

BIOTRANS

Programa de Pós-Graduação em
Biomedicina Translacional

Mestrado e Doutorado



Síndrome Metabólica e a diversidade bacteriana na microbiota oral humana

Mestrando: Carlos José Ferreira da Silva

Orientadora: Eidy de Oliveira Santos

Duque de Caxias

2020

Carlos José Ferreira da Silva

Síndrome Metabólica e a diversidade bacteriana na microbiota oral humana

Dissertação apresentada ao Programa em Biomedicina Translacional (BIOTRANS), como parte dos requisitos para a obtenção do Título de Mestre em Ciências Biomédicas.

Orientadora:

Prof^a. Eidy de Oliveira Santos

Duque de Caxias

2021

Carlos José Ferreira da Silva

Síndrome Metabólica e a diversidade bacteriana na microbiota oral humana

Profa. Dra. Eidy de Oliveira Santos
UEZO
Orientadora

Profa. Dra. Cláudia Maria Pereira
UNIGRANRIO

Profa. Dra. Jessica Many Bittencourt Dias Vieira
UEZO

Profa. Dra. Gizele Duarte Garcia
UFRJ - Macaé

Prof. Dr. Sergian Vianna Cardozo
Coordenador Geral do Programa
Pós-Graduação em Biomedicina Translacional-BIOTRANS

A Deus e aos Mestres por toda a proteção e orientação
A minha mãe cujo esforço e garra me permitiu trilhar tão longe
Ao meu irmão, e meus familiares que me apoiaram e incentivaram nessa jornada
Aos amigos que fiz nesse caminho e tornaram cada dia mais leve para se viver

Agradeço primeiramente a Deus e aos meus mestres espirituais por todo apoio, força, coragem serenidade e sabedoria necessária para prosseguir nessa jornada.

Aos meus pais, Marlene Gomes Ferreira (*in memoriam*) e Carlos José da Silva, ao meu irmão Carlos Vinicius Ferreira da Silva, ao meu tio Hugo José da Silva, a minha avó Helena Pereira da Silva (*in memoriam*) e ao meu amigo Rafael Carvalho por todo o suporte e apoio emocional que me foi dado.

À professora Eidy de Oliveira Santos, pela sua orientação, amizade, apoio, incentivo, companheirismo e paciência. Agradeço imensamente por toda ajuda e conselhos, por todas as dicas e ensinamentos e por toda amizade que construímos.

A todos os professores do programa de Pós-graduação Biotrans e pelos ensinamentos e conselhos ofertados nessa jornada e pelo enriquecimento científico e de mundo que me trouxeram.

A todos os meus amigos Carlos Roberto, Juliana Rosa, Tiago Nascimento, Ricardo Ramada, Daniel, Tamara, Danielle Voigt. Danielle Rodrigues, Elisangela, Samira, Gabriela.

Aos laboratórios de Bioquímica, de Fisiologia e Microbiologia da Uezu. Ao LabGen e ao LAMP e a todos os meus amigos e colaboradores que neles trabalham.

Aos voluntários que participaram do estudo.

Aos órgãos de fomento, Capes, CNPq e Faperj pelo apoio financeiro

A todas as pessoas que me ajudaram direta e indiretamente não só no mestrado, mas em toda a minha vida.

“A conquista da liberdade é algo que faz tanta poeira que,
por medo da bagunça, preferimos,
normalmente, optar pela arrumação.”

Carlos Drummond de Andrade

RESUMO

A síndrome metabólica é definida como um conjunto de quadros clínicos composto por dislipidemia, baixa de HDL, obesidade central, glicemia elevada e hipertensão arterial, que predis põem um indivíduo ao risco de desenvolver doenças crônicas como diabetes mellitus tipo 2, resistência à insulina e doenças cardiovasculares. Estima-se que a prevalência mundial é de cerca de 25% da população, contudo esse valor pode ser superior, uma vez que não há uma unanimidade sobre como os fatores constituintes da síndrome metabólica devem ser analisados ou atribuídos para constituir a síndrome. A obesidade, principal doença deflagradora da síndrome metabólica, é caracterizada como uma doença crônica inflamatória não contagiosa que também pode induzir outras comorbidades como doenças cardiovasculares, hipertensão e diabetes mellitus tipo 2. O objetivo desse estudo é avaliar de forma comparativa uma população de indivíduos adultos com e sem síndrome metabólica, considerando aspectos sociodemográficos, clínicos, o estado nutricional (de acordo com o Índice de Massa Corporal) e a composição bacteriana da microbiota oral. Para este fim foram coletadas amostras de saliva de 103 voluntários, sendo os mesmos categorizados inicialmente conforme suas medidas antropométricas em peso normal, sobrepeso ou obeso. Os voluntários responderam a questionários anamnésicos e foram submetidos à coleta de saliva, exame sanguíneo e clínico. Os metagenomas da saliva foram extraídos, seguindo-se amplificação do 16S rDNA e illumina sequenciamento. Como resultado, observamos que a maioria dos fatores antropométricos (com exceção da altura e sexo) e clínicos (excetuando o HOMA- β e creatinina) podem ser potenciais indicadores da Síndrome. Quanto a microbiota, as bactérias dos gêneros *Desulfomicrobium*, *Prevotella*, *Shinella*, *Leuconostoc* e *Cobetia* também se mostraram possíveis bioindicadores da doença. Já os gêneros *Gp16*, *Anaerovorax*, *Geminicoccus* e *Nocardia* foram mais abundantes no grupo controle, podendo estar relacionados com a proteção contra a síndrome.

Palavras-chaves: Síndrome Metabólica, Microbioma oral, Metagenômica, Índice de Massa Corporal.

ABSTRACT

Metabolic syndrome is defined as a set of clinical conditions consisting of dyslipidemia, low HDL levels, central obesity, high blood glucose and arterial hypertension, which predispose an individual to the risk of developing chronic diseases such as type 2 diabetes mellitus, insulin resistance and cardiovascular diseases. It is estimated that the worldwide prevalence is about 25% of the population, however this value may be higher, since there is no unanimity on how the constituent factors of the metabolic syndrome should be analyzed or attributed to constitute the syndrome. Obesity, the main disease triggering the metabolic syndrome, is characterized as a non-contagious chronic inflammatory disease that can also induce other comorbidities such as cardiovascular disease, hypertension and type 2 diabetes mellitus. A population of adult individuals with and without metabolic syndrome, considering sociodemographic and clinical aspects, nutritional status (according to the Body Mass Index) and the bacterial composition of the oral microbiota. For this purpose, saliva samples were collected from 103 volunteers, who were initially categorized according to their anthropometric measurements into normal weight, overweight or obese. Volunteers answered anamnestic questionnaires and underwent saliva collection, blood and clinical examination. Saliva metagenomes were extracted, followed by 16S rDNA amplification and Illumina sequencing. As results, major of the anthropometric (except for height) and clinical factors (except for HOMA- β and creatinine) showed potentiality as indicators for the Syndrome. In microbiomes, bacteria from *Desulfomicrobium*, *Prevotella*, *Shinella*, *Leuconostoc* and *Cobetia* genus showed putative use as metabolic syndrome bioindicators. But the *Gp16*, *Anaerovorax*, *Geminicoccus* e *Nocardia* genus, that were more abundant in the control group, could be probably related to the syndrome protection.

Keywords: Metabolic Syndrome, Oral microbiome, Metagenomics, Body Mass Index

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Distribuição da população mundial de acordo com o IMC Adaptado de Our World in Data, 2016	10
Figura 2: Casos de óbito causadas pela obesidade. Adaptado de Our World in Data, 2017.	13
Figura 3: Distribuição da diversidade microbiana por sítio. Adaptado de HUTTENHOWER et al. 2012.....	15
Figura 4: Doenças não infecciosas e a microbiota humana. Adaptado de WANG et al 2017.	17
Figura 5: Principais classes bacterianas da microbiota oral humana. Adaptado de SAEB et al, 2019.....	188
Figura 6: Comparação da abundância relativa da microbiota oral em indivíduos normais, com pré-diabetes e diabéticos. Adaptado de SAEB et al, 2019	20
Figura 7: Distribuição dos voluntários segundo estado nutricional e presença de SM.....	29
Figura 8: Gráfico de PCA dos dados dos voluntários	33
Figura 9: Distribuição dos filós bacterianos nos metagenomas salivares dos voluntários	366
Figura 10: PCA da microbiota dos voluntários	39
Figura 11: Perfil microbiano dos voluntários	42
Figura 12: PCA dos dados microbianos e dos voluntários	47

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Fatores associados a Síndrome Metabólica, de acordo com as diferentes organizações de saúde mundiais.....	4
Tabela 2: Prevalência de Síndrome Metabólica no Brasil.....	7
Tabela 3: Classificação do estado nutricional, de acordo com o Índice de Massa Corporal	9
Tabela 4: Classificação de nível de risco da Relação Cintura Quadril (RCQ).....	9
Tabela 5: Dados sociodemográficos dos voluntários GC e SM	30
Tabela 6: Dados antropométricos dos voluntários.....	311
Tabela 7: Dados clínicos dos voluntários com e sem Síndrome Metabólica.....	322
Tabela 8: Valores de comunalidade dos parâmetros avaliados da população estudada.	344
Tabela 9: Valores de comunalidade dos filotaxas da microbiota estudada.....	40
Tabela 10: Valor das comunalidades da análise conjunta	47

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

α -MSH- Hormônio estimulante de a-melanócito

χ^2 - Qui-Quadrado

μ U/ml- Microunidade por mililitro

AACE- *American Association of Clinical Endocrinologists*

AHA- *American Heart Association*

ATPIII- *Adult Treatment Panel III*

BVSMS- Biblioteca Virtual em Saúde do Ministério da Saúde

CT- Colesterol total

cm- Centímetros

dl- Decilitro

DCV- doenças cardiovasculares

DMT2- diabetes mellitus tipo 2

EDTA- Ethylenediamine tetraacetic acid

EGIR- European Group for the Study of Insuline Resistance

FAA- Fastidius Anaerobe Agar

fto gene codificante da Fat mass and Obesity-associated protein – dioxigenase dependente de a-cetoglutarato

GC- Grupo controle

HDL- Lipoproteína de alta densidade, do inglês *high density lipoprotein*

HOMA-IR- Homeostasis model assessment – insulin resistance

HOMA β - Homeostatic model assessment of β cell function

IG- Intolerância à glicose

IMC- Índice de massa corporal

IRX3- Iroquois homeobox gene 3

IRX5- Iroquois homeobox gene 5

Kg- Quilograma

Kg/m²- Quilograma por Metro quadrado

LDL- Low density protein

LDL/HDL- Low density protein por High Density Lipoprotein

lep- genes codificadores da leptina

lepR- genes codificadores do receptor da leptina

mA- Miliampere

m- Metros

m²- Metros quadrados

mc4R- gene codificador do receptor de melanocortina 4

mg- Miligrama

mg/dl- Miligrama por decilitro

MG-RAST- Metagenomics-Rapid Annotations Subsystems Technology

mmHg- Milímetros de mercúrio

NCEP- National Cholesterol Education Program

OB- Obeso

PAS- Pressão arterial sistólica

PAD- Pressão arterial diastólica

PCR- Reação em cadeia da Polimerase, do inglês *polymerase chain reaction*

PIB- Produto interno bruto

pomC- Pró-opiomelanocortina

PN- Peso normal

RCQ- Relação cintura por quadril

RI- resistência à insulina

SM- Síndrome Metabólica

SP- Sobrepeso

TG- Triglicerídeos

Vigitel- Vigilância de Fatores de Risco e Proteção de Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico

VLDL- Very low-density protein

VLDL/HDL- Very low-density protein por High Density Lipoprotein

WHO- World Health Organization

Sumário

1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1 Síndrome Metabólica	3
2.2 Obesidade	7
2.3 Microbiota Humana	13
2.3.1 Microbiota oral	17
2.4 Microbiota e Síndrome Metabólica	20
3. Objetivos	22
3.1 Objetivo Geral	22
3.2 Objetivos Específicos	22
4. Material e Métodos	22
4.1 Grupo de estudo	22
4.2 Anamnese sociodemográfica	23
4.3 Avaliação Clínica	24
4.3.1 Exame antropométrico	24
4.3.2 Aferição da pressão arterial	24
4.3.3 Análise Bioquímica	25
4.4 Coleta de saliva e caracterização da microbiota	26
4.4.1 Análise independente de cultura da diversidade microbiana	26
4.5 Análise de dados	27
5. Resultados	28
5.1 Triagem e classificação nutricional dos voluntários	28
5.2 Análises socioambientais e antropométricas	29
5.3 Análises Clínica	31
5.4 Análise multivariada dos dados sociodemográficos e clínicos	32
5.5 Análise da microbiota salivar	34
5.6 Análise multivariada de todos os dados	46
6. Discussão	49
6.1 Dados sociodemográficos da população estudada	49
6.2 Fatores de risco associados a Síndrome Metabólica	50
6.3 Fatores clínicos e bioquímicos	52
6.4 Microbiomas salivares e síndrome metabólica	52
7. Conclusão	55
8. Referências	56

9. Anexo.....	64
9.1 Anexo 1	64
9.2 Anexo 2	68
10. Apêndice	6470

1. INTRODUÇÃO

A síndrome metabólica (SM), segundo a Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia (2008) e a *American Heart Association* (AHA) (2016), é um agrupamento de cinco quadros clínicos associados a disfunções metabólicas. Para alguém ser diagnosticado com SM deve apresentar pelo menos três dos cinco fatores associados a doença. Estes quadros clínicos são: (i) obesidade abdominal, na qual os homens apresentam circunferência abdominal acima de 102 cm e as mulheres circunferência acima de 88 cm; (ii) nível glicêmico igual ou maior que 110 mg/dl ou ser diagnosticado com diabetes mellitus tipo 2 (DMT2); (iii) triglicérides acima de 150 mg/dl; (iv) lipoproteína de alta densidade (HDL), sendo menor que 40 mg/dl para homens e 50 mg/dl para mulheres; (v) hipertensão, com pressão arterial sistólica (PAS) e pressão arterial diastólica (PAD) iguais ou maiores que 130 mmHg e 85 mmHg, respectivamente.

Por se tratar de uma síndrome que reúne cinco fatores clínicos anteriores, muitos dos estudos estão relacionados a prevalência, tratamento e epidemiologia de cada um dos fatores independentemente, contudo a estimativa é de que um quarto da população mundial esteja com Síndrome Metabólica (SAKLAYEN, 2018). Outros aspectos que dificultam uma estimativa mais próxima do real é o fato de que os valores clínicos descritos para cada um dos quadros clínicos que compõem a SM mudam de acordo com o sexo, a etnia e com a classificação de cada organização de saúde, a exemplo, *World Health Organization* (WHO), *European Group for the Study of Insuline Resistance* (EGIR), *American Association of Clinical Endocrinologists* (AACE) e *Adult Treatment Panel III* (ATPIII) no *National Cholesterol Education Program* (NCEP) (DELVARI *et al*, 2009; SAMSON & GARBER 2014).

A obesidade, uma das principais doenças associadas à SM, é classificada como uma doença crônica inflamatória não contagiosa (BVSMS, 2000; WHO, 2000), que também pode induzir outras comorbidades como doenças cardiovasculares, hipertensão e DMT2 (BERG, 2005; MOZAFFARIAN, 2016). Estudos apontam que a prevalência da obesidade quase triplicou entre os anos de 1975 e 2016. Mais de 1,9 bilhão de pessoas adultas no mundo com 18 anos de idade ou mais estão com

sobrepeso e 650 milhões estão obesas, compreendendo respectivamente a 39% e 13% dos adultos do mundo (WHO, 2018).

Desde a elaboração da Teoria do Holobionte por Lynn Margulis, em 1991, diversos estudos defendem que para entender as características de cada indivíduo, é preciso levar em consideração as características dos microrganismos que vivem associados a eles. Esses organismos evoluem em conjunto e não de maneira independente. O interesse em entender estes processos de coevolução estimulou estudos de caracterização dos microbiomas humanos, por métodos dependentes e independentes de cultura (ROSENBERG e ROSENBERG, 2016). Neste contexto, estudos revelaram que a microbiota oral é composta por 600 a mais de 700 espécies bacterianas, variando de acordo com a técnica empregada na caracterização e de indivíduo para indivíduo (DEWHIRST *et al.*, 2010). Entretanto, apesar de sua diversidade descrita, ela foi pouco estudada quanto ao seu papel na manutenção da saúde ou associado a doenças não infecciosas. Estudos mais recentes avaliam a correlação entre a variação do microbioma bucal e algumas dessas doenças, como a DM2 (OGAWA *et al.*, 2017), a obesidade (TAM *et al.*, 2018) e a SM (SI *et al.*, 2017), abrindo a perspectiva para novas pesquisas nessa área. Esses estudos também apontam que a obesidade altera a diversidade microbiana bucal, causando uma disfunção da microbiota residente, o que pode ter influência na manutenção do quadro de obesidade, contribuindo também para o desenvolvimento da DM e da SM (SI *et al.*, 2017; TAM *et al.*, 2018).

Neste trabalho, o principal objetivo é investigar potenciais marcadores microbiológicos, clínicos e demais fatores associados a Síndrome Metabólica através da avaliação comparativa de uma população de indivíduos adultos com SM contra indivíduos saudáveis do grupo controle. Foram avaliados dados sociodemográficos, antropométricos e outros parâmetros clínicos da população estudada, residente do Estado do Rio de Janeiro. A diversidade bacteriana da saliva de alguns indivíduos também foi caracterizada para investigar a possível relação de causa/efeito da doença com o microbioma salivar.

2.REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Síndrome Metabólica

A SM é definida como um conjunto de quadros clínicos que predis põem um indivíduo ao risco de desenvolver doenças crônicas como DMT2, resistência à insulina (RI) e doenças cardiovasculares (DCV), comumente levando a uma péssima qualidade de vida e em alguns casos a morte. Tais processos podem estar relacionados a uma predisposição genética do indivíduo. Contudo, os fatores que mais impactam no desenvolvimento dessa síndrome são geralmente classificados como externos ao indivíduo, por exemplo, a inadequação alimentar e a inatividade física, que podem ser considerados indicadores de uma vida sedentária e de uma propensão ao desenvolvimento da obesidade e comorbidades associadas a ela (BOTET *et al*, 2018). Os quadros clínicos deflagradores da SM são: (i) a dislipidemia, que é caracterizada pelo desbalanço e acúmulo de triglicerídeos no corpo; (ii) disfunção de HDL, no qual a lipoproteína está no valor abaixo do estabelecido para uma boa qualidade de vida ocasionando uma baixa na sua função de transporte de triglicerídeos; (iii) hiperglicemia, que por sua vez trata-se de uma elevada taxa de glicose circulante no sangue, podendo este fator ser substituído pela resistência à insulina ou até pela DMT2; (iv) a hipertensão, sendo o quadro clínico que mais afeta o corpo quanto a risco de desenvolvimento de complicações cardiovasculares mais graves e que em conjunto com a dislipidemia favorece quadros agudos de trombose sistêmica e inflamações generalizadas; (v) e o alto valor de circunferência abdominal, que algumas vezes é substituída pela relação cintura quadril (RCQ) ou até mesmo pelo índice de massa corpórea (IMC), que aponta a tendência do indivíduo a acumular ácidos graxos no tecido adiposo visceral (Tabela 1) (SAMSOM & GARBER, 2014).

Tabela 1: Fatores associados a Síndrome Metabólica, de acordo com as diferentes organizações de saúde mundiais

Organização	WHO	EGIR	NCEP/ATPIII	AACE	AHA/NHLBI/ ADA Atualização NCEP/ATPIII	IDF	Definição Combinada ¹
Ano	1999	1999	2001	2003	2004	2005	2009
Quantidade de Fatores de Risco	IG/DMT2/ ou Resistência à Insulina + 2 fatores	Resistência à Insulina + 3 fatores ou mais	3 ou mais fatores	Intolerância a glicose + qualquer um dos fatores	3 ou mais fatores	Obesidade + 2 fatores	3 ou mais fatores
Obesidade	Relação Cintura/Quadril >0,9 H e >0,85 M ou IMC .30,0 Kg/m ²	Circunferência da Cintura ≥94 cm H e ≥80 cm M	Circunferência da Cintura ≥102 cm H e ≥88 cm M	IMC ≥25 Kg/m ²	Circunferência da Cintura ≥102 cm H e ≥88 cm M	Circunferência da Cintura ≥94 cm H (ou ≥90 cm H asiáticos) e ≥80 cm M	Varia de acordo com a etnia
Dislipidemia	HDL <0,91 mmol/L H (35 mg/dL) <1,0 mmol/L M (<39 mg/dL) TG 1,7 mmol / L (150 mg / dL)	HDL <1.0 mmol/L (39 mg/dL) TG 2.0 mmol/L (177 mg/dL) ou em tratamento	HDL <1.0 mmol/L H (40 mg/dL) <1.3 mmol/L M (50 mg/dL) TG 1.69 mmol/L (150 mg/dL)	HDL <1.0 mmol/L H (40 mg/dL) <1.3 mmol/L M (50 mg/dL) TG 1.69 mmol/L (150 mg/dL)	HDL <1.0 mmol/L H (40 mg/dL) <1.3 mmol/L M (50 mg/dL) TG 1.69 mmol/L (150 mg/dL) ou em tratamento	HDL <1.0 mmol/L H (40 mg/dL) <1.3 mmol/L M (50 mg/dL) TG 1.7 mmol/L (150 mg/dL) ou em tratamento	HDL <1.0 mmol/L H (40 mg/dL) <1.3 mmol/L M (50 mg/dL) TG 1.7 mmol/L (150 mg/dL) ou em tratamento

Glicemia	DMT2 Glicose em jejum >6.1 mmol/L (110 mg/dL)	Sem DMT2 Glicose em jejum >6.1 mmol/L (110 mg/dL)	DMT2 Glicose em jejum 6.1 mmol/L (110 mg/dL)	Sem DMT2 Glicose em jejum 6.1 mmol/L (110 mg/dL)	DMT2 Glicose em jejum 5.6 mmol/L (100 mg/dL)	DMT2 Glicose em jejum 5.6 mmol/L (100 mg/dL)	Glicose em jejum 5.6 mmol/L (100 mg/dL) ou em tratameto
Pressão Arterial	PAS 140 PAD 90	PAS 140 PAD 90 ou em tratamento	PAS 130 PAD 85	PAS 130 PAD 85	PAS 130 PAD 85 ou em tratamento	PAS 130 PAD 85 ou em tratamento	PAS 130 PAD 85 ou em tratamento
Fatores Adicionais	Microalbuminuria 20 mg/min Albumina/creatinina 30 mg/g	X	X	Resistencia a insulina (histórico familiar, Idade, etnia, estilo de vida, SOP)	X	X	X

Legenda: WHO, World Health Organization; EGIR, European Group for the Study of Insulin Resistance; NCEP, National Cholesterol Education Program; ATPIII, Adult Treatment Panel III; AACE, American Association of Clinical Endocrinologists; AHA, American Heart Association; NHLBI, National Heart, Lung and Blood Institute; ADA, American Diabetes Association; IDF, International Diabetes Federation; IG, Intolerância à glicose; DMT2, Diabetes Mellitus Tipo 2; H, Homens; M, Mulheres; IMC, Índice de Massa Corporal; HDL, High Density Lipoprotein; PAS, pressão arterial sistólica; PAD, pressão arterial diastólica; SOP, Síndrome do Ovário Policístico.

¹ Definição conjunta elaborada pelos órgãos AHA/NHLBI, IDF, World Heart Federation, International Atherosclerosis Society e International Association for the Study of Obesity.

Adaptado de SAMSON & GARBER (2014)

Um estudo de metanálise sobre a SM indicou o alto risco de desenvolvimento de doenças crônicas como as citadas acima, sendo que a DMT2 e a DCV demonstram maior taxa de aumento de risco. DCV pode ter seu risco dobrado na presença da SM e apresentar risco de morte aumentado em pelo menos 1,5 vezes para cada um dos fatores da SM possuídos (MOTTILLO *et al*, 2010). A DMT2 também apresentou um aumento na sua taxa de risco de acordo com a presença de cada um dos cinco fatores associados a SM (WILSON *et al*, 2005), podendo variar entre 3,5 e 5,2 vezes maior as chances do indivíduo portador desses fatores em desenvolver a DMT2 (FORD *et al*, 2008).

