetes ou com variação muito discreta, em geral o valor médio da relação diminuiu entre as duas avaliações (3,02 para 1,89). Ao considerar-se os valores da relação Firmicutes/Bacteroidetes como variações nos grupos de dados agregando-se a grupo de valores na primeira e os valores na segunda avaliação, a variação da relação entre as médias dos grupos apresentou-se com significância estatística ($p = 0,02339$).

Tabela 04: Razão Firmicutes/Bacteroidetes

Variáveis	Razão F/B		Valor de p^*
	Avaliação inicial	Reavaliação (6 meses)	
Valores obtidos para os participantes no intervalo de tempo avaliado	3,97	3,09	
	4,04	4,01	
	4,12	1,36	
	1,72	0,86	
	5,9	5,04	
	5,03	0,93	-
	1,13	1,2	
	6,66	2,89	
	0,24	0,23	
	0,14	0,87	
	0,31	0,34	
Média	3,02364	1,89273	0,02339
Desvio Padrão	2,39512	1,60608	-

*Variáveis verificadas quanto à significância pelo Teste t, considerando-se $p < 0,05$.

5.4 Correlação entre estrutura global da microbiota do trato gastrointestinal pela medida a razão Firmicutes/Bacteroidetes e as características clínicas e nutricionais.

A correlação entre estrutura global da microbiota do trato gastrointestinal pela medida a razão Firmicutes/Bacteroidetes nos momentos de abordagem dos participantes e as características clínicas e nutricionais foi realizada pela análise de correspondência múltipla (Figura 01). Os parâmetros avaliados foram aqueles anotados como características clínicas e nutricionais, incluindo-se dados laboratoriais de marcadores bioquímicos além de dados antropométricos e cálculo de ingestão líquida e de nutrientes a partir dos questionários recordatórios alimentares. A relação Firmicutes/Bacteroidetes, considerando os dois momentos de coleta de dados e espécime fecal, também foi incluída. Os dados foram considerados significativos dentro do intervalo de confiança de 95%.

Observou-se que apenas um dos participantes não se associou positivamente com as características avaliadas, sugerindo um comportamento ou perfil distinto do grupo avaliado. Além disso, o parâmetro de calorias totais da dieta mostrou uma associação negativa com os outros parâmetros avaliados. De maneira interessante, pela avaliação do recordatório alimentar, não houve diferença significativa no consumo calórico na comparação entre as duas avaliações apesar do elevado desvio padrão $> 10\%$ no cálculo da média desses valores.

Além disso, apesar de relacionar-se positivamente com os outros parâmetros avaliados e com a evolução clínica dos pacientes, os marcadores bioquímicos Homa IR e Insulina não mostraram associação significativa, considerando-se o intervalo de confiança de 95% de probabilidade.

De maneira interessante, a análise de correspondência múltipla sugere que a relação Firmicutes/Bacteroidetes, apesar de ter uma associação positiva com a evolução dos pacientes no que diz respeito ao controle ou redução da obesidade pela prescrição nutricional, apresentou pouca influência ou relevância no desfecho clínico dos participantes. Os dados gerados mostram que a estrutura global da microbiota fecal pela medida a razão Firmicutes/Bacteroidetes não seria um marcador adequado, nesse estudo, para medir, relacionar ou estratificar o sucesso clínico dos participantes, se comparado com outros marcadores bioquímicos ou nutricionais. Em geral, embora a alteração global na microbiota e o quantitativo de ingestão calórica não tenham seguido um padrão de agrupamento, todos os outros parâmetros se correlacionaram positivamente com a evolução dos participantes no período avaliado.

