

THALITA LIN NETTO CÂNDIDO

**EFEITOS DO CONSUMO DE DIFERENTES TIPOS DE ÓLEOS VEGETAIS
SOBRE A INFLAMAÇÃO, O ESTRESSE OXIDATIVO, A PERMEABILIDADE
E A MICROBIOTA INTESTINAIS EM MULHERES COM EXCESSO DE PESO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência da Nutrição, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

Orientadora: Rita de Cássia G. Alfnas

Coorientador: Hilário Cuquetto Mantovani

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2019**

**Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa**

T

C217e
2019
Cândido, Thalita Lin Netto, 1985-
Efeitos do consumo de diferentes tipos de óleos vegetais
sobre a inflamação, o estresse oxidativo, a permeabilidade e a
microbiota intestinais em mulheres com excesso de peso /
Thalita Lin Netto Cândido. – Viçosa, MG, 2019.
152 f. : il. ; 29 cm.

Orientador: Rita de Cássia Gonçalves Alfenas.
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.
Inclui bibliografia.

1. Óleos vegetais - Consumo. 2. Estresse oxidativo.
3. Inflamação. 4. Intestinos - Permeabilidade. 5. Microbioma
gastrointestinal. I. Universidade Federal de Viçosa.
Departamento de Nutrição e Saúde. Programa de Pós-Graduação
em Ciência da Nutrição. II. Título.

CDD 22. ed. 613.284

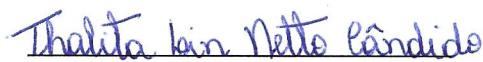
THALITA LIN NETTO CÂNDIDO

**EFEITOS DO CONSUMO DE DIFERENTES TIPOS DE ÓLEOS VEGETAIS
SOBRE A INFLAMAÇÃO, O ESTRESSE OXIDATIVO, A PERMEABILIDADE
E A MICROBIOTA INTESTINAIS EM MULHERES COM EXCESSO DE PESO**

Tese apresentada à Universidade Federal
de Viçosa, como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em Ciência
da Nutrição, para obtenção do título de
Doctor Scientiae.

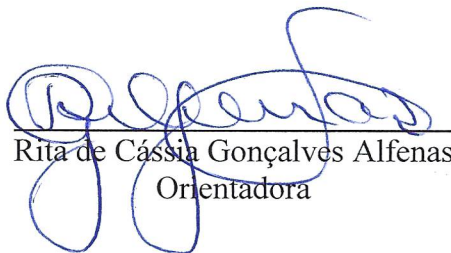
APROVADA: 16 de dezembro de 2019.

Assentimento:



Thalita Lin Netto Cândido

Autora



Rita de Cássia Gonçalves Alfenas

Orientadora

AGRADECIMENTOS

Agradeço a DEUS, por me fazer acreditar que tudo é possível. Por me conceder força, coragem, perseverança e luz durante a caminhada.

Aos meus pais, minha eterna gratidão. Muito obrigada pelo apoio, incentivo e amor incondicionais. Obrigada, por enfrentarem horas e horas de viagem até Viçosa, só pra que eu pudesse ouvir: “Você consegue minha filha” e ser envolvida por um abraço acolhedor e amoroso. Eu amo vocês.

Aos meus irmãos e avós, pelas palavras que confortam o coração nos momentos de angústia e me enchem de confiança para seguir em frente.

Ao meu companheiro de vida, Rômulo Augusto, pela paciência, cuidado e amor. Por todas as vezes que enfrentou muitos voos e horas de ônibus até Viçosa para me fazer companhia e alegrar meus dias. Por nos ajudar nas análises, mesmo que fosse só levando um lanche ao final do dia ou consertando algo que precisasse. Por estar sempre disponível para ajudar, para ler e conversar sobre meus artigos, dividindo seu conhecimento e experiência. Obrigada por me acalmar o coração, me trazendo paz e confiança.

A minha querida orientadora, professora Rita Alfenas, pelo carinho e pela excelente orientação. Muito obrigada por me acolher na família LEIA (Laboratório de Estudos em Ingestão Alimentar), pelas palavras proferidas nos momentos em que eu precisava ouvi-las, por compartilhar experiências e ensinamentos. Sempre disponível, dedicada e competente. Exemplo de pessoa e mestre. Muito obrigada.

Ao meu coorientador, professor Hilário Mantovani, por abrir as portas do seu laboratório e me acolher tão bem. Disponibilizando equipamentos, reagentes, alunos, conhecimento e tempo para a realização desse trabalho. Obrigada pela paciência e oportunidade.

Aos professores, Leandro, Mariela, Hércia, Helena e Josefina por cederem seus laboratórios para a realização de análises.

A todas amigas do LEIA, por me acolherem e serem minha família em Viçosa. Flávia, obrigada por abrir as portas e me direcionar nos melhores caminhos; Laís, obrigada por ser minha companheira de todas as horas, desde passar o final de semana fazendo análise a tomar um sorvete no final tarde. Obrigada por encarar todos os desafios ao meu lado, apoiando, sugerindo, corrigindo e contribuindo para a construção desse trabalho; Adriane, obrigada por me acolher em sua casa, proporcionar experiências gastronômicas deliciosas e fazer do meu aniversário em Viçosa um

momento alegre e divertido. Obrigada pelas horas e horas de ligações, áudios, mensagens e vídeos em que você, sempre paciente, me ensinou algo; Nayara, obrigada por todos os questionamentos que você fez, sempre me levaram a pesquisar e estudar, contribuindo para meu crescimento; Priscila, obrigada por todas as palavras de carinho, por estar disposta a ajudar a qualquer momento. Exemplo de força e dedicação; Olívia, sempre gentil e educada. Obrigada por disponibilizar com muito carinho e atenção informações importantes para nosso trabalho; Juliana, com seu jeitinho meigo e educado foi ganhando minha admiração e confiança, obrigada por me apoiar na caminhada. Júlia, minha companheira de almoço de todos os dias, competente, inteligente, dedicada, me conquistou desde o momento em que a vi; Nélia, companheira de “noites” no laboratório, competente e dedicada. Obrigada por toda ajuda.

A amiga Juliana, pelos ensinamentos, troca de experiências e companheirismo em todos os momentos. Obrigada por me acolher em sua família. Meu carinho por vocês é enorme.

Aos amigos Déborah e Tomás pelo auxílio com as análises de sequenciamento de DNA.

Aos amigos do Dinter, pelo apoio e parceria. Obrigada pela troca de conhecimento, experiências, conversas, choros e risadas. Sônia, Kellen, Eloise, Renata, Sortênia, Anderson, Kliver e Nilton obrigada pela companhia, cada um em seu momento contribuiu para que a caminhada fosse mais leve, alegre e menos solitária em Viçosa.

Aos amigos e colegas de trabalho da UFT, pelo apoio, compreensão e incentivo aos estudos.

A CAPES - Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior pela concessão do Dinter UFV-UFT e ao Programa de Pós-Graduação em Ciência da Nutrição (PPGCN) .

A equipe do Projeto “Óleos e Emagrecimento” por me acolherem neste trabalho maravilhoso, de pesquisadoras tão competentes e dedicadas.

A todos que contribuíram para a realização deste trabalho.

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

RESUMO

CANDIDO, Thalita Lin Netto, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, dezembro de 2019. **Efeitos do consumo de diferentes tipos de óleos vegetais sobre a inflamação, o estresse oxidativo, a permeabilidade e a microbiota intestinais em mulheres com excesso de peso.** Orientadora: Rita de Cássia Gonçalves Alfenas. Coorientador: Hilário Cuquetto Mantovani.

A prevalência de excesso de peso tem aumentado em todo o mundo. Entre os fatores associados à patogênese do excesso de peso e suas comorbidades estão a inflamação, o estresse oxidativo, o aumento da permeabilidade e alterações na microbiota intestinal. Acredita-se que a dieta exerça importante papel modulador sobre tais fatores, em especial a quantidade e o tipo de lipídio ingerido. Entretanto, ainda não há consenso entre os pesquisadores neste sentido. Assim, o objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito do consumo de óleo de soja, óleo de oliva extra virgem e óleo de coco associados à dieta restrita em calorias sobre as variáveis citadas anteriormente em mulheres com excesso de peso. Para averiguar tal efeito, na presente tese são apresentados quatro artigos, sendo dois de revisão e dois originais. **Artigo 1: Disbiose e endotoxemia metabólica induzidas pela dieta rica em gorduras** - O objetivo desta revisão foi analisar a influência de dietas hiperlipídicas sobre a disbiose e endotoxemia metabólica. Foram consultadas as bases de dados Medline/Pubmed e Scopus. Os artigos incluídos foram publicados entre 2007 e 2017. Após análise crítica, os resultados dos estudos apontaram que dietas ricas em gorduras estão associadas à redução na diversidade bacteriana intestinal, ao aumento na permeabilidade intestinal e à maior passagem de LPS. A endotoxemia instalada pode ser considerada um fator causal para instalação de inflamação de baixo grau. Assim, é essencial a identificação de estratégias dietéticas que possam minimizar os efeitos gerados. **Artigo 2: Efeito da qualidade lipídica da dieta na endotoxemia metabólica: uma revisão sistemática** - Nesta revisão sistemática, foram avaliados criticamente os estudos em que se investigou o efeito da qualidade lipídica da dieta na endotoxemia metabólica em humanos. Os artigos foram selecionados em três bases de dados, PubMed, Scopus e Library Cochrane e as palavras-chave foram definidas conforme a terminologia para indexação do *Medical Subject Headings* (MeSH). Segundo os resultados dos estudos incluídos, maiores concentrações de LPS pós-prandiais (1 a 6 h) foram associadas à ingestão de dietas ricas em ácidos graxos saturados (SFAs). Por outro lado, concentrações mais baixas de endotoxina foram observadas após a ingestão de dietas ricas em ácidos graxos poliinsaturados (PUFAs). No entanto, em estudos de maior duração (4 a 12 semanas), o

consumo dos diferentes tipos de ácidos graxos parece não exercer efeitos sobre a endotoxemia metabólica. **Artigo 3: Efeito da ingestão de diferentes tipos de lipídios sobre o estresse oxidativo e a inflamação em mulheres com excesso de peso: um ensaio clínico randomizado, paralelo e duplo-cego** – Acredita-se que o consumo de óleos com diferentes perfis em ácidos graxos pode ter efeitos diferenciados sobre o estresse oxidativo e a inflamação, podendo modular a origem e o desenvolvimento de diversas doenças crônicas. Assim, nós investigamos o efeito da ingestão de óleo de coco, óleo de oliva extra virgem e óleo de soja associados à dieta com restrição calórica sobre marcadores do estresse oxidativo e inflamação em mulheres com excesso de peso. Sessenta e duas mulheres com excesso de peso receberam café da manhã contendo 25 ml de um dos óleos testes: óleo de soja (n= 21), óleo de oliva extra virgem (n=22) e óleo de coco (n=19), durante 9 semanas consecutivas (\pm 5 dias). Foram prescritas dieta com restrição calórica (- 500 kcal/dia) e normolipídica (32% da energia proveniente de gorduras) a cada participante. Amostras sanguíneas foram coletadas no primeiro e último dia de experimento. Foram analisados marcadores do estresse oxidativo (catalase (CAT), óxido nítrico (ON), malondialdeído (MDA) e FRAP) e de inflamação (IL-8; IL-1 β ; IL-6; IL-10; IL-12, TNF- α). O consumo do óleo de oliva extra virgem aumentou a atividade antioxidante (FRAP) e reduziu as concentrações de MDA, ON e IL-1 β após o período de intervenção. A ingestão de óleo de soja aumentou as concentrações de FRAP e IL-10, além de reduzir a de ON. O óleo de coco não alterou as variáveis avaliadas. Assim, concluímos que o consumo de óleo de oliva, rico em MUFAs, e de óleo de soja, rico em PUFAs, aumentaram a atividade antioxidante plasmática e melhoraram variáveis do estresse oxidativo e inflamação. **Artigo 4: Efeito da ingestão de óleos fontes de diferentes tipos de ácidos graxos associados à dieta restrita em calorias sobre a microbiota e a permeabilidade intestinais em mulheres com excesso de peso** - Acredita-se que o tipo de ácido graxo dietético pode modular o ecossistema bacteriano intestinal. No entanto, a eficácia desse efeito ainda é inconclusiva. Assim, o objetivo desse estudo foi avaliar o efeito da ingestão de óleos ricos em diferentes tipos de ácidos graxos, associados a dietas normolipídicas e restritas em calorias, na microbiota e permeabilidade intestinais, na concentração sérica de LPS, ácidos graxos de cadeia curta e pH fecais. Tratou-se de um ensaio clínico randomizado, paralelo, duplo-cego com duração de 9 semanas consecutivas (\pm 5 dias), no qual mulheres com excesso de peso receberam diariamente café da manhã contendo 25 ml de um dos óleos testes: óleo de soja (n=17), óleo de oliva extra virgem (n=19) ou óleo de coco (n=16). Amostras sanguíneas, fecais e de urina foram coletadas no primeiro e último dia de

experimento. O consumo dos três tipos de óleos não afetou a diversidade e a abundância relativa de bactérias intestinais. Observamos aumento na riqueza bacteriana estimada pelo índice Chao 1 e redução na concentração do ácido graxo de cadeia curta isovalérico no grupo que ingeriu óleo de soja. A permeabilidade paracelular e transcelular aumentaram após a ingestão de óleo de oliva extra virgem e óleo de coco. Porém, as concentrações de LPS permaneceram inalteradas. Portanto, a ingestão de dieta normolipídica contendo diferentes tipos de ácidos graxos (saturados, mono e poliinsaturados) associada à dieta restrita em calorias afetou de forma modesta a microbiota e a permeabilidade intestinais, sem resultar em endotoxemia metabólica em mulheres com excesso de peso.

Palavras-chave: Endotoxemia. Estresse oxidativo. Inflamação. Permeabilidade intestinal. Microbiota intestinal. Óleo de soja. Óleo de oliva extra virgem. Óleo de coco.

ABSTRACT

CANDIDO, Thalita Lin Netto, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, December, 2019. **Effects of the consumption of different types of vegetable oils on inflammation, oxidative stress, intestinal permeability and microbiota in overweight women.** Adviser: Rita de Cássia Gonçalves Alfenas. Co-adviser: Hilário Cuquetto Mantovani.

The prevalence of excess body weight has increased worldwide. include Inflammation, oxidative stress, increased intestinal permeability and changes in gut microbiota are factors associated with the excess body weight pathogenesis and its comorbidities. Diet, especially the amount and type of fat consumed, seems to play an important role modulating such factors. However, there is still no consensus among researchers in this regard. Thus, the objective of the present study was to evaluate the effect of consumption of soybean oil, extra virgin olive oil and coconut oil associated with an energy restriction diet on the variables previously mentioned in overweight women. To verify this effect, in the present thesis, four articles are presented, two of which are review studies, while the other two are original articles. **Article 1: Dysbiosis and metabolic endotoxemia induced by high-fat diet** -The aim of this review was to discuss the influence of high-fat diets on dysbiosis and metabolic endotoxemia. The search was performed in the Medline/PubMed and Scopus databases. All articles selected and included in the present review were published between 2007 and 2017. After critical analysis, the results of studies indicated that high-fat diets are associated with a reduction in intestinal bacterial diversity, increased permeability and increased lipopolysaccharide (LPS) translocation. The installed endotoxemia can be considered as a causal factor for subclinical inflammation. Thus, it becomes essential to identify dietary strategies that can minimize the inflammatory effects generated. **Article 2: Effects of the dietary fat quality on metabolic endotoxemia: a systematic review** - In this systematic review, we critically evaluated human clinical trials that assessed the effects of dietary fat quality on metabolic endotoxemia. The studies were selected from three databases PubMed, Scopus and Cochrane Library and the keywords were defined according to the Medical Subject Headings (MeSH) indexing terminology. The results of the included postprandial studies (1- 6h) demonstrated associations between higher saturated fatty acids (SFAs) intake and increased postprandial LPS concentrations. On the other hand, the consumption of polyunsaturated fatty acids (PUFAs) decreased bloodstream LPS concentrations. However, in long-term studies (4 – 12 weeks) the consumption of dietary fats did not seem to exert effects on metabolic endotoxemia.

Article 3: Effect of different types of fat on oxidative stress and inflammation in excess body weight women: a randomized, double-blind and parallel clinical trial –

It seems that the consumption of oils presenting different fatty acid profiles may have different effects on oxidative stress and inflammation, which in turn modulates chronic diseases development. Therefore, we investigated the effect of the ingestion of coconut oil, extra virgin olive oil and soybean oil associated with an energy-restricted diet on oxidative stress and inflammation markers in excess body weight women. Sixty-two overweight women received breakfast containing 25 ml of one of the test oils: soybean oil (n = 21), extra virgin olive oil (n = 22) and coconut oil (n = 19), during 9 weeks (\pm 5 days). Energy-restricted (-500 kcal / day) normal fat content diets (32% of energy from fat) were prescribed to each participant. Blood samples were collected on the first and last day of the experiment to assess oxidative stress (catalase (CAT), nitric oxide (ON), malondialdehyde (MDA), Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP)) and inflammation (IL-8; IL-1 β ; IL-6; IL-10; IL-12, TNF- α) markers. The consumption of extra virgin olive oil for 9 weeks increased antioxidant activity (FRAP) and reduced MDA, ON and IL-1 β concentrations. Soybean oil consumption increased FRAP and IL-10 concentration, but reduced ON concentration. Coconut oil consumption did not affect any of the assessed variables. Thus, we conclude that the consumption of extra virgin olive oil, rich in MUFAs (monounsaturated fatty acids), and soybean oil, rich in PUFAs (polyunsaturated fatty acids), increased plasma antioxidant activity and improved the concentrations of the oxidative stress and inflammation variables. **Article**

4: Effect of the ingestion of oils rich in different types of fatty acids associated with an energy-restricted diet on intestinal microbiota and permeability in excess body weight women -

It is believed that the type of dietary fatty acid can modulate the intestinal bacterial ecosystem. However, the effectiveness of that is still inconclusive. Thus, the objective this study was to evaluate the effects of the ingestion of oils rich in different types of fatty acids, associated with an energy-restricted normal fat content diet, on intestinal microbiota and permeability, LPS, short-chain fatty acids and pH concentrations. This was a randomized, parallel, double-blind, 9 consecutive weeks (\pm 5 days) clinical trial in which overweight women were daily given breakfast containing 25 ml of one of the test oils: soybean oil (n=17), extra virgin olive oil (n=19) or coconut oil (n=16). Blood, fecal and urine samples were collected in the first and last days of the experiment. Intestinal bacteria diversity and relative abundance were not affected by the consumption of the three oils types. An increase in richness estimated by Chao and a reduction in the concentration of isovaleric short chain fatty acids were observed in the

soybean oil group. Paracellular and transcellular permeability increased after the ingestion of extra virgin olive oil and coconut oil. However, LPS concentrations remained unchanged. Therefore, the consumption of normal fat content diet containing different types of fatty acids (saturated, monounsaturated and polyunsaturated) associated with the calorie restriction diet modestly affected intestinal microbiota and permeability, without resulting in metabolic endotoxemia in overweight women.

Keywords: Endotoxemia. Oxidative stress. Inflammation. Intestinal permeability. Gut microbiota. Soybean oil. Extra virgin olive oil. Coconut oil.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

ARTIGO 1

Figure 1. Study selection process.....	39
---	----

ARTIGO 2

Figura 1. Fluxograma de seleção dos artigos.....	52
---	----

Figura 2. Efeito pós-prandial da ingestão de diferentes tipos de ácidos graxos (SFA e PUFA) sobre as concentrações de LPS em sujeitos eutróficos e sobrepesos.....	70
---	----

Figura 3. Possíveis mecanismos que explicam as alterações nas concentrações de LPS.....	71
--	----

ARTIGO 3

Figura 1. Diagrama CONSORT mostrando o fluxo de participantes em cada etapa do estudo.....	82
---	----

Figura 2. Média \pm EP das variáveis de inflamação (IL-12, TNF- α , IL-10, IL-6, IL-1 β , IL-8) no baseline e ao final do experimento (9 semanas).....	91
--	----

Figura 3. Média \pm EP das variáveis de estresse oxidativo (capacidade antioxidante total, malondialéido, óxido nítrico e catalase) no baseline e ao final do experimento (9 semanas).....	93
---	----

ARTIGO 4

Figura 1. Diagrama CONSORT mostrando o acompanhamento dos participantes em cada estágio do ensaio clínico.....	106
---	-----

Figura 2. Alfa- diversidade estimada por Chao1, Shannon-Weiner e Simpson no baseline e após 9 semanas de ingestão de 25 ml de óleo de soja (OS) (n=17), óleo de oliva extra virgem (OOEV) (n=19) e óleo coco (OC) (n=16).....	119
--	-----

Figura 3. Mudanças na β -diversidade após a intervenção.....	120
---	-----

Figura 4. Abundância relativa dos gêneros Firmicutes e Bacteroidetes e razão Firmicutes/Bacteroidetes antes e após 9 semanas de ingestão de 25 ml de óleo de soja (OS) (n=17), óleo de oliva extra virgem (OOEV) (n=19) e óleo coco (OC) (n=16).....	124
---	-----

Figura 5. Mudanças na abundância relativa de gêneros após 9 semanas de	
---	--

ingestão de 25 ml de óleo de soja (OS) (n=17), óleo de oliva extra virgem (OOEV) (n=19) e óleo coco (OC) (n=16).....	125
Figura suplementar 1. Ingestão de calorias e de macronutrientes durante o período de intervenção de acordo com o grupo experimental.....	141
Figura Suplementar 2. Análise de Coordenadas Principais (PCoA) baseada na distância de Bray-Curtis entre os grupos experimentais no baseline e após 9 semanas de ingestão de 25 ml de um dos tipos de óleos testados a nível de Filo e Gênero.....	143

LISTA DE TABELAS

ARTIGO 1

Table I. Review of studies investigating high-fat diet-induced dysbiosis in animals.....	40
Table II. Review of studies investigating the dysbiosis induced by a high-fat diet in humans.....	42
Table III. Review of studies investigating the dysbiosis induced by different types of fats in animals.....	44

ARTIGO 2

Tabela 1. Características e principais resultados de concentração de LPS e LBP em indivíduos que receberam dietas contendo diferentes tipos de lipídios.....	54
Tabela 2. Tipo de estudo, localização geográfica e avaliação da qualidade e risco de bias dos estudos selecionados.....	61
Tabela 3. Efeito do tipo de lipídio sobre a endotoxemia e principais variáveis correlacionadas com LPS e LBP.....	64

ARTIGO 3

Tabela 1. Perfil de ácidos graxos do óleo de soja, óleo de oliva extra virgem e óleo de coco utilizados no estudo.....	84
Tabela 2. Conteúdo de vitamina E, tocoferóis, tocotrienóis, compostos fenólicos, carotenoides e atividade antioxidante (DPPH) dos óleos testados.....	85
Tabela 3. Características das participantes do estudo no baseline, de acordo com o grupo experimental.....	88
Tabela 4. Variáveis de inflamação no baseline, após o consumo dos óleos (9 semanas) e valores de mudança (9 semanas – baseline) de acordo com os grupos experimentais.....	90
Tabela 5. Variáveis do estresse oxidativo no baseline, após o consumo dos óleos (9 semanas) e valores de mudança (9 semanas – baseline) de acordo com os grupos experimentais.....	92

ARTIGO 4

Tabela 1. Media + DP da composição nutricional das bebidas testadas, de acordo com o grupo experimental.....	109
---	-----