A SM, assim como a obesidade, constitui-se por quadros patológicos crônicos cujos efeitos apresentam alto grau de similaridade quando comparadas, as suas capacidades de predispondo o indivíduo a desenvolver um conjunto de comorbidades e que ao longo do tempo gerou uma alta taxa de prevalência mundial das mesmas. Ambas as doenças possuem etiologias semelhantes, como o desenvolvimento e acúmulo de tecido adiposo visceral levando ao surgimento da obesidade abdominal, que por sua vez está relacionada diretamente ao aumento dos níveis séricos de glicose, alta de triglicerídeos e baixa de HDL, e ao risco de desenvolvimento de acidentes cardiovasculares (TEIXEIRA *et al*, 2015). Outro fator patológico comumente induzido pelas duas doenças é a resistência à insulina (RI), resultante da alta taxa de glicose circulante no sistema é da progressiva perda de sensibilidade à insulina devido a hiperprodução escalonada da mesma na tentativa de sobrepujar os níveis de glicose elevados (LIOUDAKI *et al*, 2012).

Em 2015 a prevalência da SM em nível mundial foi estimada em uma taxa de aproximadamente 25% da população (O'NEILL & O'DRISCOLL, 2015), no entanto esse valor pode variar de acordo com a nação, idade, sexo e etnia (KAUR, 2014). Além disso, diversas Organizações Mundiais discordam quanto a alguns critérios antropométricos e clínicos como indicadores da doença. Tanto WHO, IDF 4, ou NCEP-ATPIII, podem distinguir-se a nível de qual critério foi usado, medidas de obesidade central, valores para hipertensão arterial, alteração glicêmica, volume de triglicerídeo corrente no organismo e valores de HDL além das atribuições desses mesmos quesitos em relação ao sexo idade ou etnia (YEBOAH *et al*, 2017).

No Brasil, estudos sobre a prevalência da SM apontaram que os brasileiros têm o hábito de não praticar atividade física de forma contínua, facilitando o desenvolvimento da obesidade central, sendo que 98,1% dos

participantes foram classificados como sedentários. Desse total 53,8% dos voluntários apresentavam excesso de peso. Dentre todos os cinco fatores que preconizam o desenvolvimento da SM, as mulheres apresentaram o valor mais alto para cada um, exceto o valor de pressão arterial no qual os homens demonstraram uma maior prevalência (RAMIREZ *et al*, 2018) (Tabela 2).

Tabela 2: Prevalência de Síndrome Metabólica no Brasil.

Fatores da SM	Voluntários					
	Total N = 59.402		Masculino N = 25.920		Feminino N = 33.482	
	%	IC 99%	%	IC 99%	%	IC 99%
Pressão Arterial (mmHg)	40,7	39,6 – 41,7	46,9	45,5 – 48,3	34,9	33,7 – 36,3
Circunferência de Cintura (cm)	65,2	64,4 – 65,9	55,6	54,0 – 57,1	73,9	72,7 – 75,0
Diabetes	7,1	6,6 – 7,6	6,3	5,6 – 7,2	7,8	7,1 – 8,5
Dislipidemia	14,7	14,0 – 15,5	11,9	10,9 – 13,1	16,9	16,0 – 17,9
Quantidade de Fatores						
0	23,8	22,9 – 24,7	28,0	26,7 – 29,4	19,9	18,8 – 21,1
1	38,1	37,2 – 39,0	34,8	33,5 – 36,2	41,0	39,8 – 42,3
2	29,2	28,3 – 30,1	29,7	28,4 – 31,0	28,7	27,6 – 29,9
3	7,5	7,1 – 8,1	6,5	5,8 – 7,3	8,5	7,8 – 9,3
4	1,4	0,9 – 1,2	1,0	0,7 – 1,3	1,8	1,5 – 2,2
Portadores da SM	8,9	8,4 – 9,5	7,5	6,7 – 8,3	10,3	9,6 – 11,2

Legenda: N, número de voluntários; IC 99%, intervalo de confiança de 99%.

Adaptado de RAMIREZ *et al* (2018)

2.2 Obesidade

A obesidade é definida como um aumento da massa corporal acompanhado de acúmulo de tecido adiposo que culmina em uma inflamação sistêmica crônica de leve à moderada (NCD Risk Factor Collaboration, 2016). Ela está relacionada a

outras patologias sistêmicas como a DMT2, doenças cardiovasculares e também a alguns tipos de câncer (WILLIANS *et al*, 2015). Algumas dessas comorbidades decorrentes do ganho de peso, são processos fisiopatológicos característicos também da SM (ALBERTI, K. G. *et al*, 2009).

O acúmulo de ácido graxo é consequência de um desequilíbrio entre o consumo e o gasto energético de um indivíduo. E, portanto, a obesidade não só é o acúmulo energético do consumo excessivo de alimentos como também o resultado de uma baixa taxa de atividade física (SELLAYAH *et al*, 2014). Fatores adicionais devem constar nessa equação, como o ambiente, posição socioeconômica, interações e predileções pessoais e interpessoais expressões genótípicas e fenotípicas do indivíduo, uma vez que cada um desses fatores impacta direta ou indiretamente no ganho massa corporal e conseqüentemente, no desenvolvimento da obesidade (BHUPATHIRAJU & HU, 2014). A ingestão de calorías, armazenamento e oxidação de ácidos graxos, assim como a regulação neuroendócrina do organismo, desempenham papel importante na homeostase corporal, podendo afetar e serem afetados por fatores como qualidade do sono, temperatura do ambiente, alimentação, exercícios físicos, alterações epigenéticas e pela microbiota intestinal (MCALLISTER, *et al*, 2009; MARTINEZ, 2016).

A heterogeneidade dos indivíduos obesos também é apontada como um complicador de estudos que buscam determinar métodos eficazes de tratamento e prevenção. A obesidade pode ser caracterizada de forma subcutânea, em que o excesso de gordura se encontra depositado em partes localizadas do corpo sendo geralmente quadril e coxas, ou na forma visceral na qual a gordura se deposita predominantemente na porção abdominal do corpo (MUNIESA *et al*, 2017). No intuito de amenizar as discrepâncias ocasionadas devido às variações no acúmulo de tecido adiposo, foram desenvolvidos distintos métodos para a diagnóstico da doença: (i) o IMC, que embora impreciso, é o método de avaliação preconizado pelas instituições de saúde (JAVED *et al*, 2015), sendo baseado no cálculo estimativo da adiposidade através da medição da massa corporal do indivíduo em quilogramas (Kg) dividida pelo quadrado de sua altura em metros (m^2). Segundo a WHO, o IMC classifica o indivíduo como desnutrido quando apresentar IMC abaixo de $18,5 \text{ Kg}/m^2$, com peso normal apresentando valores entre $18,5$ e $24,9 \text{ Kg}/m^2$, com sobrepeso portando valores entre 25 e $29,9 \text{ Kg}/m^2$, e em três graus de obesidade quando o IMC estiver maior ou igual a $30 \text{ Kg}/m^2$ (Tabela 3) (DESPRÉS,

2012); (ii) a medição da RCQ é outro método bastante utilizado para definir a obesidade, assim como o risco de infarto do miocárdio, que consiste, segundo o Ministério da Saúde e a WHO, da aferição da circunferência abdominal na linha da cintura dividido pela circunferência do quadril (CAO *et al*, 2018), no qual os valores para uma mulher saudável devem ser igual ou menor que 0,85 e para um homem saudável igual ou menor a 0,9 (Tabela 4) (WHO, 2008; Ministério da Saúde, 2017).

Tabela 3: Classificação do estado nutricional, de acordo com o Índice de Massa Corporal

Estado Nutricional	IMC (kg/m ²)
Baixo peso	≤18,5
Peso normal	18,5 - 24,9
Sobrepeso	25 - 29,9
Obesidade grau 1	30 - 34,9
Obesidade grau 2 (severa)	35 - 39,9
Obesidade grau 3 (mórbida)	≥40

Legenda: IMC, Índice de Massa Corpórea; kg/m², quilograma dividido pelo quadrado da altura em metros

Adaptado de DESPRÉS, 2012

Tabela 4: Classificação de nível de risco da Relação Cintura Quadril (RCQ).

Risco de saúde	Homens	Mulheres	Formato do corpo
Baixo	≤0,90	≤0,80	Pêra
Moderado	0,91 - 0,95	0,81 - 0,85	Abacate
Alto	≥0,96	≥0,86	Maça

Legenda: Quaisquer valores ≥ 1,00 para ambos os sexos é considerado de altíssimo risco para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares.

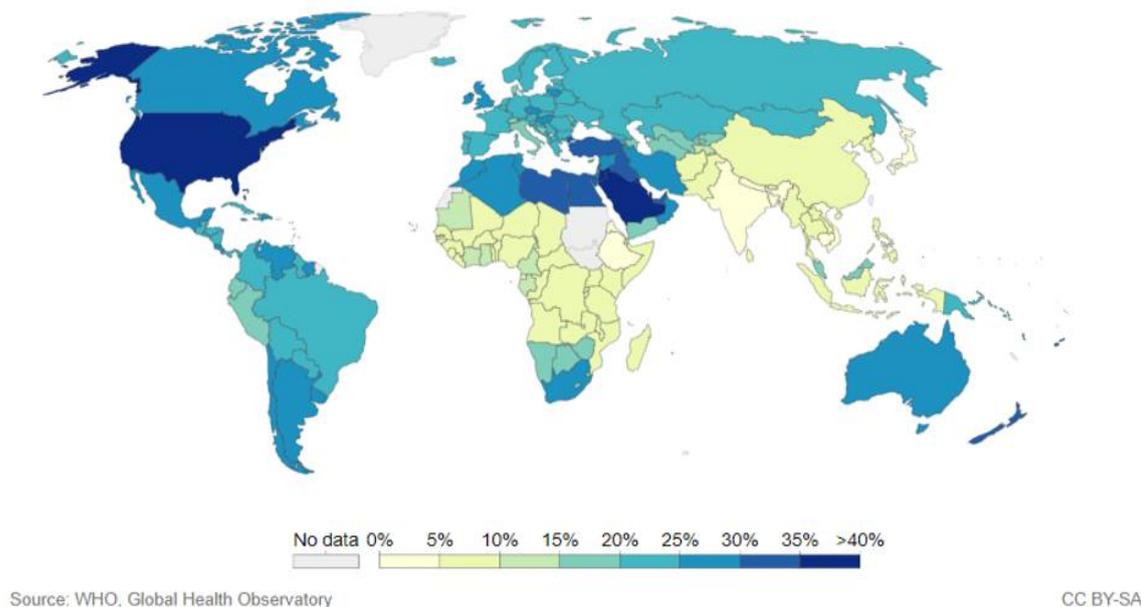
Adaptado de MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2017.

Segundo a WHO, nos últimos 10 anos o número de pessoas acima do peso aumentou para mais de 2,5 bilhões de indivíduos adultos no mundo, estando alocados, segundo os padrões do IMC, como portadores de sobrepeso ou

obesidade, perfazendo 32,45% da população mundial (WHO, 2018), indo contra os valores investidos em pesquisa em saúde ao redor do mundo, equivalente ao total de 2,8% do produto interno bruto (PIB) mundial, cerca de U\$ 2 trilhões (Dobbs *et al*, 2014).

A prevalência mundial para adultos (mais 18 anos) com sobrepeso e obesidade é de, respectivamente, 1,9 bilhões de indivíduos (39%), e 650 milhões de indivíduos (13% da população) (Figura 1) (WHO 2018). A maioria dos indivíduos nesta estimativa eram do sexo feminino tanto para sobrepeso como para obesidade, onde 14,9% das mulheres no mundo eram obesas, contrastando com os 10,8% de homens obesos no mundo (NG *et al*, 2013). Os fatores que mais impactam na distribuição mundial são a cultura local do país e a renda *per capita* ou familiar, que quanto menor, maior será a propensão a apresentar ambos os biótipos (AMEYE & SWINNEN). Estimativas futuras não indicam uma melhora nesse quadro apontando que, em 2030, 3,3 bilhões de pessoas (57,8%) da população mundial, apresentará valor de superior ao do inicial para sobrepeso (25,0 kg/m²) (KELLY *et al*, 2008).

Figura 1: Distribuição da população mundial de acordo com o Índice de Massa Corporal.



Legenda: Porcentagem da população com IMC igual ou superior a 25,0 kg/m² por nação
Adaptado de *Our World in Data*, 2016.

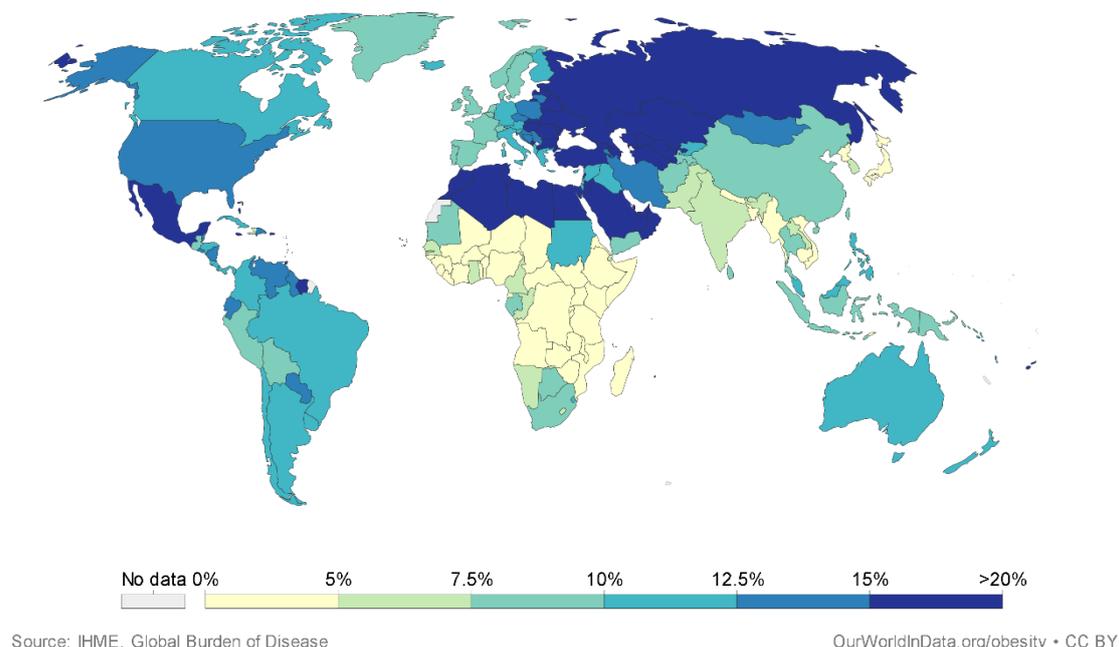
No Brasil, por sua vez, foi observado um crescimento progressivo e preocupante da obesidade ao longo de 13 anos (de 2006 a 2018), que apresentava, no primeiro ano, o valor de 11,8% da população brasileira como possuidores de obesidade, indo para 19,8% no último ano da aferição, valores que representam o aumento real de 67,8% de obesidade na população brasileira considerando as taxas de óbito e nascimento nacional nesse período. Quanto à distribuição, a nível de gênero, manteve-se a tendência global em que as mulheres apresentaram valores maiores de obesidade que os homens, cujos valores para ambos na última aferição de obesidade feitas pela Vigilância de Fatores de Risco e Proteção de Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico (VIGITEL) do Ministério da Saúde de 2018 é de, respectivamente, 20,7% e 18,7%. Foi constatado pela VIGITEL, após avaliação, que a população brasileira apresentou um aumento de 42,6% no de indivíduos com sobrepeso em 2006 para 55,7% em 2018, representando um aumento real de 30,8%. E quando verificado a distribuição do aumento de peso segundo o sexo dos indivíduos verificou-se que as mulheres apresentaram um crescimento de 40% ao longo desse período, já os homens apresentaram para o mesmo período um crescimento de 21,7% (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2008).

Para contornar essa situação, seja âmbito nacional ou global, foram implementados esforços em pesquisa e saúde no intuito de buscar alvos terapêuticos e farmacológicos para o tratamento e prevenção tanto da obesidade quanto do sobrepeso. Uma dessas abordagens é o estudo das alterações gênicas, identificando com sucesso algumas das mutações monogênicas relacionadas a obesidade, que estão mais presentes em populações consanguíneas. Dentre elas as mutações mais estudadas são as que ocorrem no *mc4R* (gene codificador do receptor de melanocortina 4), *lep* e *lepr* (genes codificadores da leptina e do receptor da leptina) (SAEED *et al*, 2015), *fto* (gene codificante da *Fat mass and Obesity-associated protein* – dioxigenase dependente de alfa-cetoglutarato) (FRAYLING *et al*, 2007) e *pomC* (pró-opiomelanocortina) (MEYERS & LEIBEL, 2015). O *mc4R*, quando alterado, deixa de receber ou faz uma ligação ineficiente com o hormônio estimulante de α -melanócito (α -MSH) deixando de inibir a fome, uma vez que ele atua via estímulo e sinergicamente com a leptina como hormônios anorexígenos, estando essa mutação representando 5% das causas da obesidade mórbida. As mutações no *lep* e no *lepr* afetam de forma similar ao anterior no comportamento do organismo quanto ao controle da fome e da massa corporal,

contudo de forma mais acentuada, uma vez que a leptina, hormônio anorexígeno secretado pelos adipócitos, além de controlar o centro da fome também estimula a produção do hormônio α -MSH que também atua neste processo, onde estas variáveis polimórficas podem impactar dificultando ou até anulando a atuação desses hormônios. Já o *fto*, ou gene Associado a Obesidade e Tecido Adiposo, quando mutado promove uma alteração das vias de IRX3 e IRX5 (genes iroquois homeobox 3 e 5) aumentando o acúmulo energético em forma de lipídio nos tecidos adiposos bege e diminuindo a termogênese mitocondrial no tecido adiposo marrom, dificultando assim a manutenção da massa corporal, levando ao aumento do peso (SMEMO *et al*, 2014). E por sua vez o gene *pomC* que é um polipeptídeo do qual sua clivagem forma outros peptídeos importantes para a homeostase do corpo, dentre eles o α -MSH, que quando alterado promove a síntese disfuncional do hormônio e dos demais peptídeos como o hormônio adrenocorticotrófico desacelerando o metabolismo induzindo a um acúmulo energético e aumento de adipócitos (VAN DER KLAUW & FAROOQI, 2015).

Outro ponto a salientar na obesidade é o fator comorbidade, que é definido pela capacidade que uma doença ou síndrome tem para induzir o surgimento ou evolução de outras doenças. Estudos demonstram que a obesidade pode promover um quadro de complicações conduzindo um indivíduo prematuramente a óbito (Figura 2) (CORNIER *et al*, 2011). Uma pessoa obesa que não faz acompanhamento médico ou tratamento está exposta aos principais riscos associados à obesidade, como DM2, complicações pulmonares como insuficiência respiratória e apneia do sono, complicações cardiovasculares como infarto agudo do miocárdio, cânceres como câncer de fígado e rins e a síndrome metabólica. Esta última pode comprometer diversas funções do corpo como glicemia, dislipidemia dentre outros fatores que comprometem a homeostase do organismo levando a uma péssima qualidade de vida (RENEHAN *et al*, 2010; NORDESTGAARD *et al*, 2012).

Figura 2: Casos de óbito causados pela obesidade.



Legenda: Porcentagem de óbitos ocasionados por comorbidades resultantes da obesidade por nação. Adaptado de Our World in Data, 2017.

2.3 Microbiota Humana

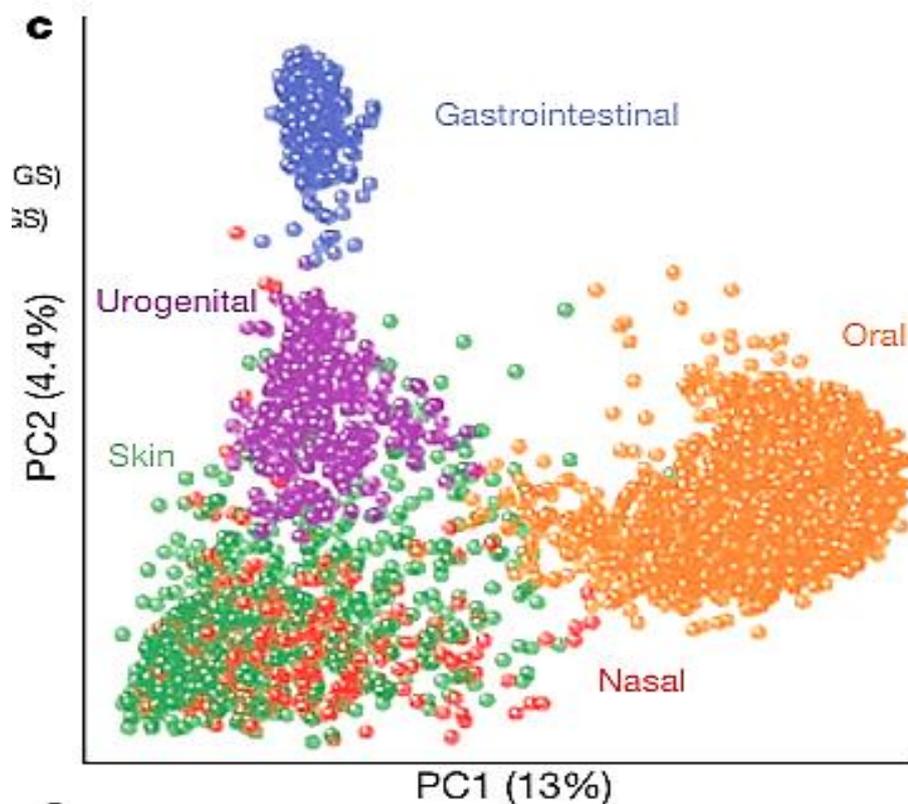
Microbiota é o conjunto de microrganismos, geralmente composto por vírus, bactérias e fungos, que habitam em determinado ambiente seja ele livre ou associado a algum hospedeiro. Lynn Margulis em 1991 elaborou a teoria do holobionte, que foi descrita em seu livro, *Symbiosis as a Source of Evolutionary Innovation: Speciation and Morphogenesis* no qual ela propôs que para entender as características de cada indivíduo, é preciso levar em consideração o conjunto dos microrganismos que vivem associados a eles, a sua composição, sua relação interespecífica e sua relação com o tecido em que vivem. Também foi proposto que esses organismos evoluem em conjunto e não de maneira independente, o que levou a caracterização, por métodos dependentes e não dependentes de cultura, dos microbiomas existentes no ser humano, como os presentes no intestino, na pele e na boca (ROSENBERG & ROSENBERG, 2016)

Toda microbiota associada a humanos, independente do órgão ou região em que reside, é classificada de três formas: (i)- microbiota residente indígena, que é

extremamente necessária para a manutenção da saúde humana, pois atua conjuntamente com o sistema imunológico, fornecendo proteção direta através da competição por nutrientes, sintetizando antimicrobianos ou fatores que estimulam o sistema imune. Esse tipo de microbiota é estável e sua mudança está diretamente relacionada a disbiose, desequilíbrio da micróbio local que leva a geração e/ou agravamento de distúrbios já instalados no hospedeiro; (ii) a microbiota residente suplementar se assemelha a anterior, porém é menos abundante na região em que ocupa, além de ser mais suscetível a alterações induzidas por mudanças na alimentação ou estresse; (iii) o terceiro tipo é a microbiota transitória, que é relativamente temporária e geralmente composta por microrganismos patógenos (OTTMAN *et al*, 2012; WANG *et al* 2017).

Ao todo mais de um trilhão de microrganismos habitam o corpo humano constituindo cerca de 56% de todas as células participando em diversas funções biológicas gerando a homeostase, e quando alterada, as disbioses. Isso se baseia no comparativo do total de genes microbianos versus o do hospedeiro, no qual o primeiro apresenta de 2 milhões a 20 milhões de genes contra 20 mil do humano, uma variação de 100 a 1000 vezes mais em genes funcionais (O'HARA & SHANAHAN, 2006; URSELL *et al* 2014). Essas bactérias estão dispostas em diversos sítios pelo corpo humano, sendo os cinco principais, aqueles que agregam maior diversidade e quantidade de microrganismos, são eles na ordem de abundância relativa e diversidade: 1º o intestinal, 2º o oral, 3º a pele, 4º o urogenital e 5º o nasal (Figura 3) (HUTTENHOWER *et al*, 2012; ROJAS *et al*, 2020).

Figura 3: Distribuição da diversidade microbiana por sítio.



Legenda: Gráfico de análise de principal componente que mostra a variação de diversidade microbiológica entre os principais sítios microbiológicos do corpo, sendo eles os habitats oral, gastrointestinal, cutâneo, urogenital e nasal. Cada ponto representa um microrganismo. Adaptado de HUTTENHOWER *et al*, 2012.

Estudos demonstram a relação das microbiotas com diversas doenças não infecciosas, dentre elas a obesidade, o câncer e a síndrome metabólica (Figura 4), sendo o microbioma intestinal, o mais diverso e estudado do corpo humano, devido a ampla relação que o intestino mantém com os demais órgãos e sistemas, dentre eles o sistema imune, o sistema digestório com ligações diretas com o fígado e o sistema neural tendo ligação direta com o sistema nervoso central, embora essa conexões não sejam completamente compreendidas (ALKASIR *et al.*, 2017; THURSBY & JUGE 2017).