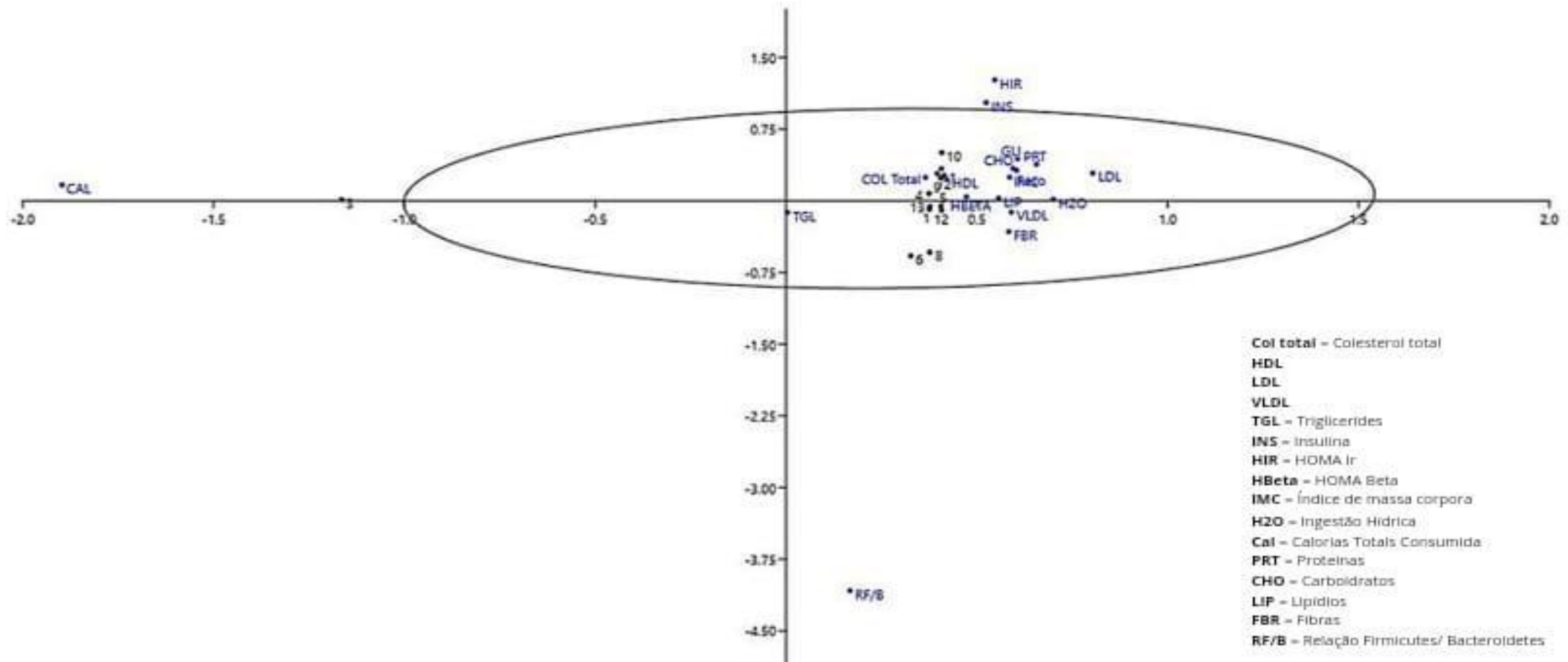


Figura 01. Análise de correspondência múltipla para avaliação da relação entre a estrutura global da microbiota do trato gastrointestinal nos momentos de abordagem dos participantes e as características clínicas e nutricionais avaliadas, pela medida a razão Firmicutes/Bacteroidetes a partir do metagenoma fecal dos participantes durante 6 meses de tratamento por abordagem nutricional. Os dados foram considerados significativos dentro do intervalo de confiança de 95%

6 DISCUSSÃO

O tratamento da obesidade está profundamente relacionado à redução do peso corporal e pode ser abordado através de diversas estratégias de perda de peso, incluindo mudanças no estilo de vida. (LEITNER et al., 2017). E entre os diversos fatores que afetam a composição da microbiota intestinal humana, os hábitos alimentares desempenham um papel crucial. A alimentação é fundamental porque fornece os substratos necessários para a proliferação de determinados microrganismos na microbiota intestinal (GRAF et al., 2015).

Neste estudo, os participantes têm uma faixa etária ampla, de 12 a 19 anos, o que torna a estatura média entre as idades bastante relevante. Além disso, a ampla faixa etária é importante porque muitos dos voluntários podem estar vivenciando um período de rápido crescimento que levam em consideração idade e gênero. Isso pode tornar a alteração do IMC mais subjetiva, já que o ganho de peso significativo pode ocorrer devido ao crescimento.

Em relação a escolaridade, todos ainda se encontram em idade escolar, o que leva a entender que o poder de compra desses indivíduos é menor, já que nessa fase da vida, adolescentes ainda não trabalham de modo regular, portanto os hábitos alimentares da família, considerando pais e irmãos quando existentes, também influenciam na escolha alimentar. Quanto a etnia, mais de 50% se autodeclararam negros, mas não é possível determinar alguma influência nos resultados encontrados devido ao número de participantes ser reduzido. Já a renda salarial de todos os participantes se iguala, o que pode demonstrar o mesmo poder de compra em quesito âmbito familiar.

A prática de atividade física tem sido amplamente estudada em relação à melhoria dos parâmetros bioquímicos e à mudança da microbiota intestinal (HERI, et al, 2016). Todos os participantes finalizaram o estudo com a prática de atividade física regular. Quanto a ingestão de calorias, apesar de não ter relevância estatística, pode-se observar que o desvio padrão reduziu consideravelmente levando a conclusão de que o consumo se assemelhou entre os participantes após os seis meses de intervenção. É de suma importância considerar as informações alimentares, baseando nos macronutrientes. De acordo com Bernaud et al (2013) o consumo aumentado de carboidratos e fibras aumentam colonização de bactérias que produzem butirato. Analisando isoladamente cada macronutriente, houve uma melhora significativa no padrão alimentar, com um leve aumento na ingestão de carboidratos e uma melhora no padrão de consumo de lipídeos permanecendo dentro das recomendações para essa faixa etária. Essas recomendações incluem uma distribuição de macronutrientes que

varia entre 45% a 65% de carboidratos, 20% a 35% de gordura (sendo menos de 10% de gordura saturada) e 10% a 35% de proteína (CHAO; QUIGLEY; WADDEN, 2021). O consumo de proteína permaneceu o mesmo, já que os voluntários obtinham uma boa média de consumo dela.

Na ingestão hídrica pode-se observar um resultado positivo onde o padrão aumentou significativamente. A ingestão de fibras teve um baixo impacto na média geral de ingestão, mas o desvio padrão reduziu consideravelmente, portanto houve uma melhora das fibras nas dietas dos participantes. De acordo com Zheng e seus colaboradores (2022) a água ajuda na fermentação de fibras no intestino, o que pode promover o crescimento de microrganismos benéficos. Uma boa hidratação pode melhorar a digestão das fibras alimentares e, conseqüentemente, a saúde da microbiota. A água pode influenciar a disponibilidade de nutrientes e a atividade metabólica dos microrganismos intestinais, ajudando a manter um equilíbrio saudável. A melhora na ingestão de fibras se dá pelo aumento de consumo de alimentos minimamente processados, como frutas, legumes e verduras que estão de acordo com o Guia Alimentar para a população brasileira (2014), que prioriza os alimentos frescos e com variedade nutricional.