Tabela 2. Características das participantes do estudo no baseline.....	115
Tabela 3. Concentração de ácidos graxos e valores de pH ao baseline, após as 9 semanas de intervenção e valores de delta (9 semanas – baseline), de acordo com o grupo experimental.....	116
Tabela 4. Variáveis de permeabilidade intestinal e concentração de LPS ao baseline, após as 9 semanas de intervenção e valores de delta (9 semanas – baseline), de acordo com o grupo experimental.....	117
Tabela 5. Composição bacteriana em nível de filos ao baseline e após as 9 semanas de intervenção, de acordo com o grupo experimental.....	123
Tabela suplementar 1. Composição nutricional das dietas prescritas de acordo com o grupo experimental.....	132
Tabela suplementar 2. Dados de sequenciamento no baseline e após as 9 semanas de intervenção, de acordo com o grupo experimental.....	133
Tabela Suplementar 3. OTUs mais abundantes (abundância > 0.5%, após 9 semanas), no baseline e após as 9 semanas de intervenção, de acordo com o grupo experimental.....	134
Tabela Suplementar 4. Abundância relativa de gêneros (abundância > 0.2%) após as 9 semanas de intervenção, de acordo com o grupo experimental.....	139

LISTA DE ABREVIATURAS

ADIPOQ - Adiponectina C1Q
ADIR2 - Complexo de proteína nuclear
AGCC- Ácidos graxos de cadeia curta
AGCM – Ácidos graxos de cadeia média
ALA - Ácido alfa-linolênico
ALT – Alanina Transaminase
Apo C-III – Apolipoproteína C III
APS - Antígeno específico da próstata humana
AST – Aspartato transaminase
CANX - Calnexina
CARL - Calreticulina
CAT –catalase
CAV1 - Codificação de proteína caveolin tipo 1
CD14 - Cluster de diferenciação 14
CONSORT – Consolidate Standards of Reporting Trials
DAS – Diâmetro Abdominal Sagital
DCNT – Doença crônica não transmissível
DEXA- Densitometria por dupla emissão de raios-X
DHA - Ácido docosa-hexaenóico
DPPH- 1,1-difenil-2-picrilhidrazil
EER – Estimated Energy Requirement
ELISA - Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay
EPA - Ácido eicosapentaenoico
FDR- Razão de falsas descobertas
FRAP – Ferric Reducing Antioxidant Power
FXR – Receptor X Farnesóide
GLP-1 – Peptídeo semelhante ao glucagon
H₂SO₄ – Ácido sulfúrico
HDL – Lipoproteína de alta densidade
HOMA-IR – Homeostasis Model Assessment Index
HPLC - High performance liquid chromatography
IkBa - Inibidor do fator Kappa B
IMC – Índice de massa corporal

iNOS – Óxido Nítrico sintase induzível
IPAQ – Questionário Internacional de Atividade Física
IR – Índice de refração
LAL - Limulus Ameboyte Lysate
LBP – Lipopolissacarídeo Binding Protein
LDL – Lipoproteína de baixa de densidade
LPL – Lipase lipoprotéica
LPS – Lipopolissacarídeo
MCP1 - Proteína quimiotática de monócitos-1
MD-2 – Proteína mielóide diferenciadora
MDA – Malondialdeído
ME2 - Enzima málica dependente NAD
MesH - Medical Subject Headings
MIF1 - Macrófago do fator inibitório da migração
MUFA - Ácidos graxos monoinsaturados
NADPH - Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato
NCBI – National Center for Biotechnology Information
NF-kB - Fator nuclear kappa beta
NF-kB p65 - Fator nuclear Kappa subunidade p65
NOX –Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato oxidase
NRF2 - Fator Nuclear de Eritrócitos Derivados do Tipo 2
OC – Óleo de coco
ON- Óxido Nítrico
OOEV – Óleo de oliva extra virgem
OS – Óleo de soja
OTU - Operational taxonomic units
PCoA – Análise de Coordenadas Principais
PCR - Polymerase Chain Reaction
PCR-US – Proteína C reativa ultra sensível
PDIA3 - Proteínas A dissulfeto isomerase, membro 3
PES – Polietersulfônica
PIK3C - Proteína que codifica fosfoinositídeo 3 quinase
PLIN - Perilipinas
PPARG - Proliferador de peroxissoma gama Receptor Ativado
PRISMA - Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses

PUFA - Ácidos graxos poliinsaturados
QQFA – Questionário quantitativo de frequência alimentar
RCC – Relação cintura coxa
RCE – Relação cintura estatura
RCQ – Relação cintura quadril
REBEC – Registro Brasileiro de Ensaio Clínicos
RNS – Espécies reativas de nitrogênio
ROS – Espécies reativas de oxigênio
RPC – Relação pescoço coxa
RPM – Rotações por minuto
SFA - Ácidos graxos saturados
SOCS3 - Supressor de sinalização de citocinas
SRA – Sequence Read Archive
sVCAM: Molécula de Adesão Celular Solúvel-1
TBA – Ácido tiobarbitúrico
TG – Triglicérides
TGO – Aspartato amino transferase
TGP – Alanina amino transferase
TGR5 – Receptor acoplado a proteína G
TLR4 - Receptor toll-like 4
TNF α - Fator de necrose tumoral alfa
UCP2 - Proteína desacopladora mitocondrial tipo 2
VLDL – Lipoproteína de muito baixa densidade
XBP1 - Proteína de ligação X

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO GERAL.....	19
2	OBJETIVOS.....	22
2.1	Objetivo geral.....	22
2.2	Objetivos específicos.....	22
3	REFERÊNCIAS	23
4	ARTIGOS	26
4.1	Artigo 1: DYSBIOSIS AND METABOLIC ENDOTOXEMIA INDUCED BY HIGH-FAT DIET	27
4.2	Artigo 2: EFEITO DA QUALIDADE LIPÍDICA DA DIETA NA ENDOTOXEMIA METABÓLICA: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA.....	47
4.3	Artigo 3: EFEITO DA INGESTÃO DE DIFERENTES TIPOS DE LIPÍDIOS SOBRE O ESTRESSE OXIDATIVO E A INFLAMAÇÃO EM MULHERES COM EXCESSO DE PESO: UM ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO, PARALELO E DUPLO-CEGO.....	78
4.4	Artigo 4: EFEITO DA INGESTÃO DE ÓLEOS VEGETAIS ASSOCIADOS À DIETA RESTRITA EM CALORIAS SOBRE A MICROBIOTA E A PERMEABILIDADE INTESTINAIS EM MULHERES COM EXCESSO DE PESO.....	103
5	CONCLUSÕES GERAIS.....	151

1 INTRODUÇÃO GERAL

A prevalência de excesso de peso tem aumentado em todo o mundo, tornando-se um importante fator de risco para a manifestação de doenças crônicas não transmissíveis como doenças cardiovasculares, diabetes e alguns tipos de câncer (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2018). Os fatores associados à patogênese do excesso de peso e suas comorbidades são diversos (CHIELLE et al., 2016). Entre eles, a inflamação (ELLULU et al., 2017), o estresse oxidativo (MCMURRAY; PATTEN; HARPER, 2016) e a microbiota intestinal (BAOTHMAN et al., 2016) têm tido cada vez mais destaque na comunidade científica. A dieta exerce importante papel modulador sobre estes fatores (CUEVAS-SIERRA et al., 2019; DIAMANTI-KANDARAKIS et al., 2017; MINIHANE et al., 2015), em especial a quantidade e o tipo de ácido graxo ingerido (PEAIRS; RANKIN; LEE, 2011; WISNIEWSKI; DOWDEN; CAMPBELL, 2019).

O consumo excessivo de lipídios pode promover aumento das espécies reativas de oxigênio (ROS) e desencadear resposta pró-inflamatória (TAN; NORHAIZAN; LIEW, 2018). Por outro lado, a cascata inflamatória também pode ser ativada pela presença de LPS (lipopolissacarídeo), que junto com as ROS podem acentuar a inflamação e contribuir para o surgimento e evolução de complicações metabólicas (CASTANER et al., 2018; PORTUNE et al., 2017). Adicionalmente, mudanças na diversidade e abundância de bactérias da microbiota intestinal podem levar a alterações na permeabilidade da membrana intestinal, favorecendo assim a passagem de LPS e induzindo a endotoxemia metabólica (CANI et al., 2008).

Os óleos vegetais são fontes de ácidos graxos e sua composição pode variar bastante entre eles. O óleo de oliva extra virgem, é rico em ácidos graxos monoinsaturados (MUFAs), principalmente oleico. Enquanto que o óleo de soja é fonte de ácidos graxos poliinsaturados (PUFAs). Ambos contêm compostos bioativos, como os fenólicos e a vitamina E, que conferem uma importante atividade antioxidante (APARICIO-SOTO et al., 2016; CARRILLO; CAVIA; ALONSO-TORRE, 2012; ZAKIR; FREITAS, 2015). O óleo de coco por sua vez, é classificado como uma fonte de gordura saturada (SFA), sendo o ácido láurico (C12:0) o seu maior representante (BOATENG et al., 2016).

Estudos demonstraram melhora nos parâmetros de estresse oxidativo, com redução nas concentrações de malondaldeído (MDA), proteína carbonilada e aumento em FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) após a ingestão de óleo de oliva extra

virgem (RUS et al., 2017; ZAMORA-ROS et al., 2013). Além disso, efeitos anti-inflamatórios e cardioprotetores também têm sido reportados em resposta ao consumo de PUFA (ZULIANI et al., 2009). Apesar das evidências, são escassos os estudos delineados para verificar o efeito do óleo de oliva extra virgem não incorporado à dieta do Mediterrâneo. Da mesma forma, poucos são os estudos que avaliaram o efeito do óleo de soja e do óleo de coco sobre o estresse oxidativo e inflamação. Em estudo com pacientes diabéticos não foram observadas diferenças nas concentrações de enzimas antioxidantes após o consumo de óleo de coco (SABITHA et al., 2009). Enquanto que em pacientes com doença arterial coronariana, observou-se melhora no *status* antioxidante após o consumo desse mesmo óleo (PALAZHY; KAMATH; VASUDEVAN, 2018). Embora os resultados sejam controversos, até o momento não identificamos a publicação de nenhum estudo em que se avaliou o efeito do óleo de coco sobre o estresse oxidativo em indivíduos com excesso de peso.

Em modelos animais, evidências sugerem que o consumo de diferentes tipos de ácidos graxos pode influenciar também a composição da microbiota intestinal e levar a alteração da função de barreira do epitélio intestinal (LAM et al., 2015; SHEN; GASKINS; MCINTOSH, 2014). A ingestão de PUFA n-3 foi associada a um maior número de bifidobactérias, que não degradam glicoproteínas do muco, e assim não afetam negativamente a integridade da membrana (GRIFFITHS et al., 2004; PATTERSON et al., 2014). Por outro lado, em ratos alimentados com dieta rica em SFAs, observou-se um aumento na abundância de bactérias como *Bilophila* e *Desulfovibrio*, que contribuem para a degradação do muco, podendo levar a aumento na permeabilidade (LAM et al., 2015).

Em humanos, o aumento da abundância relativa de *Bacteroidetes* e a redução de *Firmicutes* foram observados após ingestão de dieta hiperlipídica, composta por óleo de soja durante 6 meses (WAN et al., 2019). Em outro estudo, a composição da microbiota intestinal em nível de filos, não foi afetada pelas dietas contendo MUFAs e PUFA, consumidas por 30 dias em indivíduos obesos e com síndrome metabólica (PU et al., 2016). Similarmente, nenhum efeito na microbiota foi observado após o consumo de dieta rica em SFAs (leite integral) por homens saudáveis, durante 21 dias (BLAEDEL et al., 2016). Por outro lado, autores de estudos observacionais sugerem uma forte associação da microbiota intestinal com o consumo de lipídios e fatores cardiometabólicos (ORG et al., 2017; RÖYTIÖ et al., 2017; SIMOES et al., 2013). Os resultados desses estudos demonstraram que os efeitos da quantidade e qualidade de

lipídios sobre a microbiota são controversos e inconclusivos, havendo a necessidade de mais estudos, principalmente os de intervenção.

Não identificamos a publicação de nenhum estudo que tenha investigado o efeito dos óleos de soja, coco e oliva extra virgem sobre a microbiota e permeabilidade intestinais em indivíduos com excesso de peso. Portanto, o objetivo de nosso estudo foi avaliar o efeito da ingestão desses óleos, com diferentes tipos de ácidos graxos, associados a dietas restritas em calorias sobre o estresse oxidativo, a inflamação, a microbiota e a permeabilidade intestinais em mulheres com excesso de peso. Acreditamos que conhecer os efeitos de nutrientes específicos, como os ácidos graxos, sobre esses fatores pode contribuir para o estabelecimento de estratégias terapêuticas capazes de prevenir e controlar doenças crônicas, como obesidade, diabetes e doenças cardiovasculares.

Este trabalho está integrado ao projeto guarda-chuva “Efeito do consumo de diferentes fontes lipídicas associadas à dieta hipocalórica no controle do excesso de peso corporal”. As etapas de seleção de participantes, determinação da composição dos óleos, avaliação da ingestão alimentar, da composição corporal e dos marcadores bioquímicos foram realizadas em subprojetos anteriores. Neste trabalho foram realizadas as análises sanguíneas referentes ao estresse oxidativo, análises fecais para avaliar a composição da microbiota, ácidos graxos de cadeia curta e pH fecal, e análises de urina para determinação da permeabilidade intestinal.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar o efeito do consumo de diferentes tipos de óleos vegetais (óleo de soja, óleo de oliva extra virgem e óleo de coco) associados à dieta restrita em calorias sobre a inflamação, o estresse oxidativo, a permeabilidade e a microbiota intestinais em mulheres com excesso de peso.

2.2 Objetivos específicos

- Discutir a influência de dietas hiperlipídicas sobre a disbiose e endotoxemia metabólica;
- Analisar criticamente estudos que avaliaram a relação entre o tipo de lipídio consumido e endotoxemia metabólica;
- Avaliar o efeito do consumo dos óleos de soja, oliva extra virgem e coco sobre as seguintes variáveis:
 - Estresse oxidativo e inflamação;
 - Riqueza, diversidade e abundância relativa da comunidade bacteriana intestinal;
 - Permeabilidade intestinal, concentração plasmática de LPS, concentração de ácidos graxos de cadeia curta e pH fecais.

3 REFERÊNCIAS

APARICIO-SOTO, M. et al. Extra virgin olive oil: A key functional food for prevention of immune-inflammatory diseases. **Food and Function**, v. 7, n. 11, p. 4492–4505, 2016.

BAOTHMAN, O. A. et al. The role of Gut Microbiota in the development of obesity and Diabetes. **Lipids in Health and Disease**, v. 15, n. 108, p. 1–8, 2016.

BLAEDEL, T. et al. A randomised, controlled, crossover study of the effect of diet on angiotensin-like protein 4 (ANGPTL4) through modification of the gut microbiome. **Journal of Nutritional Science**, v. 5, n. e45, p. 1–10, 2016.

BOATENG, L. et al. Coconut oil and palm oil's role in nutrition, health and national development: A review. **Ghana Med J**, v. 50, n. 503, p. 189–196, 2016.

CANI, P. D. et al. Changes in gut microbiota control metabolic diet-induced obesity and diabetes in mice. **Diabetes**, v. 57, n. 6, p. 1470–81, 2008.

CARRILLO, C.; CAVIA, M. D. M.; ALONSO-TORRE, S. Role of oleic acid in immune system; mechanism of action; a review. **Nutrición hospitalaria**, v. 27, n. 4, p. 978–90, 2012.

CASTANER, O. et al. The gut microbiome profile in obesity: a systematic review. **International Journal of Endocrinology**, v. 2018, p. 1–9, 2018.

CHIELLE, E. O. et al. Adipocytokines, inflammatory and oxidative stress markers of clinical relevance altered in young overweight/obese subjects. **Clinical Biochemistry**, v. 49, n. 7–8, p. 548–553, 2016.

CUEVAS-SIERRA, A. et al. Diet, gut microbiota, and obesity: links with host genetics and epigenetics and potential applications. **American Society for Nutrition**, v. 10, n. 9, p. S17–S30, 2019.

DIAMANTI-KANDARAKIS, E. et al. Nutrition as a mediator of oxidative stress in metabolic and reproductive disorders in women. **European Journal of Endocrinology**, v. 176, n. 2, p. R79–R99, 2017.

ELLULU, M. S. et al. Obesity and inflammation: the linking mechanism and the complications. **Archives of Medical Science**, v. 13, n. 4, p. 851–863, 2017.

GRIFFITHS, E. A. et al. In vivo effects of bifidobacteria and lactoferrin on gut endotoxin concentration and mucosal immunity in Balb/c mice. **Digestive Diseases and Sciences**, v. 49, n. 4, p. 579–589, 2004.

LAM, Y. Y. et al. Effects of dietary fat profile on gut permeability and microbiota and their relationships with metabolic changes in mice. **Obesity Biology and Integrated Physiology**, v. 23, n. 7, p. 1429–1439, 2015.

MCMURRAY, F.; PATTEN, D. A.; HARPER, M. E. Reactive oxygen species and oxidative stress in obesity—recent findings and empirical approaches. **Obesity**, v. 24, n.

11, p. 2301–2310, 2016.

MINIHANE, A. M. et al. Low-grade inflammation, diet composition and health : current research evidence and its translation. **British Journal of Nutrition**, v. 114, p. 999–1012, 2015.

ORG, E. et al. Relationships between gut microbiota, plasma metabolites , and metabolic syndrome traits in the METSIM cohort. **Genome Biology**, v. 18, n. 70, p. 1–14, 2017.

PALAZHY, S.; KAMATH, P.; VASUDEVAN, D. M. Dietary fats and oxidative stress: a cross-sectional study among coronary artery disease subjects consuming coconut oil/sunflower oil. **Indian Journal of Clinical Biochemistry**, v. 33, n. 1, p. 69–74, 2018.

PATTERSON, E. et al. Impact of dietary fatty acids on metabolic activity and host intestinal microbiota composition in C57BL / 6J mice. **British Journal of Nutrition**, v. 111, p. 1905–1917, 2014.

PEAIRS, A. D.; RANKIN, J. W.; LEE, Y. Effects of acute ingestion of different fats on oxidative stress and inflammation in overweight and obese adults. **Nutrition Journal**, v. 10, n. 1, p. 122, 2011.

PORTUNE, K. J. et al. Gut microbiota, diet, and obesity-related disorders — The good , the bad , and the future challenges. **Molecular Nutrition and Food Research**, v. 61, n. 1, p. 1–17, 2017.

PU, S. et al. Interactions between obesity status and dietary intake of monounsaturated and polyunsaturated oils on human gut microbiome profiles in the canola oil multicenter intervention trial (COMIT). **Frontiers in Microbiology**, v. 7, p. 1–14, 2016.

RÖYTIÖ, H. et al. Dietary intake of fat and fi bre according to reference values relates to higher gut microbiota richness in overweight pregnant women. **British Journal of Nutrition**, v. 118, p. 343–352, 2017.

RUS, A. et al. Extra virgin olive oil improves oxidative stress, functional capacity, and health-related psychological status in patients with fibromyalgia. **Biological Research For Nursing**, v. 19, n. 1, p. 106–115, 2017.

SABITHA, P. et al. Comparison of lipid profile and antioxidant enzymes among south indian men consuming coconut oil and sunflower oil. **Indian Journal of Clinical Biochemistry**, v. 24, n. 1, p. 76–81, 2009.

SHEN, W.; GASKINS, H. R.; MCINTOSH, M. K. Influence of dietary fat on intestinal microbes, inflammation, barrier function and metabolic outcomes. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 25, n. 3, p. 270–280, 2014.

SIMOES, C. D. et al. Habitual dietary intake is associated with stool microbiota composition in monozygotic twins. **Journal of Nutrition**, v. 143, n. 4, p. 417–423, 2013.

TAN, B. L.; NORHAIZAN, M. E.; LIEW, W. P. P. Nutrients and oxidative stress: Friend or foe? **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2018, p. 1–24, 2018.

WAN, Y. et al. Effects of dietary fat on gut microbiota and faecal metabolites , and their relationship with cardiometabolic risk factors : a 6-month randomised. **Gut microbiota**, v. 0, p. 1–13, 2019.

WISNIEWSKI, P. J.; DOWDEN, R. A.; CAMPBELL, S. C. Role of dietary lipids in modulating inflammation through the gut microbiota. **Nutrients**, v. 11, n. 117, p. 1–30, 2019.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Obesity and overweight. Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>,> Acesso em: set 2018.

ZAKIR, M. M.; FREITAS, I. R. Benefícios à saúde humana do consumo de isoflavonas presentes em produtos derivados da soja. **Journal Bioenergy and Food Science**, v. 02, n. 3, p. 107–116, 2015.

ZAMORA-ROS, R. et al. Mediterranean diet and non enzymatic antioxidant capacity in the PREDIMED study: Evidence for a mechanism of antioxidant tuning. **Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases**, v. 23, n. 12, p. 1167–1174, 2013.

ZULIANI, G. et al. The Role of Polyunsaturated Fatty Acids (PUFA) in the Treatment of Dyslipidemias. **Current Pharmaceutical Design**, v. 15, p. 4087–4093, 2009.

4 ARTIGOS

Artigo	Título do artigo
Revisão 1	Disbiose e endotoxemia metabólica induzidas pela dieta rica em gorduras
Revisão 2	Efeito da qualidade lipídica da dieta na endotoxemia metabólica: uma revisão sistemática
Original 1	Efeito da ingestão de diferentes tipos de lipídios sobre o estresse oxidativo e a inflamação em mulheres com excesso de peso: um ensaio clínico randomizado, paralelo e duplo-cego.
Original 2	Efeito da ingestão de óleos vegetais associados à dieta restrita em calorias sobre a microbiota e a permeabilidade intestinais em mulheres com excesso de peso

4.1 Artículo 1

Artículo Publicado - Nutrición Hospitalaria - DOI:
<http://dx.doi.org/10.20960/nh.1792>

DYSBIOSIS AND METABOLIC ENDOTOXEMIA INDUCED BY HIGH-FAT DIET

ABSTRACT

Introduction: Diet plays a decisive role in the prevention and treatment of diseases such as obesity, diabetes, allergies and inflammatory diseases. In addition to this, there are numerous investigations about the role of the microbiota in the genesis of metabolic diseases, especially obesity and its comorbidities.

Objective: The aim of this review is to discuss the influence of high-fat diets on dysbiosis and metabolic endotoxemia.

Results and discussion: The intestinal microbial ecosystem has been shown to be essential in the performance of functions in the host organism, however several factors can lead to an imbalance in the homeostasis of the microbiota, known as dysbiosis. High-fat diets are associated with a reduction in intestinal bacterial diversity, changes in membrane integrity, inducing increased permeability and increased LPS translocation, changes in the immune system, and generation of low-intensity systemic inflammation. The installed endotoxemia can be considered a causal factor of subclinical inflammation related to several chronic diseases and as a result of this it is essential to know the real impact of hyperlipidic diets on the intestinal microbiota. Thus, it becomes essential to identify dietary strategies that can minimize the inflammatory effects generated from changes in the intestinal microbiota.

Key words: Endotoxemia; Intestinal Microbiota; Lipopolysaccharides; Endotoxin; Dietary Fat

1.INTRODUCTION

In recent years, interest in the intestinal microbiota and its interactions as the host has increased (1). In particular, investigations on the role of microbiota in health regulation and onset of diseases such as inflammatory diseases, allergies, diabetes and obesity (2). It is estimated that the human intestinal microbiota is composed of 10 to 100 trillion microorganisms and possesses about 150 times more genes than the human genome (3).