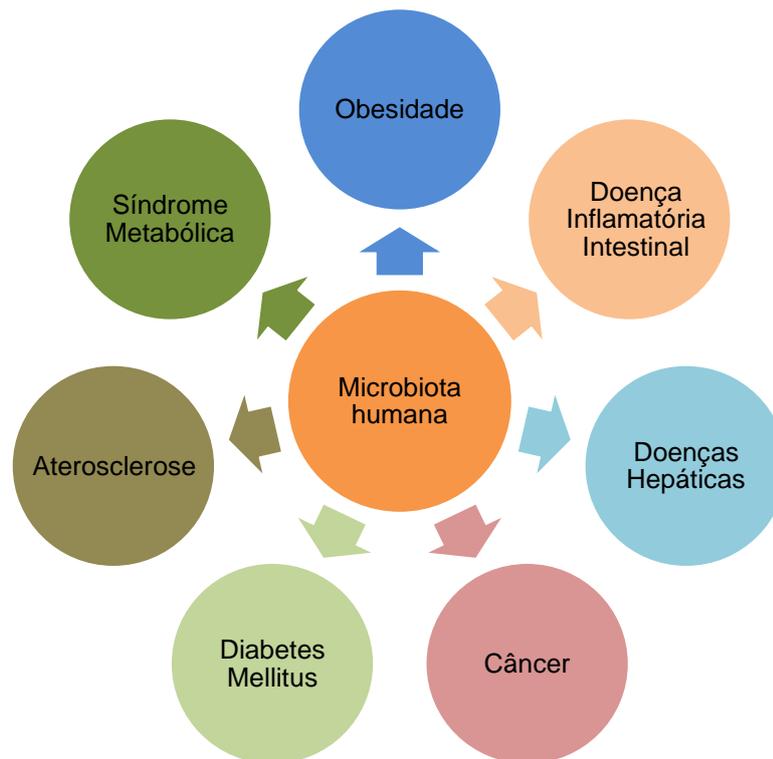
Muitas dessas doenças não infecciosas estão sendo estudadas para estabelecer uma possível ligação entre elas microbiota humana e a microbiota humana. FERNÁNDEZ *et al.*, em 2018 apontaram em seu estudo a relação da

microbiota intestinal com o câncer de mama observando que o a evolução do câncer de mama levava a um quadro inflamatório crônico, que por sua vez estimulava a seleção negativa das bactérias endógenas e benéficas do trato gastrointestinal, gerando uma disbiose. Após instalada a disbiose, ocorria a proliferação de bactérias comensais capazes de degradar o hormônio estrogênio, que nesse estudo foi indicado como atenuador ou até protetor da homeostase mamaria impedindo a evolução câncer, porém como está sendo degradado pela microbiota desequilibrada, o câncer passa a apresentar um caráter mais agressivo e invasivo.

Outra classe de doenças que estão relacionadas com a microbiota humana residente são as doenças cardiovasculares. A microbiota desempenha um papel fundamenta para a homeostase cardiovascular, como demonstrado no estudo de TANG *et al.* de 2017. Eles descrevem nesse estudo que a microbiota intestinal, por participar do processo de degradação alimentar no trato gastrointestinal, além de obter a energia necessária para seus bioprocessos produz como resultado desses processos os ácidos graxos de cadeia curta como o butirato, acetato, propionato e lactato que atuam como reguladores da microbiota induzindo processo pro inflamatórios de modo a controlar a proliferação das bactérias nocivas ao organismo e contribuindo para homeostase cardiovascular. O problema apontado no estudo é quando há um quadro de disbiose instalado, pois algumas das bactérias nocivas metabolizam esses ácidos graxos de cadeia curta gerando como resultado o trimetilamina e trimetilamina N-óxido esses compostos quando em circulação sistêmica promovem a inflamação dos vasos sanguíneos, podendo induzir quadros de aterosclerose e até mesmo infarto agudo do miocárdio.

Outra microbiota que vem ganhando enfoque nos mesmos campos de pesquisa é a microbiota oral, segundo microbioma humano mais diverso, devido a sua importância clínica na saúde bucal, por ser o primeiro contato com o alimentos ingeridos pelo indivíduo, pelo fato ser porta de entrada para os pulmões e por se comunicar diretamente com a microbiota intestinal via trato gastrointestinal, o que implica numa interinfluência das partes, que embora distintas quanto diversidade podem apresentar funcionalidades semelhantes (COSTELLO *et al.*, 2009; DEWHIRST *et al.*, 2010; HUSE *et al.*, 2012).

Figura 4: Doenças não infecciosas e a microbiota humana.

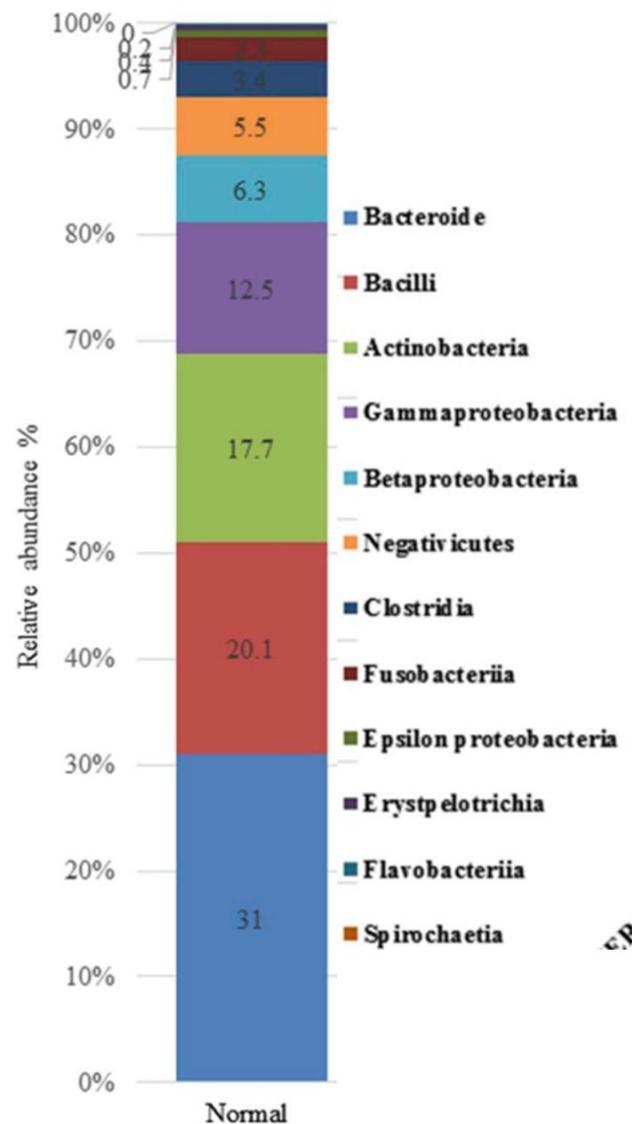


Adaptado de WANG *et al*, 2017.

2.3.1 Microbiota oral

A microbiota oral é a segunda mais estudada, devido a sua diversidade e por sua posição e ligação com os demais órgãos do corpo humano, principalmente os dos sistemas digestório e respiratório, evidenciando a sua importância e interação com os demais sistemas do corpo humano (DEWHIRST *et al*, 2010). A microbiota oral é composta por cerca de 600 espécies bacterianas, incluindo predominantemente 11 classes:: *Actinobacteria*, *Bacilli*, *Bacteroides*, *Betaproteobacteria*, *Clostridia*, *Epsilonproteobacteria*, *Erisipelotrichia*, *Flavobacteriia*, *Gammaproteobacteria*, *Fusobacteriia* e *Negativicutes* (Figura 5), todavia, o número de espécies podem ser alternados de acordo com a metodologia empregada, dependente ou independente de cultivo, e as classes também por se alterar em caso de alguma doença se instalar no holobionte (PASTER *et al*, 2001; SAEB *et al*, 2019).

Figura 5: Principais classes bacterianas da microbiota oral humana.



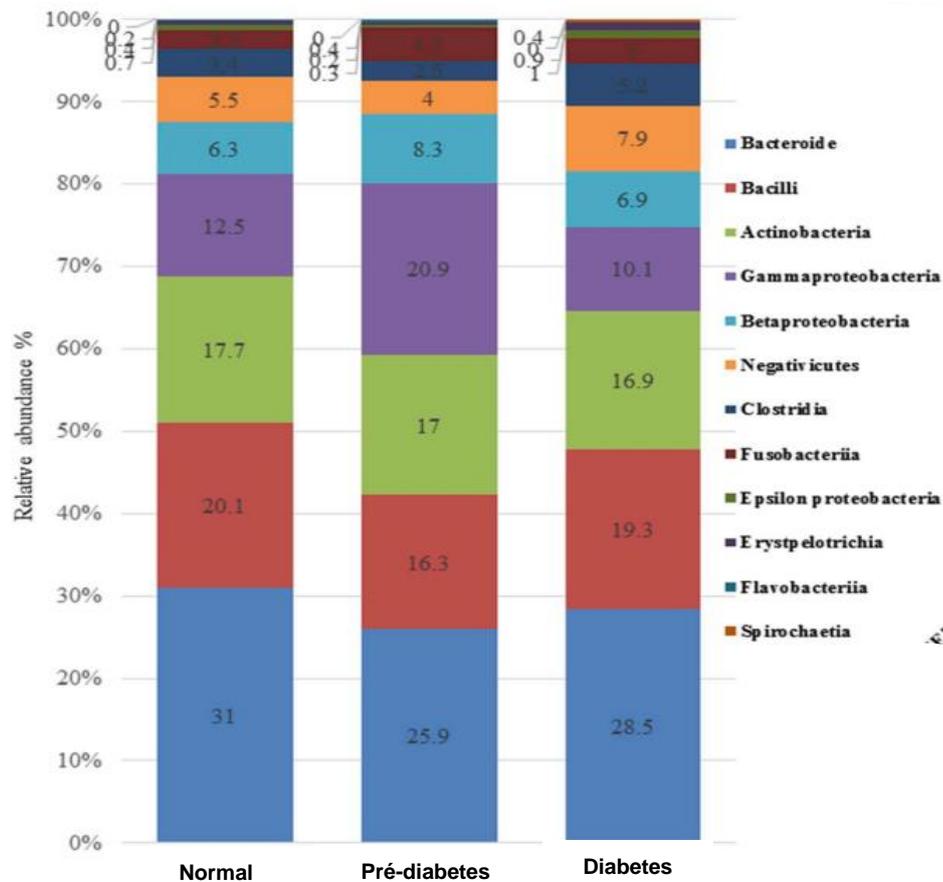
Dados de metagenômicos obtidos via sequenciamento de região hipervariável do *rDNA* 16S por IonTorrent® da Thermo Fisher. Adaptado de SAEB *et al*, 2019.

A principal área para qual o seu estudo é direcionado é a odontológica, sendo a microbiota bastante investigada para a compreensão e tratamento de infecções bucais como a cárie, a gengivite e a periodontite, onde as bactérias desempenham função fundamental de controle de microrganismos patogênicos que possam estar associados infecções bucais (NYVAD & TAKAHASHI, 2020). No estudo de BAQUI *et al*, de 1998, assim como no de GALLIMIDI, *et al*, de 2015 foram estabelecidas possíveis relações da microbiota oral com doenças não infecciosas, como o câncer oral. Neste caso, foi utilizado o modelo murino de tumorigenese oral pré-

estabelecida e associada a periodontite. A infecção crônica fora induzida pelas bactérias *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella gingivalis* e *Fusobacterium nucleatum*, que são Gram-negativas e cujos lipopolissacarídeos (LPS) estimularam a alta produção e secreção de citocinas pró-inflamatórias TNF- α , IL-1 β e IL-6. O que culminou no recrutamento exacerbado de monócitos com agravamento do quadro inflamatório, alterando o funcionamento normal das células bucais, impedindo processos como a apoptose, induzindo o desprendimento celular da lâmina basal e a metástase (BAQUI *et al.*, 1998, GALLIMIDI, *et al.*, 2015).

Outras doenças relacionadas a microbiota oral são a obesidade e a DMT2, que geralmente estão correlacionadas; há estudos comprovando a sua interação com o microbioma intestinal agindo sinergicamente para manter o estado doentio do holobionte (GRAESSLER *et al* 2012), em que a microbiota tem sua abundância relativa alterada ao passo que um indivíduo saudável migra para o quadro de obesidade com pré-diabetes e depois para a diabetes (Figura 6). Ambas as doenças podem levar a um maior risco de desenvolver síndrome metabólica (TAM *et al*, 2018; SAEB *et al*, 2019).

Figura 6: Comparação da abundância relativa da microbiota oral em indivíduos normais, com pré-diabetes e diabéticos.



Dados de metagenômicos obtido via sequenciamento de região hipervariável do *rDNA* 16S por IonTorrent® Thermo Fisher, comparando a variação da abundância relativa ao longo da perda de sensibilidade a insulina. Adaptado de SAEB *et al*, 2019.

2.4 Microbiota e Síndrome Metabólica

A Síndrome Metabólica passou a atrair a atenção de cientistas para estabelecer claramente suas causas multifatoriais e sua possível relação com comunidades microbianas no corpo humano. Nesta temática, a microbiota intestinal também lidera nos sítios pesquisados, tendo estudos que a relacionam com os fatores determinantes da SM como: (i) a obesidade, onde a abundância de *Bacteroidetes* é reduzida em aproximadamente 50% enquanto a do filo *Firmicutes* é aumentada (LEY *et al*, 2005), o que é prejudicial ao holobionte como um todo. O primeiro filo é o principal metabolizador de fibras e açúcares complexos que o ser humano não consegue digerir, gerando como produto desse catabolismo ácidos

graxos de cadeia curta como o butirato, o propionato e o acetato, que são essenciais para estimular citocinas pró-inflamatórias no intestino para controlar a homeostase microrganismo-hospedeiro, para estabelecer o grau de permeabilidade de glicose pelo epitélio intestinal, controle de saciedade, armazenamento e desprendimento de energia nos adipócitos (TURNBAUGH *et al*, 2006; SAMUEL *et al*, 2008; TOLHURST *et al*, 2012); (ii) a diabetes, na qual as bactérias dos gêneros *Akkermansia*, *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*, que atuam juntos no intestino aumentando a tolerância a glicose e diminuindo a secreção e resistência à insulina, pois torna-se mais efetiva mesmo em taxas menores, reduzindo, também, a endotoxicidade causada pelo excesso de citocinas pró-inflamatórias circulantes, suavizando o quadro inflamatório induzido pelo acúmulo de lipídios nos adipócitos e no fígado (CANI *et al*, 2008; WALL *et al*, 2009). Bactérias desses gêneros ainda protegem a integridade do lúmen intestinal ao impedir a translocação de bactérias patogênicas pelas células do epitélio intestinal ganhando a circulação sistêmica. Mais precisamente a bactéria *Akkermansia muciniphila* atua degradando a mucina do cólon intestinal, porém a abundância dessa bactéria é inversamente proporcional ao IMC do indivíduo, ou seja, quanto maior o IMC menor a abundância da *A. muciniphila*. Esta bactéria atua também reduzindo a incidência da diabetes mellitus tipo 1 e DMT2 ao diminuir a resistência à insulina, aumentar a tolerância a glicose e reduzir índice de gordura no corpo ao promover a síntese e secreção de endocanabinoides pelo cólon intestinal (HANSEN *et al*, 2012; QIN *et al*, 2012; EVERARD *et al*, 2013).

Mesmo considerando todas as informações descritas, há pouca pesquisa que correlacione a microbiota oral com a síndrome metabólica. Até o momento apenas SI e colaboradores (2017) relataram um estudo sobre microbiota oral e intestinal de gêmeos coreanos univitelinos e bivitelinos, sendo estes com e sem a SM. Eles descreveram que deve haver um impacto genético do hospedeiro nos microbiomas estudados (SI *et al.*, 2017).

3. Objetivos

3.1 Objetivo Geral

Avaliar as possíveis alterações clínicas e da microbiota oral, assim das características sociodemográficas e antropométricas, de indivíduos com síndrome metabólica em relação ao grupo controle, a fim de estabelecer possíveis marcadores e fatores associados a doença.

3.2 Objetivos Específicos

- Realizar avaliações sociodemográficas, antropométricas e outras clínicas em uma população com indivíduos adultos residentes no Estado do RJ;
- Verificar a incidência de Síndrome Metabólica na população estudada, assim como a frequência das faixas de IMC dentro do grupo com SM e controle para estabelecer possíveis correlações entre o estado nutricional e a doença.
- Caracterizar a diversidade bacteriana no microbioma salivar dos indivíduos estudados pelo sequenciamento dos genes de rDNA16S amplificados dos metagenomas salivares;
- Correlacionar todos os dados de anamnese, clínicos e metagenômicos com a presença da doença para detecção de possíveis fatores ou biomarcadores da síndrome metabólica.

4. Material e Métodos

4.1 Grupo de estudo

A população estudada é constituída pelo grupo teste de indivíduos com Síndrome Metabólica (SM) e o Grupo Controle (GC), sem a doença. Todos são adultos, a partir de 18 anos. Os indivíduos foram classificados de acordo com o IMC, sendo de peso normal (PN - IMC entre 18,5 kg/m² e 24,9 kg/m²) sobrepeso (SP – IMC entre 25 kg/m² e 29,9 kg/m²), e obesidade (OB - \geq 30 kg/m²). Os que

apresentaram ao menos 3 dos 5 critérios da SM foram agrupados neste grupo caso. Foram incluídos, no mínimo, 10 indivíduos em cada grupo. O projeto foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Unigranrio (No:3.402.791) (Anexo 1).

Alguns critérios de exclusão foram utilizados, como: ter feito uso de antibióticos nos últimos seis meses, presença de hepatopatia, nefropatia, endocrinopatias, neoplasias e doenças cardiovascular, autoimune, hematológica, psiquiátrica e inflamatória intestinal. Outros critérios de exclusão compreendem: gestação e lactação; tabagismo; uso de fármacos que interferem com o peso corporal, metabolismo de carboidratos e lipídios; uso de hipotensores e de substâncias ilícitas.

Ao todo foram recrutados 103 voluntários, e seus dados antropométricos, sociodemográficos foram registrados, junto da coleta de sangue e saliva. Todas as informações coletadas e os resultados bioquímicos estão armazenados em um banco de dados (**Apêndice 1**). Os critérios de diagnóstico utilizados para síndrome metabólica são os do NCEP/ATPIII 2004 com modificação (de AHA/NHLBI/ADA), que inclui 3 ou mais fatores associados a doença, dentre os seguintes: hipertensão, obesidade central, baixa de HDL, alta de triglicérides e resistência à insulina. A modificação realizada foi dentro do fator de glicemia alterada com a incorporação da resistência à insulina como fator de risco para o desenvolvimento de SM, que é posto pela OMS como um componente essencial para o diagnóstico da SM, assim como Reaven propôs a resistência à insulina como fator subjacente à SM (REAVEN, 2006). Com isso, para todos os voluntários foram calculados os índices de resistência à insulina, pelo cálculo de HOMA-IR (*Homeostasis Model Assessment – Insulin Resistance*), como descrito posteriormente.

4.2 Anamnese sociodemográfica

Os voluntários que aceitaram o convite de participação e se adequaram aos critérios de inclusão e exclusão foram informados dos detalhes do projeto e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (**Anexo 2**). Foram registrados no questionário o sexo, a cor da pele (autodeclarada), escolaridade, a renda e histórico de saúde familiar e dados de saúde geral de cada voluntário.

4.3 Avaliação clínica

Todas as avaliações clínicas e coletas de amostras sanguínea e salivar foram realizadas no Laboratório de Análises Clínicas da Afya, Unigranrio (Laborafe). As respectivas análises bioquímicas do sangue foram feitas com o apoio da equipe do Laboratório.

4.3.1 Exame antropométrico

Para calcular o Índice de Massa Corporal (IMC), os indivíduos foram pesados e medidos em uma mesma balança com estadiômetro (balança antropométrica mecânica, Mod. 104A – Balmak). Esta balança é capaz de mensurar até 300 Kg e seu estadiômetro possui régua antropométrica retrátil, medindo até 2m com graduação de 0,5 cm. O peso foi registrado em quilogramas e a altura em cm. Nestas avaliações, os participantes estavam trajando roupas leves, descalços, sem acessórios ou bolsas e com os bolsos vazios. O IMC foi calculado dividindo-se o peso (em kg) pela altura ao quadrado (em m²) (WHO, 2019), e foi usado como base para determinar o estado nutricional de cada voluntário, de acordo com a Tabela 3.

A circunferência da cintura (CC) e do quadril (CQ) foram mensuradas com fita métrica metálica, graduada em centímetros, com o paciente em pé. A CC e a CQ foram medidas, respectivamente, no ponto médio entre a crista ilíaca e o último arco costal e na maior circunferência posterior das nádegas. A relação cintura-quadril (RCQ) foi obtida com a divisão da CC pela CQ (WHO, 2011).

4.3.2 Aferição da pressão arterial

A pressão arterial (PA) foi aferida por método oscilométrico, utilizando-se um monitor automático da marca OMRON. Os manguitos possuem tamanho apropriado ao braço dos participantes e os registros serão feitos com o indivíduo sentado. Após 5 min de repouso, foram realizadas três medidas sequenciais, com intervalos de 3 min, considerando o cálculo da média dos valores. Foram descartados valores que apresentassem diferenças acima de 10 mmHg na PA sistólica e 5 mmHg na PA diastólica. A PA média corresponde ao dobro da PA diastólica, somado à média da PA sistólica, o resultado dividido por três (BABBS, 2012).

4.3.3 Análise bioquímica do sangue

Amostras de sangue foram coletadas após 12 h de jejum e alíquotas de plasma e soro foram estocadas a -80°C , conforme o método de FAN e colaboradores, 2018. A partir das amostras sanguíneas, foram realizadas as seguintes análises, com o apoio do Laborafe:

a) Glicemia de jejum – Método enzimático com o uso de hexoquinase. Foram utilizados tubos sem anticoagulantes, com as amostras centrifugadas imediatamente após a coleta. Os valores expressos em mg/dl.

b) Insulina – Determinada por ELISA (Enzo Life Sciences). Os valores são expressos em mcUI/ml.

c) Índice de resistência à insulina e de células β – Aplicação da fórmula do HOMA-IR (*homeostasis model assessment – insulin resistance*), em que a resistência é determinada pelo produto da insulinemia (mcUI/ml) e glicemia de jejum (mM), dividido por 22,5. Esse índice possui alta correlação com o clamp euglicêmico/hiperinsulinêmico. A resistência insulínica é definida por um HOMA-IR $\geq 2,3$, de acordo com o observado em amostra da população brasileira de origem multiétnica. Contudo quando alinhado a um estudo de síndrome metabólica o valor de referência passa a ser de $\geq 2,3$ devido a presença de outros fatores e comorbidades (Geloneze et al, 2009). HOMA- β (*homeostasis model assessment of β -cell function*) foi determinado através do cálculo: $(20 \cdot \text{insulina}) / (0,0555 \cdot \text{glicemia} - 3,5)$ e tem como faixa de referência os valores entre 167 e 175.

d) Perfil lipídico – Colesterol total (CT), HDL (HDL) e triglicerídeos (TG) foram determinados por método enzimático-colorimétrico. Os valores de VLDL e LDL foram estimados pelas fórmulas de Friedwald (Ousmane et al, 2016), para valores de TG inferiores a 400 mg/dl:

$$\text{VLDL} = (\text{TG}/5)$$

$$\text{LDL} = (\text{CT} - \text{HDL-C} + \text{TG}/5).$$

4.4 Coleta de saliva e caracterização da microbiota

A saliva foi coletada de acordo com Lim e colaboradores (2016), com algumas modificações. As amostras foram coletadas no período da manhã, com o voluntário em jejum de 12 horas e com uma hora sem ingerir água. Foi oferecido aos voluntários quatro mililitros (mL) de água Milli-Q para bochechar por 5 minutos e depois coletada a saliva em um recipiente estéril. As amostras foram mantidas em gelo e rapidamente centrifugadas a 17,146g por 10 minutos. O sobrenadante foi separado do pellet que teve seu conteúdo dividido em duas alíquotas: para ser usado para a extração e sequenciamento de DNA metagenômico; e para cultivo em meios de cultura específicos.

A alíquota direcionada para a análise dependente de cultura recebeu 2 ml de meio BHI líquido com glicerol a 20%, sendo misturado vigorosamente e armazenado no freezer -80. A outra, para análise independente de cultura, foi ressuspensa em solução Tris-EDTA (Tris a 10 mM, EDTA a 1 mM), com sacarose a 20%, e armazenada também no freezer -80 para posterior extração do DNA metagenômico.