Um recordatório alimentar de 24 horas é uma entrevista estruturada com o objetivo de coletar informações detalhadas sobre todos os alimentos e bebidas (e, eventualmente, suplementos alimentares) consumidos pelo entrevistado nas últimas 24 horas, geralmente do meio-dia de um dia ao meio-dia do dia seguinte. Uma característica essencial desse método, é que, quando necessário, o entrevistado é solicitado a fornecer detalhes adicionais sobre as informações fornecidas inicialmente. Esse formato aberto de resposta é projetado para garantir um relato completo e minucioso de todos os alimentos e bebidas consumidos. Além de descrever detalhes como o horário e a origem dos alimentos, o recordatório também captura o tamanho das porções de cada item consumido (CARTILHA DE AVALIAÇÃO DIETÉTICA, 2024).

Por isso, tendo em vista as características específicas da amostra, composta por adolescentes, o recordatório de 24 horas, versátil e de fácil entendimento, foi utilizado para melhor compreensão dos participantes e diálogo com o entrevistador, sendo possível obter informações detalhadas da alimentação.

A comparação entre os valores de IMC da primeira avaliação com a segunda avaliação foi relevante, mas pode ter sido influenciada pelo aumento da estatura em relação ao peso, como citado acima.

Em relação aos parâmetros bioquímicos, pode observar poucas mudanças entre as duas avaliações. Os níveis de colesterol total dos participantes permaneceram dentro do valor de referência. Houve uma discreta melhora nos índices de HDL, que na primeira avaliação, encontrava-se abaixo do valor ideal. Na segunda avaliação, o grupo se enquadra na referência ideal, apesar de o desvio padrão estar aumentado. Quanto aos parâmetros de LDL, houve uma melhora no perfil, apesar de ambas as avaliações estarem dentro dos valores esperados. Os valores de triglicérides permanecem dentro dos valores de referências, mas encontram-se perto do limite de referência.

Já os níveis de glicemia, observou-se uma melhora no desvio padrão associando com a melhora dos níveis de insulina, parece que a resistência a insulina nos indivíduos melhorou. Assim como a secreção insulínica, representada pela Homa Beta, que apesar de os valores de referência serem escassos, comparando os grupos entre si, mostra uma melhora significativa. O aumento da atividade física melhora a sensibilidade à insulina e a secreção de insulina no pâncreas (SMITH et al, 2019).

A hipótese é que um maior número de Firmicutes pode estar associado a uma maior eficiência na extração de energia dos alimentos, o que pode contribuir para o acúmulo de gordura. Por outro lado, uma maior presença de Bacteroidetes pode estar correlacionada a um metabolismo mais eficiente que promove a perda de peso (HOUTMAN et al, 2022).

Os valores exatos da relação Firmicutes/Bacteroidetes em pessoas obesas podem variar bastante de um estudo para outro, mas, em geral, a literatura sugere que pessoas obesas tendem a apresentar uma proporção maior de Firmicutes em relação aos Bacteroidetes quando comparadas a indivíduos magros. Estudos indicam que pessoas magras podem ter uma relação Firmicutes/Bacteroidetes de cerca de 0,5 a 1. Em contrapartida, pessoas obesas podem apresentar essa relação variando de 1,5 a mais de 10, dependendo do grupo estudado e das metodologias utilizadas (ORBE-ORIHUELA, 2018 VAISERMAN et al, 2020).

É importante lembrar que esses valores são aproximações gerais e que fatores como dieta, genética, idade e ambiente podem influenciar significativamente a composição do microbioma intestinal. Além disso, o simples aumento na proporção de Firmicutes em relação a Bacteroidetes não é um indicador absoluto de obesidade, já que a interrelação entre o microbioma, metabolismo e saúde é complexa e ainda está sendo estudada (VAISERMAN et al, 2020).

Os valores da relação Firmicutes/Bacteroidetes em crianças obesas podem variar, assim como em adultos, mas a tendência observada na literatura científica sugere que

crianças obesas também apresentam uma maior proporção de Firmicutes em relação a Bacteroidetes comparadas a crianças com peso saudável (VAISERMAN et al, 2020 ORBE-ORIHUELA, 2018).

Embora os valores exatos possam diferir entre estudos, algumas pesquisas indicam que: Crianças saudáveis podem ter uma relação Firmicutes/Bacteroidetes em torno de 0,75 a 1,5. Crianças obesas, por sua vez, podem apresentar uma relação que varia de 1,5 a 3 ou mais, embora algumas pesquisas indiquem variações ainda maiores em certas populações (VAISERMAN et al, 2020).

Essas diferenças na composição do microbioma intestinal podem refletir fatores como dieta, ingestão de fibra, atividade física e outros determinantes de saúde. É importante ressaltar que esses números são aproximados e que o campo ainda é objeto de muita pesquisa (SUTOYO et al, 2020).

Mudanças na dieta, especialmente aquelas que aumentam a ingestão de fibras, podem alterar a composição do microbioma e potencialmente favorecer uma proporção mais equilibrada entre essas duas classes de bactérias, contribuindo para a perda de peso (SUTOYO ET AL, 2020).