With the advancement of sequencing techniques, metagenomic analyzes of 16S rRNA have demonstrated a large number of bacterial genes that inhabit the human gut (4). The predominance of *Firmicutes* and *Bacteroidetes*, and restricted anaerobic genera such as *Bacteroides*, *Eubacterium*, *Clostridium*, *Ruminococcus*, *Peptococcus*, *Bifidobacterium* and *Fusobacterium*, were observed in relation to facultative anaerobes such as *Lactobacillus*, *Escherichia*, *Enterobacter*, *Enterococcus*, *Klebsiella* and *Proteus*. (4,5). However, there is no accuracy in the composition of the microbiota in humans (6), being influenced by the age, genetic and environmental factors, diet and structure of the intestinal wall of the host (7).

The intestinal microbial ecosystem has been shown essential in the performance of functions such as preservation of intestinal mucosal integrity, nutrient absorption and energy homeostasis, as well as being directly linked to the immune and nervous system (8, 9). It has recently been suggested that the microbiota may play a significant role in the pathogenesis of obesity and its comorbidities (10,8,11,12,13). This is partly due to an imbalance in the homeostasis of the microbiota, known as dysbiosis, which is characterized by changes in diversity, toxin production, increased permeability, and hormonal and immunological changes, culminating in low-grade inflammatory state (14).

LPS (lipopolysaccharide), a constituent of intestinal bacteria, can be an important inducer of the inflammatory response (15). Detected in the intestinal lumen, under normal conditions does not represent human health problems, however when there is an imbalance this can be easily transferred to the circulatory system. This can lead to high plasma levels of LPS, a condition known as metabolic endotoxemia (16). In addition, there is evidence that the type of diet consumed, especially diets rich in fats, may contribute to endotoxemia (17).

Much has been discussed about the role of diet in the regulation and composition of the intestinal microbiota (14, 18, 19). High-fat diets are associated with a reduction in intestinal bacterial diversity (20), changes in intestinal membrane integrity, inducing

increased permeability and increased LPS translocation (21), changes in the immune system and generation of systemic inflammation (22).

Therefore, the purpose of this review is to examine papers from the scientific literature in order to discuss the mechanisms and interactions between diets rich in fats, intestinal microbiota and metabolic endotoxemia.

2. METHODS

The research was performed in the Medline / Pubmed and Scopus databases, the following terms were used in English: Endotoxemia; Endotoxins; Lipopolysaccharides; gut microbiota and dietary fat. The literature search was conducted from January to July 2017. All articles selected and included in this article were published between 2007 and 2017. They were read and critically grouped according to their thematic and scientific relevance. From this the sections presented in this article were created: "Dysbiosis induced by high-fat diet" and "Diet rich in lipids and metabolic endotoxemia" (Figure 1).

3. HIGH-FAT DIET-INDUCED DYSBIOSIS

Well-established scientific evidence reports that excessive intake of fats and refined carbohydrates are strongly associated with obesity and metabolic diseases. However, it is recent discoveries that may also influence the composition of the intestinal microbiota of the host (23). It is known that the human intestine has trillions of microorganisms, containing more genes than the human genome itself, these have evolved and are capable of performing specific and unique biochemical and metabolic functions to the microbial species (3).

The role of the intestinal microbiota in the human disease health process has been gaining even more focus and attention, especially on the etiology of obesity and its comorbidities (24). It is suggested that intestinal bacteria are involved in energy homeostasis and body weight control, being able to extract calories from indigestible nutrients and produce short chain fatty acids, amino acids and vitamins (25). In addition, they participate in the regulation and expression of genes that signal metabolic pathways of absorption and storage of nutrients, such as fats, in the host (26).

The interaction microorganisms and host is under a complex interface with the gastrointestinal mucosa, its outer layer offers conditions for colonization by bacteria and may suffer direct influence of the diet (27) since bacteria that degrade mucus are

influenced by high-fat diets. Thus, it is evident that diet plays an important role in the modulation of the microbial ecosystem (28).

Studies have reported that the consumption of diets with high-fat contents may alter the composition and functionality of the intestinal microbiota in mice and humans (29,30,31,32,33,34,35) (Table I and II). Short-term dietary interventions (24h) have been shown to rapidly change the intestinal microbiota; on the other hand, long-term dietary patterns are able to modulate the composition of the microbiota, despite the detection of resilience after induction of dietary changes (36). Factors such as age, diet time, function, and properties of the different intestinal segments may also influence microbial diversity, and when the cecum and colon mucosa are compared, the latter is more resistant to variations (25).

Theoretically, dietary fat that reaches the colon can be metabolized by bacteria, cholesterol is degraded to form the metabolite coprostanol that is excreted in the faeces (37). In addition, high-fat diets can stimulate the production of bile acids, which have antimicrobial activity and eventually select the species capable of metabolizing bile acids in the intestine (1). However, the use of fat as a source of energy for the growth of bacteria remains unclear, since fat metabolism is not performed in anaerobiosis, a condition common to most of the bacteria that inhabit the human intestine (38).

The influence of the diet rich in fat was analyzed in a study with mice fed a hyperlipid diet for 3 months; which showed a decrease of *Bacteroidetes* and increase of *Firmicutes*, *Proteobacteria* and *Actinobacteria* (29). Although long-term observations concisely present changes in the microbiota, it has been shown that short-term (5 weeks) interventions are also capable of modifying the microbial ecosystem of mice (25). In addition, it has been reported that the diversity and composition of the microbiota, after being altered by the high-fat diet, can be reestablished with the intake of low fat diet.

Increased phylum *Firmicutes* was observed in wild-type mice receiving a high fat diet, and reduction of *Bacteroidetes* in genetically obese (*ob / ob*) resistant leptin mice (30). Thus, the authors suggested that a hyperlipid diet rather than the obese *ob/ob* genotype exerted a greater influence on the composition of the microbiota, which was also observed in another study (29). Thus, they emphasize that the microbiota changes observed in mice fed a high fat diet were probably attributable to changes in diet.

Similarly, the provision of a high-fat diet caused a general decrease in microbiota diversity and an increase in the ratio *Firmicutes/Bacteroidetes* in several studies with mice (39, 32, 25). Based on these findings it was suggested that the

microbiota of the obese has metabolic pathways that are highly efficient in extracting energy and favoring lipogenesis. This fact was supported by a study that, when transplanting the microbiota from obese mice to germ free mice, presented higher fat gain than animals transplanted with microflora from lean mice (40).

Despite reports of high concentrations of short chain fatty acids in the stools of obese individuals, these changes were not associated with a higher proportion of *Firmicutes* (41). This result generated research on the characteristics of the obesogenic microbiota, since it seems unlikely that only Firmicutes: Bacteroidetes are the only ones involved in the pathogenesis of obesity (30).

In a study with pairs of monozygotic and dizygotic twins, concordant for thinness or obesity and their mothers, Turnbaugh et al. (42) demonstrated that the microbial ecosystem is shared among family members, but that each individual has a specific bacterial composition. The authors also reported that obesity is associated with changes in phylum level in the microbiota, reduction of bacterial diversity and alteration of genes and metabolic pathways. A greater abundance of *Actinobacteria*, added to the *Firmicutes* phylum, is reported, suggesting that the action of other phyla in the mechanisms that involve the microbiota and obesity interaction should be investigated.

In addition, mice fed a high-fat diet showed an increase in *Clostridial XIV* and *Enterobacteriales* and a decrease in *Bifidobacterium* spp (43). Similar results were also observed in the analysis of the microbiota after ingestion of a hyperlipic diet rich in palm oil and lard (33). Both diets were associated with increased relative abundance of *Clostridiales* spp. and decrease of *Bacteroidales*.

The reduction in gram-positive bacteria such as bifidobacteria directly and negatively affects the integrity of the intestinal membrane, since they are responsible for maintaining and improving intestinal barrier function, preventing the passage of bacteria and toxins (15). The same function can be attributed to the bacteria *Akkermansia muciniphila*, belonging to the phylum *Verrucomicrobia*, associated with stimulation of the immune system with anti-inflammatory properties (44). The increase in the abundance of *Clostridiales* spp may be related to mechanisms of metabolic pathways of cholesterol and levels of bile acids (33).

Some studies have reported that the fatty acid profile is also able to modulate the composition of the intestinal microbiota and contribute to the induction of low intensity inflammation (Table III) (43, 39, 23, 35). However, this subject requires more research and more in-depth knowledge (45).

The impact of different types of fats on the host's health, metabolism and microbiota was analyzed (23). Using mice fed a high-fat diet containing: palm oil, olive oil, safflower oil and flaxseed oil / fish for 16 weeks compared to mice fed a low fat diet found that mice fed palm populations had relatively lower populations of *Bacteroidetes* at the phylum level, compared to olive oil diet, this in turn showed an increase in the family *Bacteroidaceae*. However, mice fed flax / fish oil showed a significant increase in the concentrations of EPA (eicosapentaenoic acid) and DHA (docosahexaenoic acid) and in the intestinal abundance of *Bifidobacterium*. The findings suggest that the impact on the microbiota is due to both changes in the quantity and quality of fat ingested and that fats such as flaxseed oil positively impact the microbial ecosystem of the host.

Similarly, changes in the intestinal microbiota of humans were different according to the intake of different fatty acids, MUFA, omega-3 PUFA and omega-6 PUFA. While consumption of MUFA and Omega-6 PUFA was inversely associated with an increase in the number of *Bifidobacterium*, an increase in omega-3 PUFA intake was directly associated with a higher number of bacteria in the *Lactobacillus* group (35).

In addition, in a study with middle aged (12 months) mice, fed with saturated fat (lard), monounsaturated (soybean oil) and polyunsaturated (fish oil), presented different responses in the microbiota. The group fed with fish oil showed higher relative abundance of the Proteobacteria phylum and the genus *Desulfovibrio* in the cecal and colonic contents. On the other hand, the diet based on saturated fatty acids conferred a Firmicutes:*Bacteroidetes* higher and more abundant presence of *Verrucomicrobia* and *Tenericutes* (46).

4. HIGH-FAT DIET IN LIPIDS AND METABOLIC ENDOTOXEMIA

Obesity, diabetes and insulin resistance are associated with a low intensity systemic inflammation caused by multiple factors and whose triggering agents are not fully elucidated. However, the intestinal microbiota has been largely associated with this scenario (8, 24). This evidence was obtained from studies that demonstrated the existence of endotoxemia, the passage of bacterial lipopolysaccharide (LPS) into the bloodstream during consumption of fat-rich diets by mice (47, 48). This effect has also been confirmed in human studies (49, 50, 17, 51).

Naturally the microbiota is a reservoir of LPS, since it is one of the components of the outer cell wall of gram-negative bacteria, and it is possible to detect more than 1g of LPS in the intestinal lumen. Therefore, under normal conditions LPS is not harmful

to the host and appears to be involved in immune regulation, such as increased phagocytic capacity, lymphocyte proliferation and lymphokine secretion. However, in situations of dysbiosis, which can be caused by the type of diet consumed, the transfer of LPS to the circulatory system can be increased and thus generate what we call metabolic endotoxemia (15).

Diet plays an important role in the regulation of endotoxemia, this evidence is supported by the fact that an increase in plasma LPS occurs in mice fed high-energy diets, whether rich in carbohydrates or fats, for 4 weeks. However, the high-fat diet proved to be more efficient in favor of LPS transfer from the intestinal lumen to the bloodstream (48).

An increase in postprandial serum endotoxin concentration was observed in healthy adults on high-fat diets, especially those on a saturated fat diet, when compared to subjects who received diets high in polyunsaturated fats (51). Similarly, men who received high-lipid meals also had elevated postprandial LPS levels when compared to fasted individuals (50). A possible explanation for this fact is the ability of LPS to be incorporated into micelles, absorbed and added to chylomicrons, due to the presence of a fraction insoluble in its molecular structure (52).

In addition, there may be an increase in local pressure and loosening of junctional complexes between enterocytes, or even basement membrane rupture, due to excess chylomicrons generated from the hyperlipidic diet. After the lesion caused during fat absorption the intestinal barrier may be compromised, increasing intestinal permeability, mainly to LPS (15).

Thus, consumption of high-fat diets leads to increased intestinal permeability and reduced expression of genes encoding tight or tight junction proteins, such as claudina-1, claudina-3, occludin, and junctional adhesion molecule 1 (53). This is due to the regulation of permeability by mast cells, through the secretion of mediators such as TNF-a, IL-1b, IL-4 and IL-13, Receptor-2, favoring LPS translocation (54).

The fatty acid profile of the ingested lipid diet has been shown to be an important modulator of the microbiota and triggering endotoxemia (15). In a study with mice fed omega-6-rich meals they exhibited conditions that characterized elevated levels of metabolic endotoxemia and low-intensity inflammation (55). While mice fed omega-3 fatty acids had decreased LPS production and permeability, with a significant reduction in metabolic endotoxemia.

In another study it was observed that diet rich in fats (45% of lipids) when compared to control diet (13% of lipids), increased adiposity and plasma levels of LBP

(lipopolysaccharide binding protein) ingestion for 3 and 6 weeks. However, with only 1 week of ingestion, an immediate but reversible increase in paracellular permeability and decreased expression of IL-10 was observed. In addition, a reduction of the abundance of genera within the class *Clostridia* in the ileum was observed (32).

Increased dietary fat content may influence phylum Actinobacteria, which may reduce the number of gram-positive *Bifidobacterium* species, considered beneficial. This may lead to an increase in LPS plasma concentrations, induction of low grade inflammation and maintenance of obesity (56). Likewise, inflammation can also occur with the increase of gram-negative bacteria, for example *Desulfovibrio*, capable of producing endotoxins, reduce sulfate to H₂S and impair the intestinal barrier (20).

In addition, habitual intake of saturated fatty acids, derived from diets rich in fats and calories, can directly stimulate TLR4 cells. Alternatively, there is also a higher concentration of LPS by the increase of gram-negative bacteria, which can stimulate TLR4 and induce the expression of several cytokines, resulting in a state of low intensity inflammation and insulin resistance. In addition, increasing concentrations of circulating fatty acids may further increase nitric oxide production and decrease insulin sensitivity due to impaired lipoprotein lipase (LPL) activity and increased lipolysis (4).

An issue that deserves to be highlighted is the increase in bile production caused by the ingestion of high-fat diets, which acts selectively in relation to colonization of the intestine, being important in the modulation of the microbiota and in the role that it exerts on the permeability and production of endotoxins (57).

5. CONCLUSION

There is increasing scientific evidence that high-fat diets can modulate intestinal microbiota composition, enhancing LPS uptake and affecting mucosal integrity, resulting in metabolic endotoxemia. Installed endotoxemia is a causal factor of subclinical inflammation related to several chronic diseases and as a result of this it is essential to know the real impact of hyperlipidic diets on the microbiota.

REFERÊNCIAS

- 1 . Alou MT, Lagier JC, Raoult D. Diet influence on the gut microbiota and dysbiosis related to nutritional disorders. *Human Microb Jour* 2016; 1: 3–11.
2. Isolauri E, Sherman PM, Walker WA. Intestinal Microbiome: Functional Aspects in Health and Disease. *Nestlé Nutr Inst Workshop Ser.* 2017; 88:95–105.
3. Qin J, Li R, Raes J, Arumugam M, Burgdorf KS, Manichanh C, et al. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature* 2010; 464:59–65.
4. Hemalatha, R. Diet and Gut Microbiota in Human Health. *Proc Indian Natn Sci Acad* 2016; 82 (5):1437-47.
5. Caporaso JG, Lauber CL, Costello EK, Berg-Lyons D, Gonzalez A, Stombaugh J, et al. Moving pictures of the human microbiome. *Genome Biol.* 2011;12: 1-8.
6. Phillips ML. Gut reaction: environmental effects on the human microbiota. *Environ. health perspect.* 2009; 117 (5): A198-A205.
7. Graf D, Di Cagno R, Fak F, Flint HJ, Nyman M, Saarela M, et al. Contribution of diet to the composition of the human gut microbiota. *Microb. ecol. health dis.* 2015; 26:261- 4.
8. Arslan N. Obesity, fatty liver disease and intestinal microbiota. *World J Gastroenterol.* 2014; 20 (44): 16452-63.
9. Li D, Wang P, Wang P, Hu X, Chen F. The gut microbiota: A treasure for human health. *Biotechnol. adv.* 2016; 34: 1210–24.
10. Tagliabue A, Elli M. The role of gut microbiota in human obesity: Recent findings and future perspectives. *Nutr. metab. cardiovasc. dis.* 2013; 23, 160-8.
11. Zhao L. The gut microbiota and obesity: from correlation to causality. *Nat Rev Microbiol* 2013; 11 (9):639-47.
12. Martinez KB, Pierre JF, Chang EB. The Gut Microbiota The Gateway to Improved Metabolism. *Gastroenterol Clin N Am* 2016; 45: 601–14.
13. Tang WH, Kitai T, Hazen SL. Gut microbita in Cardiovascular Health and Disease. *Circ. Res.* 2017; 120 (7): 1183-96.
14. Proctor C, Thiennimitr P, Chattipakorn N, Chattipakorn SC. Diet, gut microbiota and cognition. *Metab Brain Dis* 2017; 32 (1): 1–17.
15. Moreira APB, Teixeira TFS, Peluzio MCG, Alfenas RCG. Gut microbiota and the development of obesity. *Nutr Hosp* 2012; 27 (5): 1408-14.
16. Luche E, Cousin B, Garidou L, Serino M, Waget A, Barreau C, et al. Metabolic endotoxemia directly increases the proliferation of adipocyte precursors at the onset of

- metabolic diseases through a CD14-dependent mechanism. *Mol. Metab.* 2013; 2 (3): 281-91.
17. Laugerette F, Vorsa C, Géloën A, Chauvind MA, Soulageb C, Lambert-Porcheron S, et al. Emulsified lipids increase endotoxemia: possible role in early postprandial low-grade inflammation. *J. nutr. biochem.* 2011; 22: 53–59.
 18. Singh RK, Chang HW, Yan D, Lee KM, Ucmak D, Wong K, et al. Influence of diet on the gut microbiome and implications for human health. *J. transl. med.* 2017; 15 (73): 1-17.
 19. Tan H, O'toole PW. Impact of diet on the human intestinal microbiota. *J. food sci.* 2015; 2:71–77.
 20. Zhang C, Zhang M, Wang S, Han R, Cao Y, Hua W, et al. Interactions between gut microbiota, host genetics and diet relevant to development of metabolic syndromes in mice. *ISME J* 2010; 4: 232–41.
 21. Ji Y, Sakata Y, Tso P. Nutrient-induced inflammation in the intestine. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2011;14:315–21.
 22. Wall R, Ross RP, Fitzgerald GF, Stanton C. Fatty acids from fish: the anti-inflammatory potential of long-chain omega-3 fatty acids. *Nutr Rev* 2010; 68:280–9.
 23. Patterson E, O' Doherty R M, Murphy EF, Wall R, O' Sullivan O, Nilaweera K, et al. Impact of dietary fatty acids on metabolic activity and host intestinal microbiota composition in C57BL/6J mice. *Br J Nutr* 2014; 111: 1905–17.
 24. Bouter KE, Van Raalte DH, Groen AK, Nieuwdorp M. Role of the Gut Microbiome in the Pathogenesis of Obesity and Obesity-Related Metabolic Dysfunction. *Gastroenterology* 2017; 152: 1671–8.
 25. Shang Y, Khafipour E, Derakhshani H, Sarna LK, Woo CW, Siow YL, Karmin O. Short term high fat diet induces obesity-enhancing changes in mouse gut microbiota that are partially reversed by cessation of the high fat diet. *Lipids* 2017; 52 (6): 499-511.
 26. Ursell LK, Haiser HJ, Treuren WV, Garg N, Reddivari L, Vanamala J, et al. The intestinal metabolome: an intersection between microbiota and host. *Gastroenterology* 2014; 146:1470–6.
 27. Nehra V, Allen JM, Mailing LJ, Kashyap PC, Woods JA. Gut microbiota: modulation of host physiology in obesity. *Physiology* 2016; 31: 327–35.
 28. Cotillard A, Kennedy SP, Kong LC, Prifti E, Pons N, Le Chatelier E, et al. Dietary intervention impact on gut microbial gene richness. *Nature* 2013; 500: 585–8.
 29. Hildebrandt MA, Hoffmann C, Sherrill–mix SA, Keilbaugh SA, Hamady M, Chen YY, et al. High-fat diet determines the composition of the murine gut microbiome independently of obesity. *Gastroenterology* 2009; 137:1716–24.

30. Murphy EF, Cotter PD, Healy S, Marques TM, O'Sullivan O, Fouhy F, et al. Composition and energy harvesting capacity of the gut microbiota: relationship to diet, obesity and time in mouse models. *Gut* 2010; 59:1635-42.
31. Daniel H, Gholami AM, Berry D, Desmarchelier C, Hahne H, Loh G, et al. High-fat diet alters gut microbiota physiology in mice. *The ISME Journal* 2014; 8:295-08.
32. Hamilton MK, Boudry G, Lemay DG, Raybould HE. Changes in intestinal barrier function and gut microbiota in high-fat diet-fed rats are dynamic and region dependent. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2015; 308:G840-G51.
33. Kübeck R, Bonet-Ripoll C, Hoffmann C, Walker A, Müller VM, Schüppel VL, et al. Dietary fat and gut microbiota interactions determine diet-induced obesity in mice. *Molecular Metabolism* 2016; 5:1162-74.
34. Wu GD, Chen J, Hoffmann C, Bittinger K, Chen YY, Keilbaugh SA, et al. Linking Long-Term Dietary Patterns with Gut Microbial Enterotypes. *Science* 2011; 334 (6052): 105-8.
35. Simões CD, Maukonen J, Kaprio J, Rissanen A, Pietilainen KH, Saarela M. Habitual dietary intake is associated with stool microbiota composition in monozygotic twins. *J Nutr* 2013; 143:417-23.
36. Portune KJ, Benítez-Páez A, Del Pulgar EMG, Cerrudo V, Sanz Y. Gut microbiota, diet, and obesity-related disorders—The good, the bad, and the future challenges. *Mol. Nutr. Food Res.* 2017; 61 (1): 1-17.
37. Gerard P. Metabolism of cholesterol and bile acids by the gut microbiota. *Pathogens* 2014; 3 (1): 14-24.
38. Blaut M, Klaus S. Intestinal microbiota and obesity. *Handb Exp Pharmacol* 2012; 209:251-73.
39. De Wit N, Derrien M, Bosch-Vermeulen H, Oosterink E, Keshtkar S, Duval C, et al. Saturated fat stimulates obesity and hepatic steatosis and affects gut microbiota composition by an enhanced overflow of dietary fat to the distal intestine. *AJP Gastrointest Liver Physiol* 2012; 303: G589-G99.
40. Turnbaugh PJ, Backhed F, Fulton L, Gordon JI. Marked alterations in the distal gut microbiome linked to diet induced obesity. *Cell Host Microbe* 2008; 3: 213-23.
41. Schwartz A, Taras D, Schäfer K, Beijer S, Bos NA, Donus C, et al. Microbiota and SCFA in lean and overweight healthy subjects. *Obesity* 2010; 18 (1) : 190-5.
42. Turnbaugh PJ, Hamady M, Yatsunenko T, Cantarel BL, Duncan A, Ley RE et al. A core gut microbiome in obese and lean twins. *Nature* 2009; 457:481-5.
43. Mujico JR, Baccan GC, Gheorghe A, Díaz LE, Marcos A. Changes in gut microbiota due to supplemented fatty acids in diet-induced obese mice. *Br J Nutr* 2013; 110: 711-20.