4.4.1 Análise independente de cultura da diversidade microbiana

O metagenoma bacteriano foi extraído das amostras de sedimento celular (*pellet*) da saliva, usando o Kit de extração de DNA DNeasy® PowerSoil® (Qiagen - Carlsbad, CA). O protocolo sugerido pelo fabricante do kit foi seguido, alterando-se apenas pelo acréscimo de 0,55 miligramas de *beads* de zircônia/sílica de 0,1 mm de diâmetro da BioSpec® estéreis. Esta modificação visou aumentar a fragmentação das células microbianas, especificamente as bactérias Gram-positivas, de acordo com O'Toole e Flemer, 2016. O DNA metagenômico extraído foi observado em gel de agarose a 1%, após uma corrida eletroforética de uma hora a 30 mA, e corado com Gel red.

Foram selecionados aleatoriamente 56 amostras dentro dos grupos GC e SM que correspondessem a voluntário com sobrepeso (SP) e obesidade (OB) para serem sequenciados, sendo eles 13 voluntários do grupo GC e com sobrepeso, 12 do grupo SM com sobrepeso, 13 obesos do grupo GC e 18 obesos com SM. A Plataforma HiSeq 2500®-Illumina, Inc. San Diego, California, USA, foi utilizada para

o sequenciamento dos genes de RNA ribossômico 16S (rDNA 16S) dos metagenomas. Para tal foi contratado o serviço da empresa GenOne Biotech®, que produziu uma biblioteca de amplicon de PCR do rDNA 16S. utilizando primers específicos para as regiões variáveis 3 e 4 (V3-V4) segundo Youngseob *et al*, 2005, sendo eles: 341F (CCTAYGGGRBGCASCAG) e 806R (GGACTACNNGGGTATCTAAT). Os dados do sequenciamento foram analisados pela ferramenta Mothur do pesquisador Schloss e colaboradores do *Department of Microbiology & Immunology at University of Michigan* passando pelos tratamentos de qualidade, pureza, remoção de quimeras e de artefatos através do MiSeq *protocol* de Schloss *et al*, 2013.

4.5 Análise de dados

Os dados de anamnese sociodemográfica e clínicos foram analisados utilizando o programa IBM SPSS Statistics 22 e comparados de acordo com sua classificação entre os grupos de estudo. Inicialmente realizou-se uma análise quanto a distribuição normal, pelos testes de Kolmogorov-Smirnov e de Shapiro-Wilk, apontando que os dados não seguem distribuição normal. Portanto os dados categóricos foram analisados pelo χ^2 de Pearson e os contínuos foram avaliados pelo teste não paramétrico U de Mann-Whitney, equivalente ao teste t independente. Também foi realizada a análise descritiva dos dados sendo anotados suas médias e desvio padrão.

Os parâmetros também foram avaliados pela análise de componente principal (*inglês*, PCA) para avaliar a correlação entre eles e impacto que cada parâmetro gera na pesquisa. Essa análise é baseada na posição dos fatores resultantes da matriz de correlação, que quanto mais distante estiver da origem maior é o seu impacto na pesquisa. Outro ponto avaliado na PCA foi a angulação entre dois fatores, que:

- (i) menor que 90°: os parâmetros apresentam correlação positiva, que aumenta conforme se aproximam de 0° de angulação, passando a serem fortemente e positivamente correlatas;
- (ii) igual a 90°: os parâmetros não apresentam correlação;

- (iii) maior que 90°: os parâmetros apresentam correlação negativa, que aumenta conforme se aproximam de 180° de angulação, passando a serem forte e negativamente correlatas.

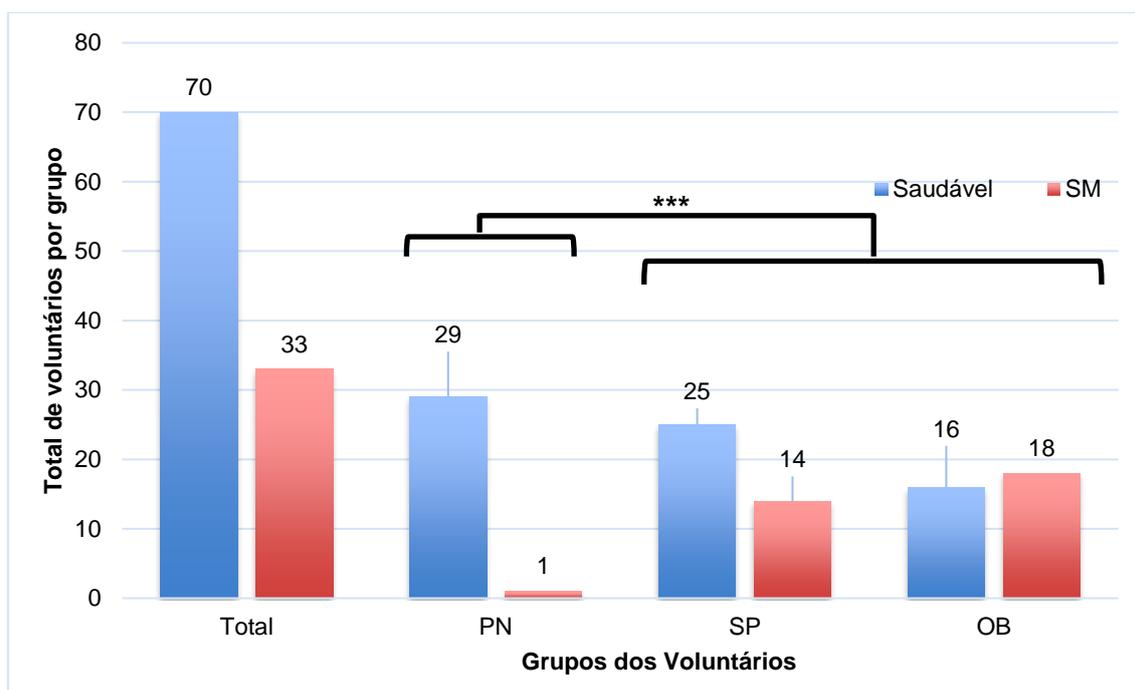
Os dados microbianos também foram avaliados quanto a sua distribuição normal por Kolmogorov-Smirnov e Shapiro-Wilk e também seguiram uma distribuição não normal, sendo então analisados pelo teste U de Mann-Whitney e pela análise multivariada PCA. Finalmente, foi realizada PCA para avaliar todos os parâmetros estudados (variáveis sociodemográficas, antropométricas, clínicas e microbiana) em conjunto, com intuito de verificar uma possível relação entre elas com influência positiva ou negativa para Síndrome Metabólica.

5. Resultados

5.1 Triagem e classificação nutricional dos voluntários

Ao longo da pesquisa foram recrutados, aleatoriamente, 103 voluntários dentro da população de indivíduos adultos que iam se consultar no Laborafe. Após avaliação dos fatores indicativos, eles foram divididos em dois grupos, com Síndrome Metabólica (SM) e grupo controle (GC). Posteriormente, avaliamos a incidência de cada estado nutricional dos voluntários, de acordo com o IMC, resultando em: (i) 33 indivíduos com SM, sendo PN=1, SP=14 e OB=18; (ii) 70 indivíduos do GC, sendo PN=30, SP=24 e OB=16 (Figura 7).

As diferenças quantitativas dos estados nutricionais entre os dois grupos foram avaliadas estatisticamente através da análise de χ^2 de Pearson mostrando que apenas a frequência de voluntários com peso normal (PN) apresentou diferença extremamente significativa (<0,001) entre o grupo controle e SM, apontando que este estado nutricional é possivelmente um fator protetivo contra síndrome metabólica. Esse resultado foi comprovado pelo valor de Odd Ratio, que indicou que o grupo SP e OB possuem 22,634 vezes mais chance de desenvolver a SM quando comparado ao grupo PN. Em particular, o único indivíduo com peso normal e síndrome metabólica nesta população estudada possuía Diabetes Mellitus tipo 2, o que pode ter influenciado no diagnóstico da síndrome.

Figura 7: Distribuição dos voluntários segundo estado nutricional e presença de SM.

Legenda: *** Diferença estatisticamente significativa entre os grupos, em Teste de χ^2 de Pearson, com valor de $p < 0,001$.

5.2 Análises socioambientais e antropométricas

Todos os voluntários foram avaliados quanto a cor da pele autodeclarada sendo classificados, segundo o IBGE e de acordo com sua autodeclaração, como: (i) Preto, com 23 voluntários autodeclarados; (ii) Branco, com 31; (iv) Pardo, com 49. Além disso, a idade também foi registrada, sendo 36 homens e 67 mulheres. Na escolaridade, foram registrados 12 voluntários com Ensino fundamental completo, 50 com Ensino médio, 32 com Ensino superior e 9 com Pós-graduação. Quanto ao sexo, foram avaliados 67 mulheres e 36 homens. Os dados foram confrontados em análises comparativas entre os grupos de estudo e o controle (Tabela 5).

A distribuição quantitativa dentro dos dados categóricos (cor de pele, sexo e escolaridade) foi avaliada estatisticamente pelo método de c^2 de Pearson. Apenas os dados de escolaridade mostraram-se significativos ($p < 0,001$) comparando-se GC versus SM. A idade média dos voluntários, único parâmetro contínuo dos dados

sociodemográficos, foi estatisticamente curado pelo Teste U de Mann-Whitney na análise de GC versus SM, obtendo-se resultado significativo ($p < 0,001$).

Tabela 5: Dados sociodemográficos dos voluntários GC e SM

Parâmetros		GC = 70	SM = 33	Total= 103	Valor-P
Idade		36,01 ¹	50,30±	40,59±	<0,001*
		±14,46 ²	17,83	16,91	
Sexo	Mulher	45	23	68	NS°
	Homem	25	10	35	
Raça	Branco	21	10	31	NS°
	Preto	12	11	23	
	Pardo	37	12	49	
Escolaridade	Fundamental	4	8	12	<0,001°
	Médio	30	20	50	
	Superior	28	4	32	
	Pós	8	1	9	

Legenda: ¹ Valores apresentados para média do grupo; ²Valores de desvio padrão do grupo; *Teste U de Mann-Whitney; NS = diferença não significativa; ° Teste χ^2 de Pearson.

Cada um dos voluntários passou pelas análises antropométricas de medição da altura e da massa corporal, junto a análise do IMC e da circunferência de cintura e quadril, bem como a relação cintura-quadril. Todos os valores quantitativos dentro dos parâmetros antropométricos foram analisados pelo Teste U de Mann-Whitney. Com exceção da altura, todos os demais dados mostraram diferenças significativas ($p < 0,01$) na avaliação GC versus SM (Tabela 6).

Tabela 6: Dados antropométricos dos voluntários

Parâmetros	GC = 70	SM = 33	Total = 103	Valor-P*
Altura (m)	1,65 ¹ ± 0,08 ²	1,62 ± 0,10	1,64 ± 0,09	NS
Massa (Kg)	72,40 ± 16,50	82,98 ± 18,67	75,79 ± 17,84	<0,01
IMC (Kg/m ²)	26,36 ± 4,93	31,21 ± 4,64	27,91 ± 5,32	<0,001
CC (cm)	84,80 ± 12,32	100,61 ± 11,13	89,86 ± 14,02	<0,001
CQ (cm)	102,65 ± 10,59	110,47 ± 8,13	105,16 ± 10,49	<0,001
RCQ	0,83 ± 0,09	0,91 ± 0,07	0,85 ± 0,09	<0,001

Legenda: ¹Valores apresentados para média do grupo; ²Valores de desvio padrão do grupo; * Teste U de Mann-Whitney; NS = valor não significante; CC, Circunferência de Cintura; CQ, Circunferência de Quadril; RCQ, Relação Cintura-Quadril.

5.3 Avaliações de pressão arterial e bioquímica sanguínea.

Todos os voluntários passaram por análise de hemograma completo, perfil lipídico e glicemia. Também foram realizadas aferições de pressão arterial em cada um dos voluntários. Os valores de PAS, PAD, glicemia, insulina, HOMA-IR, HOMA- β , creatinina, ureia colesterol total, triglicerídeos, HDL, VLDL, LDL, CT/HDL, VLDL/HDL e LDL/HDL foram registrados e comparados entre os grupos GC e SM através do Teste U de Mann-Whitney para avaliação estatística. Excetuando os parâmetros HOMA- β e creatinina, que não apresentaram alterações significantes, todos os demais parâmetros apresentaram diferenças significativas ($p < 0,05$ ou $p < 0,001$) entre os valores dos grupos controle e SM (Tabela 7).

Quando avaliados os valores de HOMA-IR, a média do valor dos indivíduos com a síndrome foi pouco mais que o dobro do valor referente ao grupo controle. Dentre os indivíduos com SM, 66,6% (22 voluntários) apresentaram valores correspondentes com o diagnóstico de resistência à insulina, enquanto no grupo controle a incidência foi de apenas 22% (16 do total de 70 indivíduos). Em ambos os grupos, a maioria dos casos de resistência à insulina ocorreu em obesos.

Tabela 7: Dados clínicos dos voluntários com e sem Síndrome Metabólica.

Parâmetros	GC=70	SM=33	Total=103	Valor-p*
PAS (mmHg)	117,50 ¹ ±12,67 ²	132,3 ±15,68	122,24 ±15,29	< 0,001
PAD (mmHg)	75,31 ±8,28	81,7 ±7,96	77,36 ±8,67	<0,001
Glicemia	90,31 ±8,27	119,48 ±53,25	99,66 ±33,51	<0,001
Insulina	9,05 ±5,08	16,32 ±8,08	11,38 ±7,04	<0,001
HOMA-IR	2,05 ±1,26	4,43 ±1,81	2,81 ±1,83	<0,001
HOMA-β	152,90 ±79,94	171,54±139,92	162,88±115,39	NS
Creatinina	0,897 ± 0,155	0,891 ±0,115	0,894 ±0,134	NS
Ureia	23,42 ± 5,43	28,03 ±6,85	25,89 ±6,60	<0,05
Colesterol Total	191,11 ± 41,65	212,76 ± 54,41	198,05 ± 46,96	<0,05
Triglicerídeos	92,46 ±48,08	167,00 ±99,33	116,34 ±76,68	<0,001
HDL	60,39 ±13,68	48,91 ±13,54	56,71 ±14,59	<0,001
VLDL	18,49 ±9,62	33,40 ±19,87	23,27 ±15,34	<0,001
LDL	112,24 ±37,42	130,45 ±45,47	118,07 ±40,85	<0,05
CT/HDL	3,30 ±0,93	4,76 ±2,66	3,77 ±1,81	<0,001
VLDL/HDL	0,33 ±0,22	0,81 ±0,82	0,48 ±0,54	<0,001
LDL/HDL	1,97 ±0,80	2,95 ±1,93	2,28 ±1,35	<0,001

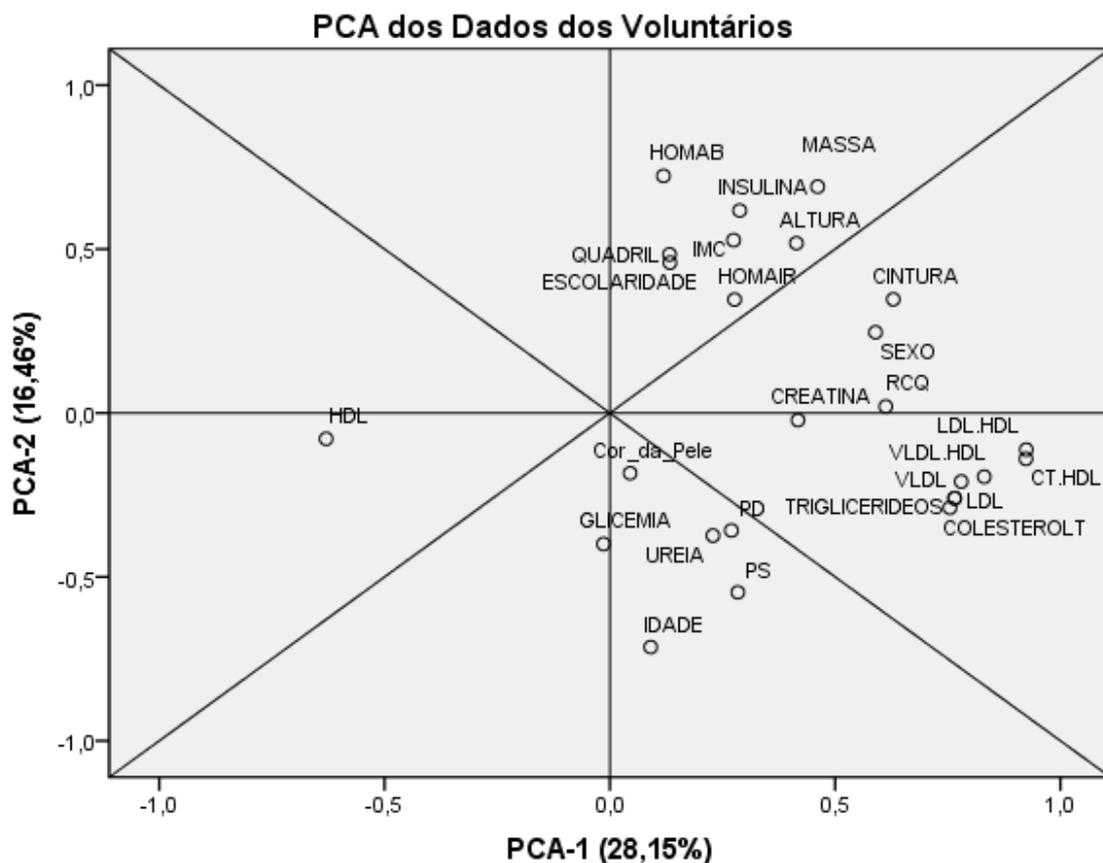
Legenda: ¹Valores apresentados para média do grupo; ²Valores de desvio padrão do grupo; * Teste U de Mann-Whitney; NS= diferença não significativa; PAS, Pressão Arterial Sistólica; PAD, Pressão Arterial Diastólica; HDL, High Density Lipoprotein; VLDL, Very Low Density Lipoprotein; LDL, Low Density Lipoprotein; CT/HDL, Colesterol Total por High Density Lipoprotein; VLDL/HDL, Very Low Density Lipoprotein por High Density Lipoprotein; LDL/HDL, Low Density Lipoprotein por High Density Lipoprotein.

5.4 Análise multivariada dos dados sociodemográficos e clínicos

Após a realização das análises individuais dos dados sociodemográficos, antropométricos e clínicos dos voluntários, respeitando a abordagem estatística aplicada a cada um dos parâmetros, foi executada a PCA para os três conjunto de dados acima (Figura 8). Como resultado obteve-se que os parâmetros HDL e escolaridade, a esquerda da origem, apresentam possivelmente um impacto

protetivo neste estudo, com forte correlação positiva entre si e negativamente correlatos as variáveis altura, massa, insulina, RCQ, CC, CQ, IMC e HOMA-IR. Os demais parâmetros, posicionados a direita da origem, na Figura 8, parecem apresentar impacto positivo no desenvolvimento do quadro de SM. No geral, todas as variáveis tiveram seu impacto confirmado pelos seus respectivos valores de comunalidade (Tabela 8).

Figura 8: Gráfico de PCA dos dados dos voluntários



Legenda: O conjunto dos componentes 1 e 2 indicados nesse gráfico *biplot* explicam aproximadamente 45% dos valores e posicionamento das variáveis do gráfico, que quando somados aos demais componentes principais da extração somam 100% das variações. As variáveis próximas ao ponto de origem apresentam baixo impacto na análise PCA. As variáveis distantes da origem apresentam alto impacto na análise. PAS, Pressão Arterial Sistólica; PAD, Pressão Arterial Diastólica; HDL, High Density Lipoprotein; VLDV, Very Low Density Lipoprotein; LDL, Low Density Lipoprotein; CT/HDL, Colesterol Total por High Density Lipoprotein; VLDL/HDL, Very Low Density Lipoprotein por High Density Lipoprotein; LDL/HDL, Low Density Lipoprotein por High Density Lipoprotein.

Tabela 8: Valores de comunalidade dos parâmetros avaliados da população estudada.

Parâmetros	Valor Inicial	Valor de Extração ^{1:2}
INSULINA	1,000	0,974
VLDL/HDL	1,000	0,96
MASSA	1,000	0,955
CT/HDL	1,000	0,937
HOMAIR	1,000	0,926
COLESTEROLT	1,000	0,912
IMC	1,000	0,908
HOMAB	1,000	0,905
CINTURA	1,000	0,904
LDL/HDL	1,000	0,896
TRIGLICERIDEOS	1,000	0,89
VLDL	1,000	0,89
SEXO	1,000	0,888
LDL	1,000	0,882
QUADRIL	1,000	0,849
Cor da pele	1,000	0,848
ESCOLARIDADE	1,000	0,847
ALTURA	1,000	0,841
RCQ	1,000	0,825
PS	1,000	0,795
IDADE	1,000	0,758
UREIA	1,000	0,754
GLICEMIA	1,000	0,747
HDL	1,000	0,689
PD	1,000	0,665
CREATINA	1,000	0,529

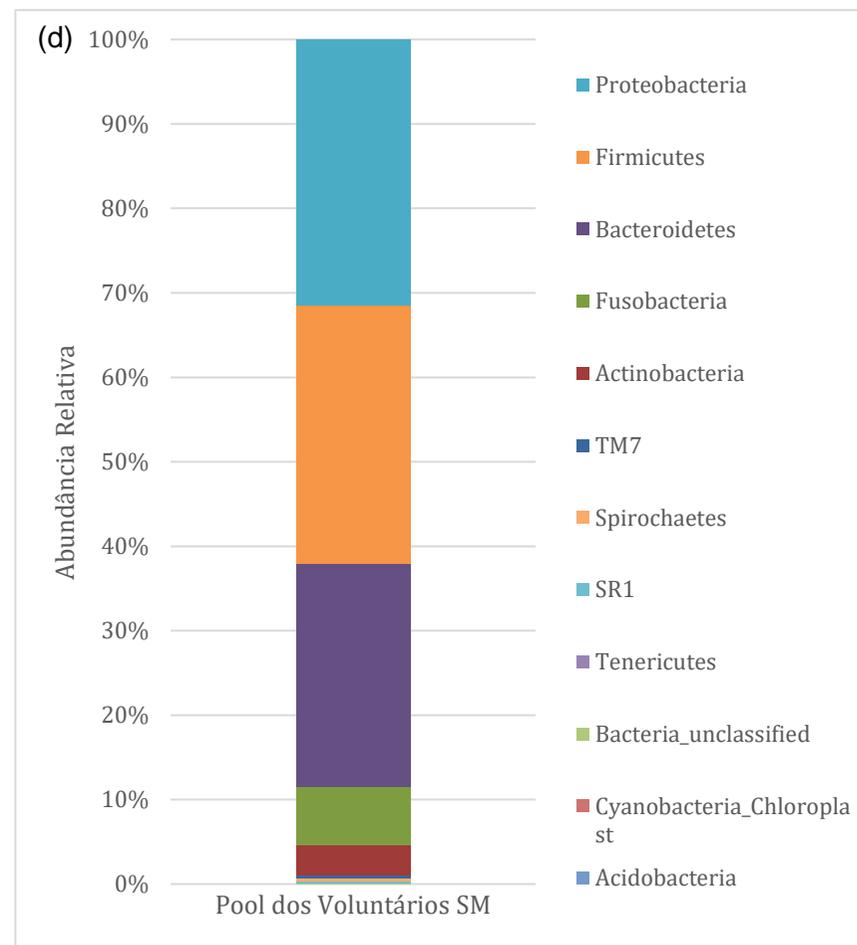
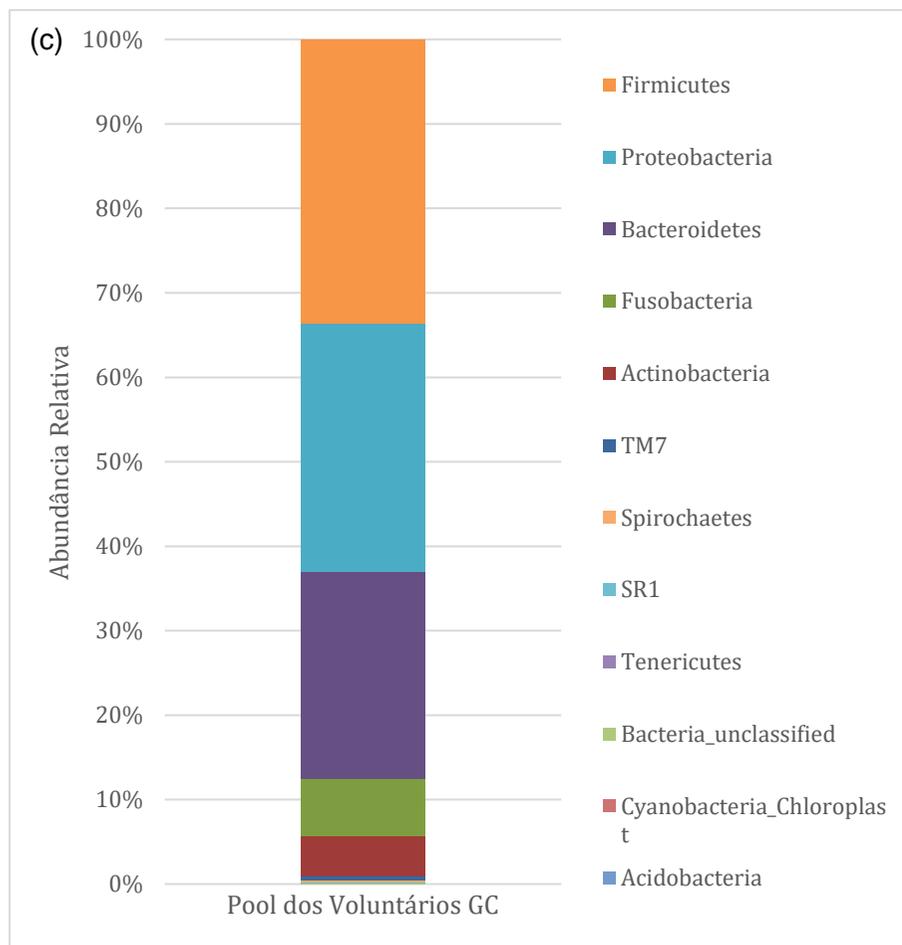
Legenda: ¹Quanto mais próximo do valor inicial estiver o valor de extração de um parâmetro, mais ele é explicado pelo modelo de PCA e maior seu impacto no mesmo.