Ao analisar estatisticamente pela análise de correspondência múltipla (ACM) utilizada no estudo pode-se explorar e visualizar a relação entre variáveis categóricas. Cada ponto representa uma categoria variável e pode-se notar que a maioria dos fatores evidenciados tem uma forte relação, situando a direita do eixo, mostrando uma associação positiva a abordagem. Já os valores de calorias, situado a esquerda do eixo e fora do grupo de confiança, mostra uma baixa relação com a abordagem. Destacando os triglicerídeos, que se localiza mais perto do eixo, este pode ser explicado pela relação direta com a dieta ingerida pelos participantes.

Os pontos de Homa Ir e insulina, apesar de estarem fora do grupo de confiança, se distribuem bem próximo a área e mostram que tem uma característica significativamente diferente do grupo mais forte. O ponto que representa as calorias ingeridas e a relação Firmicutes/Bacteroidetes ficaram distantes dos eixos e fora do grupo de confiança, demonstrando uma baixa correspondência a abordagem aplicada.

Diante dos dados expostos, estudos com um período de avaliação maior nesse tipo de análise são escassos devido ao acompanhamento longo e com muitas variáveis. Muitos estudos são transversais, o que limita a capacidade de entender como as mudanças na razão Firmicutes/Bacteroidetes ao longo do tempo se relacionam com o desenvolvimento da

obesidade (VAISERMAN et al, 2020). Outro ponto a ser levado em consideração foi o número de participantes deste estudo, considerando uma população maior, os resultados poderiam ser diferentes e mais conclusivos.

A microbiota intestinal das crianças e adolescentes é dinâmica e muda com a idade, dieta e ambiente. A composição da microbiota intestinal varia amplamente entre indivíduos. O que pode ser considerado uma razão Firmicutes/Bacteroidetes "normal" pode não se aplicar a todas as crianças visto que dietas ricas em gorduras e açúcares são bastante comuns em indivíduos dessa faixa etária (VAISERMAN et al, 2020).

A relação entre a razão Firmicutes/Bacteroidetes e a obesidade pode ser correlacional, mas não necessariamente causal. Portanto encontra-se grande dificuldade em determinar se a alteração na microbiota causa obesidade ou se a obesidade altera a microbiota. (SUTOYO ET AL, 2020).

As técnicas de sequenciamento e análise da microbiota podem variar, levando a resultados diferentes. A padronização dos métodos é crucial para comparações significativas.

Em resumo, enquanto a razão Firmicutes/Bacteroidetes pode fornecer insights sobre a microbiota intestinal e sua relação com a obesidade em crianças, é essencial considerar as limitações e a complexidade da interação entre microbiota, dieta e fatores ambientais (ORBE-ORIHUELA, 2018 VAISERMAN et al, 2020).

Embora a razão Firmicutes/Bacteroidetes possa ser um indicador interessante na pesquisa sobre obesidade infantil, a falta de valores de referência padronizados e a variabilidade individual tornam difícil sua aplicação clínica direta. É importante que os profissionais de saúde considerem a razão Firmicutes/Bacteroidetes como parte de uma avaliação mais ampla da saúde metabólica e da microbiota intestinal, em vez de um único parâmetro isolado (VAISERMAN et al, 2020 SUTOYO ET AL, 2020).

7 CONCLUSÃO

A influência da abordagem clínica e nutricional nos pacientes obesos não foi suficiente para encontrar influências na relação Firmicutes/Bacteroidetes, já que os principais fatores como perda de peso e melhora no padrão bioquímico não obtiveram alterações relevantes.

Os adolescentes estudados obtiveram uma discreta melhora no estado nutricional, assim como houve uma discreta evolução nos exames bioquímicos analisados. O padrão alimentar foi parcialmente atendido, melhorando a qualidade nutricional, com mais inclusão de fibras e carboidratos e redução da quantidade de lipídeos ingeridas. Foi possível notar uma leve melhora no quadro de resistência insulínica, comum em pacientes obesos.

O desenvolvimento de novos trabalhos com o perfil dos participantes desse estudo necessita de ser mais explorado, visto que há características bioquímicas, microbiológicas, sociais e antropométricas específicas para essa população.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, M.; FERREIRA, R.; PALOMA. A influência da família e meio social na formação do hábito alimentar do pré-escolar e escolar. **Research, Society and Development**, v. 12, n. 6, p. e19912642202-e19912642202, 20 jun. 2023.

BERNAUD, F. S. R.; RODRIGUES, T. C. Fibra alimentar: ingestão adequada e efeitos sobre a saúde do metabolismo. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 57, n. 6, p. 397–405, ago. 2013.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Guia alimentar para a população brasileira**. 2. ed., 1. reimpr. Brasília: Ministério da Saúde, 2014.

CARTILHA DE AVALIAÇÃO DIETÉTICA, Instrument Profiles. National Institutes of Health, **National Cancer Institute**. (<https://dietassessmentprimer.cancer.gov/>). Acesso em 10 ago. 2024.

CHAO, A. M.; QUIGLEY, K. M.; WADDEN, T. A. Dietary interventions for obesity: clinical and mechanistic findings. **Journal of Clinical Investigation**, v. 131, n. 1, 4 jan. 2021.

CORONELLI, C. L. S.; MOURA, E. C. DE. Hipercolesterolemia em escolares e seus fatores de risco. **Revista de Saúde Pública**, v. 37, n. 1, p. 24–31, fev. 2003.

DE PAULA, M. B. et al. Microbiota intestinal na obesidade infantil, uma ampla revisão de seus modificadores. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 4, n. 6, p. 26235–26252, 24 nov. 2021.