44. Everard A, Belzer C, Geurts L, Ouwerkerk JP, Druart C, Bindels LB, et al. Cross-talk between *Akkermansia muciniphila* and intestinal epithelium controls diet-induced obesity. *Proc Natl Acad Sci* 2013; 110 (22): 9066–71.
45. Kashtanova D, Popenko AS, Tkacheva ON, Tyakht AB, Alexeev DG, Boytsov AS. Association between the gut microbiota and diet: Fetal life, early childhood, and further life. *Nutrition* 2016; 32: 620–7.
46. Li H, Zhu Y, Zhao F, Song S, Li Y, Xu X, et al. Fish oil, lard and soybean oil differentially shape gut microbiota of middle-aged rats. *Nature* 2017; 7 (826); 1-12.
47. Cani PD, Neyrinck AM, Fava F, Knauf C, Burcelin RG, Tuohy KM, et al. Selective increases of bifidobacteria in gut microflora improve high-fat-diet-induced diabetes in mice through a mechanism associated with endotoxaemia. *Diabetologia* 2007; 50: 2374–83.
48. Flint HJ, Scott KP, Louis P, Duncan SH. The role of the gut microbiota in nutrition and health. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol* 2012; 9 (10): 577-89.
49. Amar J, Burcelin R, Ruidavets JB, Cani PD, Fauvel J, Alessi MC, et al. Energy intake is associated with endotoxemia in apparently healthy men. *Am J Clin Nutr* 2008; 87:1219–23.
50. Erridge C, Attina T, Spickett CM, Webb DJ. A high-fat meal induces low-grade endotoxemia: evidence of a novel mechanism of postprandial inflammation. *Am J Clin Nutr* 2007; 86: 1286-92.
51. Lyte JM, Gabler NK, Hollis JH. Postprandial serum endotoxin in healthy humans is modulated by dietary fat in a randomized, controlled, cross-over study. *Lipids in health dis* 2016; 15 (186):1-10.
52. Ghoshal S, Witta J, Zhong J, Villiers W, Eckhardt E. Chylomicrons promote intestinal absorption of lipopolysaccharides. *J Lipid Res* 2009; 50: 90–97.
53. Cani PD, Bibiloni R, Knauf C, Waget A, Neyrinck AM, Delzenne NM, et al. Changes in Gut Microbiota Control Metabolic Endotoxemia-Induced Inflammation in High-Fat Diet-Induced Obesity and Diabetes in Mice. *Diabetes* 2008; 57: 1470–81.
54. De La Serre CB, Ellis CL, Lee J, Hartman AL, Rutledge JC, Raybould HE. Propensity to high-fat diet-induced obesity in rats is associated with changes in the gut microbiota and gut inflammation. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2010; 299:G440–G8.
55. Kaliannan K, Wang B, Li XY, Kim KJ, Kang JX. A host-microbiome interaction mediates the opposing effects of omega-6 and omega-3 fatty acids on metabolic endotoxemia. *Nature Scientific Reports* 2015; 5 (11276): 1-17.
56. Cani PD; Delzenne NM. The gut microbiome as therapeutic target. *Pharmacol Ther* 2011; 130: 202–12.

57. Suzuki T, Hara H. Dietary fat and bile juice, but not obesity, are responsible for the increase in small intestinal permeability induced through the suppression of tight junction protein expression in LETO and OLETF rats. *Nutr Metab* 2010; 12: 7–19.

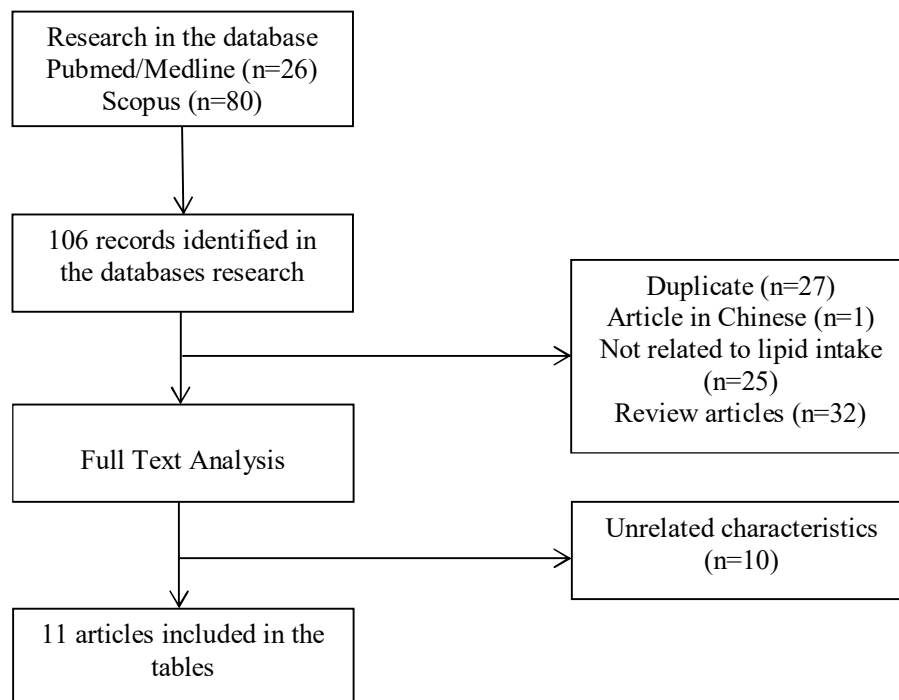


Figure 1. Study selection process.

Table I. Review of studies investigating high-fat diet-induced dysbiosis in animals.

Author/ Year	Sample	Treatment/ duration	Main results
Cani et al., 2007	Male C57bl6/J mice	Control Diet	Increased plasma LPS led to metabolic endotoxemia in high-fat fed mice diet.
	CD14 Mutant male mice bred in a C57bl6 background	High-fat, carbohydrate-free diet 72% LIP (oil and lard), 28% PTN and 1% CHO	Diet rich in lipids led to the reduction of Bacteriodes, Eubacterium rectale, Clostridium coccoides and bifidobacteria.
	12 weeks old	2 to 4 weeks	Plasma concentrations of LPS are a sufficient molecular mechanism to trigger metabolic diseases.
Hildebrandt et al., 2009	Female RELM_KO mice and 129Svev/C57BL/6 wild-type mice	Control Diet (12% LIP, 60% CHO, 28% PTN)	High-fat diet decreased Bacteroidetes, increased Firmicutes and Proteobacteria for both genotypes (obese and non-obese)
	14 weeks old	High-fat diet (45% LIP, 35% CHO, 20% PTN)	
Murphy et al., 2010	ob/ob Mice (leptin deficient) and C57BL/6J wild-type mice	ob/ob mice: Low fat diet	High-fat diet has increased the Firmicutes Phyto.
		Wild-type mice: Low-fat diet and high-fat diet (45%)	ob / ob mice presented reduction of Bacteroidetes.
		7 weeks old	8 weeks
Daniel et al., 2014	Male C57BL / 6NCrl mice	Diet with carbohydrate	High-fat diet caused great impact on the cecal microbiota of mice involving changes in bacterial composition, physiology, and metabolites
		High-fat diet	
		12 weeks	
			Diet rich in fat led to reduction of Ruminococcaceae (Filo Firmicutes) and increase in Rikenellaceae (Filo Bacteroidetes)

Author/ Year	Sample	Treatment/ duration	Main results
Hamilton et al., 2015	Male Wistar mice, 9 to 10 weeks old	Control Diet (13% LIP, 23% PTN)	High-fat diet increased adiposity and plasma levels of LBP at 3 and 6 weeks
		High-fat diet (45% LIP, 20% PTN)	After 1 week, there was an immediate but reversible increase in paracellular permeability, decreased IL-10 expression, and reduced abundance of genera within the Clostridia class in the ileum in mice fed a high-fat diet.
		1, 3 or 6 weeks	High-fat diet has increased Firmicutes / Bacteroidetes ratio in both the small and large intestine. With a high-fat diet, Deferribacteres increased in the cecum Control diet increased abundance of Cyanobacteria in the ileum
Kubeck et al., 2016	Germ free male mice and specific pathogen free male C57BL/6N 8 weeks old	Control Diet (5% soybean oil, 12% LIP)	High-fat diet was associated with increased relative abundance of Clostridiales spp. and decrease of Bacteroidal.
		High-fat diet (48% LIP, with palm oil and lard)	Dietary cholesterol may affect the binding between microbiota and host metabolism
Shang et al., 2017	Male C57BL/6J mice 6 weeks old	Control diet: low in fat (10%)	Body weight, blood glucose, hepatic triglycerides were higher in the high-fat diet group, regardless of the time.
		High-fat diet (60%) for 7 weeks	Observed significant difference in diversity and functional properties between group with high-fat diet and control diet.
		High-fat diet for 5 weeks followed by low fat diet for 2 weeks	High-fat diet reduced the ratio Bacteroidetes / Firmicutes High-fat diet followed by diet control restored the diversity and composition of the microbiota in the cecum

CHO: carbohydrate; LIP: lipids; PTN:protein; LPS: lipopolysaccharide; LBP: lipopolysaccharide binding protein; IL-10: Interleukin-10;

Table II. Review of studies investigating the dysbiosis induced by a high-fat diet in humans.

Author/ Year	Sample	Treatment/ duration	Main results
Amar et al., 2008	Healthy Men 1015 people randomly recruited in France	Three-day food record	<p>We found a link between food intake and plasma LPS.</p> <p>Experimental data suggest that fat was more efficient in transporting bacterial LPS from the intestinal lumen into the bloodstream.</p> <p>The results of this study add to the knowledge of mechanisms responsible for the relationships between food intake and metabolic diseases.</p>
Wu et al., 2011	Cross-sectional study in healthy adults n = 98	Food frequency questionnaire. Food recall	<p>Bacteroidetes and Actinobacteria were positively associated with fat, whereas Firmicutes and Proteobacteria showed the negative association.</p> <p>Enterotypes were strongly associated with long-term diets, particularly proteins and animal fat (Bacteroides) versus carbohydrates (Prevotella).</p>
Simões et al., 2013	Healthy adult twins	Cross-sectional data were evaluated in pairs of monozygotic twins of different body weight and body fat score was assessed for habitual daily intake and fecal microbiota	<p>Co-twins with similar daily energy intake had similar numbers of Bacteroides spp. when compared with those with different energy intake.</p> <p>Higher MUFA intake was associated with lower numbers of Bifidobacterium and slightly larger numbers of Bacteroides spp.</p> <p>Co-twins who ingested identical levels of SFA had very similar Bacteroides spp.</p> <p>Intake of n3-PUFA resulted in a significant positive association with abundance of Lactobacillus</p> <p>Ingestion of n6-PUFA was associated with decreased numbers of Bifidobacterium</p>

Author/ Year	Sample	Treatment/ duration	Main results
Lyte et al., 2016	Healthy adults (n = 20, mean age 25 ± 3.2 years)	Control diet (olive oil - 20%) High-fat diet with n-3 (fish oil) (35%) High-fat diet with n-6 (grape seed oil) (35%) Diet rich in saturated fat (coconut oil) (35%)	Serum endotoxin concentration was increased during the postprandial period after consumption of a high-saturated fat meal but decreased after the meal with n-3. The n-6 meal did not affect the postprandial endotoxin concentration in relation to the control meal. There was no postprandial effect on inflammatory biomarkers after meals. Postprandial serum triglycerides were significantly elevated after the n-6 meal compared to the n-3 meal. The non-esterified fatty acids were significantly increased after eating the meal with saturated fat compared to the other treatments.

LPS: lipopolysaccharide; MUFA: monounsaturated fatty acids; PUFA: polyunsaturated fatty acids; SFA: saturated fatty acids

Table III. Review of studies investigating the dysbiosis induced by different types of fats in animals.

Author/ Year	Sample	Treatment/ duration	Main results
De La Serre et al., 2010	Male Sprague-Dawley mice showing obesity-prone (DIO-P) or obesity-resistant phenotype (DIO-R)	Low fat diet 70% CHO, 20% PTN, 10% LIP (25.1% SFA, 34.7% MUFA, 40.2% PUFA) High-fat diet 35% CHO, 20% PTN, 45% LIP (36.3% SFA, 45.3% MUFA, 18.5% PUFA) 8 to 12 weeks	High-fat diet led to reduction of total bacterial density and the proportion of Bacteroidal and Clostridial orders in both phenotypes High-fat diet increased intestinal permeability, plasma LPS, ileal inflammation associated with TLR4 activation and decreased intestinal alkaline phosphatase, an enzyme that detoxifies LPS in DIO-P mice
De Wint et al., 2012	Male C57BL/6J mice 9 weeks old	Low fat diet made with palm oil (10% LIP) High-fat diet (45%) made with palm oil (SFA), olive oil (MUFA) and safflower oil (PUFA) 8 weeks	Rich saturated fat diet reduced the diversity of the microbiota and raised the ratio Firmicutes / Bacteroidetes. Diets with MUFA and PUFA did not present significant changes in the composition of the microbiota in relation to the low fat diet. High-fat diet with palm oil induced greater body weight gain and triglyceride content in the liver. High-fat diet with palm oil induced elevation of genes related to lipid metabolism in the distal small intestine.
Mujico et al., 2013	Female (CD-1) mice 8 weeks old	Control diet High-fat diet (60%) High-fat diet supplemented with oleic acid component High-fat diet supplemented with the combination of n-3 fatty acids EPA and DHA 19 weeks	High-fat diet increased the clostridial cluster XIVa and Enterobacteriales and decreased Bifidobacterium spp High-fat diet induced weight gain, which was reduced by supplementation with oleic acid component and restored the density of the microbiota. Supplementation with combination of n-3 fatty acids EPA and DHA significantly increased the amounts of Firmicutes (especially the Lactobacillus group) Body weight positively correlated with the Firmicutes phylum and clostridial cluster XIVa, and negatively with the phylum Bacteroidetes

Author/ Year	Sample	Treatment/ duration	Main results
Hidalgo et al., 2014	Male Webster ICR (CD-1) mice	Standard diet (3% lip) High-fat diet with refined olive oil (20%) High-fat diet with extra virgin olive oil (20%) Fat-rich diet with butter (20%) 0, 6 and 12 weeks	Different diets rich in fats have different effects on intestinal microbiota After 6 weeks the microbiota from butter fed mice was significantly altered Differences in diversity in all groups were more evident after 12 weeks
Marques et al., 2015	Male C57BL/6 mice 7 to 8 weeks old	Control diet Diet supplemented with conjugated linoleic acid (t10c12-CLA) (0.5%)	Linoleic acid decreased visceral fat mass, but did not reduce body weight, increased cecal concentrations of acetate, isobutyrate, and propionate. Supplementation revealed lower proportions of Firmicutes and higher proportions of Bacteroidetes, including bacteria Porphyromonadaceae.
Kaliannan et al., 2015	Fat-1 transgenic and wild-type mice	Standard diet Diet rich in n-6 PUFA (10% corn oil) Diet rich in n-3 PUFA (5% corn oil and 5% fish oil)	Diet with n-6 exhibited elevated levels of metabolic endotoxemia and low grade inflammation. High levels of n-3 fatty acids in the tissue increase the production and secretion of intestinal alkaline phosphatase that induces changes in the microbiota. High levels of n-3 fatty acids in the tissue decrease the production of lipopolysaccharides and intestinal permeability, with reduction of metabolic endotoxemia.

Author/ Year	Sample	Treatment/ duration	Main results
Lam et al., 2015	Female C57BL/6J mice	Control diet	Diet rich in saturated fat and n-6 led to similar weight gain
	6 weeks old	High-fat SFA diet (34%)	Diet rich in saturated fat increased the HOMA-IR insulin resistance index, permeability and inflammation of the mesenteric mass.
		Fat-rich diet n-6 PUFA (31%)	
		Fat-rich diet n-3 PUFA (37%)	
Li et al., 2017	Male Sprague–Dawley mice	High-fat diet with soybean oil	The structure of the intestinal microbiota in the fish oil group was substantially different from the soybean oil and lard
	12 months old	High-fat diet with fish oil	The group fed with fish oil presented higher relative abundance of Filo Proteobacteria and the genus <i>Desulfovibrio</i> in the cecal and colonic contents.
		High-fat diet with lard	
		3 months	
		The fish oil-fed group had levels of inflammatory biomarkers in the colon, higher IL-1 β , IL-6, IL-17, IL-18 and TNF-a	

CHO: carbohydrate; LIP: lipids; PTN:protein; MUFA: monounsaturated fatty acids; PUFA: polyunsaturated fatty acids; SFA: saturated fatty acids; LPS: lipopolysaccharide; EPA: Eicosapentaenoic acid; DHA: Docosahexaenoic acid; HOMA-IR insulin resistance index; IL-1 β : Interleukin-1 β ; IL-6: Interleukin-6; IL-17: Interleukin-17; IL-18: Interleukin -18; TNF-a: Tumor necrosis factor alpha.

4.2 Artigo 2

Artigo submetido a *British Journal of Nutrition*

EFEITO DA QUALIDADE LIPÍDICA DA DIETA NA ENDOTOXEMIA METABÓLICA: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA

RESUMO

Nesta revisão sistemática, foram avaliados criticamente os estudos em que se investigou o efeito da qualidade lipídica da dieta na endotoxemia metabólica em humanos. Os artigos foram selecionados em três bases de dados (PubMed, Scopus e Library Cochrane) e as palavras-chave foram definidas conforme a terminologia para indexação do *Medical Subject Headings* (MeSH). Os estudos foram selecionados por dois autores, de forma independente, de acordo com critérios de inclusão e exclusão pré-definidos. Também foram realizadas as avaliações da qualidade e do risco de viés de cada artigo selecionado. Segundo os resultados dos estudos pós-prandiais, maiores concentrações de LPS pós-prandiais (1 a 6 h) foram associados à ingestão de dietas ricas em ácidos graxos saturados. Por outro lado, concentrações mais baixas de endotoxina foram observadas após a ingestão de dietas ricas em ácidos graxos poliinsaturados. No entanto, em estudos de maior duração (4 a 12 semanas), o consumo dos diferentes tipos de ácidos graxos parece não exercer efeitos sobre a endotoxemia metabólica. Portanto, dietas ricas em SFAs parecem atuar como um fator de risco e dietas ricas em PUFAs como fator de proteção para a instalação da endotoxemia metabólica. Acredita-se que o perfil de ácidos graxos dietético influencie os níveis sanguíneos de endotoxinas via modulação do *clearance* de LPS; da atividade da fosfatase alcalina; do metabolismo de ácidos biliares; da permeabilidade intestinal e da composição da microbiota intestinal.

Palavras-chave: Lipopolissacarídeo; Endotoxemia metabólica; Ácidos graxos saturados, Ácidos graxos poliinsaturados.

1. INTRODUÇÃO

O LPS (lipopolissacarídeo) é uma endotoxina originada da parede celular de bactérias gram-negativas. Sua molécula é composta por uma cadeia de polissacarídeos específicos ou antígeno O, um núcleo de oligossacarídeos ou core R e uma fração lipídica A. Acredita-se que esta última seja responsável pela toxicidade do LPS (HEINE; RIETSCHER; ULMER, 2001). Quando em altas concentrações na corrente sanguínea (endotoxemia metabólica), o LPS exerce efeitos tóxicos ainda não totalmente elucidados. No entanto, o complexo mecanismo inicia-se com a ativação de uma cascata de sinais metabólicos que desencadeiam a produção de citocinas pró-inflamatórias (MILAN et al., 2017).

A inflamação instalada devido à endotoxemia metabólica, atualmente é foco de discussões em nutrição e saúde, visto que pode estar fortemente relacionada à obesidade e suas comorbidades, como diabetes, resistência a insulina e risco cardiovascular aumentado (HERSOUG; MØLLER; LOFT, 2018; MICHALSKI et al., 2016; NEVES et al., 2013). Além disso, altas concentrações séricas de LPS foram associadas à componentes da síndrome metabólica (LASSENIUS et al., 2011).

A translocação aumentada de LPS para a circulação sistêmica resulta do aumento da permeabilidade intestinal, em decorrência de fatores como o consumo de dietas ricas em lipídios e a disbiose, com diminuição da diversidade bacteriana intestinal e aumento de bactérias gram-negativas (CANI et al., 2008). A incorporação de LPS aos quilomícrons também pode contribuir para o aumento das concentrações plasmáticas de LPS (GHOSHAL et al., 2009).

A endotoxina pode se ligar ao LBP (Lipopolissacarídeo Binding Protein), o qual possui uma meia vida maior comparado ao LPS e por isso é um importante marcador da concentração plasmática da endotoxina, assim como o receptor CD14 (cluster de diferenciação 14). O complexo LPS-LBP associado ao CD14 pode gerar um impacto metabólico importante, visto que podem ativar a inflamação via receptor toll-like 4 (TLR4) (LAUGERETTE et al., 2012). Interessantemente, o efeito pró-inflamatório dos ácidos graxos saturados se deve em parte pela capacidade de interagirem com receptores TLR4 (ROCHA et al., 2016).

Vários autores mostraram que o consumo de dietas hiperlipídicas está associado ao aumento da concentração sérica de LPS pós-prandial (HARTE et al., 2012; LAUGERETTE et al., 2014; VORS et al., 2015). No entanto, pouco se sabe sobre o papel dos diferentes tipos de ácidos graxos na modulação da endotoxemia (HERSOUG;

MØLLER; LOFT, 2018). Ao que parece, a quilomicronemia pós-prandial gerada, pode aumentar a exposição extra-héptica ao LPS (GHOSHAL et al., 2009) e esta por sua vez pode ser afetada pela quantidade e qualidade da gordura ingerida, evidenciando um link entre lipemia e endotoxemia (MOREIRA et al., 2014).

Neste contexto, Milan et al. (2017) sugeriram que a composição da refeição, principalmente o perfil de ácidos graxos, deve ser considerado e avaliado. Em adição, Lyte, Gabler, Hollis (2016) demonstraram que altas concentrações sérias de LPS foram observadas após o consumo de ácidos graxos saturados, enquanto que menores concentrações foram verificadas após ingestão de ácidos graxos poliinsaturados n-3. Acredita-se que o perfil de ácidos graxos pode alterar as concentrações de endotoxina circulante de forma distinta para cada lipídio ingerido.

Assim, a presente revisão sistemática teve como objetivo analisar criticamente os estudos em que se avaliou o efeito da qualidade do lipídio dietético na modulação da endotoxemia metabólica em humanos, bem como explorar os mecanismos envolvidos nessa relação.

2. MÉTODOS

2.1 Protocolo e registro

Esta revisão sistemática foi planejada e conduzida conforme as recomendações PRISMA (*Preferred reporting items for Systematic reviews and Meta-Analysis*) (MOHER et al., 2009) e foi registrada no PROSPERO (*International Prospective Register of Systematic Reviews*) (CRD: 42018104349).

2.2 Pesquisa da literatura

A pesquisa dos artigos originais incluídos nesta revisão foi realizada no dia 10 de fevereiro de 2019, por dois autores (TLNC e LES), de maneira independente e em três bases de dados eletrônicas (PubMed, Scopus e Cochrane).