²Valores menores que 0,5 são considerados não impactantes na análise.

5.5 Análise da microbiota salivar

Os metagenomas de 56 voluntários obesos e com sobrepeso dos grupos SM e GC foram extraídos e enviados para sequenciamento do *amplicons* de rDNA16S em plataforma HiSeq-2500. Os dados metagenômicos foram montados, tratados e analisados com a ferramenta Mothur, gerando os resultados contendo as classificações filogenéticas bacterianas para cada indivíduo, desde o nível de Filo à

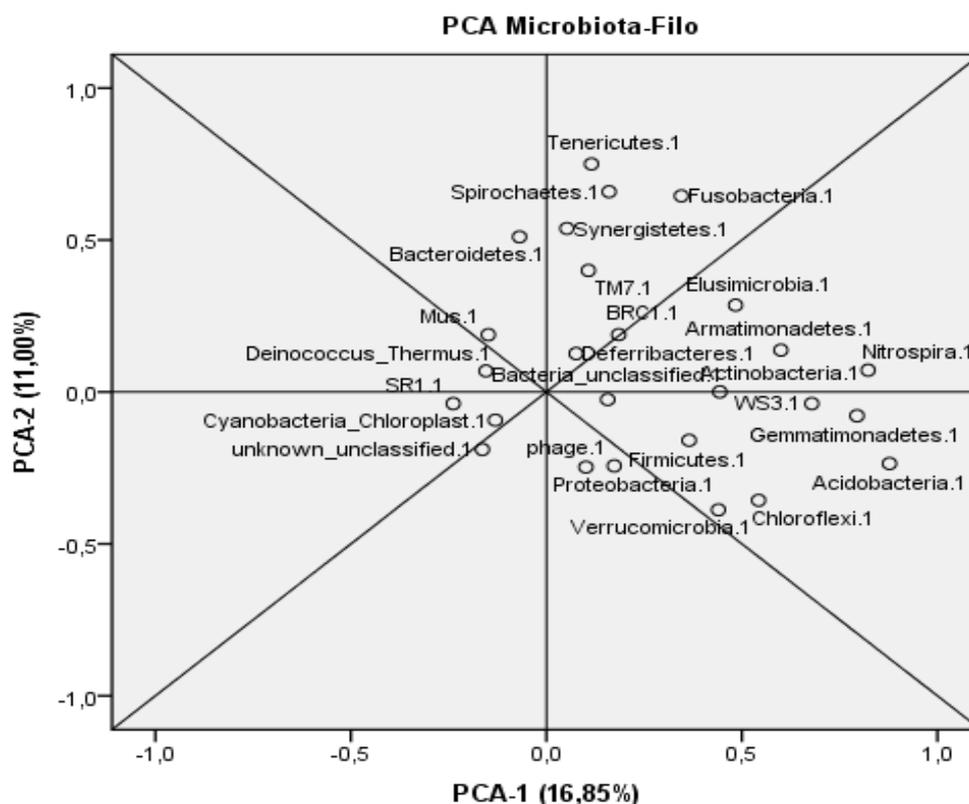
Gênero, assim como a abundância relativa de cada *taxa* presente nas amostras. Em seguida foi realizada a análise univariada Teste U de Mann-Whitney para os filos microbianos presentes no metagenoma dos 56 voluntários. Contudo, nenhum dos filos apresentou alteração estatisticamente significativa entre os grupos GC e SM para esse teste. O teste apontou, porém, a clara inversão na predominância dos dois filos mais abundantes desta análise, que são os filos *Firmicutes* e *Proteobacteria*. Nos voluntários GC *Firmicutes* apresentou maior abundância relativa correspondendo de 15% a 55% do total da microbiota bacteriana salivar em cada indivíduo, e 35% da microbiota quando os voluntários são analisados em pool. Já nos voluntários do grupo SM o filo *Proteobacteria* foi o que teve maior abundância relativa perfazendo de 10% a 48% do total da microbiota analisada nos indivíduos, e 32% do pool de voluntários (Figura 9). Os demais filos mantiveram distribuição proporcionalmente similar entre os grupos.



(a) Distribuição metagenômica das amostras dos voluntários a nível de filo de acordo com o GC. (b) Distribuição metagenômica das amostras dos voluntários a nível de filo de acordo com o SM. (c) Distribuição metagenômica das amostras do pool de voluntários a nível de filo de acordo com o GC. (d) Distribuição metagenômica das amostras do pool de voluntários a nível de filo de acordo com o SM.

Os dados de filós bacterianos dos voluntários também foram avaliados pela análise multivariada PCA para testar se havia expressão significativa de um ou mais filós quando analisados em conjunto. Obteve-se como resultado que os filós *Acidobacteria*, *Chloroflexi*, *Armatimonadetes*, *Gemmatimonadetes* e *Nitrospira* apresentaram grande impacto para o estudo quando analisados somente as variáveis microbianas, além de serem forte e positivamente correlatos entre si e estando majoritariamente presentes nos indivíduos do grupo controle. Da mesma forma, os filós *Tenericutes*, *Fusobacteria*, *Bacteroidetes*, *Spirochaetes* e *Synergistetes*, que apresentaram grande impacto no quadro de análise, estão forte e positivamente relacionadas entre si (Figura 10). Sendo ambas análises confirmadas pelo Teste de Esfericidade de Bartlett que apresentou valor- $p < 0,001$ e pelas respectivas comunalidades dos filós. Contudo os dois grupos bacterianos não demonstraram correlação alguma entre si nesse estudo

Figura 10: PCA da microbiota dos voluntários



Legenda: O conjunto dos componentes 1 e 2 indicados nesse gráfico *biplot* explicam 27,85% dos valores e posicionamento das variáveis do gráfico, que quando somados aos demais componentes principais da extração somam 100% das variações. As variáveis microbianas próximas ao ponto de origem apresentam baixo impacto na análise PCA. As variáveis distantes da origem apresentam alto impacto na análise.

Tabela 9: Valores de comunalidade dos filios da microbiota estudada

Parâmetros	Valor de Extração^{1,2}
Acidobacteria	0,921
Nitrospira	0,904
Deferribacteres	0,883
BRC1	0,838
Armatimonadetes	0,831
Spirochaetes	0,823
Fusobacteria	0,812
Gemmatimonadetes	0,809
SR1	0,804
Bacteroidetes	0,789
Mus	0,788
Deinococcus_Thermus	0,782
Tenericutes	0,774
WS3	0,757
Proteobacteria	0,741
TM7	0,736
Actinobacteria	0,722
Verrucomicrobia	0,712
Elusimicrobia	0,698
phage	0,689
Bacteria_unclassified	0,685
Firmicutes	0,680
Chloroflexi	0,542
Synergistetes	0,521
Cyanobacteria_Chloroplast	0,499
unknown_unclassified	0,443

Legenda: ¹Quanto mais próximo do valor inicial (1,0) estiver o valor de extração de um parâmetro mais ele é explicado pelo modelo de PCA e maior seu impacto no mesmo.

²Valores menores que 0,5 são considerados não impactantes na análise.

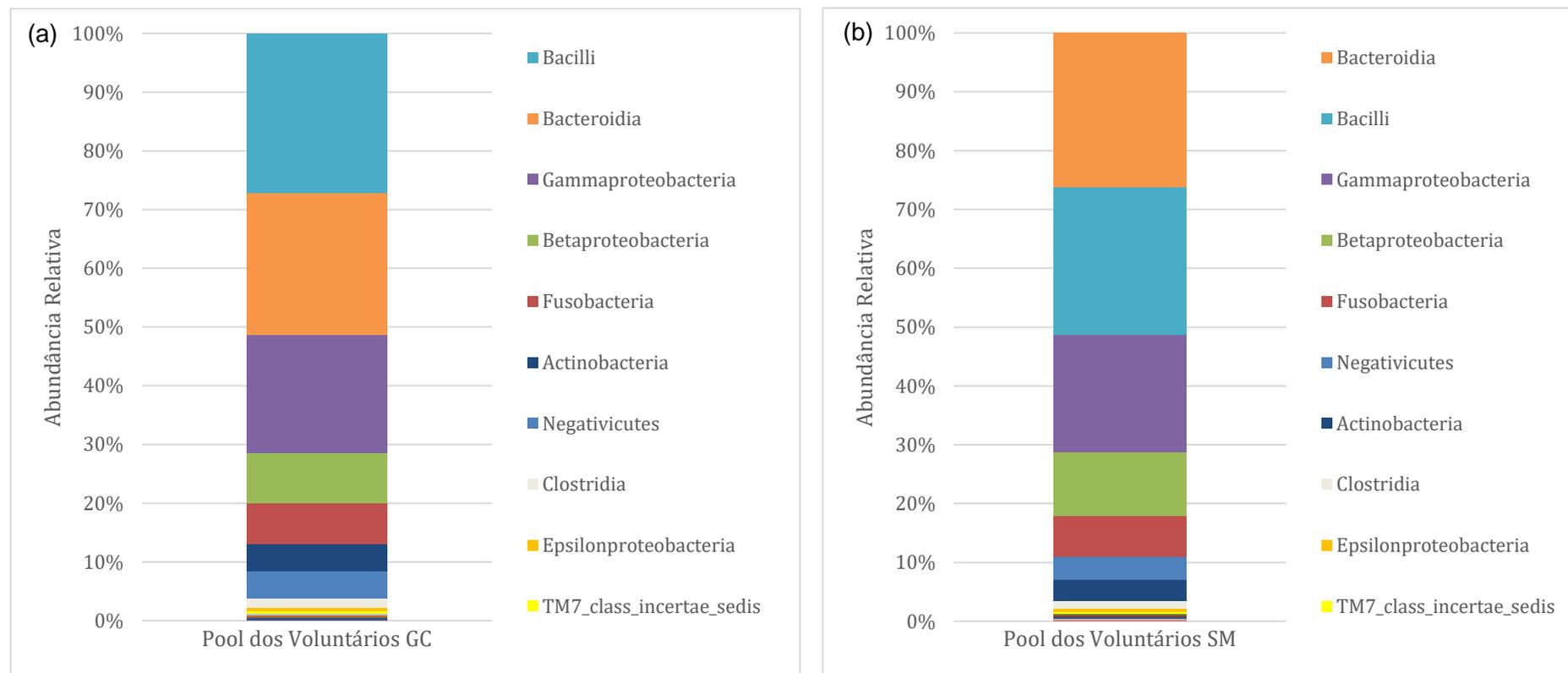
Assim como realizado para Filo, os níveis de classe, ordem, família e gênero também foram descritos (Figura 11) e analisados estatisticamente pelo Teste U de Mann-Whitney. No nível de classe, a *Acidobacteria Gp16* apresentou alteração estatisticamente significativa com valor de $p < 0,05$, estando majoritariamente

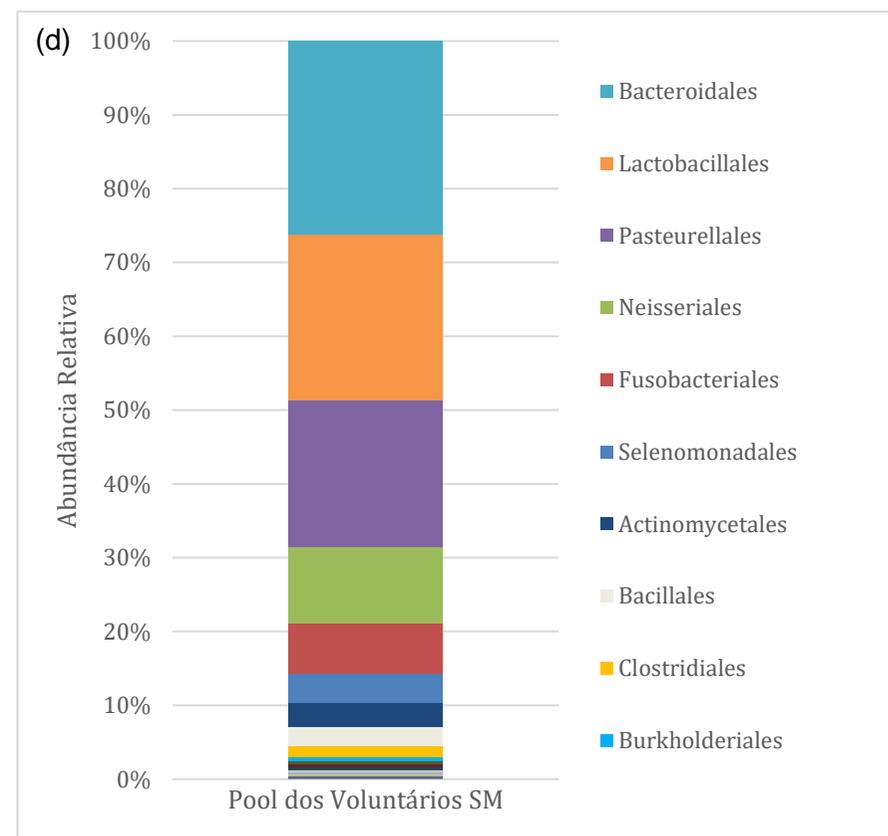
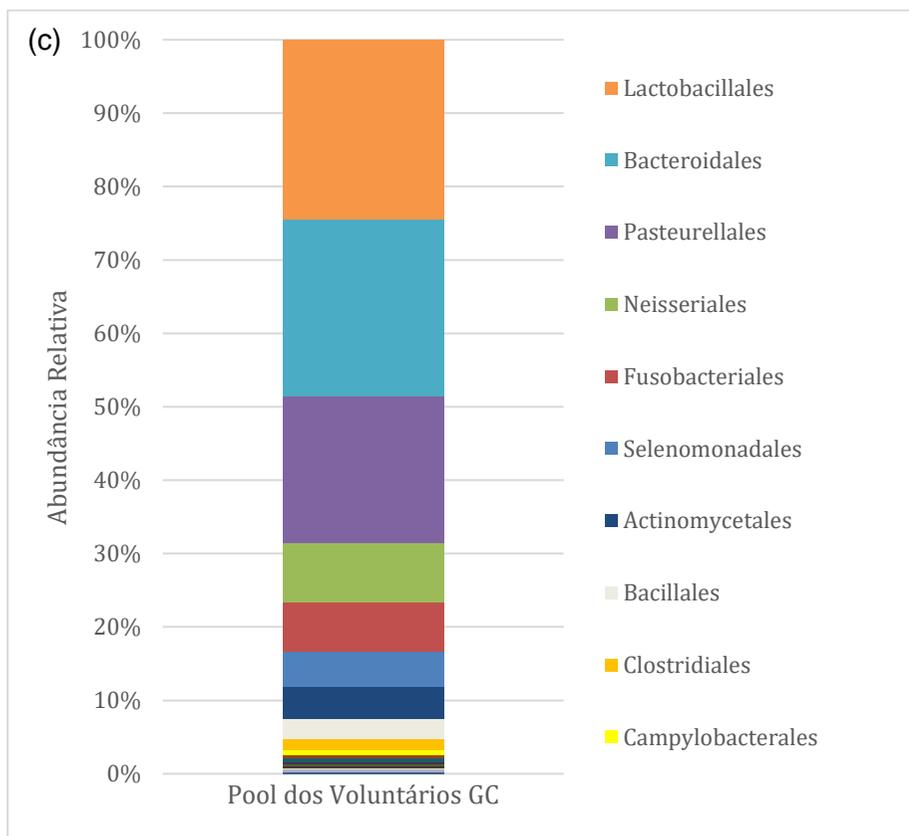
presente nos indivíduos do grupo controle. Quanto às ordens bacterianas, *Acidobacteria-Gp16-de-ordem-não-classificada*, *Actinobacteria-não-classificada*, *Myxococcales*, e *Solirubrobacterialis* apresentaram alteração significativa entre os grupos de estudo, com valor de $p < 0,05$, sendo mais abundantes nos indivíduos do grupo controle. A ordem *Oceanospirillales* também apresentou alteração estatisticamente significativa, porém tendo maior quantidade de sequências nos microbiomas dos indivíduos com síndrome metabólica.

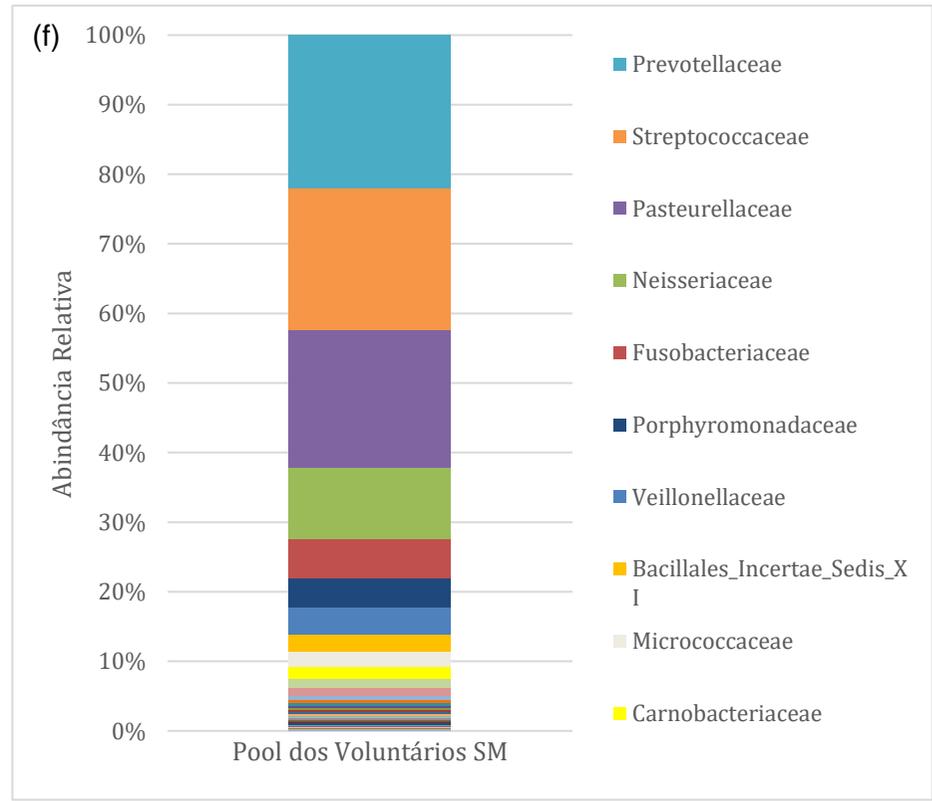
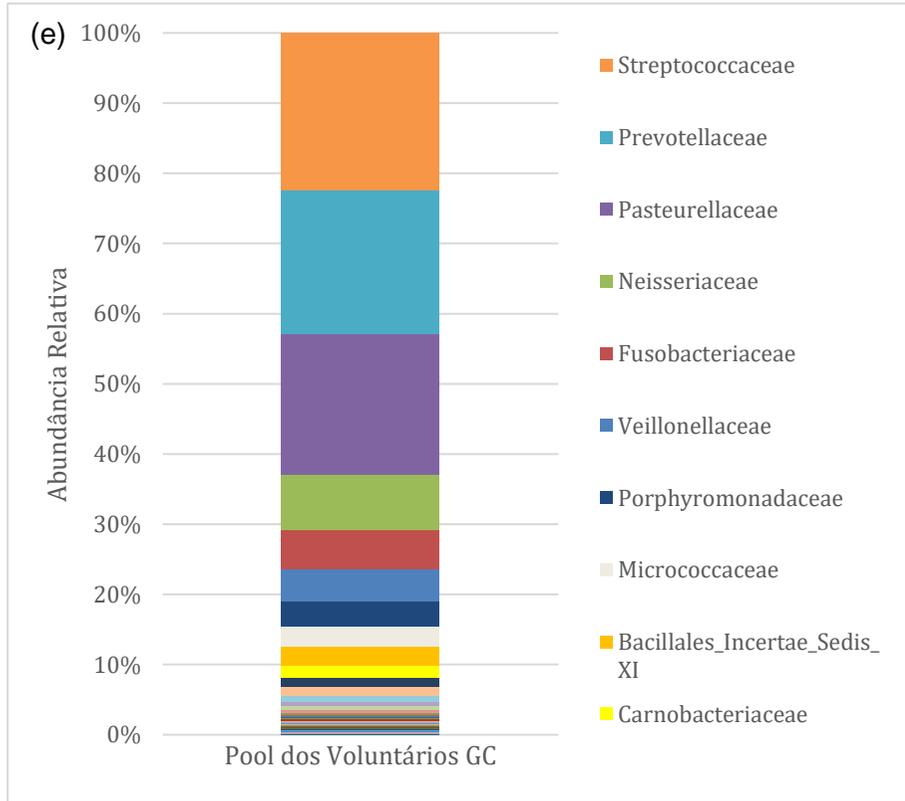
No nível taxonômico de família, *Acidobacteria-Gp16-de-família-não-classificada*, *Actinobacteria-não-classificada*, *Chitinophagaceae*, *Rhodospirillales-não classificado* e *Thermoactinomycetaceae* mostraram alterações significativas entre os grupos (com $p < 0,05$), estando majoritariamente presentes no GC. *Desulfomicrobiaceae*, *Halomonadaceae* e *Leuconostocaceae* mostraram aumento estatisticamente significativo em suas abundâncias relativas no grupo dos doentes, tendo os dois primeiros o $p < 0,05$ e o último $p < 0,01$.