DEPARTAMENTO DE NUTROLOGIA. **Manual de obesidade na infância e adolescência**. 3. ed. revisada e ampliada. [S.l.: s.n.]. Disponível em: https://www.sbp.com.br/fileadmin/user_upload/Manual_de_Obesidade_-_3a_Ed_web_compressed.pdf. Acesso em: 9 de ago. 2024.

DIABETES, S. B. DE. **Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes**. [S.l.]: Grupo Gen - AC Farmacêutica, 2023. Disponível em: <https://diretriz.diabetes.org.br/diagnostico-e-rastreamento-do-diabetes-tipo-2/#ftoc-resumo-de-recomendacoes>. Acesso em: 2 mar. 2024.

EVIA-VISCARRA, M. L.; GUARDADO-MENDOZA, R. Comparison between metabolically healthy obesity and metabolically unhealthy obesity by different definitions among Mexican children. **Journal of Pediatric Endocrinology and Metabolism**, v. 33, n. 2, p. 215-222, fev. 2020.

FILHO, A. DE A. B.; HOLANDA, L. B. Métodos aplicados em inquéritos alimentares. **Revista Paulista de Pediatria**, v. 24, n. 1, p. 62–70, 2006.

FISBERG, M. et al. Obesogenic environment – intervention opportunities. **Jornal de Pediatria**, v. 92, n. 3, p. S30–S39, maio 2016.

FISBERG, R. M.; MARCHIONI, D. M. L.; COLUCCI, A. C. A. Avaliação do consumo alimentar e da ingestão de nutrientes na prática clínica. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 53, n. 5, p. 617–624, jul. 2009.

FU, J. et al. Dietary fiber intake and gut microbiota in human health. **Microorganisms**, v. 10, n. 12, p. 2507, dez. 2022.

GENG, J. et al. The links between gut microbiota and obesity and obesity related diseases. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 147, p. 112678, mar. 2022.

GRAF, D. et al. Contribution of diet to the composition of the human gut microbiota. **Microbial Ecology in Health & Disease**, v. 26, p. 26164, 2015.

HERI, R. et al. Atividade física/exercício e diabetes: uma declaração de posição da American Diabetes Association. **Diabetes Care**, v. 39, n. 11, p. 2065–2079, nov. 2016.

HOQ, M. et al. Paediatric reference intervals: current status, gaps, challenges and future considerations. **Clinical Biochemistry Reviews**, v. 41, n. 2, p. 43–52, maio 2020.

HOUTMAN, T. A. et al. Microbiota intestinal e IMC ao longo da infância: o papel dos firmicutes, bacteroidetes e produtores de ácidos graxos de cadeia curta. **Scientific Reports**, v. 12, p. 3140, 2022.

IATCU, C. O.; STEEN, A.; COVASA, M. Gut microbiota and complications of type-2 diabetes. **Nutrients**, v. 14, n. 1, p. 166, 30 dez. 2021.

KIM, S.; JAZWINSKI, S. MICHAL. The gut microbiota and healthy aging: a mini-review. **Gerontology**, v. 64, n. 6, p. 513–520, 2018.

LEITNER, D. R. et al. Obesity and type 2 diabetes: two diseases with a need for combined treatment strategies - EASO can lead the way. **Obesity Facts**, v. 10, n. 5, p. 483–492, 2017.

LETCUMANAN, G. et al. Gut microbiota composition in prediabetes and newly diagnosed type 2 diabetes: a systematic review of observational studies. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 12, p. 15 ago. 2022.

LUTKEMEYER, D. DA S. et al. Obesidade: uma abordagem inflamatória e microbiana. **HU Revista**, v. 44, n. 2, p. 221–229, 4 abr. 2019.

MANCO, M.; PUTIGNANI, L.; BOTTAZZO, G. F. Gut microbiota, lipopolysaccharides, and innate immunity in the pathogenesis of obesity and cardiovascular risk. **Endocrine Reviews**, v. 31, n. 6, p. 817–844, dez. 2010.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE PEDIATRIA. **Manual de orientação para a alimentação do lactente, do pré-escolar, do escolar, do adolescente e na escola**. 3. ed. Rio de Janeiro, RJ: SBP, 2012.

MARCHIONI, D. M. L.; SLATER, B.; FISBERG, R. M. Aplicação das Dietary Reference

Intakes na avaliação da ingestão de nutrientes para indivíduos. **Revista de Nutrição**, v. 17, n. 2, p. 207–216, jun. 2004.

MCGUINNESS, A. J. et al. A systematic review of gut microbiota composition in observational studies of major depressive disorder, bipolar disorder and schizophrenia. **Molecular Psychiatry**, v. 27, n. 4, p. 1920–1935, 1 abr. 2022.

NAGPAL, R. et al. Gut microbiota in health and disease: an overview focused on metabolic inflammation. **Beneficial Microbes**, v. 7, n. 2, p. 181–194, 11 mar. 2016.

OMS. **World Obesity Atlas 2023**. Disponível em: <https://www.worldobesity.org/resources/resource-library/world-obesity-atlas-2023>. Acesso em 20 jan. 2024.

OMS. **Normas de crescimento infantil da OMS: Comprimento/altura por idade, peso por idade, peso-por-comprimento, peso por altura e índice de massa corporal por idade: Métodos e desenvolvimento**. Genebra: OMS, 2007.

ORBE-ORIHUELA, Y. C. et al. High relative abundance of Firmicutes and increased TNF- α levels correlate with obesity in children. **Salud Pública de México**, v. 60, n. 1, p. 5-11, jan.-fev. 2018.