As palavras-chave da seguinte estratégia de busca foram definidas conforme os termos MESH (*Medical Subject Headings*): (*endotoxemia OR endotoxins OR lipopolysaccharides OR lipopolysaccharide-binding protein OR bacterial endotoxin*) AND (*fatty acids OR saturated fatty acids OR monounsaturated fatty acids OR polyunsaturated fatty acids OR high fat diet OR omega-6 fatty acids OR omega-3 fatty acids OR dietary fat OR dietary fat unsaturated*) AND *humans* AND (*clinical trials* OR

double-blind method OR comparative study) *NOT reviews*. A estratégia de busca não apresentou restrição de data de publicação e incluiu estudos em inglês, espanhol e português.

2.3 Critérios de elegibilidade e extração dos dados

Os critérios de elegibilidade foram aplicados de maneira independente em todos os estudos incluídos e as discordâncias foram solucionadas por consenso. Foram selecionados artigos originais, os quais atenderam aos seguintes critérios de inclusão: 1) oferta de dietas/refeições lipídicas à população de estudo; 2) descrição da quantidade e da qualidade de lipídios das dietas/refeições oferecidas aos participantes (saturada, monoinsaturada e/ou poliinsaturada); 3) descrição do comportamento das concentrações de LPS e/ou LBP; 4) avaliação dos marcadores da endotoxemia metabólica por Lisado de Amebócitos de *Limulus* (LAL) ou Ensaio Imunossorvente Ligado à Enzima (ELISA). Foram excluídos estudos com animais e *in vitro*, ensaios com infusão de LPS, revisões de literatura, cartas aos leitores, comentários, capítulos de livros e resumos.

Para cada estudo incluído, foram extraídos dados sobre autoria, ano de publicação, país onde o estudo foi realizado, objetivo, tamanho amostral, sexo, idade e estado nutricional dos participantes, presença de doenças crônicas, período de duração da intervenção, quantidade e composição lipídica da dieta oferecida por grupo experimental, além de resultados referentes ao comportamento das concentrações de LPS e/ou LBP e suas correlações.

2.4 Avaliação da qualidade, representatividade e risco de viés

A avaliação da qualidade dos estudos foi conduzida conforme o score Jadad (JADAD et al., 1996), por meio de uma escala de 5 pontos e tópicos centrados na validade interna. Foram avaliadas a adequação da randomização, a utilização do método duplo cego e a retirada e/ou abandono dos participantes de cada artigo selecionado. Estudos com pontuações de 0 a 1 foram considerados de baixa qualidade, estudos com pontuações de 2 a 3 foram considerados de moderada qualidade e estudos com pontuações ≥ 4 foram considerados de alta qualidade.

A representatividade foi avaliada segundo a validade externa. Assim, um estudo foi considerado representativo se informações como critérios de elegibilidade, cálculo do tamanho amostral, probabilidade de erro e poder da amostra foram apresentadas.

O risco de viés também foi avaliado em cada um dos estudos incluídos nesta revisão. Para isso, foram utilizados os critérios da Agência para Investigação em Saúde e Qualidade, do “Guia de Métodos para Eficácia Comparativa de Revisões” (VISWANATHAN et al., 2012). Foram avaliados vieses de seleção, desempenho, atrito, detecção e de relato. Os estudos foram classificados com: 1) baixo risco de viés, quando mais que 70% das perguntas foram respondidas como “sim (baixo risco)”; 2) moderado risco de viés, quando 40 a 69% das perguntas foram respondidas como “sim (baixo risco)”; 3) alto risco de viés, quando menos que 40% das respostas foram “sim (baixo risco)”.

2.5 Análise dos dados

A heterogeneidade dos estudos incluídos na presente revisão sistemática impossibilitou a condução de uma metanálise. Assim, segundo orientação do handbook Cochrane (HIGGINS; ALTMAN, 2008), optou-se por uma abordagem sistemática e narrativa para a análise de seus dados. Para facilitar as interpretações, as principais características e resultados significantes de cada estudo foram descritas em tabelas por ordem cronológica de ano de publicação.

3. RESULTADOS

3.1 Seleção dos estudos

Foram identificados 735 estudos nas três bases de dados pesquisadas, dos quais 112 corresponderam a artigos em duplicata. Dos 623 estudos restantes, foram excluídos 590 com base nas informações indicadas em seus títulos e resumos. Os principais motivos de exclusão foram: estudos *in vitro* (n=298), estudos com animais (n=84), estudos com infusão de LPS (n=32), que não avaliaram LPS e/ou LBP (n=53), que não ofereceram dieta lipídica aos seus participantes (n=83) e estudos que não informaram a quantidade e a qualidade do lipídio ingerido pela população de estudo (n=17) (**Figura 1**). Após a leitura completa dos 33 artigos que restaram, 10 estudos atenderam a todos os critérios de elegibilidade desta revisão sistemática.

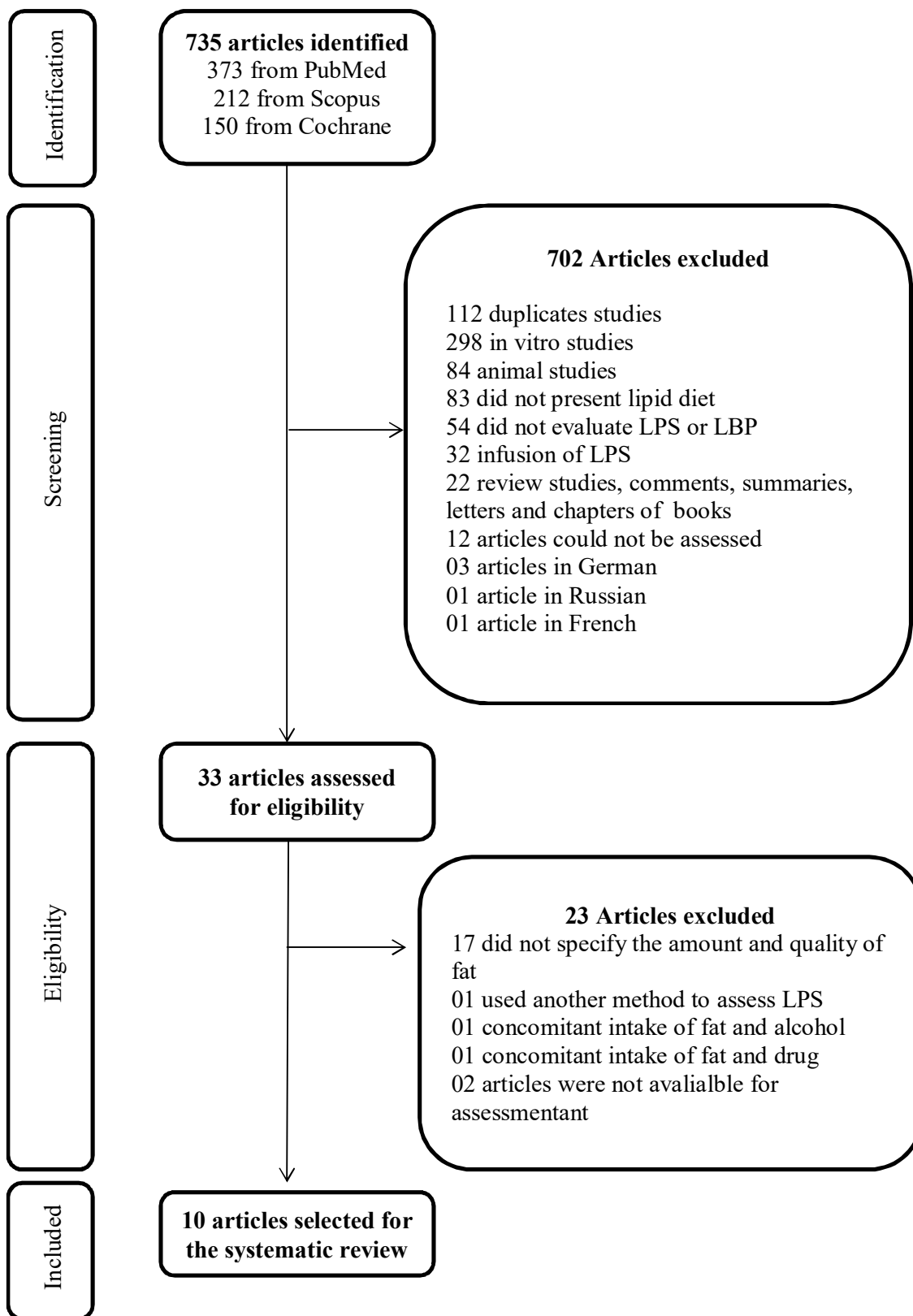


Figura 1. Fluxograma de seleção dos artigos.

3.2 Caracterização dos estudos

Todos os estudos incluídos nesta revisão são ensaios clínicos controlados randomizados, em que foi avaliado o efeito de dietas ricas em ácidos graxos saturados (SFA), monoinsaturados (MUFAs) e/ou poliinsaturados (PUFAs) nos marcadores da endotoxemia metabólica. Em oito dos dez estudos incluídos, foi avaliada a resposta pós-prandial do LPS exclusivamente, e apenas dois estudos foram estudos de intervenção de longo prazo (4 e 12 semanas). Vale ressaltar que os estudos que abordam esse assunto de pesquisa são relativamente recentes e que o artigo mais antigo incluído nesta revisão foi publicado em 2010. Os artigos continham dados referentes a um total de 369 participantes, sendo 74,65% do sexo masculino e 28,35% do sexo feminino (**Tabela 1**). Em três artigos, as informações sobre o sexo dos indivíduos estavam indisponíveis (CLEMENTE-POSTIGO et al., 2012; DEOPURKAR et al., 2010; PEREZ-HERRERA et al., 2012).

A população de estudo em 8 artigos era formada por adultos com excesso de peso (sobrepeso, obesidade e obesidade mórbida), sendo que 2 destes, era composta por crianças/adolescentes (ALAYÓN et al., 2018) e idosos (LOPEZ-MORENO et al., 2017b) obesos. Verificou-se ainda que em alguns estudos, os participantes apresentavam síndrome metabólica (LÓPEZ-MORENO et al., 2017a) ou eram diabéticos, hipertensos ou hiperlipidêmicos (LOPEZ-MORENO et al., 2017b).

A maioria dos estudos ofereceu aos seus participantes dietas hiperlipídicas contendo os três tipos de ácidos graxos de interesse desta revisão. Em 2 artigos foram avaliadas dietas contendo apenas os ácidos graxos saturados e poliinsaturados (DEOPURKAR et al., 2010; LYTE; GABLER; HOLLIS, 2016).

Nos estudos pós-prandiais (1 a 6h pós-prandiais), o teor de gordura das refeições variou de 35% a 69% do total de energia (ALAYÓN et al., 2018; LOPEZ-MORENO et al., 2017a; LÓPEZ-MORENO et al., 2017b; LYTE; GABLER; HOLLIS, 2016a; MORANDI et al., 2017; MOREIRA et al., 2014; PEREZ-HERRERA et al., 2012; SCHMID et al., 2015), portanto acima das recomendações diárias (20 a 35% Energia) (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2008a). E nos estudos de 4 a 12 semanas, o teor de gordura das dietas prescritas variou de 30 a 38% do total de energia (LOPEZ-MORENO et al., 2017a; LÓPEZ-MORENO et al., 2017b). Clemente-Postigo et al. (2012) e Deopurkar et al. (2010) não informaram o percentual energético de gordura, mas disponibilizaram a composição centesimal das refeições testadas.

Tabela 1. Características e principais resultados de concentração de LPS e LBP em indivíduos que receberam dietas contendo diferentes tipos de lipídios.

Referência	Objetivo	Amostra Sexo Idade (anos)	Estado Nutricional IMC médio (kg/m ²)	Duração	Intervenção Dietética Quantidade total de gordura ¹	Composição em lipídios (%) ²	Resultados de endotoxemia
Deopurkar et al. (2010)	Avaliar o efeito da gordura saturada e carboidratos em aumentar LPS, TLR-4 e SCOS3	N= 48 25 a 47	Saudáveis 21,5 – 24,4	5 h pós-prandiais	Glicose Nata Suco de laranja Água	- 70%SFA 28% UFA - -	- A concentração plasmática de LPS aumentou significativamente em 3h após ingestão de nata. Mas não aumentou após ingestão de glicose, suco de laranja e água - Após 5h, os níveis plasmáticos de LPS com o consumo de nata continuaram significativamente maiores que os níveis basais - A concentração de LBP aumentou significativamente após a ingestão de glicose após 5h, o que não aconteceu após ingestão de nata ou suco de laranja
Clemente – Postigo et al. (2012)	Analisar a endotoxemia após ingestão de gordura e associar com resistência a insulina e hipertrigliceridemia	N= 40 41,41 ± 9,36	Obesos mórbidos 53,70 ± 9,49	3 h pós prandiais	Preparação com 50g de gordura	20% SFA 58,92% MUFA 21,25% PUFA	- Pacientes do grupo 3: HOMA ≤ 5 e ΔTG > 80mg e do grupo 4: HOMA > 8 e ΔTG > 80mg, com maior hipertrigliceridemia pós-prandial apresentaram aumento significativo nos níveis de LPS no soro e na fração quilomícron

Perez-Herrera et al. (2012)	Investigar o efeito do processo de aquecimento de diferentes óleos sobre as propriedades químicas e na resposta inflamatória pós-prandial	N = 20 56 ± 7,1	Obesos 37,3 ± 4,2	4h pós prandiais	Óleo de oliva virgem	18,4% SFA 70,5 % MUFA 11,1% PUFA	- Em 2h pós-prandiais, foi observada uma diminuição nos níveis plasmáticos de LPS, com retorno para valores de jejum na 4h, após consumo de óleo de oliva e de mix de óleos enriquecidos com compostos fenólicos - Após o consumo de óleo de girassol foi observado um aumento nos níveis de LPS após 4h pós-prandiais - Azeite de oliva e mix de óleos enriquecidos com compostos fenólicos apresentaram valores plasmáticos de LPS mais baixos do que a refeição rica com óleo de girassol, após 2 e 4h pós-prandiais
					Óleo de girassol	7,3% SFA 34,3% MUFA 58,3% PUFA	
					Mix de óleos (girassol 30% e canola 70%) enriquecido com antioxidante dimetilpolisiloxane	10,2% SFA 71,8% MUFA 18% PUFA	
					Mix de óleos (girassol 30% e canola 70%) enriquecido com compostos fenólicos	5,8% SFA 76,7% MUFA 17,6% PUFA	
					56%		
Moreira et al. (2014) ³	Investigar o efeito do consumo de refeição rica em gordura com castanha convencional ou contendo alto teor de oleico, sobre o LPS e sua relação com lipemia e insulinemia	N = 65 65 homens a- 27,2 (1,4) b- 27,7 (1,8) c -26,1 (1,4)	Sobrepeso e obesos a- 29,5 (0,4) b- 30,2 (0,5) c- 29,9 (0,6)	3h pós prandias	Amendoim convencional	16,25% SFA 51,78% MUFA 32,21%PUFA	- Não foi observada diferenças significativas nas concentrações de LPS ao se comparar os níveis em jejum e pós-prandiais, dentro de cada grupo experimental - Após 3h pós-prandiais o grupo amendoim convencional e amendoim com alto teor de oleico apresentaram menores concentrações de LPS quando comparados com o grupo controle (biscoito) - O consumo de amendoim foi
					Amendoim com alto teor de oleico	13,01% SFA 83,09% MUFA 4,30% PUFA	
					Biscoito	22,07% SFA 36,21% MUFA 8,07% PUFA	
					49%		

associado com menor concentração de LPS a 3h pós-prandiais

Schmid et al. (2015)	Comparar o efeito de refeição láctea rica em gordura, de refeição não láctea rica em gordura e suplementada com leite, de refeição rica em gordura sem produtos lácteos sobre as repostas inflamatórias e metabólicas	N = 19 19 homens 41,8 ± 9,0	Sobrepeso 27,1 ± 8,2	6h pós-prandiais	Rica em gordura com produtos lácteos Rica em gordura com produtos não lácteos, suplementada com leite Rica em gordura com produtos não lácteos 60 – 61%	35,55% SFA 14,42% MUFA 3,22% PUFA 26,50% SFA 23,21% MUFA 6% PUFA 24,13% SFA 26,04% MUFA 6,9% PUFA	- A concentração de endotoxina aumentou significativamente entre o baseline e 6h após a ingestão de todas as três refeições testes
Lyte et al. (2016)	Estudar o efeito de refeição composta por diferentes ácidos graxos sobre a concentração sérica pós-prandial de endotoxina	N = 20 12 homens 8 mulheres	Saudáveis Homens= 22,7 Mulheres= 22,3	5h pós-prandiais	Óleo de coco Azeite de oliva Óleo de semente de uva (n-6) Óleo de peixe (n-3) 35%	15% SFA 2%PUFA (n-6) 5% SFA 2% PUFA (n-6) 10% SFA 7%PUFA (n-6) 10% SFA 2% PUFA (n-6) 0,5% EPA+DHA (n-3)	- Os níveis séricos de LPS foram menores após consumo de refeição rica em óleo de peixe (n-3) comparada a refeição rica em gordura saturada - A concentração de LPS aumentou durante o período pós-prandial após consumo de refeição rica em gordura saturada - Ao se comparar os valores médios de LPS entre as dietas ricas em gorduras e a dieta pobre em gordura, não foi encontrada diferença estatística

Lopez-Moreno et al. (2017a) ⁴	Avaliar o efeito do consumo de gorduras em quantidade e qualidade sobre os níveis plasmáticos de LPS	N = 75 28 homens 47 mulheres	Obesos com síndrome metabólica	12 semanas	Dieta rica em gordura SFA	16% SFA 12% MUFA 6% PUFA	- Os níveis de LPS e LBP não sofreram alterações significativas em 12 semanas após ingestão das dietas		
					Dieta rica em ácidos graxos MUFA	8% SFA 20% MUFA 6% PUFA			
					Dieta pobre em gordura e rica em CHO complexos	8% SFA 11% MUFA 6% PUFA			
					Dieta pobre em gordura e rica em CHO complexos, suplementada com n-3	8% SFA 11% MUFA 6% PUFA 1,24g EPA+DHA			
					38%				
					4h pós prandiais	Dieta rica em gordura SAT		38% SFA 21% MUFA 6% PUFA	- A dieta rica em gordura saturada aumentou os níveis pós-prandiais de LPS comparada com as outras dietas
					Dieta rica em ácidos graxos MUFA	12% SFA 43% MUFA 10% PUFA			
					Dieta pobre em gordura e rica em CHO complexos	21% SFA 28% MUFA 16% PUFA		- Não houve alteração significativa nos níveis de LBP pós-prandiais para todas as dietas	
Dieta pobre em gordura e rica em CHO complexos, suplementada com n-3	21% SFA 28% MUFA 16% PUFA 1,24g EPA + DHA								
65 %									

Lopez-Moreno et al. (2017b)	Avaliar o efeito de dieta rica em gordura na endotoxemia de idosos	N = 20 10 homens 10 mulheres 67,1 ± 4,52	Obesos (n=6) Hipertensão (n=3) Diabetes (n=3) Hiperlipidemia (n= 2) 31,9 ± 5,50	4 semanas 4h pós prandiais	Dieta do Mediterrâneo Dieta rica em gordura SFA Dieta pobre em gordura, rica em carboidrato e enriquecida com n-3 30 - 38% (crônico) 50 - 60% (pós-prandial)	<10%SFA 24% MUFA 4% PUFA 0,4% ALA 22% SFA 12% MUFA 4% PUFA 04% ALA 10%SFA 12% MUFA 8% PUFA 2% ALA	- Foi observado menor nível plasmático de LPS, em jejum, após a intervenção a longo prazo de dieta pobre em gordura, rica em carboidrato e enriquecida com n-3 quando comparada com as outras dietas - Não foi observado diferenças entre as dietas nos valores de LBP, em jejum após a intervenção dietética a longo prazo - Foi observado um aumento pós-prandial estatisticamente significante, nos níveis de LPS e diminuição nos níveis de LBP, após dieta pobre em gordura, rica em carboidrato e enriquecida com n-3 quando comparado aos níveis em jejum - Não foi observado mudanças significativas nos níveis pós-prandiais de LPS após ingestão de dieta rica em gordura saturada e dieta do mediterrâneo
Morandi et al. (2017)	Avaliar o efeito de uma refeição rica em gorduras na translocação de LPS e a associação com IL-6 e homeostase	N= 20 11 garotos 9 garotas 9 a 17	Obesos (BMI) ≥ the 95° percentile	5 h pós prandiais	Sorvete contendo óleo de oliva e óleo de girassol 69%	31,5% SFA 35% MUFA 33,5% PUFA	- LBP e sCD14 diminuiu significativamente após 1h da refeição - LBP, sCD14 e suas iAUCs não correlacionou com IL-6

		de glicose, em crianças e adolescentes obesos		ou homeostase de glicose			
Alayón et al. (2018) ⁵	Avaliar o efeito da ingestão de refeição rica em gordura saturada sobre o perfil metabólico e inflamatório	N = 42 42 homens a) 38,7 ± 10,1 b) 41,4 ± 7,6	Eutróficos 23,0 ± 2,2 Obesos 30,1 ± 4,1	4 h pós prandiais	Café da manhã com pão, manteiga e café 59%	32% SFA 23% MUFA 4% PUFA	- Foi observado um aumento nas concentrações de lipopolissacarídeos em ambos os grupos - Foi observado uma correlação positiva as 4h pós prandiais, entre os níveis de triglicerídeos e lipopolissacarídeos no grupo com obesidade

IMC: Índice de massa corporal; LPS: lipopolissacarídeos; TLR4: receptor toll-like ; SOCS3: Supressor de sinalização de citocinas-3; LBP: Lipopolissacarídeo Binding Protein; ΔTG: delta de triglicerídeos; SFA: ácidos graxos saturados; UFA: ácidos graxos insaturados; MUFA: ácidos graxos insaturados; PUFA: ácidos graxos poliinsaturados; EPA: Ácido eicosapentaenoico; DHA: ácido docosa-hexaenóico; ALA: Ácido alfa-linolênico; n-3: ácidos graxos ômega 3; n-6: ácidos graxos ômega 6;

¹Quantidade de gordura total da refeição em relação ao percentual de energia

²Dados referentes ao percentual de energia proveniente dos diferentes lipídios na dieta de intervenção. Exceto para: Deopurkar et al., 2010; Perez- Herrera et al., 2012; Moreira et al., 2014, que são referentes a composição centesimal dos ácidos graxos da dieta de intervenção.

³Idade e IMC médios apresentados para cada grupo: a) amendoim convencional; b) amendoim com alto teor de oleico; c) biscoito

⁴Idade e IMC médios apresentados para cada grupo: a) Dieta rica em gordura SFA; b) Dieta rica em ácidos graxos MUFA; c) Dieta pobre em gordura e rica em CHO complexos; d) Dieta pobre em gordura e rica em CHO complexos, suplementada com n-3.

⁵ Idade e IMC médios apresentados para cada grupo: a) grupo sem obesidade; b) grupo com obesidade

3.3 Avaliação da qualidade, representatividade e risco de viés

Pelo score Jadad (JADAD et al., 1996), 1 estudo incluído nesta revisão apresentou alta qualidade (LOPEZ-MORENO et al., 2017b), 5 foram classificados com moderada qualidade (LÓPEZ-MORENO et al., 2017a; LYTE; GABLER; HOLLIS, 2016; MOREIRA et al., 2014; PEREZ-HERRERA et al., 2012; SCHMID et al., 2015) e 4 apresentaram baixa qualidade (ALAYÓN et al., 2018; CLEMENTE-POSTIGO et al., 2012; DEOPURKAR et al., 2010b; MORANDI et al., 2017).