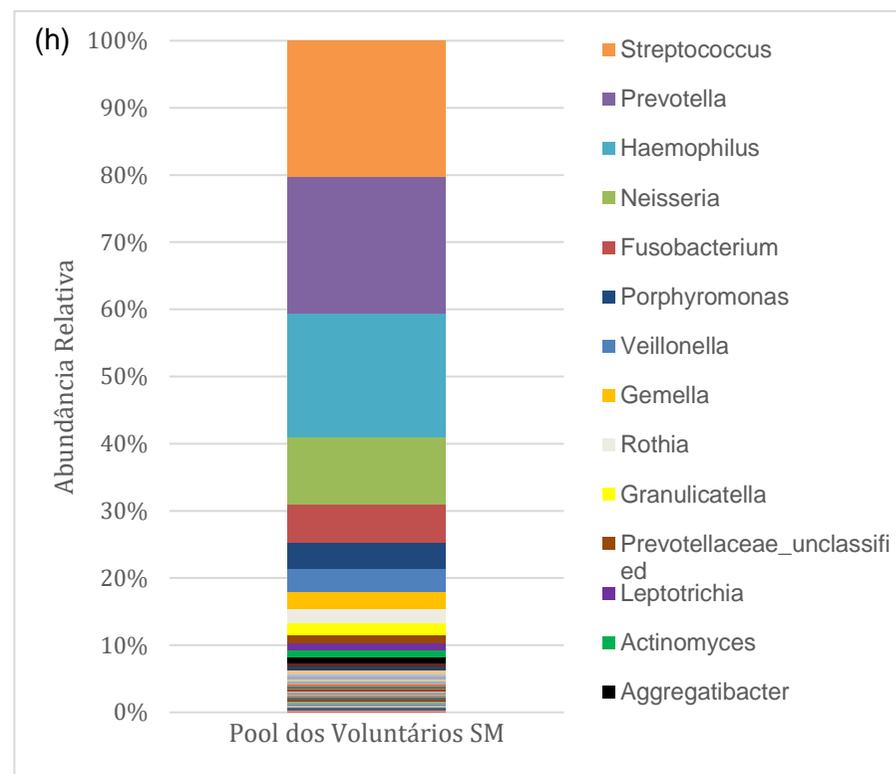
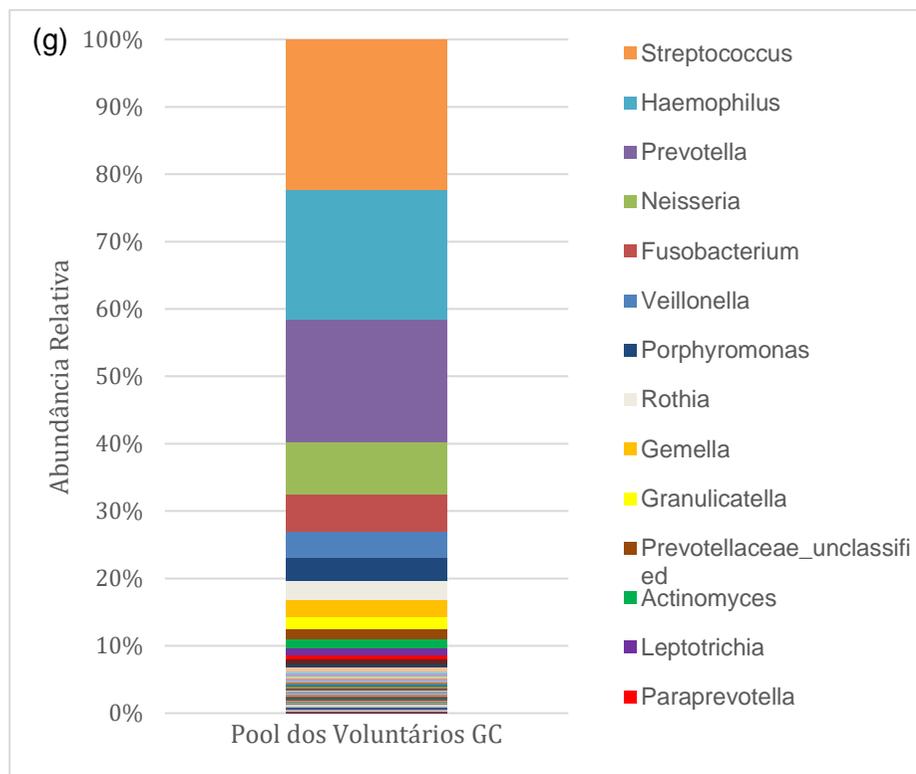
E por último, os gêneros *Actinobactéria-não-classificada*, *Anaerovorax*, *Geminicoccus*, *Gp16*, *Methylophilaceae-não-classificada*, *Nocardia*, *Rhodobacteraceae-não-classificada*, *Rhodospirillaceae-não-classificada*, *Rhodospirillales-não-classificada*, *Steroidobacter* e *Thermoactinomyces* apresentaram alterações significativas entre os grupos, tendo o valor $p < 0,05$ e associadas ao GC. Já os gêneros *Alcaligenaceae-não-classificada*, *Desulfomicrobium*, *Prevotella*, *Shinella*, *Leuconostoc* e *Cobetia* também tiveram alterações significativas (com $p < 0,05$ para os quatro primeiros e $p < 0,01$ para os dois últimos), sendo mais abundantes no grupo SM.

Figura 11: Perfil microbiano dos voluntários







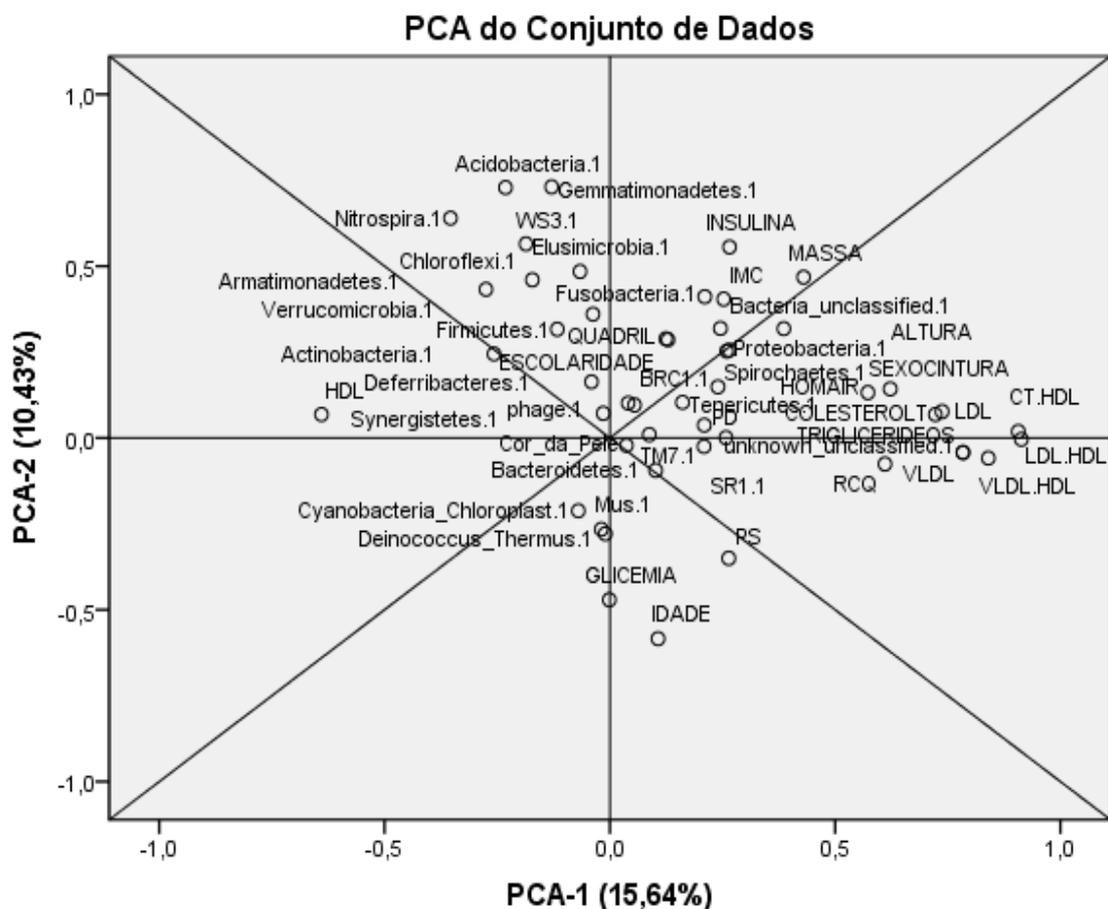


Legenda: (a) Distribuição metagenômica das amostras dos voluntários GC em pool a nível de classe. (b) Distribuição metagenômica das amostras dos voluntários SM em pool a nível de classe. (c) Distribuição metagenômica das amostras dos voluntários GC em pool a nível de ordem. (d) Distribuição metagenômica das amostras dos voluntários SM em pool a nível de ordem. (e) Distribuição metagenômica das amostras dos voluntários GC em pool a nível de família. (f) Distribuição metagenômica das amostras dos voluntários SM em pool a nível de família. (g) Distribuição metagenômica das amostras dos voluntários GC em pool a nível de gênero. (h) Distribuição metagenômica das amostras dos voluntários SM em pool a nível de gênero.

5.6 Análise multivariada de todos os dados

Considerando os 56 voluntários selecionados para análise metagenômica, cujos dados bioquímicos, de pressão, sociodemográficos e antropométricos haviam sido investigados, realizou-se uma avaliação de PCA para entender os impactos de todos estes parâmetros para a doença. Como resultado, as variáveis CT/HDL, LDL/HDL, VLDL/HDL, LDL, RCQ, VLDL, triglicerídeos e colesterol mantiveram o alto impacto na análise, estando fortemente e positivamente correlatos entre si e contribuindo para o desenvolvimento do quadro clínico da síndrome, como mostrado em análises anteriores nesse estudo. Em adição, os filos *Acidobacteria*, *Gemmatimonadetes*, *Nitrospira* indicaram elevado impacto no estudo, estando forte e positivamente correlatas entre si, contudo provavelmente atuando como fator protetivo, uma vez que foram majoritariamente presentes no grupo GC. O HDL, assim como os filos citados acima, também apresentou impacto significativo no PCA e possível fator protetivo no estudo (Figura 12). A observação foi confirmada pela comunalidade das variáveis.

Figura 12: PCA dos dados microbianos e dos voluntários



O conjunto dos componentes 1 e 2 indicados nesse gráfico *biplot* explicam aproximadamente 26,1% dos valores e posicionamento das variáveis do gráfico, que quando somados aos demais componentes principais da extração somam 100% das variações. As variáveis próximas ao ponto de origem apresentam baixo impacto na análise PCA. As variáveis distantes da origem apresentam alto impacto na análise. PAS, Pressão Arterial Sistólica; PAD, Pressão Arterial Diastólica; HDL, High Density Lipoprotein; VLDV, Very Low Density Lipoprotein; LDL, Low Density Lipoprotein; CT/HDL, Colesterol Total por High Density Lipoprotein; VLDL/HDL, Very Low Density Lipoprotein por High Density Lipoprotein; LDL/HDL, Low Density Lipoprotein por High Density Lipoprotein.

Tabela 10: Valor das comunalidades da análise conjunta

Parâmetros	Valor de Extração ¹
CT.HDL	0,964
MASSA	0,963
VLDL.HDL	0,953

TRIGLICERIDEOS	0,952
VLDL	0,952
LDL.HDL	0,952
QUADRIL	0,945
Acidobacteria.1	0,934
COLESTEROLT	0,925
LDL	0,922
CINTURA	0,921
HOMAIR	0,921
IMC	0,913
RCQ	0,908
SEXO	0,901
INSULINA	0,897
Nitrospira.1	0,897
BRC1.1	0,884
Cor dea Pele	0,864
Deferribacteres.1	0,857
Mus.1	0,854
Spirochaetes.1	0,848
ESCOLARIDADE	0,840
ALTURA	0,840
Fusobacteria.1	0,839
Tenericutes.1	0,828
Proteobacteria.1	0,825
SR1.1	0,819
Verrucomicrobia.1	0,814
PS	0,806
Actinobacteria.1	0,804
Gemmatimonadetes.1	0,804
Deinococcus_Thermus.1	0,800
IDADE	0,790
TM7.1	0,777
WS3.1	0,777
Elusimicrobia.1	0,770
GLICEMIA	0,761
Armatimonadetes.1	0,757

PD	0,756
HDL	0,756
Firmicutes.1	0,745
Bacteria_unclassified.1	0,742
Synergistetes.1	0,740
Bacteroidetes.1	0,718
phage.1	0,698
Chloroflexi.1	0,672
unknown_unclassified.1	0,668
Cyanobacteria_Chloroplast.1	0,564

¹Quanto mais próximo do valor inicial (1,0) estiver o valor de extração de um parâmetro mais ele é explicado pelo modelo de PCA e maior seu impacto no mesmo. Valores menores que 0,5 são considerados não impactantes na análise.

6. Discussão

Neste trabalho foram avaliados 103 voluntários adultos, considerando parâmetros sociodemográficos, antropométricos, clínicos e de diversidade bacteriana na saliva. A partir de análises bioquímicas do sangue e demais características clínicas, em torno de 30% desta população apresentou Síndrome Metabólica (33 indivíduos contra 70 do grupo controle).

6.1 Dados sociodemográficos da população estudada

Neste trabalho, a cor de pele e o sexo não mostraram estar associados com o desenvolvimento de SM. Poucos estudos conseguiram obter algum tipo de correlação entre esses fatores e síndrome metabólica e os que obtiveram apresentaram resultados que contrapõem uns aos outros, como no estudo de KANE *et al.* de 2016 que aponta o sexo feminino como fator protetivo contra SM e o estudo de SMILEY *et al.* de 2019 que indicam que mulheres possuem maior risco para o desenvolvimento da síndrome.

Tal como os estudos de GUPTA & GUPTA de 2010 e de JURA & KOZAK de 2016, a idade foi fator que apresentou alterações significativas em seus valores entre os grupos controle e SM, expondo maior média de idade neste último. Isso nos indicou que quanto maior a idade maior o risco de desenvolver a SM, uma vez que o aumento da idade já foi associado previamente com os fatores de risco desta síndrome, como a pressão arterial, valores de glicemia e circunferência de cintura.

De forma interessante, a escolaridade indicou estar relacionada a doença, sendo o maior nível de escolaridade (ou tempo de estudo) mais frequente no grupo controle, agindo como potencial fator protetivo. Já o menor nível de escolaridade mostrou maior incidência no grupo SM, sendo um fator de risco, bem como demonstrado nas pesquisas de CHIARA *et al.* de 2017, LI *et al.* de 2017 e FARMANFARMA *et al.* 2020.

6.2 Fatores de risco associados a Síndrome Metabólica

Após classificação do estado nutricional de todos os voluntários, foi possível avaliar que havia uma variação significativa na distribuição dos indivíduos com diferentes faixas de IMC dentro dos grupos controle (GC) e doentes (SM). No grupo controle a incidência de indivíduos com peso normal (PN) era extremamente maior, enquanto o grupo doente apresentou maior frequência de indivíduos com sobrepeso e obesos, o que foi confirmado com resultado significativo no Teste χ^2 de Pearson. Além disso, a Odd Ratio mostrou que os indivíduos de sobrepeso e obeso tem 22,634 vezes mais chance de desenvolver a síndrome metabólica que indivíduos de peso normal, indicando esta característica como protetiva para o desenvolvimento de SM, como já observado no estudo de OFER *et al.*, de 2019. Além reforçar que a obesidade abdominal frequentemente presente em pessoas com sobrepeso e obesas é um fator intrinsecamente relacionada a síndrome metabólica compondo um dos 5 fatores já descritos como preconizadores da mesma (DEPRÉS & LEMIEUX, 2006; ANDERSEN *et al.*, 2016; ENGIN, 2017).

Na análise antropométrica foram avaliados a altura, a massa, o IMC, a circunferência de cintura, a circunferência de quadril e a relação cintura-quadril de cada um dos voluntários de forma univariada comparando cada um dos fatores com sua distribuição nos grupos GC e SM. O parâmetro altura não apresentou alteração

significativa entre os grupos, assim como nos estudos de KRAKAUER & KRAKAUER de 2016 e de 2018, que demonstram que a altura pode ser um parâmetro a ser utilizado para determinar sobrepeso e obesidade, assim como outros quadros clínicos e síndromes, como acidente cardiovascular, aterosclerose, diabetes tipo 2 e a própria síndrome metabólica, mas apenas quando este fator está associado a outros dados uma análise composta com IMC e relação cintura-altura.

Os valores de massa corporal e IMC dos voluntários foram significativamente maiores dentre os indivíduos com a doença, indicando estes fatores como associados ao desenvolvimento do quadro de síndrome metabólica, como já apresentado por SAMSOM & GARBER em 2014, que mostraram como as principais organizações de saúde (WHO, EGIR, NCEP-ATPIII, dentre outros) descrevem os fatores preconizados para o surgimento desta síndrome na população. E nesse estudo todos os órgãos foram unânimes quanto ao fato de que a obesidade, diretamente representada pelos acréscimos no nível de massa corporal, leva ao aumento da circunferência abdominal, também conhecida por obesidade central, que por sua vez leva o surgimento de doenças e comorbidades como a diabetes mellitus tipo 2, doenças cardiovasculares e aumento quadro inflamatório, assim como o risco de mortalidade do indivíduo como também explicitado no estudo ENGIN de 2017.

Quanto aos maiores valores de IMC associados a síndrome metabólica, isso já foi apontado por WEBER, em 2018, que mostrou como o IMC impactava no desenvolvimento da síndrome e como sua dinâmica atrapalhava os afazeres diários dos militares da aeronáutica alemã. GOBATO e colaboradores (2014), assim como HANNOUN e colaboradores (2020), foram mais taxativos quanto a correlação do IMC com os demais fatores como a hipertensão, a alta de glicemia, os valores reduzidos de HDL e surgimento da resistência insulínica, determinada pelo cálculo do HOMA-IR, corroborando os resultados obtidos no nosso estudo. Além disso, os valores de circunferência de cintura, circunferência de quadril e a relação cintura-quadril, também relacionados ao aumento do IMC e obesidade, acompanharam a tendência crescente associada ao grupo com a síndrome. Esses parâmetros também foram avaliados junto a recorrência da hipertensão, por ENGIN de 2017, CAO *et al*, 2018, uma vez que tais características predispõem os indivíduos ao risco de desenvolver doenças cardiovascular.

6.3 Fatores clínicos e bioquímicos

O aumento significativo nos valores de pressão sistólica e diastólica em indivíduos com SM caracterizam um quadro de hipertensão que já é descrito na literatura como um dos fatores chaves para a manifestação da síndrome metabólica e de doenças cardiovasculares, como igualmente descritos por GALASSI *et al.* (2006) e por CHIARA *et al.* (2017). A glicemia, a insulina e o índice HOMA-IR (utilizado para indicar um quadro clínico de resistência à insulina) apresentaram um aumento significativo e diretamente proporcional ao desenvolvimento da síndrome metabólica como já descrito por SAMSOM & GARBER (2014) e de SAEB *et al.* (2019). Aqui, a porcentagem de indivíduos com resistência a insulina foi praticamente 3 vezes maior no grupo doente (66,6%), em relação ao controle (22,8%).

Os valores de triglicérido, HDL, LDL, VLDL e colesterol total, assim como suas relações CT/HDL, LDL/HDL e VLDL/HDL, também foram avaliados mostrando variação significativa entre os grupos GC e SM. Desses, apenas o HDL atua como parâmetro protetivo e nesse estudo a alta de HDL estava intrinsicamente ligada ao grupo controle como apresentado no estudo de SAEB, *et al.* de 2019. Nesse mesmo estudo, como nos de KLEIN *et al.* (2002) e KAMSO (2007), o aumento dos demais fatores avaliados está diretamente associado ao surgimento da síndrome metabólica. Especialmente no caso das três relações observadas, valores acima de um limiar predispõem o indivíduo a um grande risco de desenvolver quadros de aterosclerose, infarto agudo do miocárdio, dentre outras complicações cardiovasculares.

6.4 Microbiomas salivares e síndrome metabólica

A microbiota bacteriana dos 56 indivíduos selecionados para análise metagenômica do rDNA 16S mostrou uma sinuosa variação significativa em sua diversidade quando comparados indivíduos saudáveis e doentes. Mostrando que a síndrome metabólica possui a capacidade de impactar não apenas na saúde mais também a microbiota oral, e tais mudanças podem acarretar no aumento ou manutenção da doença. É importante salientar que todos os indivíduos cujos

metagenomas foram analisados, apresentaram estado nutricional obeso ou com sobrepeso. A ausência de análise do grupo de indivíduos com peso normal pode ter diminuído as diferenças esperadas entre as composições bacterianas dos grupos, no entanto, neste trabalho escolhemos direcionar os recursos financeiros para o estudo de indivíduos com sobrepeso e obesidade, uma vez que no grupo SM havia apenas um indivíduo que não se enquadrava neste *status*, sendo retirado desta etapa.

Na descrição da diversidade bacteriana salivar, os níveis taxonômicos avaliados foram de filo a gênero. A partir da análise estatística univariada, não foram observados filios com qualquer variação significativa entre os grupos. No estudo de *Sl et al.* de 2017 também foi analisada a relação da microbiota oral com síndrome metabólica chegando ao resultado de que dois gêneros, *Granulicatella* e *Neisseria*, estavam relacionados com o surgimento da síndrome metabólica e o gênero *Peptococcus* com grupo controle. Contudo mesmo com as trocas de posição dos filios, de acordo com sua abundância dentro dos grupos, ele não encontrou variação significativa para este nível taxonômico, assim como no nosso estudo.

O grupo controle deste trabalho apresentou como filios mais abundantes *Bacilli*, *Bacteroidia*, *Gamaproteobacteria*, *Betaproteobacteria* e *Fusobacteria*. Comparando-se com o estudo de SAEB (2019), de descrição da microbiota oral, houve uma variação dos cinco filios mais abundantes. De acordo com SAEB e colaboradores, *Actinobacteria* apresenta-se como um dos cinco filios mais abundantes, o que não observamos aqui, e *Fusobacteria* compreendeu apenas 2% da composição bacteriana nos microbiomas descritos.

No nível das classes, *Acidobacteria Gp16* apresentou alteração estatisticamente significativa, estando majoritariamente presente nos indivíduos do grupo controle. Não há estudos prévios que correlacionam este grupo com a saúde humana. Contudo no estudo de THELUSMOND *et al.* de 2018 sobre a biodegradação de diclofenaco, um anti-inflamatório amplamente usado no tratamento de lesões ósseas e musculares, e do triclocarban, um antimicrobiano utilizado na composição de produtos de higiene como sabonetes e shampoos, a bactéria *Gp16* foi umas das bactérias presentes no solo que demonstrou estar associada a degradação dos dois compostos citados, podendo indicar que ela talvez desempenhe um papel similar

no corpo humano. Isso também vale para suas subseqüentes classificações taxonômicas detectadas neste trabalho: *Acidobacteria Gp16* > *Acidobacteria-Gp16-de-ordem-não-classificada* > *Acidobacteria-Gp16-de-familia-não-classificada* > *Gp16*.

No nível taxonômico das ordens, *Actinobactéria-não-classificada*, *Myxococcales*, e *Solirubrobacteralis* apresentaram alteração significativa entre os grupos sendo mais abundantes nos indivíduos do grupo controle. Actinobactérias, como já foram previamente associadas como fator deflagrador da obesidade ou como protetivo, como explicitado no estudo YANG *et al.* de 2019 em que as bactérias *Actinomyces sp.* estavam associadas a prevalência da obesidade e as da *Alloscardovia sp.* se mostraram como fator protetivo. A ordem *Solirubrobacteralis* também demonstrou caráter protetivo no nosso estudo, assim como no estudo de NIRMALKAR *et al.* de 2018 em que descreveu o fator protetivo desta ordem contra o aumento da obesidade central e suas comorbidades.

Quando avaliadas as famílias bacterianas, *Chitinophagaceae*, *Rhodospirillales-não-classificado* e *Thermoactinomycetaceae* mostraram alterações significativas entre os grupos, estando majoritariamente presentes no GC. A *Chitinophagaceae* foi descrita no estudo de DU *et al.* de 2021 sobre as alterações da microbiota intestinal de pacientes com diabetes como um fator microbiano protetivo, associando ao grupo controle do seu estudo. A família *Rhodospirillales-não-classificada* também demonstrou aspecto protetivo, sendo corroborado pelo estudo MURALIDHARAM *et al.* de 2021 em que as bactérias pertencentes a ordem *Rhodospirillales* atuaram como fator protetivo contra o aumento do valor de IMC, o aumento da circunferência abdominal e aumento da glicemia. Há de se considerar que nesta etapa da análise, o grupo controle deste trabalho é composto por indivíduos com altos valores de IMC mas saudáveis com relação a SM, o que indica que as diferenças observadas estão provavelmente relacionadas ao quadro clínico da síndrome e não ao acúmulo de massa e estado nutricional em si.

Finalmente, foram detectados alguns gêneros com variações no número relativo de sequências entre os grupos, mas que não haviam sido associados antes com a síndrome metabólica. Os gêneros *Desulfomicrobium*, *Prevotella*, *Shinella*,

Leuconostoc e *Cobetia* mostraram aumento significativo no número de sequências no grupo SM, sendo possivelmente bioindicadores da doença. Já os gêneros *Gp16*, *Anaerovorax*, *Geminicoccus*, *Nocardia*, *Steroidobacter* e *Thermoactinomyces*, além de alguns não classificados, foram mais abundantes no grupo controle, podendo estar relacionados com a proteção contra a síndrome. Nenhum deste gêneros foi citado por SI *et al.*, em 2017 como fazendo parte da microbiota oral alterada relacionada com a síndrome metabólica. Diferenças no número amostral e nas características sociodemográficas as populações estudadas possivelmente foram determinantes para esta discrepância.

O gênero *Prevotella* foi um dos que aumentaram mais significativamente no grupo SM, principalmente nos indivíduos obesos. Este gênero já foi amplamente descrito como um dos principais microrganismos metabolizadores de carboidratos presentes na microbiota humana, como indicado por NIRMALKAR *et al.* (2018) que estudou a relação da microbiota intestinal e a obesidade.