PRÁTICO DE ATUALIZAÇÃO, G. **Dislipidemia na criança e no adolescente - Orientações para o pediatra**. [S.l.: s.n.]. Disponível em: https://www.sbp.com.br/fileadmin/user_upload/22336c-GPA_-_Dislipidemia_Crianca_e_Adoles.pdf. Acesso em 11 fev. 2024.

RINNINELLA, E. et al. What is the healthy gut microbiota composition? A changing ecosystem across age, environment, diet, and diseases. **Microorganisms**, v. 7, n. 1, p. 14, 10 jan. 2019.

RIVA, A. et al. Pediatric obesity is associated with an altered gut microbiota and discordant shifts in Firmicutes populations. **Environmental Microbiology**, v. 19, n. 1, p. 95-105, jan. 2017.

SCHEITHAUER, T. P. M. et al. Gut microbiota as a trigger for metabolic inflammation in obesity and type 2 diabetes. **Frontiers in Immunology**, v. 11, 16 out. 2020.

SCUDIERO, O. et al. Childhood obesity: an overview of laboratory medicine, exercise and microbiome. **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)**, v. 58, n. 9, p. 1385–1406, 10 dez. 2019.

SHINODA, G. et al. Association between being overweight in young childhood and during school age and puberty. **Children (Basel, Switzerland)**, v. 10, n. 5, p. 909, 22 maio 2023.

SIMONSON, M.; BOIRIE, Y.; GUILLET, C. Protein, amino acids and obesity treatment. **Reviews in Endocrine & Metabolic Disorders**, v. 21, n. 3, p. 341–353, 1 set. 2020.

SIMPSON, C. A. et al. The gut microbiota in anxiety and depression – A systematic review.

Clinical Psychology Review, v. 83, p. 101943, fev. 2021.

SMITH, G. I.; MITTENDORFER, B.; KLEIN, S. Metabolically healthy obesity: facts and fantasies. **Journal of Clinical Investigation**, v. 129, n. 10, p. 3978-3989, out. 2019.

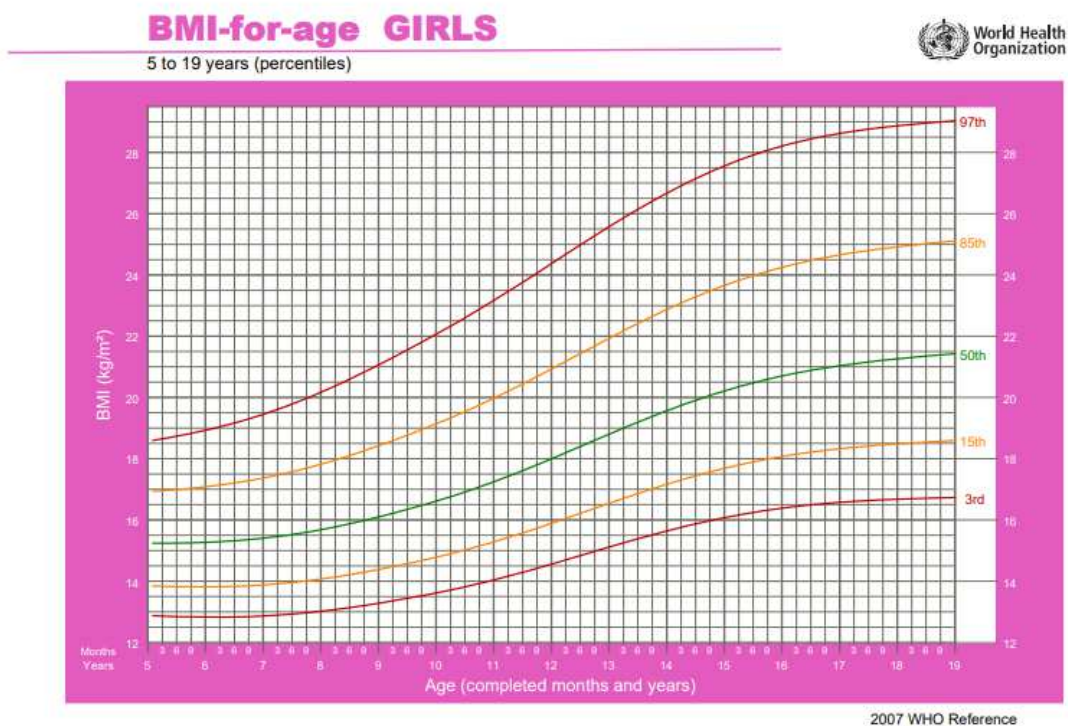
SUTOYO, D. A.; ATMACA, D. R.; SIDABUTAR, G. B. Fatores dietéticos que afetam a relação de Firmicutes e Bacteroidetes na resolução do problema da obesidade: uma revisão de literatura. **Media Gizi Indonesia**, v. 15, n. 2, p. 94–109, 2020.

TAHMASEBI, H. et al. Pediatric reference intervals for biochemical markers: gaps and challenges, recent national initiatives and future perspectives. **EJIFCC**, v. 28, n. 1, p. 43-63, 8 mar. 2017.