Todos os artigos foram considerados representativos. Quanto a avaliação do risco de viés, 6 estudos foram classificados com baixo risco e os demais com risco moderado. Observou-se que as principais limitações dos estudos se referiram aos vieses de seleção (ALAYÓN et al., 2018; CLEMENTE-POSTIGO et al., 2012; DEOPURKAR et al., 2010; LOPEZ-MORENO et al., 2017b; LYTE; GABLER; HOLLIS, 2016; MORANDI et al., 2017; MOREIRA et al., 2014; SCHMID et al., 2015), de performance (CLEMENTE-POSTIGO et al., 2012; PEREZ-HERRERA et al., 2012) e de detecção (ALAYÓN et al., 2018; CLEMENTE-POSTIGO et al., 2012; DEOPURKAR et al., 2010; LOPEZ-MORENO et al., 2017a; LÓPEZ-MORENO et al., 2017b; LYTE; GABLER; HOLLIS, 2016; MORANDI et al., 2017; MOREIRA et al., 2014; PEREZ-HERRERA et al., 2012; SCHMID et al., 2015) (Tabela 2).

Tabela 2. Tipo de estudo, localização geográfica e avaliação da qualidade e risco de viés dos estudos selecionados.

Referência	Tipo de estudo	País	Score Jadad	Qualidade	Representatividade	Risco de viés
Deopurkar et al.(2010)	Ensaio clínico	Estados Unidos	0	Baixa	sim	Moderado (8/12)
Clemente – Postigo et al. (2012)	Ensaio clínico	Espanha	0	Baixa	sim	Moderado (8/12)
Perez-Herrera et al. (2012)	Ensaio clínico, cross over	Espanha	2	Moderada	sim	Baixo (10/12)
Moreira et al. (2014)	Ensaio clínico	Brasil	2	Moderada	sim	Baixo (9/12)
Schmid et al. (2015)	Ensaio clínico, cross over	Suíça	2	Moderada	sim	Baixo (9/12)
Lyte et al. (2016)	Ensaio clínico, cross over	Estados Unidos	3	Moderada	sim	Baixo (9/12)
Lopez-Moreno et al. (2017a)	Ensaio clínico	Espanha	3	Moderada	sim	Baixo (11/12)
Lopez-Moreno et al. (2017 b)	Ensaio clínico, cross over	Espanha	4	Alta	sim	Baixo (9/12)
Morandi et al. (2017)	Ensaio clínico	Itália	0	Baixa	sim	Moderado (7/12)
Alayón et al. (2018)	Ensaio clínico	Colômbia	1	Baixa	Sim	Moderado (7/12)

3.4 Resultados dos estudos

Nos estudos em que se avaliou o efeito pós-prandial de dietas contendo maiores teores de ácidos graxos saturados, as concentrações séricas médias de LPS variaram de 0,27 a 1,40 EU/ml no baseline e de 0,38 a 1,70 EU/ml após a ingestão. Tais estudos verificaram aumento das concentrações de LPS quando as concentrações pós-prandiais de tal marcador foram comparados às concentrações de jejum (ALAYÓN et al., 2018;

DEOPURKAR et al., 2010; SCHMID et al., 2015) e também quando refeições ricas em SFA foram comparadas às refeições ricas em MUFAs e PUFAs (LÓPEZ-MORENO et al., 2017a; LYTE; GABLER; HOLLIS, 2016; MOREIRA et al., 2014).

Resultados controversos foram observados em estudos pós-prandiais, que avaliaram a ingestão de dietas contendo maiores teores de MUFAs. Clemente-Postigo et al. (2012) e Lopez-Moreno et al. (2017b) verificaram aumento das concentrações de LPS, enquanto que Moreira et al. (2014) e Perez-Herrera et al. (2012) observaram diminuição. Em relação aos efeitos crônicos do consumo de MUFAs, Lopez-Moreno et al. (2017b) mostraram uma diminuição nas concentrações de LPS após intervenção de 4 semanas. No entanto, a dieta teste neste estudo continha suplementação de PUFA n-3. Além disso, apresentava menor teor de gordura (30%) e maior teor de carboidratos (55%) do que as demais dietas testadas pelos pesquisadores (LOPEZ-MORENO et al., 2017b). Assim, ainda não é possível concluir sobre os efeitos dos MUFAs nas concentrações de LPS.

Nos estudos em que se avaliou o efeito pós-prandial de dietas contendo maiores teores de PUFAs, as concentrações médias de LPS variaram de 0,43 a 1,10 EU/ml no *baseline* e de 0,26 a 0,70 EU/ml após a ingestão. Lyte, Gabler e Hollis (2016) e Moreira et al. (2014) identificaram menores concentrações de LPS após a ingestão de dietas ricas em PUFAs quando comparadas a dietas ricas em SFAs. Segundo os autores acima, os PUFAs n-6 (amendoim convencional) e PUFA n-3 (óleo de peixe) podem reduzir as concentrações de LPS na corrente sanguínea. Por outro lado, Perez-Herrera et al. (2012) verificaram maiores concentrações de LPS após a ingestão de óleo de girassol (rico em PUFAs). No entanto, nesse estudo, o óleo foi aquecido antes de ser ingerido. Portanto, alterações em suas propriedades químicas não podem ser descartadas, e podem ter comprometido os resultados e influenciado as concentrações de LPS (PEREZ-HERRERA et al., 2012) (Tabela 3).

Em relação ao LBP, Lopez-Moreno et al. (2017b) observaram menores concentrações deste marcador após a ingestão de dieta rica em MUFAs (4h pós prandiais), comparado às concentrações de jejum. Morandi et al. (2017) também observaram menores concentrações de LBP 1h após a ingestão de refeição balanceada em ácidos graxos (31.5%E SFA, 35.0%E MUFA e 33.5%E PUFA). No entanto, a área abaixo da curva (AUC) de LBP, referente ao período de 5h pós-prandiais, não indicou alterações significantes de suas concentrações.

Alguns estudos constataram correlações positivas entre concentrações de LPS e triacilgliceróis (CLEMENTE-POSTIGO et al., 2012; MOREIRA et al., 2014; SCHMID et al., 2015) (Tabela 3). Além disso, as concentrações pós-prandiais de LPS apresentaram associações positivas com marcadores de inflamação do tecido adiposo, como PPAR γ e IL-6, enquanto apresentaram correlações inversas com ADIPOQ, PLIN, CANX, NRF2, XBP1, UCP2, ME2 (LÓPEZ-MORENO et al., 2017a). Adicionalmente, as concentrações de LBP demonstraram associação direta com CAV1, ADIR2, PIK3CA e APS; apesar de estar associado negativamente a XBP1, CARL, CANX e PDIA3 (LÓPEZ-MORENO et al., 2017a). Com relação aos marcadores de inflamação de células mononucleares periféricas, os autores verificaram correlações positivas entre LPS e I κ B α e MIF1 e correlações negativas entre LBP e NF κ B. Além disso, LPS-P-selectina e SVCAM foram positivamente correlacionadas aos marcadores de inflamação no plasma (LÓPEZ-MORENO et al., 2017a).

Por fim, Lopez-Moreno et al. (2017b) verificaram correlações positivas entre as concentrações de LPS em jejum e a expressão do gene I κ B, além de correlações entre LBP e MCP-1. Além disso, os autores demonstraram correlações entre a expressão de LPS e MCP-1 em células mononucleares periféricas no período pós-prandial (LOPEZ-MORENO et al., 2017b).

Tabela 3. Efeito do tipo de lipídio sobre a endotoxemia e principais variáveis correlacionadas com LPS e LBP.

Referência	Tipo de lipídio*	Efeito sobre a endotoxemia	Valores de LPS [†]		Variáveis correlacionadas com LPS e LBP		
			LPS baseline EU/ml	LPS pós prandial EU/ml	Correlação positiva	Correlação negativa	Método utilizado
Deopurkar et al. (2010)	↑ SFA	↑ LPS	0,29 ± 0,03 ^a	0,41±0,07 ^b (3h)	-	-	-
Clemente –Postigo et al. (2012)	↑ MUFA	↑ LPS ↑ LPS quilomicron	-	-	Triglicerídeos (r= 0,48; r= 0,40)	-	Spearman
Perez- Herrera et al. (2012)	↑ MUFA ↑ PUFA	↓ LPS ↑ LPS	-	-	-	-	-
Moreira et al. (2014)	↑ SFA ↑ MUFA ↑ PUFA	↑ LPS ↓ LPS ↓ LPS	1,4 (0,3) 1,4 (0,2) 1,1 (0,2)	1,6 (1,2) ^a 1,0 (0,9) ^b 0,7 (0,5) ^{b,c}	Triglicerídeos (r= 0,27)	-	Spearman
Schmid et al. (2015)	↑ SFA ↑ MUFA	↑ LPS ↑ LPS	2,3 ± 0,7 2,4 ± 0,8	-	Triglicerídeos (r= 0,62)	-	não mencionado
Lyte et al. (2016)	↑ SFA ↑ PUFA (n-3)	↑ LPS ↓ LPS	0,27 ± 0,03 0,43 ± 0,15	0,38 ± 0,20 ^a 0,26 ± 0,02 ^b	-	-	-
Lopez-Moreno et al. (2017a)	↑ SFA	↑ LPS	-	-	Com LPS pós-prandial: P- selectina (r= 0,342) sVCAM (r=0,282) IkBa (r= 0,326) MIF1 (r= 0,399) PPARG (r= 0,437) IL6 (r=0,534)	Com LPS pós prandial: LBP (r= -0,391) NRF2 (r= -0,396) XBP1 (r= - 0,434) UCP2 (r= -0,445) ME2 (r= - 0,402) ADIPOQ (r= -0,368) PLIN (r= -0,375) CANX (r= -0,342)	Pearson
					Com LBP pós-prandial: CAV1 (r= 0,405) ADIR2 (r=0,567)	Com LBP pós prandial: NF-kB p65 (r= -0,259)	

PIK3CA (r= 0,685)
 APS (r= 0,731)
 XBP1 (r= -0,397)
 CARL (r=-0,385)
 CANX (r= - 0,353)
 PDIA3 (r= -0,391)

Lopez-Moreno et al. (2017 b)	4 semanas: ↑ MUFA	↓ LPS	0,24 ± 0,01	-	Com LPS em jejum: IkB (r=0,274)		
	4h pós-prandial ↑ MUFA ↑ MUFA	↑ LPS ↓ LBP	-	-	Com LPS pós-prandial MCP-1 (r= 0,377)		
Morandi et al. (2017)	Conteúdo balanceado de saturados/ monoinsaturados/ poliinsaturados	↓ LBP	-	-	Com LBP em jejum: MCP1(r=0,255) TNF (r=0,419)	iAUCCLBP e iAUCsCD14 (r= 0,41)	IL-6 (r < 0.3) Pearson
Alayón et al. (2018)	↑ SFA	↑ LPS	Obesos 0,92	1,70	Grupo obesos (r= 0,635)	-	Pearson
			Não obesos 0,49	1,33			

Diferentes letras na mesma linha indicam diferença estatística entre valores do baseline e pós-prandiais. Diferentes letras na mesma coluna indicam diferenças estatísticas entre os grupos. *Referente ao lipídio em maior quantidade na dieta de intervenção. †Dados são média ± SD, exceto para Moreira et al.(2014), os dados são mediana (intervalo interquartilico).

↑ - significa maior concentração; ↓ - significa menor concentração. LPS: lipopolisacarídeos; LBP: Lipopolisacarídeo Binding Protein; SFA: ácidos graxos saturados; MUFA: ácidos graxos insaturados; PUFA: ácidos graxos poliinsaturados; sVCAM: Soluble Vascular Cell Adhesion Molecule-1; IkBa: Factor Kappa B inhibitor; MIF1: Migration inhibitory factor macrophage; PPARG: *Activated* Receptor gamma peroxisome proliferator; IL6: Interleucina-6; CAV1: Caveolin protein coding type 1; ADIR2: Nuclear protein complex; PIK3C: Protein coding phosphoinositide 3 kinase; APS: Antigen human prostate specific; NRF2: Nuclear Factor erythrocytes derived from type 2; XBP1: X box binding protein; UCP2: Uncoupling protein mitochondrial type 2; ME2: NAD dependent malic enzyme; ADIPOQ: Adiponectin, C1Q And Collagen Domain Containing; PLIN: perilipinas; CANX:calnexin; NF-kB p65: p65 subunit of the nuclear factor Kappa; XBP1: X box binding protein; CARL: calreticulin; PDIA3: protein disulfide isomerase family A, member 3; MCP1: *Monocyte chemoattractant protein-1*; TNF: fator de necrose tumoral.

4. DISCUSSÃO

Os resultados dos estudos incluídos nesta revisão sistemática indicaram que o perfil lipídico da dieta parece modular as concentrações sanguíneas de LPS. Enquanto o consumo de dietas ricas em SFAs foi associado ao aumento nas concentrações de LPS (ALAYÓN et al., 2018; DEOPURKAR et al., 2010; LOPEZ-MORENO et al., 2017a; LYTE; GABLER; HOLLIS, 2016; MOREIRA et al., 2014; SCHMID et al., 2015), dietas ricas em PUFAs foram associados a menores concentrações de LPS (LYTE; GABLER; HOLLIS, 2016; MOREIRA et al., 2014), em indivíduos eutróficos e excesso de peso (Figura 2). Os mecanismos envolvidos na relação entre o perfil lipídico dietético e a endotoxemia metabólica em humanos são pouco elucidados. Assim, possíveis mecanismos foram apresentados e discutidos no presente estudo (Figura 3).

Sabe-se que a ingestão de refeições ricas em gordura estimula o fígado a produzir ácidos biliares, os quais auxiliam a digestão e a absorção dos lipídios via formação de micelas (DE AGUIAR VALLIM; TARLING; EDWARDS, 2013). Devido à sua fração lipídica A, o LPS se incorpora às micelas formadas no lúmen intestinal e, assim, as endotoxinas são internalizadas aos enterócitos e incorporadas aos quilomícrons (GHOSHAL et al., 2009; MICHALSKI et al., 2016). A formação exacerbada de quilomícrons pode aumentar a pressão sanguínea local e reduzir a resistência das células de junção ou levar a ruptura de suas membranas. Com isso, um maior transporte paracelular de LPS pode ocorrer devido ao aumento da permeabilidade intestinal (MANI; HOLLIS; GABLER, 2013; MOREIRA et al., 2012).

Acredita-se que o tipo de ácidos graxos da dieta seja capaz de influenciar o transporte do complexo LPS-quilomícrons para o sangue (LAUGERETTE et al., 2011). Nesse sentido, considerando que os quilomícrons são formados após a ingestão alimentar, variações pós-prandiais das concentrações de LPS podem estar relacionadas à lipemia (LOPEZ-MORENO et al., 2017b).

Alguns autores observaram que a ingestão de ácidos graxos de cadeia longa, como o PUFA n-3, resultou em menores concentrações de triacilgliceróis pós-prandiais e, conseqüentemente, menor lipemia (BRAVO; NAPOLITANO; BOTHAM, 2010; LOPEZ-MORENO et al., 2017; OSCARSSON; HURT-CAMEJO, 2017). Tais resultados são atribuídos à capacidade do DHA (ácido docosa-hexaenóico) e do EPA (ácido eicosapentaenoico) em aumentar o *clearance* de quilomícrons e reduzir a concentração sérica de VLDL (Lipoproteína de Muito Baixa Densidade) (OSCARSSON; HURT-CAMEJO, 2017). Uma menor lipemia pós-prandial também foi

observada após a ingestão de óleo de peixe, rico em PUFA n-3, quando comparado a um mix de óleo rico em SFAs (JACKSON et al., 1999) e ao óleo de canola, rico em MUFAs (LOPEZ-MIRANDA; WILLIAMS; LARION, 2007). Por outro lado, verificou-se maior lipemia após a ingestão de SFAs comparada a ingestão de MUFAs e PUFAs (BOTHAM; WHEELER-JONES, 2013; BRAVO; NAPOLITANO; BOTHAM, 2010). Vale ressaltar que ácidos graxos de cadeia curta e média não são incorporados aos quilomícrons e, por isso, têm um efeito limitado sobre a lipemia pós-prandial (MU; HØY, 2004).

Outros fatores dietéticos são apontados na literatura como possíveis influenciadores da reposta lipidêmica e das concentrações sanguíneas de LPS. Deopurkar et al. (2010) demonstraram que dieta rica em gorduras e carboidratos, aliada à suco de laranja, não alterou as concentrações sanguíneas de LPS e de marcadores do estresse oxidativo e da inflamação. Tais resultados foram atribuídos ao conteúdo de flavonoides do suco de laranja, bem como de resveratrol e de fibras, os quais podem promover um efeito hipolipidêmico, via diminuição da reabsorção de ácidos biliares e esteróis, além de efeitos antioxidantes e anti-inflamatórios (DEOPURKAR et al., 2010; MOREIRA et al., 2014).

O perfil de ácidos graxos da dieta também parece determinar a composição das apolipoproteínas, além do número e tamanho das lipoproteínas ricas em triacilgliceróis, como os quilomícrons (BOTHAM; WHEELER-JONES, 2013). Segundo Sark et al. (1997) os PUFAs possuem a habilidade de formar partículas maiores de quilomícrons do que os SFAs. Além disso, os quilomícrons remanescentes de PUFAs e MUFAs são internalizados pelo fígado de forma mais rápida do que as partículas enriquecidas com SFAs, as quais apresentam *clearance* prejudicado devido ao acúmulo de apo C-III (BOTHAM et al., 1997; BRAVO et al., 1995). Portanto, quilomícrons maiores, ricos em PUFAs, são depurados de forma mais eficiente do que quilomícrons pequenos, ricos em SFAs, podendo contribuir para a atenuação dos níveis de LPS na circulação e o controle da endotoxemia metabólica (XIANG et al., 1999).

Outro mecanismo que parece estar envolvido na relação entre o perfil lipídico dietético e as concentrações de LPS se refere ao metabolismo dos ácidos biliares. Evidências sugerem uma interação forte e dinâmica entre dieta, ácidos biliares e microbiota intestinal. As bactérias intestinais participam da conversão de ácidos biliares primários em secundários. Estes, por sua vez, podem modificar a comunidade bacteriana, promovendo o crescimento de bactérias que metabolizam os ácidos biliares

ou agindo como bactericidas (RIDLON et al., 2014; WAHLSTRÖM et al., 2016). Nesse contexto, em um estudo experimental, onde foram oferecidas dietas isocalóricas e com diferentes tipos de gordura, observou-se que os SFAs modificaram a composição dos ácidos biliares pela conjugação da taurina, o que não foi observado em ratos alimentados com PUFAs. Houve ainda uma maior proporção de taurocolato e favorecimento do crescimento de bactérias *Bilophila wadsworthia*, gram negativas e sulfidogênicas, as quais comprometem a função da barreira intestinal. Por outro lado, a suplementação com óleo de peixe, rico em PUFA n-3, inibiu o crescimento de *Bilophila wadsworthia*, sugerindo que o efeito pode estar relacionado à alteração da composição dos ácidos biliares conforme o tipo de ácido graxo ingerido (DEVKOTA et al., 2012; DEVKOTA; CHANG, 2015).

Sugere-se ainda que a presença excessiva de bile seja capaz de aumentar a permeabilidade intestinal por reduzir a expressão das proteínas das células de junção apertadas e, assim, favorecer o transporte paracelular de LPS (MOREIRA et al., 2012). Segundo o estudo de Willemsen et al. (2008), os PUFAs aumentaram a integridade da barreira epitelial intestinal, ao contrário do ácido graxo saturado palmítico (C16:0). Tais resultados foram associados ao aumento da expressão de ocludina, uma proteína de junção apertada, responsável pela regulação da permeabilidade intestinal paracelular. Além disso, acredita-se que os PUFAs sejam capazes de transferir lipídios às membranas fosfolípicas das células da barreira intestinal, tornando-as mais firmes e íntegras, de modo a impedir a passagem de endotoxinas para a corrente sanguínea (WILLEMSSEN et al., 2008; BELLENGER et al., 2019).

Embora os estudos incluídos nesta revisão tenham mostrado uma redução nas concentrações de LPS após a ingestão de PUFAs n-3 e n-6 em humanos (LYTE; GABLER; HOLLIS, 2016; MOREIRA et al., 2014), esse mesmo efeito não foi observado em estudos em animais (KALIANNAN et al., 2015). No estudo experimental de Kaliannan et al. (2015), a ingestão de PUFA n-3 aumentou a atividade endógena da fosfatase alcalina no intestino, diminuiu a produção de LPS e a permeabilidade intestinal, reduzindo a endotoxemia metabólica. Por outro lado, em ratos alimentados com dietas ricas em PUFA n-6, foram observadas concentrações elevadas de LPS e LBP. Similarmente, os autores observaram uma redução na endotoxemia metabólica e marcadores de inflamação após suplementação com óleo de peixe por 2 meses (KALIANNAN et al., 2015). Em relação aos diferentes tipos de SFAs, observamos que

os estudos incluídos nesta revisão utilizavam predominantemente os ácidos palmítico e láurico e que o consumo de ambos aumentou as concentrações de LPS.

A disbiose é outro fator que pode contribuir para a elevação da transferência de LPS para o sistema circulatório, visto que mudanças na microbiota intestinal podem alterar a diversidade e abundância de bactérias, aumentando bactérias gram-negativas e gerando grande quantidade de endotoxina após a lise bacteriana, além de afetar a integridade da barreira (CÂNDIDO et al., 2018). Em estudo onde ratos foram alimentados com dieta rica em SFA, foi constatada correlação negativa entre a resistência da barreira intestinal e a abundância de bactérias produtoras de H₂S (ácido sulfídrico), como *Bilophila* e *Desulfovibrio* (LAM et al., 2015). Por outro lado, no estudo de Patterson et al. (2014), um maior número de bifidobactérias foi observado após a ingestão de PUFA n-3. Ao contrário das bactérias gram-negativas, esse efeito bifidogênico pode estar relacionado a menores concentrações de endotoxina na corrente sanguínea, visto que tais bactérias não degradam as glicoproteínas do muco e preservam a função de barreira (GRIFFITHS et al., 2004).

Em altas concentrações na corrente sanguínea, o LPS pode seguir vias inflamatórias e ativar uma cascata de sinalização, favorecendo o desenvolvimento de doenças crônicas não transmissíveis (GRUNFELD; FEINGOLD, 2009). Com o auxílio de proteínas como LBP (proteína de ligação de LPS), CD14 e proteína mieloide diferenciadora 2 (MD-2) (LU; YEH; OHASHI, 2008), o LPS se liga aos receptores do tipo Toll like 4 (TLR4) (AKIRA, 2003) e ativa a secreção de diversas citocinas e fatores pró-inflamatórios, como o NFkBp65 e IL-6 (LAUGERETTE et al., 2011).

Assim como o LPS, os SFAs, como o ácido láurico (C12:0), promovem a expressão de fatores pró-inflamatórios via TLR4. Tais ácidos graxos também utilizam o CD14 e a MD-2 para a ativação do TLR4 e para a formação do complexo CD14-TLR4-MD2 como sinalização inflamatória (LEE et al., 2003). Por outro lado, o PUFA n-3 parece exercer efeito anti-inflamatório, mediado pela proteína G acoplada ao receptor 120 (GPR120), a qual é capaz de inibir a via de sinalização induzida por TLR4 (LEE et al., 2003; ROCHA et al., 2016). Nesse sentido, os SFAs podem atuar na modulação da resposta inflamatória induzida por TLR4 e esta pode acentuar-se ainda mais com a presença de LPS (ROCHA et al., 2016).