7. Conclusão

Com base na análise dos resultados obtidos é possível concluir o aumento da idade e a baixa escolaridade são fatores de risco associados ao desenvolvimento da síndrome metabólica, na população estudada.

Os parâmetros antropométricos de altura, massa, IMC, circunferência de quadril e relação cintura quadril, assim como os valores de colesterol total, LDL, VLDL e as razões entre eles e o HDL, se mostraram fortes indicadores para avaliar o desenvolvimento da síndrome metabólica, podendo ser adicionados a outros fatores de risco já usados no diagnóstico.

A composição bacteriana da saliva indicou ser influenciada pela síndrome metabólica no nosso estudo, apresentando variações na diversidade de algumas poucas classes, famílias e gêneros entre os indivíduos saudáveis e com SM, de uma forma independente ao ganho de massa corporal.

8. Referências

American Heart Association. [Accessed in January 26, 2019]. Available at: <https://www.heart.org/en/health-topics/metabolic-syndrome/symptoms-and-diagnosis-of-metabolic-syndrome>

AMEYE, H., SWINNEN, J. "Obesity, income and gender: The changing global relationship", *Global Food Security*, v. 23, p. 267–281, dez. 2019.

ANDERSEN, C. J., MURPHY, K. E., FERNANDEZ, M. L. "Impact of Obesity and Metabolic Syndrome on Immunity", *American Society for Nutrition*, 2016.

BABBS, C. F. "Oscillometric measurement of systolic and diastolic blood pressures validated in a physiologic mathematical model", *BioMedical Engineering OnLine*, v. 11, n. 1, p. 56, 2012.

BAQUI, A. A. M. A., MEILLER, T. F., CHON, J. J., *et al.* "Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor Amplification of Interleukin-1 β and Tumor Necrosis Factor Alpha Production in THP-1 Human Monocytic Cells Stimulated with Lipopolysaccharide of Oral Microorganisms", *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, v. 5, n. 3, p. 341–347, 1998.

BERG, A.H., SCHERER, P.E. Adipose tissue, inflammation, and cardiovascular disease. *Circulation Research*, 96: 939-949. 2005

BIBIOTECA VIRTUAL EM SAÚDE DO MINISTÉRIO DA SAÚDE DO GOVERNO DO BRASIL. [Accessed in January 25, 2019]. Available: http://bvsmis.saude.gov.br/bvs/publicacoes/obesidade_desnutricao.pdf

CANI, P. D., BIBILONI, R., KNAUF, C., *et al.* "Changes in Gut Microbiota Control Metabolic Endotoxemia-Induced Inflammation in High-Fat Diet-Induced Obesity and Diabetes in Mice", *Diabetes*, v. 57, n. 6, p. 1470–1481, 1 jun. 2008.

CAO, Q., YU, S., XIONG, W., *et al.* "Waist-hip ratio as a predictor of myocardial infarction risk", *Medicine*, v. 97, n. 30, p. e11639, jul. 2018.

CHIARA, T. D., SCAGLIONE, A., CORRAO, S., *et al.* "Education and hypertension: impact on global cardiovascular risk", *Acta Cardiologica*, 2017.

COSTELLO, E. K., LAUBER, C. L., HAMADY, M., *et al.* "Bacterial Community Variation in Human Body Habitats Across Space and Time", *Science*, v. 326, n. 5960, p. 1694–1697, 18 dez. 2009.

DELAVARI, A., FOROUZANFAR, M. H., ALIKHANI, S., *et al.* "First Nationwide Study of the Prevalence of the Metabolic Syndrome and Optimal Cutoff Points of Waist Circumference in the Middle East: The National Survey of Risk Factors for Noncommunicable Diseases of Iran", *Diabetes Care*, v. 32, n. 6, p. 1092–1097, 1 jun. 2009.

DESPRÉS, J. P. "Body fat distribution and risk of cardiovascular disease: An update", *Circulation*, 2012.

DEPRÉS, J. P. & LEMIEUX, I. "Abdominal obesity and metabolic syndrome", *Nature-Insight Review*, v 444, 2006.

DEWHIRST, F. E., CHEN, T., IZARD, J., *et al.* "The Human Oral Microbiome", *Journal of Bacteriology*, v. 192, n. 19, p. 5002–5017, 1 out. 2010.

DU, X., LIU, J., KONG, X., *et al.* "Alteration of gut microbial profile in patients with diabetic nephropathy", *Endocrine-Springer Nature Journal*, v.73, 73-84, 2021.

ENGIN, A., "The Definition and Prevalence of Obesity and Metabolic Syndrome", Springer International Publishing, 2017

EVERARD, A., BELZER, C., GEURTS, L., *et al.* "Cross-talk between *Akkermansia muciniphila* and intestinal epithelium controls diet-induced obesity", *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v. 110, n. 22, p. 9066–9071, 28 maio 2013.

FAN, X., PETERS, B. A., MIN, D., *et al.* "Comparison of the oral microbiome in mouthwash and whole saliva samples", *PLOS ONE*, v. 13, n. 4, p. e0194729, 11 abr. 2018.

FARMANFARMA, K. K., KAYKHAEI, M. A., MOHAMMADI, M., *et al.* "The Prevalence and Trend of Metabolic Syndrome in the South-East of Iran", *Journal of Medicine and Life*, V.13, 2020

FERNÁNDEZ, M.F., PEREZ, I. R., ASTORGA, J. M. *et al.* "Breast Cancer and Its Relationship with the Microbiota", *International Journal of Environment Research and Public Health*, 2018

GALASSI, A., REYNOLDS, K., HE, J., "Metabolic Syndrome and Risk of Cardiovascular Disease: A Meta-Analysis", *The American Journal of Medicine*, 2006.

GALLIMIDI, A. B., FISCHMAN, S., REVACH, B., *et al.* "Periodontal pathogens *Porphyromonas gingivalis* and *Fusobacterium nucleatum* promote tumor progression in an oral-specific chemical carcinogenesis model", *Oncotarget*, v. 6, n. 26, 8 set. 2015.

GELONEZE, B., VASQUES, A. C. J., STABE, C. F. C., *et al.* "HOMA1-IR and HOMA2-IR indexes in identifying insulin resistance and metabolic syndrome: Brazilian Metabolic Syndrome Study (BRAMS)", *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia*, v. 53, n. 2, p. 281–287, mar. 2009.

GOBATO, A. O., VASQUEZ, A. C. J., ZAMBON, M. P., *et al.* "Metabolic syndrome and insulin resistance in obese adolescents", *Revista Paulista de Pediatria*, 2014.

GONZÁLEZ-MUNIESA, P., MÁRTINEZ-GONZÁLEZ, M.-A., HU, F. B., *et al.* "Obesity", *Nature Reviews Disease Primers*, v. 3, n. 1, p. 17034, 15 dez. 2017.

GRAESSLER, J., QIN, Y., ZHONG, H., *et al.* "Metagenomic sequencing of the human gut microbiome before and after bariatric surgery in obese patients with type 2 diabetes: correlation with inflammatory and metabolic parameters", *The Pharmacogenomics Journal*, v. 13, n. 6, p. 514–522, 2 dez. 2013.

GUPTA, A., & GUPTA, V., "Metabolic syndrome: What are the risks for humans?", *BioScience Trends*, 2010.

HANNOUN, Z., HARRAQUI, K., ALI, R. A. B., *et al.* "Epidemiological profile and clinical characteristics of metabolic syndrome in Marrakesh, Morocco", *Pan African Medical Journal*, 2020.

HANSEN, C. H. F., KRYCH, L., NIELSEN, D. S., *et al.* "Early life treatment with vancomycin propagates *Akkermansia muciniphila* and reduces diabetes incidence in the NOD mouse", *Diabetologia*, v. 55, n. 8, p. 2285–2294, 10 ago. 2012.

HUSE, S. M., YE, Y., ZHOU, Y., *et al.* "A Core Human Microbiome as Viewed through 16S rRNA Sequence Clusters", *PLoS ONE*, v. 7, n. 6, p. e34242, 13 jun. 2012.

HUTTENHOWER, C., GEVERS, D., KNIGHT, R., *et al.* "Structure, function and diversity of the healthy human microbiome", *Nature*, v. 486, n. 7402, p. 207–214, 13 jun. 2012.

JURA, M., & KOZAK, L. P. "Obesity and related consequences to ageing", American Aging Association, 2016

KAMSO, S. "Body mass index, total cholesterol, and ratio total to HDL cholesterol were determinants of metabolic syndrome in the Indonesian elderly", *Medical Journal of Indonesia*, V.16, 2007.

KLEIN, B. E. K., KLEIN, R., LEE, K. E. "Components of the Metabolic Syndrome and Risk of Cardiovascular Disease and Diabetes in Beaver Dam", *Diabetes Care*, V.25, 1790-1794, 2002.

KRAKAUER, N. Y. & KRAKAUER, J. C. "An Anthropometric Risk Index Based on Combining Height, Weight, Waist, and Hip Measurements", *Journal of Obesity*, 2016.

KRAKAUER, N. Y. & KRAKAUER, J. C. "Anthropometrics, Metabolic Syndrome, and Mortality Hazard", *Journal of Obesity*, 2018.

LEY, R. E., BACKHED, F., TURNBAUGH, P., *et al.* "Obesity alters gut microbial ecology", *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v. 102, n. 31, p. 11070–11075, 2 ago. 2005. "

LI, Y., ZHAO, L., YU, D., *et al.* "Metabolic syndrome prevalence and its risk factors among adults in China: A nationally representative cross-sectional study", *Plos One*, 2018.

LIM, Y. *et al.* Salivary DNA methylation panel to diagnose HPV-positive and HPV-negative head and neck cancers. *BMC Cancer* 16, 1–12 (2016).

MARGULIS, L., FESTER, R. *Symbiosis as a Source of Evolutionary Innovation: Speciation and Morphogenesis.* Cambridge. MIT Press. 1991.

MOTTILLO, S., FILION, K. B., GENEST, J., *et al.* "The Metabolic Syndrome and Cardiovascular Risk", *Journal of the American College of Cardiology*, v. 56, n. 14, p. 1113–1132, set. 2010.

MOZAFFARIAN, D. "Dietary and Policy Priorities for Cardiovascular Disease, Diabetes, and Obesity", *Circulation*, v. 133, n. 2, p. 187–225, 12 jan. 2016.

MURALIDHARAN, J., INDIAS, I. M., BULLÓ, M., *et al.* "Effect on gut microbiota of a 1-y lifestyle intervention with Mediterranean diet compared with energy-reduced Mediterranean diet and physical activity promotion: PREDIMED-Plus Study" *The American Journal of Clinical Nutrition*, 2021.

NG, M., FLEMING, T., ROBINSON, M., *et al.* "Global, regional, and national prevalence of overweight and obesity in children and adults during 1980–2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013", *The Lancet*, v. 384, n. 9945, p. 766–781, ago. 2014.

NIRMALKAR, K., MURUGESAN S., ZARATE, M. L. P., *et al.* "Gut Microbiota and Endothelial Dysfunction Markers in Obese Mexican Children and Adolescents", *Nutrients*, 2018.

NYVAD, B., TAKAHASHI, N. "Integrated hypothesis of dental caries and periodontal diseases", *Journal of Oral Microbiology*, v. 12, n. 1, p. 1710953, 1 jan. 2020.

OFER, K., RONIT, L., OPHIR, A., AMIR, K. "Normal body mass index (BMI) can rule out metabolic syndrome", *Medicine*, 2019.

OGAWA, T., HONDA-OGAWA, M., IKEBE, K., *et al.* "Characterizations of oral microbiota in elderly nursing home residents with diabetes", *Journal of Oral Science*, v. 59, n. 4, p. 549–555, 2017.

O'HARA, A. M., SHANAHAN, F. "The gut flora as a forgotten organ", *EMBO reports*, v. 7, n. 7, p. 688–693, jul. 2006.

OSEI-YEBOAH, J., OWIREDU, W. K. B. A., NORGBE, G. K., *et al.* "The Prevalence of Metabolic Syndrome and Its Components among People with Type 2 Diabetes in the Ho Municipality, Ghana: A Cross-Sectional Study", *International Journal of Chronic Diseases*, v. 2017, p. 1–8, 2017.

O'TOOLE, P. W., FLEMER, B. "From Culture to High-Throughput Sequencing and Beyond", *Gastroenterology Clinics of North America*, v. 46, n. 1, p. 9–17, mar. 2017.

OTTMAN, N., SMIDT, H., DE VOS, W. M., *et al.* "The function of our microbiota: who is out there and what do they do?", *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, v. 2, 2012.

PASTER, B. J., BOCHES, S. K., GALVIN, J. L., *et al.* "Bacterial Diversity in Human Subgingival Plaque", *Journal of Bacteriology*, v. 183, n. 12, p. 3770–3783, 15 jun. 2001.

QIN, J., LI, Y., CAI, Z., *et al.* "A metagenome-wide association study of gut microbiota in type 2 diabetes", *Nature*, v. 490, n. 7418, p. 55–60, 26 out. 2012.

RAJU, S. C., LAGSTRÖM, S., ELLONEM P., *et al.* "Gender-Specific Associations Between Saliva Microbiota and Body Size", *Frontiers in Microbiology*, 2019.

RAMIRES, E. K. N. M., MENEZES, R. C. E. de, LONGO-SILVA, G., *et al.* "Prevalence and Factors Associated with Metabolic Syndrome among Brazilian Adult Population: National Health Survey - 2013", *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, 2018.

REAVEN, G. M. "The metabolic syndrome: is this diagnosis necessary?", *The American Journal of Clinical Nutrition*, v. 83, n. 6, p. 1237–1247, 1 jun. 2006.

ROJAS, C. A., HOLEKAMP, K. E., WINTERS, A. D., *et al.* "Body site-specific microbiota reflect sex and age-class among wild spotted hyenas", *FEMS Microbiology Ecology*, v. 96, n. 2, 1 fev. 2020.

ROSENBERG, E., ZILBER-ROSENBERG, I. "Microbes Drive Evolution of Animals and Plants: the Hologenome Concept", *mBio*, v. 7, n. 2, 4 maio 2016.

SAEB, A. T. M., AL-RUBEAN, K. A., ALDOSARY, K., *et al.* "Relative reduction of biological and phylogenetic diversity of the oral microbiota of diabetes and pre-diabetes patients", *Microbial Pathogenesis*, v. 128, p. 215–229, mar. 2019.

SAMSON, S. L., GARBER, A. J. "Metabolic Syndrome", *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*, v. 43, n. 1, p. 1–23, mar. 2014.

SAMUEL, B. S., SHAITO, A., MOTOIKE, T., *et al.* "Effects of the gut microbiota on host adiposity are modulated by the short-chain fatty-acid binding G protein-coupled receptor, Gpr41", *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v. 105, n. 43, p. 16767–16772, 28 out. 2008.

SCHLOSS, P.D., KOZICH, J.J., WESTCOTT, S.L., BAXTER, N.T., HIGHLANDER, S.K. Development of a dual-index sequencing strategy and curation pipeline for analyzing amplicon sequence data on the MiSeq Illumina sequencing platform. *Applied and Environmental Microbiology*. 79(17):5112-20, 2013.

SI, J., LEE, C., KO, G. "Oral Microbiota: Microbial Biomarkers of Metabolic Syndrome Independent of Host Genetic Factors", *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, v. 7, 15 dez. 2017.

SMEMO, S., TENA, J. J., KIM, K.-H., *et al.* "Obesity-associated variants within FTO form long-range functional connections with IRX3", *Nature*, v. 507, n. 7492, p. 371–375, 12 mar. 2014.

Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia. [Accessed in January 26, 2019]. Available at: <https://www.endocrino.org.br/sindrome-metabolica/>

TAM, J., HOFFMANN, T., FISCHER, S., *et al.* "Obesity alters composition and diversity of the oral microbiota in patients with type 2 diabetes mellitus independently of glycemic control", *PLOS ONE*, v. 13, n. 10, p. e0204724, 1 out. 2018.

TANG, W. H. W., KITAI, T., HAZEN, S. L. "Gut Microbiota in Cardiovascular Health and Disease" *American Heart Association-Circulation Research*, 2017

THELUSMOND, J. R., KAWKA, E., STRATHMANN, T. J., CUPPLES, A. M. "Diclofenac, carbamazepine and triclocarban biodegradation in agricultural soils and the microorganisms and metabolic pathways affected", *Elsevier-Science of the Total Environment*, 1393-1410, 2018.

TOLHURST, G., HEFFRON, H., LAM, Y. S., *et al.* "Short-Chain Fatty Acids Stimulate Glucagon-Like Peptide-1 Secretion via the G-Protein-Coupled Receptor FFAR2", *Diabetes*, v. 61, n. 2, p. 364–371, 1 fev. 2012.

TURNBAUGH, P. J., LEY, R. E., MAHOWALD, M. A., *et al.* "An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest", *Nature*, v. 444, n. 7122, p. 1027–1031, dez. 2006.

URSELL, L. K., HAISER, H. J., VAN TREUREN, W., *et al.* "The Intestinal Metabolome: An Intersection Between Microbiota and Host", *Gastroenterology*, v. 146, n. 6, p. 1470–1476, maio 2014.

WALL, R., ROSS, R. P., SHANAHAN, F., *et al.* "Metabolic activity of the enteric microbiota influences the fatty acid composition of murine and porcine liver and adipose tissues", *The American Journal of Clinical Nutrition*, v. 89, n. 5, p. 1393–1401, 1 maio 2009.

WANG, B., YAO, M., LV, L., *et al.* "The Human Microbiota in Health and Disease", *Engineering*, v. 3, n. 1, p. 71–82, fev. 2017

WEBER, F. "Metabolic Syndrome and Risk of Cardiovascular Disease: A Meta-Analysis" *Aerospace Medicine and Human performance*, 2018

World Health Organization. *Waist Circumference and Waist-Hip Ratio: Report of a WHO Expert Consultation*. WHO. 2011

World Health Organization. *Health Topics - Obesity*. [Accessed in January 25, 2019]. Available at: <https://www.who.int/topics/obesity/en/>

World Health Organization. *News – Fact sheets – Details – Obesity and overweight*. [Accessed in January 25, 2019]. Available at: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>

World Health Organization. *Health topics – Disease prevention – Nutrition – A healthy lifestyle – Body Mass Index (BMI)*. [Accessed in February 8, 2019]. Available at: <http://www.euro.who.int/en/health-topics/disease-prevention/nutrition/a-healthy-lifestyle/body-mass-index-bmi>

YANG, Y., CAI, Q., ZHENG, W., *et al.* "Oral microbiome and obesity in a large study of low-income and African-American populations", *Journal of Oral Microbiology*, 2019.

YOUNGSEOB Y, CHANGSOO L, JAAI K, SEOKHWAN H. Group-specific primer and probe sets to detect methanogenic communities using quantitative real-time polymerase chain reaction". *Biotechnol Bioeng*. 89: p. 670–6792, 005.

9. Anexo

9.1 Anexo 1

UNIVERSIDADE DO GRANDE
RIO PROFESSOR JOSÉ DE
SOUZA HERDY - UNIGRANRIO



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Proteômica de saliva e plasma sanguíneo para detecção de biomarcadores de comorbidades associadas a obesidade

Pesquisador: CARLOS VINICIUS FERREIRA DA SILVA

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 14961519.6.0000.5283

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE UNIGRANRIO

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.402.791

Apresentação do Projeto:

A obesidade é um estado crônico relacionado a múltiplas comorbidades como hipertensão, diabetes tipo 2, síndrome metabólica, doenças periodontais e cardiovasculares. A obesidade acarreta um aumento na liberação de proteínas denominadas adipocinas, que podem ser encontradas no plasma sanguíneo e na saliva, criando um processo inflamatório prolongado e de baixa intensidade. O processo inflamatório apresentado na obesidade aumenta o risco para doenças cardiovasculares e periodontais. O objetivo do presente estudo é analisar o proteoma do plasma e da

saliva de adultos jovens com obesidade e sobrepeso em comparação com indivíduos com peso normal, e determinar possíveis biomarcadores para as Diabetes tipo 2 e Síndrome Metabólica. A população de estudo será constituída por 75 voluntários provenientes do laboratório de análises clínicas da Unigranrio, Campus I, com idades acima de 18. Os indivíduos serão categorizados conforme suas medidas antropométricas nos grupos:

Normal, Sobrepeso e Obeso, além de indivíduos diagnosticados diabetes tipo 2 e síndrome metabólica. Os indivíduos deverão responder a questionários anamnésicos, e serão submetidos a exame periodontal, mensuração de medidas antropométricas, aferição da pressão arterial sistêmica e coleta de saliva e sangue periférico. As proteínas extraídas das amostras de saliva e sangue serão analisadas por espectrometria de massas (LC-ESI-MS/TOF).

Endereço: Rua Prof. José de Souza Herdy, 1160

Bairro: 25 de Agosto

CEP: 25.071-202

UF: RJ

Município: DUQUE DE CAXIAS

Telefone: (21)2672-7733

Fax: (21)2672-7733

E-mail: cep@unigranrio.com.br

UNIVERSIDADE DO GRANDE
RIO PROFESSOR JOSÉ DE
SOUZA HERDY - UNIGRANRIO



Continuação do Parecer: 3.402.791

Objetivo da Pesquisa:

Determinar o proteoma do plasma e da saliva de adultos jovens com obesidade e sobrepeso, e analisar possíveis biomarcadores para síndrome metabólica e DM. Assim como confirmar os possíveis biomarcadores observados nas análises realizadas no mestrado.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos - Os riscos são mínimos, pois serão realizados procedimentos de exame de rotina e coleta de sangue e saliva seguindo normas de biossegurança.

Benefícios - Os benefícios para o participante serão um melhor conhecimento de seu estado de saúde bucal e geral e encaminhamento para tratamento das necessidades encontradas.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Estudos epidemiológicos têm demonstrado que a prevalência de sobrepeso e obesidade em adultos com idade a partir de 18 anos foram de cerca 39% e 13% respectivamente em 2016. Estes números têm aumentado ao longo do tempo, tendo dobrado nas últimas 4 décadas. Este cenário dramático pode representar um impacto importante na saúde pública devido às comorbidades associadas. As consequências comuns da obesidade

são doenças cardiovasculares, diabetes, desordens musculoesqueléticas e alguns cânceres. Além disto, existe evidência de que há uma associação entre obesidade e um risco maior para periodontite em diferentes populações. Nesse quadro, a medicina personalizada ganhou espaço, buscando fatores fisiológicos, ambientais e histórico médico de um indivíduo para utilização no tratamento. Diante deste cenário é de extrema relevância buscar biomarcadores capazes de relacionar as complicações associadas à obesidade.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Os termos apresentados estão de acordo com o que determina a Resolução 466 do CNS de 12/12/2012.

Recomendações:

Dada a relevância do projeto, recomendo que os resultados da pesquisa, favoráveis ou não, sejam divulgados em eventos científicos e publicações na forma de artigos e textos em revista indexadas pelo Qualis.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

O estudo atende aos requisitos da Resolução 466 do CNS de 12/12/2012.

Endereço: Rua Prof. José de Souza Herdy, 1160
Bairro: 25 de Agosto CEP: 25.071-202
UF: RJ Município: DUQUE DE CAXIAS
Telefone: (21)2672-7733 Fax: (21)2672-7733 E-mail: cep@unigranrio.com.br

UNIVERSIDADE DO GRANDE
RIO PROFESSOR JOSÉ DE
SOUZA HERDY - UNIGRANRIO



Continuação do Parecer: 3.402.791

Considerações Finais a critério do CEP:

Prezado (a) Pesquisador (a),

O Comitê de Ética em Pesquisa da UNIGRANRIO atendendo o previsto na Resolução 466/12 do CNS/MS APROVOU o referido projeto na reunião ocorrida em 19 de junho de 2019. Caso o (a) pesquisador (a) altere a pesquisa será necessário que o projeto retorne ao Sistema Plataforma Brasil para uma futura avaliação e emissão de novo parecer. Lembramos que o (a) pesquisador (a) deverá encaminhar o relatório da pesquisa após a sua conclusão, como um compromisso junto a esta instituição e o Sistema Plataforma Brasil.