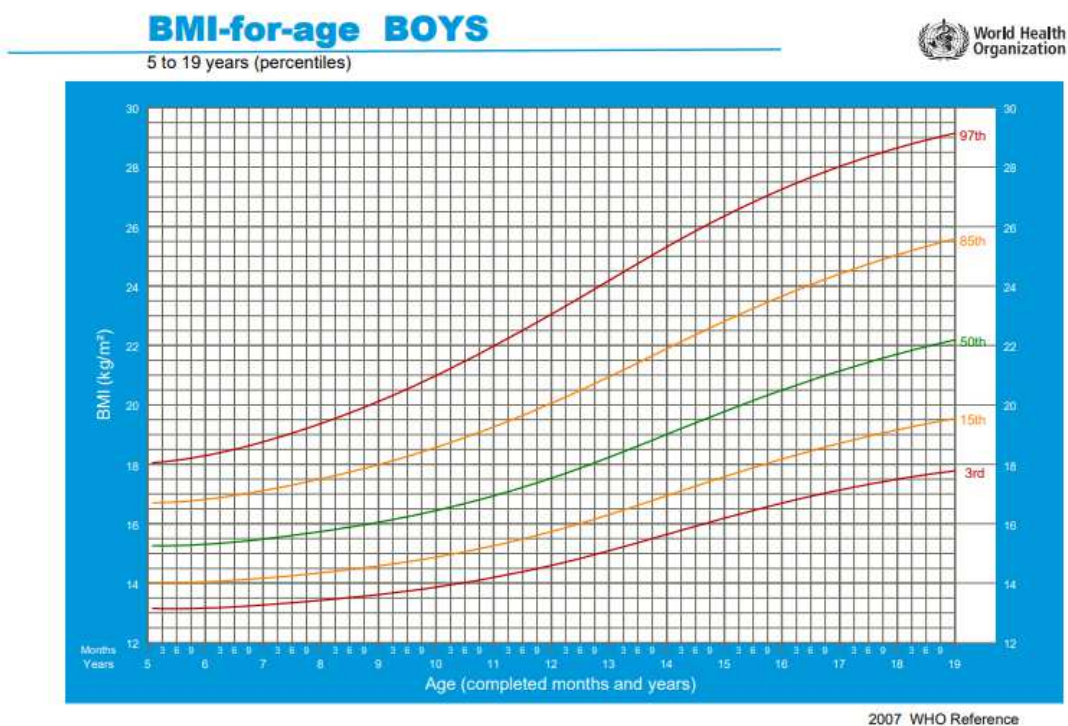
VAISERMAN, A.; ROMANENKO, M.; PIVEN, L. et al. Diferenças na proporção de Firmicutes para Bacteroidetes no intestino entre grupos etários na população ucraniana saudável. **BMC Microbiology**, v. 20, p. 221, 2020.

WANDERLEY ROCHA, D. R. et al. Visceral adiposity measurements, metabolic and inflammatory profile in obese patients with and without type 2 diabetes mellitus: A cross-sectional analysis. **Current Diabetes Reviews**, v. 13, n. 1, p. 11-18, 2017.

ANEXO A



IMC por idade pela OMS e pontos de corte para a definição de obesidade, excesso de peso, magreza e magreza grave em crianças e adolescentes do sexo feminino.



IMC por idade pela OMS e pontos de corte para a definição de obesidade, excesso de peso, magreza e magreza grave em crianças e adolescentes do sexo masculino.

ANEXO B

Exame bioquímico	Valor de referência
Glicemia	< 99 mg/dL
Colesterol	Aceitável <170 mg/dL
LDL	Aceitável <110 mg/dL
HDL	>45 mg/dL
Triglicerídeos (10 a 19 anos)	Aceitável < 90 mg/dL
Insulina	IMC até 25: 2 a 13 mU/L IMC entre 26 e 30: 2 a 19 mU/L IMC acima de 30: 2 a 23 mU/L
HOMA	>3,43

Valores de referências para exames bioquímicos de acordo com a sociedade brasileira de pediatria.

ANEXO C



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENFERMAGEM DE RIBEIRÃO PRETO

Centro Colaborador da OMS/CMS para o
Desenvolvimento da Pesquisa em Enfermagem

Av. Bandeirantes, 3900 - Ribeirão Preto - São Paulo - Brasil - CEP: 14040-902
Fone: 55 16 3315.3382 - 55 16 3315.3381 - Fax: 55 16 3315.2518
www.esp.usp.br - eero@usp.br

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

O seu filho está sendo convidado(a) a participar da pesquisa: "Efeito de polimorfismos genéticos sobre o risco para desenvolvimento de obesidade infantil na população brasileira". Neste estudo pretendemos avaliar se fatores hereditários ligados ao material genético estão associados a maior risco para obesidade infantil ou risco cardiovascular aumentado. Além disso, pretendemos estudar como estas variações genéticas podem modificar as quantidades de algumas substâncias produzidas pelo seu organismo presentes no seu sangue. Isto poderá nos auxiliar no entendimento da obesidade infantil.

Após o seu consentimento e o assentimento do seu filho (a), preencheremos uma ficha clínica com os dados do seu filho(a) e, em seguida, realizaremos o exame físico com avaliação do peso, altura, medida da circunferência abdominal (barriga) e da pressão arterial. Após a consulta será realizada uma coleta de uma pequena mecha de cabelo e de 30 ml (duas colheres de sopa) de sangue venoso, acompanhada pelo responsável. Com a sua anuência, iremos acessar os dados de prontuários para obter resultados de outros exames que tenham sido feitos no serviço.

O sangue, cabelo e material genético (DNA) do seu filho (a) serão coletados, depositados, armazenados em um biorrepositório por dez anos sob responsabilidade do coordenador do projeto em Ribeirão Preto (SP). Após este período seu material genético poderá ser destruído. A qualquer momento você pode solicitar que suas amostras biológicas sejam devolvidas ou destruídas. O uso deste material será com fins unicamente de pesquisa relacionada à análise das informações genéticas contidas na amostra. O uso das amostras para outras pesquisas será feito mediante aprovação pelo comitê de ética e você será contatado para nova autorização.