No estudo de López-Moreno et al. (2017a) também foi observada maior resposta inflamatória após a ingestão de SFAs e os pesquisadores sugeriram que tal resultado poderia estar relacionado ao aumento nas concentrações de LPS pós-prandiais. Tais

resultados são sustentados pela relação positiva entre o LPS e a expressão gênica pós-prandial de IkBa e MIF1 nas células mononucleares periféricas, ambos envolvidos na regulação da inflamação. Além disso, também foi observada uma relação positiva entre o LPS e as moléculas de adesão P-selectina e VCAM, evidenciando um possível favorecimento do desenvolvimento da aterosclerose (LÓPEZ-MORENO et al., 2017a).

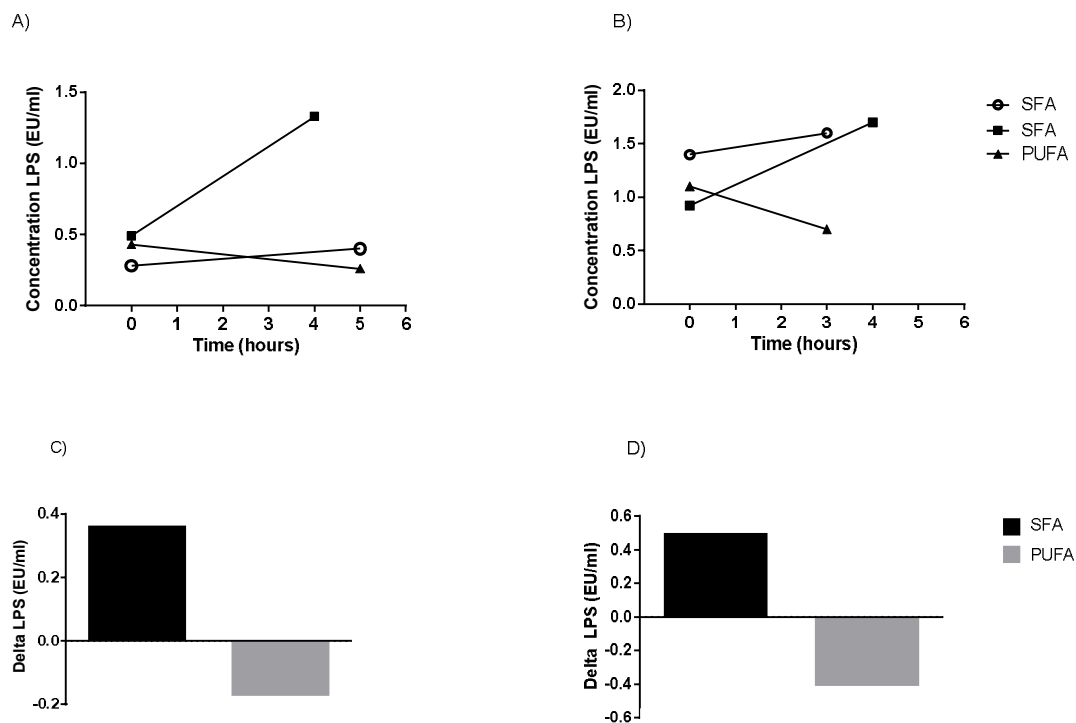


Figura 2. Efeito pos-prandial da ingestão de diferentes tipos de ácidos graxos (SFA e PUFA) sobre as concentrações de LPS em sujeitos eutróficos e com excesso de peso. A resposta de SFA foi obtida pelos valores médios avaliados ao baseline, 4 h (ALAYÓN et al., 2018) e 5 h (DEOPURKAR et al., 2010; LYTE et al., 2016) posprandial. Valores de Delta ($\Delta = \text{final} - \text{baseline}$) foram calculados pela média dos resultados obtidos em todos os estudos. A) Concentração de LPS em sujeitos eutróficos após ingestão de SFA (ALAYÓN et al., 2018; DEOPURKAR et al., 2010; LYTE et al., 2016) e PUFA (LYTE et al., 2016). B) Concentração de LPS em sujeitos com sobrepeso após ingestão de SFA (MOREIRA et al., 2014; ALAYÓN et al., 2018) e PUFA (MOREIRA et al., 2014). C) Concentração de delta LPS ($\Delta = \text{LPS final} - \text{LPS baseline}$) em sujeitos eutróficos após ingestão de SFA (ALAYÓN et al., 2018; DEOPURKAR et al., 2010; LYTE et al., 2016) e PUFA (LYTE et al., 2016). D) Concentração de delta LPS ($\Delta = \text{LPS final} - \text{LPS baseline}$) em sujeitos com sobrepeso após ingestão de SFA (MOREIRA et al., 2014; ALAYÓN et al., 2018) e PUFA (MOREIRA et al., 2014).

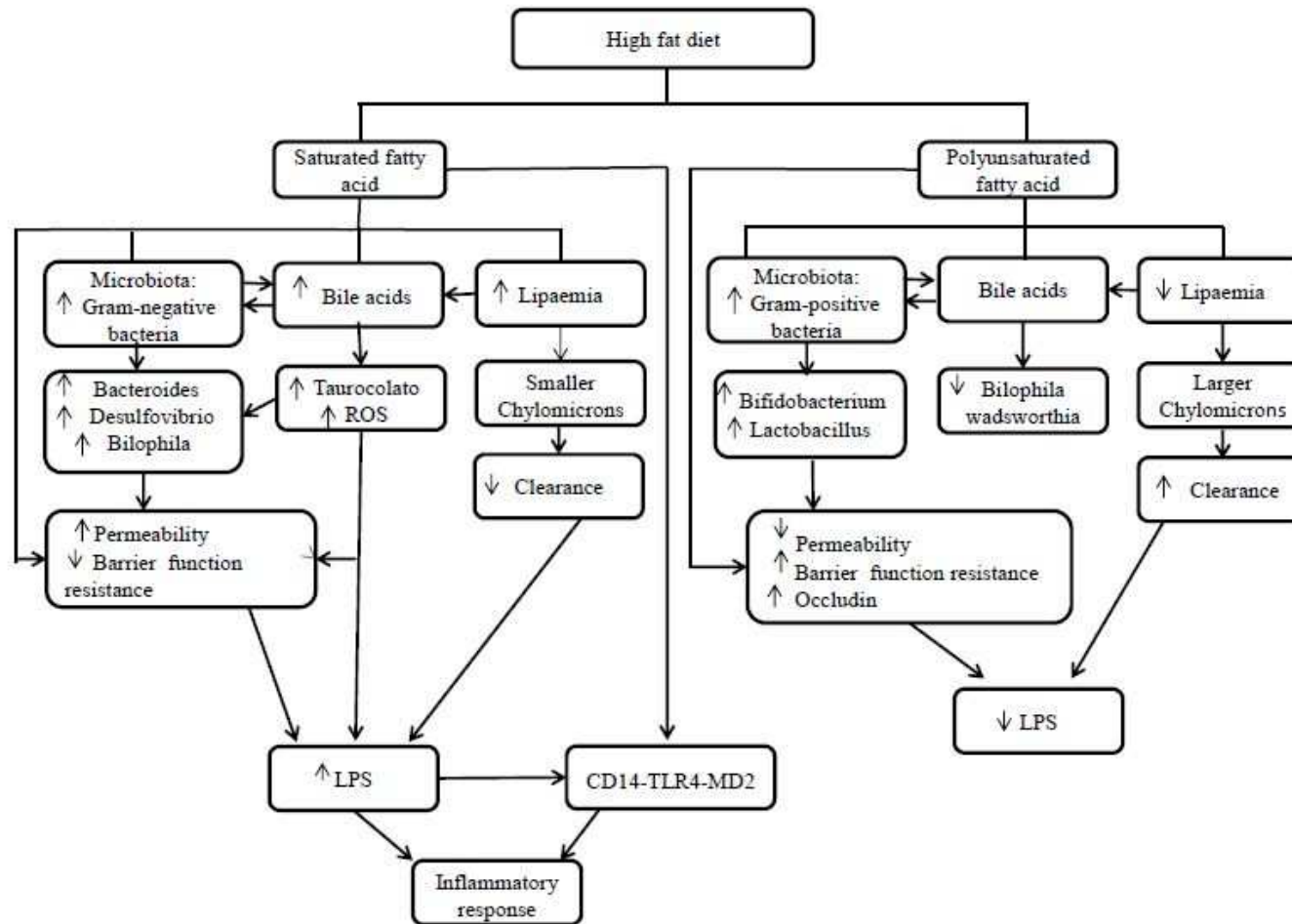


Figura 3. Possíveis mecanismos que explicam as alterações nas concentrações séricas de LPS, de acordo com o tipo de ácido graxo presente na dieta hiperlipídica.

LPS: lipopolisacarídeos; ROS: Espécies reativas de oxigênio; CD14: cluster de diferenciação 14 ; TLR4: receptor toll-like; MD2: proteína mielóide diferenciadora 2. ↑ - significa maior; ↓ - significa menor

5. LIMITAÇÕES DOS ESTUDOS INCLUÍDOS

Ainda são escassos os estudos em que se avaliou o efeito do perfil lipídico dietético na endotoxemia metabólica em humanos. Ressalta-se ainda a heterogeneidade dos estudos em relação à composição das dietas oferecidas e à população estudada. Embora tenham sido identificados resultados significantes em estudos de resposta pós-prandial para o LPS, apenas Morandi et al. (2017) apresentaram o comportamento das concentrações de LBP após a ingestão dietética de gordura, uma vez que utilizaram a área abaixo da curva (AUC) para a análise de seus dados. Devido a ausência de valores de referência sobre concentrações basais de LPS e LBP, a AUC parece ser a maneira mais adequada de representar as possíveis alterações nas concentrações sanguíneas dos marcadores.

6. CONCLUSÕES

Estudos que avaliam o impacto de nutrientes específicos nas concentrações de LPS, podem favorecer a identificação de dietas capazes de aumentar ou reduzir os efeitos da endotoxemia metabólica. De acordo com os resultados dos estudos incluídos na presente revisão, a ingestão de dietas ricas em SFAs aumentou as concentrações plasmáticas de LPS, enquanto que a ingestão de dietas ricas em PUFAs reduziu. Vale ressaltar que tais efeitos foram observados apenas em estudos em que foi avaliada a resposta pós-prandial do LPS. Por outro lado, esses mesmos resultados não foram verificados em estudos de intervenção de longo prazo. Nesse sentido, dietas ricas em SFAs parecem atuar como um fator de risco e dietas ricas em PUFAs como fator de proteção dietético para a instalação da endotoxemia metabólica pós-prandial.

Finalmente, acreditamos que a redução na ingestão de SFAs e o aumento na ingestão de PUFA é uma estratégia simples e que parece ser eficaz para diminuir as concentrações de LPS na corrente sanguínea e, conseqüentemente, prevenir doenças crônicas associadas ao desenvolvimento de endotoxemia metabólica.

REFERÊNCIAS

AKIRA, S. Toll-like receptor signaling. **Journal of Biological Chemistry**, v. 278, n. 40, p. 38105–38108, 2003.

ALAYÓN, A. N. et al. Impacto metabólico e inflamatorio de una comida rica en grasas saturadas y su relación con la obesidad abdominal. **Biomédica**, v. 38, p. 93–100, 2018.

BOTHAM, K. M. et al. The lipolysis of chylomicrons derived from different dietary fats by lipoprotein lipase in vitro. **Biochimica et Biophysica Acta - Lipids and Lipid Metabolism**, v. 1349, n. 3, p. 257–263, 1997.

BOTHAM, K. M.; WHEELER-JONES, C. P. D. Postprandial lipoproteins and the molecular regulation of vascular homeostasis. **Progress in Lipid Research**, v. 52, n. 4, p. 446–464, 2013.

BRAVO, E. et al. Comparison of the hepatic uptake and processing of cholesterol from chylomicrons of different fatty acid composition in the rat in vivo. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1258, p. 328–336, 1995.

BRAVO, E.; NAPOLITANO, M.; BOTHAM, K. M. Postprandial Lipid Metabolism: The Missing Link Between Life-Style Habits and the Increasing Incidence of Metabolic Diseases in Western Countries. **The Open Translational Medicine Journal**, v. 2, n. 1, p. 1–13, 7 abr. 2010.

CÂNDIDO, F. G. et al. Impact of dietary fat on gut microbiota and low-grade systemic inflammation: mechanisms and clinical implications on obesity. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 69, n. 2, p. 125–143, 2018.

CANI, P. D. et al. Changes in gut microbiota control metabolic diet-induced obesity and diabetes in mice. **Diabetes**, v. 57, n. 6, p. 1470–81, 2008.

CLEMENTE-POSTIGO, M. et al. Endotoxin increase after fat overload is related to postprandial hypertriglyceridemia in morbidly obese patients. **Journal of Lipid Research**, v. 53, n. 5, p. 973–978, 2012.

DE AGUIAR VALLIM, T. Q.; TARLING, E. J.; EDWARDS, P. A. Pleiotropic roles of bile acids in metabolism. **Cell Metabolism**, v. 17, n. 5, p. 657–669, 2013.

DEOPURKAR, R. et al. Differential effects of cream, glucose, and orange juice on inflammation, endotoxin, and the expression of toll-like receptor-4 and suppressor of cytokine signaling-3. **Diabetes Care**, v. 33, n. 5, p. 991–997, 2010.

DEVKOTA, S. et al. Dietary-fat-induced taurocholic acid promotes pathobiont expansion and colitis in Il10^{-/-} mice. **Nature**, v. 487, n. 7405, p. 104–108, 2012.

DEVKOTA, S.; CHANG, E. B. Interactions between diet, bile acid metabolism, gut microbiota, and inflammatory bowel diseases. **Digestive Diseases**, v. 33, n. 3, p. 351–356, 2015.

GHOSHAL, S. et al. Chylomicrons promote intestinal absorption of lipopolysaccharides. **Journal of Lipid Research**, v. 50, n. 1, p. 90–97, 2009.

GRIFFITHS, E. A. et al. In vivo effects of bifidobacteria and lactoferrin on gut endotoxin concentration and mucosal immunity in Balb/c mice. **Digestive Diseases and Sciences**, v. 49, n. 4, p. 579–589, 2004.

GRUNFELD, C.; FEINGOLD, K. R. Endotoxin in the gut and chylomicrons: translocation or transportation? **Journal of Lipid Research**, v. 50, n. 1, p. 1–2, 2009.

HARTE, A. L. et al. High fat intake leads to acute postprandial exposure to circulating endotoxin in type 2 diabetic subjects. **Diabetes Care**, v. 35, n. 2, p. 375–382, 2012.

HEINE, H.; RIETSCHER, E. T.; ULMER, A. J. The biology of endotoxin. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 19, n. 3, p. 279–296, 2001.

HERSOUG, L.-G.; MØLLER, P.; LOFT, S. Role of microbiota-derived lipopolysaccharide in adipose tissue inflammation, adipocyte size and pyroptosis during obesity. **Nutrition Research Reviews**, v. 31, n. 2, p. 153–163, 2018.

HIGGINS, J.P.T.; ALTMAN, D.G. *Cochrane handbook for systematic reviews of interventions. Assessing risk of bias in included studies.* England: Wiley Blackwell; 2008. p. 187–241.

JACKSON, K. G. et al. Lack of influence of test meal fatty acid composition on the contribution of intestinally-derived lipoproteins to postprandial lipaemia. **British Journal of Nutrition**, v. 81, n. 1, p. 51–7, 1999.

JADAD, A. R. et al. Assessing the quality of reports of randomized clinical trials: Is blinding necessary? **Controlled Clinical Trials**, v. 17, n. 1, p. 1–12, 1996.

KALIANNAN, K. et al. A host-microbiome interaction mediates the opposing effects of omega-6 and omega-3 fatty acids on metabolic endotoxemia. **Scientific Reports**, v. 5, n. 11276, p. 1–17, 2015.

LAM, Y. Y. et al. Effects of dietary fat profile on gut permeability and microbiota and their relationships with metabolic changes in mice. **Obesity**, v. 23, n. 7, p. 1429–1439, 2015.

LASSENIUS, M. I. et al. Bacterial endotoxin activity in human serum is associated with dyslipidemia, insulin resistance, obesity, and chronic inflammation. **Diabetes Care**, v. 34, n. 8, p. 1809–1815, 2011.

LAUGERETTE, F. et al. Emulsified lipids increase endotoxemia: Possible role in early postprandial low-grade inflammation. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 22, n. 1, p. 53–59, 2011.

LAUGERETTE, F. et al. Oil composition of high-fat diet affects metabolic inflammation differently in connection with endotoxin receptors in mice. **AJP: Endocrinology and Metabolism**, v. 302, n. 3, p. E374–E386, 2012.

LAUGERETTE, F. et al. Overfeeding increases postprandial endotoxemia in men: Inflammatory outcome may depend on LPS transporters LBP and sCD14. **Molecular Nutrition and Food Research**, v. 58, n. 7, p. 1513–1518, 2014.

LEE, J. Y. et al. Reciprocal Modulation of Toll-like Receptor-4 Signaling Pathways Involving MyD88 and Phosphatidylinositol 3-Kinase/AKT by Saturated and Polyunsaturated Fatty Acids. **Journal of Biological Chemistry**, v. 278, n. 39, p. 37041–37051, 2003.

LOPEZ-MIRANDA, J.; WILLIAMS, C.; LARION, D. Dietary, physiological, genetic and pathological influences on postprandial lipid metabolism. **British Journal of Nutrition**, v. 98, n. 3, p. 458–473, 2007.

LOPEZ-MORENO, J. et al. Endotoxemia is modulated by quantity and quality of dietary fat in older adults. **Experimental Gerontology**, p. 0–1, 2017b.

LÓPEZ-MORENO, J. et al. Effect of Dietary Lipids on Endotoxemia Influences Postprandial Inflammatory Response. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 65, n. 35, p. 7756–7763, 2017a.

LU, Y. C.; YEH, W. C.; OHASHI, P. S. LPS/TLR4 signal transduction pathway. **Cytokine**, v. 42, n. 2, p. 145–151, 2008.

LYTE, J. M.; GABLER, N. K.; HOLLIS, J. H. Postprandial serum endotoxin in healthy humans is modulated by dietary fat in a randomized, controlled, cross-over study. **Lipids in Health and Disease**, v. 15, n. 1, p. 1–10, 2016.

MANI, V.; HOLLIS, J. H.; GABLER, N. K. Dietary oil composition differentially modulates intestinal endotoxin transport and postprandial endotoxemia. **Nutrition and Metabolism**, v. 10, n. 1, p. 1–9, 2013.

MICHALSKI, M.-C. et al. Dietary lipid emulsions and endotoxemia. **Ocl**, v. 23, n. 3, p. D306, 2016.

MILAN, A. M. et al. Comparisons of the Postprandial Inflammatory and Endotoxaemic Responses to Mixed Meals in Young and Older Individuals: A Randomised Trial. **Nutrients**, v. 9, n. 354, p. 1–16, 2017.

MOHER, D. et al. Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses: The PRISMA Statement. **PLoS Medicine**, v. 6, n. 7, p. 1–6, 2009.

MORANDI, A. et al. High-fat meal, systemic inflammation and glucose homeostasis in obese children and adolescents. **International Journal of Obesity**, v. 41, n. 6, p. 986–989, 2017.

MOREIRA, A. P. B. et al. Influence of a high-fat diet on gut microbiota, intestinal permeability and metabolic endotoxaemia. **British Journal of Nutrition**, v. 108, n. 5, p. 801–809, 2012.

MOREIRA, A. P. B. et al. Effect of a high-fat meal containing conventional or high-oleic peanuts on post-prandial lipopolysaccharide concentrations in overweight/obese men. **Journal of Human Nutrition and Dietetics**, v. 29, n. 1, p. 95–104, 2014.

MU, H.; HØY, C. E. The digestion of dietary triacylglycerols. **Progress in Lipid Research**, v. 43, n. 2, p. 105–133, 2004.

NEVES, A. L. et al. Metabolic endotoxemia: A molecular link between obesity and cardiovascular risk. **Journal of Molecular Endocrinology**, v. 51, n. 2, 2013.

OSCARSSON, J.; HURT-CAMEJO, E. Omega-3 fatty acids eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid and their mechanisms of action on apolipoprotein B-containing lipoproteins in humans: A review. **Lipids in Health and Disease**, v. 16, n. 1, p. 1–13, 2017.

PATTERSON, E. et al. Impact of dietary fatty acids on metabolic activity and host intestinal microbiota composition in C57BL / 6J mice. **British Journal of Nutrition**, v. 111, p. 1905–1917, 2014.

PEREZ-HERRERA, A. et al. The postprandial inflammatory response after ingestion of heated oils in obese persons is reduced by the presence of phenol compounds. **Molecular Nutrition and Food Research**, v. 56, n. 3, p. 510–514, 2012.

RIDLON, J. et al. Bile acids and the Gut Microbiome. **Current Opinion in Gastroenterology**, v. 30, n. 3, p. 332–338, 2014.

ROCHA, D. M. et al. Saturated fatty acids trigger TLR4-mediated inflammatory response. **Atherosclerosis**, v. 244, p. 211–215, 2016.

SAKR, S. W. et al. Fatty acid composition of an oral load affects chylomicron size in human subjects. **British Journal of Nutrition**, v. 77, n. 1, p. 19–31, 1997.

SCHMID, A. et al. Inflammatory and metabolic responses to high-fat meals with and without dairy products in men. **British Journal of Nutrition**, v. 113, n. 12, p. 1853–1861, 2015.

VISWANATHAN, M.; ANSARI, M.T.; BERKMAN, N.D. et al. Assessing the risk of bias of individual studies in systematic reviews of health care interventions. Agency for Healthcare Research and Quality methods guide for comparative effectiveness reviews, AHRQ publication no.12-EHC047-EF.2012. Disponível em: <<http://www.effectivehealthcare.ahrq.gov/PMID:22479713>>. Acesso em: agosto, 2017.

VORS, C. et al. Postprandial endotoxemia linked with chylomicrons and lipopolysaccharides handling in obese versus lean men: A lipid dose-effect trial. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 100, n. 9, p. 3427–3435, 2015.

WAHLSTRÖM, A. et al. Intestinal Crosstalk between Bile Acids and Microbiota and Its Impact on Host Metabolism. **Cell Metabolism**, v. 24, n. 1, p. 41–50, 2016.

WILLEMSEN, L. E. M. et al. Polyunsaturated fatty acids support epithelial barrier integrity and reduce IL-4 mediated permeability in vitro. **European Journal of Nutrition**, v. 47, n. 4, p. 183–191, 2008.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Fats and fatty acids in human nutrition** Report of an expert consultation. ISBN: ISBN 978-92-5-106733-8. Disponível em: <https://www.who.int/nutrition/publications/nutrientrequirements/fatsandfattyacids_humannutrition/en/>. Acesso em: setembro 2017.

XIANG, S. Q. et al. Differential binding of triglyceride-rich lipoproteins to lipoprotein lipase. **Journal of Lipid Research**, v. 40, n. 9, p. 1655–1663, 1999.

4.3 Artigo 3

EFEITO DA INGESTÃO DE DIFERENTES TIPOS DE LIPÍDIOS SOBRE O ESTRESSE OXIDATIVO E A INFLAMAÇÃO EM MULHERES COM EXCESSO DE PESO: UM ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO, PARALELO E DUPLO-CEGO.