Cordialmente,
CEP/Unigranrio.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1356680.pdf	22/05/2019 15:09:34		Aceito
Folha de Rosto	Folhaderosto.pdf	22/05/2019 15:08:59	CARLOS VINICIUS FERREIRA DA	Aceito
Cronograma	cronogramacepVinicius.docx	17/05/2019 16:34:09	CARLOS VINICIUS FERREIRA DA	Aceito
Outros	cartadeanuencia.jpg	15/05/2019 09:20:26	CARLOS VINICIUS FERREIRA DA	Aceito
Orçamento	orcamento.jpg	15/05/2019 09:18:17	CARLOS VINICIUS FERREIRA DA	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto.docx	15/05/2019 08:49:31	CARLOS VINICIUS FERREIRA DA SILVA	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.doc	15/05/2019 08:48:56	CARLOS VINICIUS FERREIRA DA SILVA	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Endereço: Rua Prof. José de Souza Herdy, 1160
Bairro: 25 de Agosto CEP: 25.071-202
UF: RJ Município: DUQUE DE CAXIAS
Telefone: (21)2672-7733 Fax: (21)2672-7733 E-mail: cep@unigranrio.com.br

UNIVERSIDADE DO GRANDE
RIO PROFESSOR JOSÉ DE
SOUZA HERDY - UNIGRANRIO



Continuação do Parecer: 3.402.791

Não

DUQUE DE CAXIAS, 19 de Junho de 2019

Assinado por:
Renato Cerqueira Zambrotti
(Coordenador(a))

Endereço: Rua Prof. José de Souza Herdy, 1160
Bairro: 25 de Agosto **CEP:** 25.071-202
UF: RJ **Município:** DUQUE DE CAXIAS
Telefone: (21)2672-7733 **Fax:** (21)2672-7733 **E-mail:** cep@unigranrio.com.br

9.2 Anexo 2



TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

(De acordo com as normas da Resolução nº 466, do Conselho Nacional de Saúde de 12/12/2012)

Você está sendo convidado para participar da pesquisa “**Proteômica de saliva e plasma sanguíneo para detecção de biomarcadores de comorbidades associadas a obesidade**”. Você foi selecionado por ordem de chegada e sua participação não é obrigatória. A qualquer momento você pode desistir de participar e retirar seu consentimento. Sua recusa não trará nenhum prejuízo em sua relação com o pesquisador ou com a instituição (Unigranrio).

Os objetivos deste estudo são estudar as associações entre o exame clínico das gengivas, Diabetes tipo 2 e Síndrome metabólica, sua massa corporal (peso), pressão sanguínea arterial e a identificação do perfil das proteínas presentes no sangue e na saliva.

Sua participação nesta pesquisa consistirá em responder a um questionário sobre dados pessoais e de saúde geral e bucal, ser examinado pelo dentista (gengivas e dentes), fornecer amostras de sangue e saliva, ser pesado e medido (altura e circunferência da cintura e do quadril).

Os riscos relacionados com sua participação são mínimos.

Os benefícios relacionados com a sua participação um melhor conhecimento do seu estado de saúde bucal e geral e encaminhamento para tratamento das necessidades encontradas.

As informações obtidas através dessa pesquisa serão confidenciais e asseguramos o sigilo sobre sua participação. Os dados não serão divulgados de forma a possibilitar sua identificação. Os resultados de seus exames serão confidenciais, ou seja, somente o pesquisador terá acesso a suas informações e serão utilizados somente para o objetivo do presente estudo.

Uma cópia deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido ficará com o senhor (a), podendo tirar suas dúvidas sobre o projeto e sua participação, agora ou a qualquer momento com os pesquisadores responsáveis Carlos Vinicius Ferreira da Silva no telefone 974807050/989518525 ou no e-mail cviniciusbio@gmail.com, ou com Carina Maciel da Silva Boghossian no telefone 26727776 ou e-mail carinabogho@unigranrio.edu.br, ou com Eidy de Oliveira Santos no telefone 2333-6961 ou e-mail eidynos@gmail.com.

Pesquisador Responsável: Carlos Vinicius Ferreira da Silva

Declaro que entendi os objetivos, riscos e benefícios de minha participação na pesquisa e concordo em participar.

O pesquisador me informou que o projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da UNIGRANRIO, localizada na Rua Prof. José de Souza Herdy, 1160 – CEP 25071-202 TELEFONE (21).2672-7733 – ENDEREÇO ELETRÔNICO: cep@unigranrio.com.br

Rio de Janeiro, _____ de _____ de 20____.

Sujeito da pesquisa

10 Apêndice:

Tabela com dados gerais sobre os parâmetros sociodemográficos e clínicos da população estudada.

Vol.	Idade	Escol.	Raça	Sexo	Altura	Massa	IMC	Cintura	Quadril	RCQ	P. A. (S/D)	Glicemia	Insulina	HOMA- β	HOMA- IR	Creatinina	Ureia	CT	Triglic.	HDL	VLDL	LDL	CT/ HDL	VLDL/ HDL	LDL/ HDL
V1	27	3	1	1	1,63	82,5	31,1	88	110	0,80	123/80	83	10,2	184,4	2,09	0,74	34	141	60	47	12	82	3,00	0,26	1,74
V2	25	3	1	1	1,73	66,5	22,2	75	98	0,77	124/78	98	7,8	80,5	1,89	1,03	22	166	99	56	19,8	90,2	2,96	0,35	1,61
V3	31	3	2	1	1,66	77,5	28,1	98	107	0,92	116/82	83	14,6	263,9	2,99	0,8	19	173	60	58	12	103	2,98	0,21	1,78
V4	20	2	1	1	1,65	59	21,7	67	96	0,70	111/69	77	10	258,6	1,90	0,99	21	182	92	70	18,4	93,6	2,60	0,26	1,34
V5	23	2	4	2	1,65	93	34,2	103	112	0,92	119/79	80	7,5	159,6	1,48	1,11	20	199	245	45	49	105	4,42	1,09	2,33
V6	44	3	1	1	1,62	60	22,9	70	91	0,77	110/70	102	4,9	45,3	1,23	0,69	32	254	62	70	12,4	171,6	3,63	0,18	2,45
V7	22	2	4	1	1,63	79,5	29,9	87	114	0,76	110/75	83	13,8	249,4	2,83	0,56	17	133	62	53	12,4	67,6	2,51	0,23	1,28
V8	37	3	1	2	1,74	79,5	26,3	87	99	0,88	116/77	99	8,7	87,2	2,12	1,06	23	239	302	52	60,4	126,6	4,60	1,16	2,43
V9	20	2	1	1	1,59	61	24,1	73	100	0,73	97/60	81	9,8	196,9	1,96	0,94	22	185	123	85	24,6	75,4	2,18	0,29	0,89
V10	43	3	1	1	1,60	59,5	23,2	73	96	0,76	102/64	92	5,9	73,5	1,34	0,81	22	222	135	87	27	108	2,55	0,31	1,24
V11	24	3	4	1	1,68	70,5	25,0	80	106	0,75	116/78	85	10,2	167,6	2,14	0,84	24	176	69	75	13,8	87,2	2,35	0,18	1,16
V12	27	2	1	2	1,70	94	32,5	99	105	0,94	121/87	114	12,4	87,7	3,49	0,83	24	209	138	51	27,6	130,4	4,10	0,54	2,56
V13	21	2	2	1	1,64	98,5	36,6	97	114	0,85	127/85	85	41,6	683,4	8,72	0,82	21	239	120	51	24	164	4,69	0,47	3,22
V14	68	2	1	1	1,54	90,2	38,0	115	126	0,91	137/81	132	15,6	81,5	5,08	0,78	44	210	111	53	22,2	134,8	3,96	0,42	2,54
V15	55	3	2	2	1,67	94,5	33,9	107	109	0,98	114/78	119	23	148,2	6,75	1,09	35	157	67	50	13,4	93,6	3,14	0,27	1,87
V16	49	1	4	1	1,67	88	31,6	94	104	0,90	134/93	86	6,9	108,4	1,46	0,74	18	189	61	70	12,2	106,8	2,70	0,17	1,53
V17	59	2	2	1	1,56	65	26,7	77	104	0,74	133/80	88	13	187,9	2,82	0,77	25	236	179	65	35,8	135,2	3,63	0,55	2,08
V18	69	0	2	1	1,52	67	29,0	93	106	0,88	136/79	168	9	30,9	3,73	0,69	26	196	329	50	65,8	80,2	3,92	1,32	1,60
V19	23	0	4	1	1,67	94	33,7	92	120	0,77	111/72	91	25,1	323,8	5,63	0,85	24	198	227	67	45,4	85,6	2,96	0,68	1,28
V20	21	2	2	1	1,61	55	21,2	70	95	0,74	111/69	76	10	278,6	1,87	0,68	16	193	60	73	12	108	2,64	0,16	1,48
V21	28	3	2	2	1,76	67	21,6	83	97	0,86	123/77	95	12,1	136,5	2,84	0,85	23	151	99	62	19,8	69,2	2,44	0,32	1,12
V22	25	3	2	2	1,61	55	21,2	73	86	0,85	128/74	89	7,2	100,0	1,58	0,86	31	169	71	58	14,2	96,8	2,91	0,24	1,67
V23	33	3	1	2	1,68	64	22,7	80,5	92	0,88	117/76	87	3,9	58,7	0,84	1,01	33	186	78	59	15,6	111,4	3,15	0,26	1,89
V24	28	3	4	2	1,82	101	30,5	104	110	0,95	138/78	95	19,2	216,6	4,50	1,05	34	263	127	60	25,4	177,6	4,38	0,42	2,96
V25	41	2	4	1	1,55	80	33,3	101	112	0,90	116/85	103	12,8	115,5	3,25	0,81	22	221	154	52	30,8	138,2	4,25	0,59	2,66
V26	42	2	4	2	1,69	74,5	26,1	90	100	0,90	133/94	99	11,2	112,3	2,74	0,83	38	297	243	40	48,6	208,4	7,43	1,22	5,21
V27	19	2	4	1	1,66	51	18,5	65	89	0,73	101/68	100	15,5	151,2	3,82	0,65	19	143	76	48	15,2	79,8	2,98	0,32	1,66
V28	19	2	4	1	1,54	67,5	28,5	76	100	0,76	104/65	90	24,2	323,7	5,37	0,66	25	188	60	69	12	107	2,72	0,17	1,55

V29	54	3	4	1	1,58	52	21,0	72,5	95	0,76	105/67	81	4,9	98,4	0,98	0,97	34	280	110	76	22	182	3,68	0,29	2,39
V30	77	1	4	1	1,56	60,5	25,0	88	101,5	0,87	133/82	91	3,1	40,0	0,70	0,98	29	248	92	76	18,4	153,6	3,26	0,24	2,02
V31	48	4	4	1	1,53	56,7	24,4	86	96	0,90	125/86	97	9,2	97,7	2,20	0,93	24	196	155	80	31	85	2,45	0,39	1,06
V32	22	2	4	1	1,63	67	25,2	76	102	0,75	114/72	90	12,1	161,9	2,69	0,95	25	181	60	61	12	108	2,97	0,20	1,77
V33	24	2	4	1	1,55	71,5	29,8	90	108	0,83	107/76	101	21,5	204,2	5,36	0,93	19	180	92	75	18,4	86,6	2,40	0,25	1,15
V34	29	3	4	2	1,77	83	26,5	91	101	0,90	115/67	96	6,7	73,3	1,59	0,98	27	168	60	67	12	89	2,51	0,18	1,33
V35	26	3	4	1	1,56	67	27,5	84	110	0,76	107/71	92	13,4	166,9	3,04	0,94	19	158	98	45	19,6	93,4	3,51	0,44	2,08
V36	21	0	1	2	1,86	93,5	27,0	105	109	0,96	126/81	94	21	244,6	4,87	0,96	27	126	99	33	19,8	73,2	3,82	0,60	2,22
V37	24	2	4	2	1,78	94,5	30,0	100	105	0,95	126/82	92	13,8	171,9	3,13	0,97	27	256	137	42	27,4	186,6	6,10	0,65	4,44
V38	39	3	4	2	1,74	65,7	21,7	77	95	0,81	116/83	97	3,1	32,9	0,74	1,09	28	153	60	62	12	79	2,47	0,19	1,27
V39	23	3	4	1	1,61	54,5	21,2	77	96	0,80	105/70	84	8,3	142,9	1,72	0,75	23	187	62	82	12,4	92,6	2,28	0,15	1,13
V40	70	2	1	1	1,51	63,5	27,8	100	110	0,91	152/77	133	14,5	74,7	4,76	0,99	33	261	184	57	36,8	167,2	4,58	0,65	2,93
V41	61	2	2	1	1,59	77	30,5	92,5	107	0,86	132/80	94	11,9	138,6	2,76	0,88	30	248	150	61	30	157	4,07	0,49	2,57
V42	40	2	2	1	1,57	71	29,0	92,5	112,5	0,82	137/88	109	10,3	80,8	2,77	0,91	35	224	64	93	12,8	118,2	2,41	0,14	1,27
V43	77	2	2	2	1,72	90	30,6	108	108	1,00	135/91	97	14,4	152,9	3,45	1,13	33	180	82	52	16,4	111,6	3,46	0,32	2,15
V44	56	2	4	2	1,69	76,5	26,9	97	105	0,92	128/83	96	14,6	159,7	3,46	1,25	29	260	202	47	40,4	172,6	5,53	0,86	3,67
V45	23	2	4	1	1,62	68	26,1	73	105	0,70	103/72	87	3,9	58,7	0,84	0,79	19	139	60	83	12	44	1,67	0,14	0,53
V46	47	2	4	2	1,72	81	27,4	94	106	0,89	132/84	87	7,6	114,4	1,63	0,9	29	232	93	56	18,6	157,4	4,14	0,33	2,81
V47	58	1	2	1	1,55	81,5	34,1	110	117	0,94	189/97	112	9,9	72,9	2,74	0,89	43	259	99	57	19,8	182,2	4,54	0,35	3,20
V48	51	2	4	1	1,59	73,5	29,3	87,5	104	0,84	138/89	114	14	99,0	3,94	0,82	27	226	390	47	78	101	4,81	1,66	2,15
V49	23	3	4	1	1,62	60	22,9	71	95	0,75	109/69	81	8,6	172,8	1,72	0,76	12	215	64	67	12,8	135,2	3,21	0,19	2,02
V50	28	3	1	1	1,67	60	21,6	68	110	0,62	102/68	88	6,3	91,0	1,37	0,83	28	177	62	69	12,4	95,6	2,57	0,18	1,39
V51	43	2		2	1,76	87	28,2	93	102	0,91	121/74	97	5,2	55,2	1,24	0,94	18	168	95	52	19	97	3,23	0,37	1,87
V52	25	3	1	1	1,51	46	20,2	65,5	90	0,73	112/79	85	3,1	50,9	0,65	0,79	23	183	62	68	12,4	102,6	2,69	0,18	1,51
V53	57	4	1	2	1,70	55	19,0	72	82	0,88	114/73	94	3,1	36,1	0,72	1,15	22	165	76	70	15,2	79,8	2,36	0,22	1,14
V54	27	3	1	1	1,58	56	22,6	73,5	94	0,78	113/67	99	13,7	137,4	3,35	0,82	36	165	69	57	13,8	94,2	2,89	0,24	1,65
V55	73	2	4	1	1,55	70	29,1	89	104	0,86	130/72	87	12	180,7	2,58	0,92	29	300	84	65	16,8	218,2	4,62	0,26	3,36
V56	33	4	1	1	1,60	64,5	25,2	73	105	0,70	100/63	96	6,7	73,3	1,59	0,69	21	243	75	65	15	163	3,74	0,23	2,51
V57	52	2	1	1	1,55	58,5	24,5	75	104	0,72	125/81	83	5,1	92,2	1,04	0,73	31	215	89	74	17,8	123,2	2,91	0,24	1,66
V58	41	2	4	2	1,63	82	30,9	96,5	103,5	0,93	121/87	82	3,8	72,3	0,77	0,82	25	218	60	55	12	151	3,96	0,22	2,75
V59	29	2	2	2	1,73	82	27,6	91,5	101	0,91	126/71	87	3,5	52,7	0,75	1,02	30	149	60	61	12	76	2,44	0,20	1,25
V60	23	4	4	1	1,53	61,3	26,2	78	98	0,80	112/70	77	6,04	156,2	1,15	1,04	14	203	73	43	14,6	145,4	4,72	0,34	3,38
V61	56	1	4	1	1,44	62	30,1	88	106	0,83	141/88	84	6,6	113,6	1,37	0,87	20	222	165	52	33	137	4,27	0,63	2,63
V62	63	2	1	1	1,52	72	31,2	103	108	0,95	116/82	95	24,5	276,4	5,74	1,08	29	187	120	46	24	117	4,07	0,52	2,54
V63	35	2	4	2	1,64	64,5	24,0	70,5	88	0,80	109/68	89	4,6	63,9	1,01	1,29	24	195	73	53	14,6	127,4	3,68	0,28	2,40

V64	60	1	1	1	1,54	80,5	34,2	97,5	121,5	0,80	130/89	95	14,4	162,5	3,37	0,69	30	159	98	34	19,6	105,4	4,68	0,58	3,10
V65	30	3	1	1	1,64	81	30,1	95	112	0,85	102/76	89	15,3	212,6	3,36	0,8	22	176	120	66	24	86	2,67	0,36	1,30
V66	53	3	4	1	1,62	60,2	23,1	76	97	0,78	115/68	98	5,3	54,7	1,28	0,87	26	153	68	61	13,6	78,4	2,51	0,22	1,29
V67	45	2	4	1	1,55	60,5	25,3	78,5	98	0,80	165/103	88	9,8	141,6	2,13	0,8	23	179	60	85	12	82	2,11	0,14	0,96
V68	57	2	4	1	1,60	68	26,6	90	106	0,85	134/81	92	11	137,0	2,50	0,72	36	180	60	55	12	113	3,27	0,22	2,05
V69	39	2	2	2	1,79	140	43,7	131	131	1,00	135/82	98	19,8	204,2	4,79	0,85	23	201	97	43	19,4	138,6	4,67	0,45	3,22
V70	46	3	4	1	1,69	57,5	20,3	72,5	92,5	0,78	99/70	94	5,6	65,2	1,30	0,69	14	138	62	54	12,4	71,6	2,56	0,23	1,33
V71	65	1	4	1	1,58	74,5	30,0	102	110	0,93	121/75	97	11,6	123,2	2,78	0,71	21	190	193	43	38,6	108,4	4,42	0,90	2,52
V72	29	3	2	1	1,66	84,1	30,5	99	107	0,93	105/70	93	24	288,9	5,51	0,82	14	174	60	51	12	111	3,41	0,24	2,18
V73	27	4	2	2	1,76	90	29,1	95	110	0,86	127/75	77	5,3	137,0	1,01	0,92	31	176	60	45	12	119	3,91	0,27	2,64
V74	28	3	2	2	1,79	87	27,3	91	104	0,88	122/73	91	9,7	125,1	2,18	0,89	30	196	135	40	27	129	4,90	0,68	3,23
V75	67	1	2	1	1,48	64	29,2	100	105	0,95	132/72	349	8,5	10,7	7,32	0,97	24	144	100	45	20	79	3,20	0,44	1,76
V76	77	1	4	1	1,51	56,5	24,8	87,5	94,5	0,93	151/70	214	7,9	18,9	4,17	0,96	26	146	60	43	12	91	3,40	0,28	2,12
V77	70	1	2	1	1,52	78	33,8	96,5	112	0,86	164/93	131	12,5	66,3	4,04	0,86	34	130	178	34	35,6	60,4	3,82	1,05	1,78
V78	72	1	4	1	1,56	71,5	29,6	97,5	110	0,89	141/95	155	20,1	78,8	7,68	0,97	19	237	116	60	23,2	153,8	3,95	0,39	2,56
V79	49	4	1	1	1,79	96	30,0	97	118	0,82	112/70	82	11,6	220,7	2,35	0,82		162	60	67	12	83	2,42	0,18	1,24
V80	20	2	4	2	1,88	113	31,8	103	120	0,86	119/73	90	17,3	231,4	3,84	1,15	25	177	79	52	15,8	109,2	3,40	0,30	2,10
V81	19	2	1	1	1,77	91	29,0	93	114	0,82	100/61	80	9,2	195,7	1,82	0,67	31	139	60	52	12	75	2,67	0,23	1,44
V82	22	4	1	1	1,62	50,5	19,2	66	93	0,71	97/68	88	7,9	114,2	1,71	0,65	19	161	64	87	12,8	61,2	1,85	0,15	0,70
V83	44	4	4	1	1,62	55,5	21,3	80	94,5	0,85	118/72	75	2,6	78,5	0,48	0,77	23	333	60	85	12	236	3,92	0,14	2,78
V84	44	2	1	1	1,65	75,5	27,7	92	106,5	0,86	126/86	89	10,6	147,3	2,33	0,77	23	197	117	54	23,4	119,6	3,65	0,43	2,21
V85	53	2	2	1	1,65	82	30,1	91,5	118	0,78	153/96	97	2,7	28,7	0,65	0,77	29	245	130	75	26	144	3,27	0,35	1,92
V86	57	2	4	2	1,81	81,5	24,9	101,5	104,5	0,97	113/70	97	8,8	93,4	2,11	0,91	24	256	249	53	49,8	153,2	4,83	0,94	2,89
V87	24	3	1	1	1,63	117	43,8	94	144	0,65	130/80	86	12,8	201,1	2,72	0,86	17	148	70	51	14	83	2,90	0,27	1,63
V88	63	3	1	1	1,60	61,7	24,1	93	94	0,99	120/71	225	9,7	21,6	5,38	0,72	29	152	192	34	38,4	79,6	4,47	1,13	2,34
V89	23	2	2	2	1,72	126	42,6	126	120	1,05	125/77	97	28,8	305,8	6,89	0,89	19	212	146	39	29,2	143,8	5,44	0,75	3,69
V90	35	2	2	1	1,62	86,5	33,0	118	117	1,01	113/80	88	11,1	160,4	2,41	0,68	20	176	61	60	12,2	103,8	2,93	0,20	1,73
V91	24	2	1	2	1,73	86,5	28,9	99	100	0,99	129/70	98	15,7	161,9	3,80	0,94	21	141	106	33	21,2	86,8	4,27	0,64	2,63
V92	40	3	4	1	1,63	62,5	23,5	75	100	0,75	124/86	91	7,3	94,2	1,64	0,85	18	181	88	38	17,6	125,4	4,76	0,46	3,30
V93	41	2	4	2	1,73	109	36,4	110	114	0,96	130/80	94	14,6	170,1	3,39	0,89	21	230	153	42	30,6	157,4	5,48	0,73	3,75
V94	56	1	1	1	1,56	47,5	19,5	79,5	89	0,89	124/75	98	9,8	101,1	2,37	0,65	34	215	126	59	25,2	130,8	3,64	0,43	2,22
V95	37	2	1	1	1,59	84	33,2	108	117	0,92	125/86	100	15	146,3	3,70	0,78	21	160	161	45	32,2	82,8	3,56	0,72	1,84
V96	55	2	4	1	1,59	69,8	27,6	89	103	0,86	115/80	90	4,6	61,5	1,02	0,82	22	182	60	65	12	105	2,80	0,18	1,62
V97	61	3	3	2	1,73	85	28,4	102	103	0,99	124/77	92	9,2	114,6	2,09	1,05	17	116	130	34	26	56	3,41	0,76	1,65
V98	54	2	2	1	1,71	122	41,7	107,5	141,5	0,76	143/86	102	7	64,8	1,76	0,8	19	232	72	58	14,4	159,6	4,00	0,25	2,75

V99	56	3	4	2	1,81	114	34,6	115	119	0,97	138/83	121	11,1	69,0	3,31	1,04	25	389	525	22	105	262	17,68	4,77	11,91
V100	27	3	3	2	1,69	87,5	30,8	96	111	0,86	123/82	95	4,8	54,2	1,12	0,87	27	208	116	38	23,2	146,8	5,47	0,61	3,86
V101	24	2	4	2	1,76	64,5	20,8	73,5	92,5	0,79	107/63	93	2,5	30,1	0,57	0,95	22	179	89	43	17,8	118,2	4,16	0,41	2,75
V102	44	4	1	2	1,72	87,5	29,6	105	102	1,03	129/86	94	19,8	230,6	4,59	0,97	37	273	228	40	45,6	187,4	6,83	1,14	4,69
V103	23			2	1,69	75	26,3	106,5	103,5	1,03	117/75	94	39,9	464,8	9,25	1,07	25	274	289	31	57,8	185,2	8,84	1,86	5,97

Legenda: Vol., Código dos voluntários; Escol., nível de escolaridade completa, onde 1-Fundamental, 2-Médio, 3-Superior, 4-Pós-graduação; Raça, autodeclaração da cor da pele, onde 1-branca, 2-preta, 3-parda, 4-amarela, 5-indígena; Sexo, 1-Feminino, 2-Masculino; IMC, índice de massa corporal; RCQ, razão entre a medida de cintura e a medida do quadril; P.A (S/D), valores de pressão arterial sistólica/valores de pressão arterial diastólica; CT, Colesterol total; Triglic., Triglicerídeos; HDL, Lipoproteínas de baixa densidade; VLDL, lipoproteínas de densidade muito baixa; LDL, Lipoproteínas de baixa densidade.