Você e seu filho (a) tem garantido o conhecimento dos resultados obtidos com a utilização do material biológico e às orientações quanto as suas implicações, incluindo aconselhamento genético quando aplicável, a qualquer tempo.

Você e seu filho (a) tem direito à indenização caso ocorra dano decorrente de sua participação na pesquisa por parte do pesquisador e das instituições envolvidas nas diferentes fases da pesquisa.

Este estudo trará como risco o desconforto associado a perguntas e dor associada à coleta de sangue. Pode ocorrer formação de hematoma no local da punção. Se isto ocorrer, a equipe está orientada a aguardar sua absorção espontânea e utilizar compressas frias para amenizar a dor local. Se necessária será aplicada compressão oclusiva direta da artéria mais próxima do local da punção. Se ocorrer desconforto ao responder as perguntas, essas serão interrompidas e se necessário o pesquisador se dispõe a ouvir e acolher o participante neste momento.

Para participar deste estudo vocês não terão nenhum custo, nem receberão qualquer vantagem financeira. Vocês não receberão nenhum benefício direto deste estudo. Indiretamente, o benefício será o melhor entendimento dos fatores de risco associados à obesidade infantil através de avanços científicos que podem futuramente aprimorar a prevenção, detecção e tratamento dessa condição. Vocês serão esclarecidos sobre o estudo em qualquer aspecto que desejar e estarão livres para participar ou recusar a participar. Poderão retirar seu consentimento e assentimento ou interromper a participação a qualquer

1

ANEXO D

**MODELO DE FORMULÁRIO PARA RECORDATÓRIO 24 HORAS
OU REGISTRO ALIMENTAR**

Nome:
Data:

Idade: Sexo:
Hora em que acordou:

Refeição	Alimentos consumidos	Medidas caseiras	Observações
Desjejum Horário: Local:			
Colação Horário: Local:			
Almoço Horário: Local:			
Lanche da tarde Horário: Local:			
Jantar (ou lanche da noite) Horário: Local:			
Ceia Horário: Local:			

Hora em que foi dormir: _____

Qual horário do dia você sente mais fome? _____
Costuma procurar algum alimento neste horário? Qual (quais)? _____

Você tem o hábito de repetir refeições? Qual refeições? Qual quantidade de alimento ingerida nesses casos? _____

Você tem o hábito de "beliscar" alimentos durante o dia? Quais alimentos? Em que horário? _____

ANEXO E

Orientações gerais

Nome do paciente: Paciente Teste

- Atente aos sinais do seu corpo! Observe o funcionamento dele, como os alimentos reagem! Pratique consciência corporal.
 - Não esqueça de beber água! Esteja sempre com sua garrafinha cheia e perto de você! Essa é a melhor forma de lembrar de beber água. Mantenha-a por perto e sempre cheia!
 - Quando for se alimentar, coma devagar e mastigue muito bem os alimentos! Lembre-se sempre que a digestão se inicia na boca.
 - Atenção às medidas caseiras, elas são importantes para o cálculo das calorias. Evite exagerar. (todas as medidas vêm em colheres e o seu tamanho, ex: colher de chá. As informações que não vem descrita o tamanho, use como medida a colher de sopa).
 - Sempre que possível, prefira alimentos frescos e da época. Além de mais baratos, eles oferecem uma maior quantidade de nutrientes.
 - Quando for possível, escolha os alimentos orgânicos. Compre em feiras livres, mercadinhos etc.
 - Sempre olhe os rótulos dos alimentos e compare marcas. Atente-se sempre a lista de ingredientes, cuidado com os açúcares e produtos alimentícios escondidos nesses alimentos.
 - As ervas e especiarias adicionam um sabor incomparável aos alimentos além de ter um excelente valor nutricional, use e abuse delas. Tempere a salada e suas preparações com elas. Use cúrcuma, gengibre, pimenta preta, orégano, sálvia, cominho etc.
 - Também existem versões de temperos saudáveis e mix de temperos, você consegue comprar em casas de produtos naturais, como o chimichurri.
 - Consuma chás, cafés e sucos de preferência sem açúcar, caso ainda você esteja acostumado com o sabor, use o açúcar demerara ou mascavo (ambos são encontrados em casas de produtos naturais) ou mel e vá reduzindo aos poucos a sua quantidade.
 - Refrigerantes e guloseimas devem ser reduzidos ao máximo da sua rotina alimentar.
 - Os sucos podem ser ingeridos, mas com cuidado. Geralmente eles não trazem a saciedade que precisamos. Faça a ingestão esporadicamente e prefira os de baixa caloria, como o de maracujá e limão. E sempre naturais! Água saborizada é uma boa saída.
 - Evite beber durante a refeição para não atrapalhar a sua digestão. Se for um hábito, beba ao final da refeição e pouca quantidade.
-

- Quando for preparar suas refeições não utilize muito óleo. Uma dica é sempre medir em uma colher antes de colocá-lo na panela, use sempre uma colher de café.
- Ao escolher o azeite de oliva, dê preferência ao extravirgem.
- Varie o máximo a alimentação. Coma frutas e verduras diferentes e varie sempre as porções de proteína.
- Se organizar é a forma mais fácil de conseguir chegar ao objetivo.
- Eu estou à sua disposição! Sempre que aparecer uma dúvida, entre em contato comigo imediatamente.