Artigo submetido à Clinical Nutrition ESPEN

RESUMO

Objetivo: Acredita-se que o consumo de óleos com diferentes perfis em ácidos graxos possam ter efeitos diferenciados sobre o estresse oxidativo e a inflamação, podendo assim modular a origem e o desenvolvimento de diversas doenças crônicas. O efeito do óleo de coco sobre o estresse oxidativo em indivíduos com excesso de peso ainda não foi avaliado. Além disso, não identificamos a publicação de estudos delineados para avaliar o efeito do óleo de oliva extra virgem não incorporado à dieta do Mediterrâneo, sobre o estresse oxidativo e a inflamação. Assim, nós investigamos o efeito da ingestão de óleo de coco, óleo de oliva extra virgem e óleo de soja associados à dieta com restrição calórica sobre marcadores do estresse oxidativo e inflamação em mulheres com excesso de peso.

Metodologia: Este estudo é um ensaio clínico randomizado, paralelo, duplo-cego com duração de 9 semanas consecutivas (± 5 dias), em que 62 mulheres com excesso de peso receberam café da manhã contendo 25 ml de um dos óleos testes: óleo de soja (n= 21), óleo de oliva extra virgem (n=22) e óleo de coco (n=19). Amostras sanguíneas foram coletadas no primeiro e último dia de experimento. Foram analisados marcadores do estresse oxidativo (catalase (CAT), óxido nítrico (ON), malondialdeído (MDA) e FRAP) e de inflamação (IL-8; IL-1 β ; IL-6; IL-10; IL-12, TNF- α).

Resultados: O consumo do óleo de oliva aumentou a atividade antioxidante (FRAP) e reduziu as concentrações de MDA, ON e IL-1 β após o período de intervenção. A ingestão de óleo de soja aumentou as concentrações de FRAP e IL-10, além de reduzir a de ON. O óleo de coco não alterou as variáveis avaliadas.

Conclusão: O consumo de óleo de oliva, rico em MUFAs, e de óleo de soja, rico em PUFAs, aumentou a atividade antioxidante plasmática e melhorou as variáveis do estresse oxidativo e inflamação.

Palavras-chave: óleo de oliva extra virgem, óleo de coco, estresse oxidativo, inflamação

1. INTRODUÇÃO

O risco de desenvolvimento de doenças crônicas pode ser favorecido pelo excesso de tecido adiposo. Múltiplos são os mecanismos envolvidos no aparecimento destas comorbidades (MCMURRAY; PATTEN; HARPER, 2016). Entre eles, o estresse oxidativo com consequente dano celular e o *status* pró-inflamatório parecem ter uma importante contribuição em doenças como diabetes, síndrome metabólica, hipertensão, dislipidemia, aterosclerose e resistência à insulina (CHIELLE et al., 2016).

Reações redox, que desencadeiam o estresse oxidativo, estão também associadas à geração de estímulos pró-inflamatórios (LUGRIN et al., 2014). Esses podem ser desencadeados a partir da regulação da via de sinalização de TLRs (Toll Like Receptors) (LUGRIN et al., 2014). Por sua vez, a ativação de TLRs induz a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS), pela estimulação de isoformas de NOX (nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato oxidase – NADPH oxidase) (LUGRIN et al., 2014). Esse aumento em ROS favorece ainda mais a mobilização de TLRs, criando assim um ciclo progressivo de inflamação e estresse oxidativo, chamado de “ciclo do radical-TLR” (LUCAS; MAES, 2013).

Acredita-se que o tipo de ácido graxo ingerido possa afetar o estresse oxidativo e a inflamação crônica (PEAIRS; RANKIN; LEE, 2011). O consumo excessivo de gordura dietética pode aumentar a β -oxidação de ácidos graxos na mitocôndria. Os ROS formados, em especial o ânion superóxido podem reagir com lipídios das membranas celulares, levando a formação de peróxidos lipídios, malondeialdeído (MDA) e estimulando um estado pró-inflamatório que se inicia com a ativação do fator de transcrição NF- κ B (KESH; SARKAR; MANNA, 2016; KWIECIEN et al., 2014; TAN; NORHAIZAN; LIEW, 2018). No entanto, evidências sugerem que o tipo de gordura pode ter um efeito mais pronunciado que a quantidade total de gordura consumida, sendo que diferentes perfis de ácidos graxos dietéticos geram respostas diferentes sobre o risco de doenças cardiovasculares (WANG; HU, 2017).

Efeitos cardioprotetores associados ao consumo de dieta rica em ácidos graxos monoinsaturados (MUFAs) foram atribuídos a uma melhora nos parâmetros de estresse oxidativo de indivíduos com síndrome metabólica (PEREZ-MARTINEZ et al., 2010). Vários são os estudos observacionais e ensaios clínicos que confirmam o efeito cardioprotetor do óleo de oliva extra virgem incorporado à dieta Mediterrânea em função do seu poder antioxidante (GEORGE et al., 2018). No estudo multicêntrico EUROLIVE, foi observado que a capacidade de prevenção da oxidação em populações

européias era proporcional ao conteúdo de compostos fenólicos (compostos minoritários) presente no óleo de oliva (COVAS et al., 2006). Em adição, efeitos anti-inflamatórios e cardioprotetores também têm sido reportados ao consumo de ácidos graxos poliinsaturados (PUFAs) (ZULIANI et al., 2009).

Por outro lado, o consumo de alimentos ricos em ácidos graxos saturados (SFAs) como o óleo de coco, tem sido associado ao aumento do risco de doenças crônicas não transmissíveis (SCHAEFER, 2002). No entanto, estudos em que foi avaliado o efeito do óleo de coco sobre o estresse oxidativo são escassos e seus resultados controversos. Em um estudo com pacientes diabéticos não foram observadas diferenças nas concentrações de enzimas antioxidantes entre os grupos que consumiram óleo de girassol e óleo de coco (SABITHA et al., 2009). Enquanto que em pacientes com doença arterial coronariana, o consumo de óleo de coco melhorou o *status* antioxidante quando comparado ao consumo de óleo de girassol (PALAZHY; KAMATH; VASUDEVAN, 2018). É possível que a presença de alterações metabólicas decorrentes das patologias observadas nos grupos avaliados tenham influenciado no status oxidativo observado.

Não identificamos a publicação de nenhum estudo em que foi avaliado o efeito do óleo de coco sobre o estresse oxidativo em indivíduos com excesso de peso. De modo semelhante, não constatamos a publicação de estudos delineados para verificar o efeito do óleo de oliva extra virgem não incorporado à dieta do Mediterrâneo, sobre o estresse oxidativo e a inflamação. Assim, em nosso estudo, avaliamos o efeito da ingestão de óleos com diferentes tipos de ácidos graxos, óleo de coco (rico em SFAs), óleo de oliva extra virgem (rico em MUFAs) e óleo de soja (rico em PUFAs), associados a dietas restritas em calorias sobre o estresse oxidativo e a inflamação, em mulheres com excesso de peso.

2. METODOLOGIA

2.1 Participantes

Setecentos e cinquenta e três (753) mulheres foram recrutadas a partir de panfletos e folders divulgados na comunidade local, por meio de redes sociais e meios de comunicação. Eram elegíveis mulheres com excesso de peso, índice de massa corporal entre 26 e 35 kg/m² e percentual de gordura corporal > 30%, idade de 19 a 41 anos, não fumantes, não grávidas, não lactantes e com nível de atividade física estável (últimos 3 meses). Os critérios de exclusão foram: consumo de álcool (> 15 g de etanol / d); atletas de elite (> 10 h de exercício/semana); uso de medicamentos ou suplementos;

presença de doenças cardiovasculares, diabetes, hipertensão arterial, doenças hepáticas e/ou gastrointestinais; presença de intolerância ou alergia alimentar; alterações recentes (< 3 meses) em hábitos alimentares.

Das 753 mulheres recrutadas, 111 preencheram os critérios de inclusão e foram alocadas em um dos grupos de estudo (Figura 1). Destas, 26 desistiram antes de iniciar a intervenção e setenta e duas foram acompanhadas. Dez participantes foram excluídas das análises devido a ocorrência de eventos patológicos secundários (n = 5), gravidez (n=2) e desistência por motivos pessoais (n= 3). Sendo que 62 mulheres completaram todo o protocolo do estudo e seus dados foram portanto incluídos nas análises. Não houve exclusão por não adesão ao protocolo.

As participantes receberam informações verbais e escritas sobre o estudo e assentiram por escrito sua participação no experimento. O estudo foi conduzido segundo orientações estabelecidas na Declaração de Helsinki e todos os procedimentos envolvendo os pacientes foram aprovados pelo Comitê de Ética da Universidade Federal de Viçosa (número do protocolo: 892.467 / 2014). O ensaio foi registrado no Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos (ReBEC) (identificador: RBR-7z358j).

2.2 Delineamento do estudo

Este estudo é um ensaio clínico randomizado, paralelo, duplo-cego com duração de 9 semanas consecutivas (\pm 5 dias). As participantes foram alocadas em um dos três grupos experimentais: óleo de soja (OS, n= 21), óleo de oliva extra virgem (OOEV, n=22) e óleo de coco (OC, n=19), utilizando a técnica de randomização por blocos (ZELEN, 1974), com ocultação para os pesquisadores e participantes. As mulheres selecionadas foram orientadas a manterem seu nível de atividade física constante e a não ingerirem bebida alcoólica durante a intervenção. No primeiro e no último dia de experimento, nas noites que antecederam as avaliações, as participantes consumiram um jantar padrão (600 kcal , carboidrato: 62% Energia gordura: 29,4% Energia, proteína: 8,5% Energia). Além disso, nos dias de teste, foram orientadas a comparecerem ao laboratório em jejum (10h) para a realização de avaliação antropométrica, de composição corporal, e coleta sanguínea. Durante todos os dias do ensaio, as participantes compareceram ao laboratório para consumir uma bebida no desjejum, contendo 25 ml de um dos tipos de óleos testados, como parte da dieta com restrição calórica (- 500 kcal /dia) e normolipídica (32% E proveniente de gorduras) individualmente prescrita a cada participante. As dietas prescritas aos 3 grupos

apresentaram conteúdo calórico e de macronutrientes semelhantes. Nenhum outro alimento com teor de lipídios (saturados, mono e poliinsaturados) superior a 25 ml foi prescrito. A adesão à dieta prescrita foi monitorada por meio de registro alimentar de 3 dias (2 dias de semana e 1 de final de semana) aplicado durante e ao final da intervenção. O nível de atividade física foi verificado pela aplicação do questionário IPAQ (Questionário Internacional de Atividade Física) ao início e final do estudo.

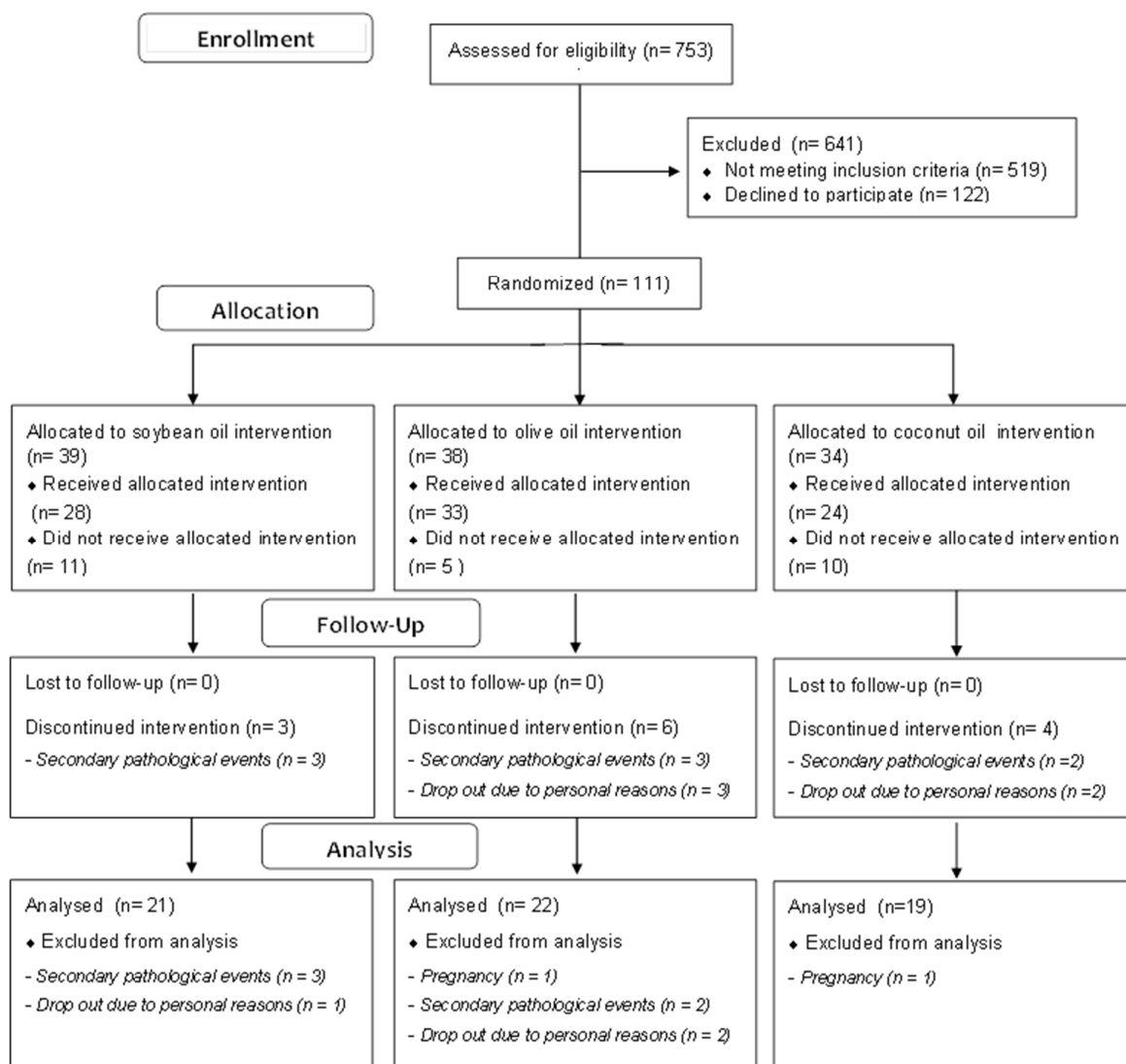


Figura 1. Diagrama CONSORT mostrando o fluxo de participantes em cada etapa do estudo. CONSORT- Consolidated Standards of Reporting Trials.

2.3 Caracterização do café da manhã

As bebidas oferecidas (300 ml) continham leite em pó desnatado, saborizante (polpas de frutas congeladas (manga, goiaba, maracujá, morango e uva), chocolate e cappuccino) e 25 ml de um dos seguintes óleos: óleo de soja (Corcovado, Archer Daniels Midland, Uberlândia, Brasil), óleo de oliva extra virgem (Andorinha[®], Sovena S.A., Algés, Portugal) ou óleo de coco (Copra, Copra Indústria Alimentícia Ltda., Alagoas, Brasil). Após aquisição dos óleos, os mesmos foram protegidos da luz e calor até o seu consumo. As bebidas foram preparadas adicionando os mesmos ingredientes, nas mesmas quantidades, para os diferentes grupos experimentais, com exceção do tipo de óleo. As bebidas, isocalóricas e com composição de macronutrientes e sódio iguais, foram servidas no jejum acompanhadas de biscoitos doces ou salgados, com baixo teor de lipídios (398 kcal; carboidrato: 32,9g; gordura: 27,7g; proteína: 4,1g; fibra alimentar: 1,8g; sódio: 100,3mg). Tais bebidas foram servidas em copos coloridos para evitar a identificação visual do tipo de óleo testado. As participantes não foram informadas quanto à composição nutricional dessas bebidas.

Durante os dias da semana, o jejum foi servido no laboratório. Aos finais de semana, as participantes receberam os ingredientes para preparo e ingestão da bebida em casa. As participantes foram solicitadas a devolverem as embalagens contendo qualquer quantidade dos ingredientes fornecidos, mas não ingerida aos finais de semana. A adesão ao protocolo aos finais de semana foi verificada perguntando às voluntárias sobre o consumo das bebidas fornecidas e analisando as embalagens devolvidas.

2.4 Perfil de ácidos graxos

O perfil de ácidos graxos dos óleos testados neste estudo foi determinado, segundo a metodologia de Hartman e Lago (1973) . As amostras foram analisadas em cromatógrafo a gás (Shimadzu Seisakusho Co., Kyoto, Japão), equipado com detector de ionização e coluna cromatográfica capilar de sílica fundida SP-2560 (biscianopropilpolysiloxane SP-2560). A programação de leitura para temperatura inicial de 100°C, mantida por 5 min, em seguida aumentada 4°C por minuto até alcançar a temperatura de 220°C. A temperatura do injetor foi mantida a 220°C e detector a 200°C. A taxa de fluxo sobre a coluna foi de 1,0 mL / min. O gás de arraste foi o nitrogênio, com fluxo de 43,2 cm/s. A quantificação dos ácidos graxos presentes

nas amostras foi realizada usando o pacote de software GC Solution (Shimadzu Seisakusho Co., Kyoto, Japão) (Tabela 1).

Tabela 1. Perfil de ácidos graxos do óleo de soja, óleo de oliva extra virgem e óleo de coco utilizados no estudo.

Ácido graxo (%)	Óleo de soja	Óleo de oliva extra virgem	Óleo de coco
Ác. Láurico (C12:0)	-	-	42,35 ± 1,33
Ác. Tridicanóico (C13:0)	-	-	0,06 ± 0,02
Ác. Mirístico (C14:0)	-	-	23,12 ± 0,54
Ác. Pentadecanóico (C15:0)	0,01 ± 0,00	-	0,01 ± 0,01
Ác. Palmítico (C16:0)	11,13 ± 0,03	9,87 ± 0,17	14,41 ± 0,48
Ác. Margárico (C17:0)	0,22 ± 0,12	0,28 ± 0,00	0,03 ± 0,05
Ác. Estearico (C18:0)	3,25 ± 0,09	2,13 ± 0,29	2,19 ± 0,14
Ác. Araquídico (C20:0)	0,35 ± 0,02	0,36 ± 0,02	0,09 ± 0,00
SFA total	14,97 ± 0,27	12,64 ± 0,48	82,26 ± 2,57
Ác. Miristoléico (C14:1)	0,09 ± 0,02	0,01 ± 0,01	-
Ác. 10-pentadecanóico (C15:1)	0,02 ± 0,00	-	-
Ác. Palmitoléico cis (C16:1)	0,07 ± 0,05	0,66 ± 0,02	-
Ác. Oleico (C18:1)	23,49 ± 0,07	80,8 ± 0,95	13,12 ± 0,29
Ác. Gadoléico (C20:1 n9)	0,21 ± 0,02	0,31 ± 0,01	0,08 ± 0,00
MUFA total	23,87 ± 0,15	81,78 ± 1,00	13,21 ± 0,30
Ác. Linoleico (C18:2)	54,28 ± 0,25	4,90 ± 0,93	4,35 ± 0,07
Ác. α -linolênico (C18:3)	6,25 ± 0,04	0,57 ± 0,07	0,16 ± 0,16
Ác. 8,11-eicosadienóico (C20:2)	0,43 ± 0,02	0,10 ± 0,00	0,01 ± 0,01
PUFA total	60,96 ± 0,31	5,57 ± 1,00	4,52 ± 0,24

Valores são média ± DP.

MUFA: ácidos graxos monoinsaturados; PUFA: ácidos graxos poliinsaturados; SFA: ácidos graxos saturados.

2.5 Potencial antioxidante dos óleos

A análise do teor de vitamina E (α , β , γ e δ tocoferóis e tocotrienóis) foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência - sistema HPLC (Shimadzu modelo SCL 10AT VP, Kyoto, Japão). As amostras de óleo (0,1g) foram diluídas em 2 ml de hexano, posteriormente filtradas em membrana com porosidade de 0,45 μ m e injetadas em HPLC (PINHEIRO-SANT'ANA et al., 2011). Os carotenoides foram

extraídos de cada óleo segundo método de Rodriguez-Amaya (1996), com modificações. Homogeneizou-se durante 4 min cerca de 5g de cada óleo em 60 ml de acetona, que foram posteriormente filtrados e separados em éter de petróleo. O extrato formado foi evaporado em nitrogênio gasoso e o resíduo seco ressuspensão em acetona (2,0 ml). Em seguida, o extrato foi filtrado e injetado em HPLC (Shimadzu modelo SPD-M10 AVP, Kyoto, Japão) (PANFILI; FRATIANNI; IRANO, 2004). Para a análise de compostos fenólicos e antioxidantes, o extrato foi preparado em etanol e misturado ao reagente de Folin-Ciocalteau (10%) e carbonato de sódio (7,5%) (ARLEE; SUANPHAIROCH; PAKDEECHANUAN, 2013). Os compostos fenólicos totais foram analisados de acordo com Gutfinger (1981) e a leitura feita em espectrofotômetro (Thermo Fisher Scientific, modelo Evolution™ 60S, Wisconsin, EUA) a absorvância de 725 nm. A atividade antioxidante foi avaliada segundo Bloor (2001), por meio da capacidade de inibição de 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH) a uma absorvância de 517 nm. O percentual de inibição foi expresso da seguinte forma: Inibição (%) = [(Abs Control - Abs Extract) / Abs Control] x 100 (Tabela 2).

Tabela 2. Conteúdo de vitamina E, tocoferóis, tocotrienóis, compostos fenólicos, carotenoides e atividade antioxidante (DPPH) dos óleos testados.

Composto	Óleo de soja	Óleo de oliva extra virgem	Óleo de coco
Vitamina E total (mg/100ml)	189,15 ± 0,38	31,90 ± 0,33	16,04 ± 0,9
α-tocoferol	12,86 ± 0,82	19,36 ± 0,23	-
β-tocoferol	105,36 ± 1,40	11,29 ± 2,09	-
γ-tocoferol	51,99 ± 1,10	1,20 ± 0,02	-
δ-tocoferol	18,60 ± 1,16	-	-
α-tocotrienol	-	-	12,43 ± 0,9
β-tocotrienol	-	-	2,39 ± 0,41
γ-tocotrienol	0,33 ± 0,02	-	0,55 ± 0,06
δ-tocotrienol	-	-	0,37 ± 0,02
Carotenoides (µg/100ml) ¹	0,00	33,89	0,00
Fenólicos totais (mg/100 ml) ¹	8,51	13,17	4,47
Atividade antioxidante (DPPH) (%) ¹	9,82	68,26	2,36

Os valores estão expressos em média da triplicata ± desvio padrão. ¹ Valores expressos como média. DPPH: 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl.

2.6 Antropometria

O peso das voluntárias foi aferido, estando as mesmas descalças e trajando roupas leves, utilizando balança eletrônica do tipo plataforma da marca Toledo (capacidade de 150 kg, precisão de 50 g). A estatura foi aferida utilizando estadiômetro de parede (escala de 0 a 220 cm, precisão de 0,1cm). O IMC (Índice de massa corporal) foi calculado a partir da relação $\text{peso(kg)}/\text{altura}^2(\text{m}^2)$ (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2000). O perímetro da cintura e o diâmetro sagital abdominal foram aferidos no ponto médio, utilizando uma fita métrica flexível e inelástica (VASQUES et al., 2010). A composição corporal (massa magra e gordura corporal total) foi avaliada utilizando equipamento de densitometria por dupla emissão de raios-X (DEXA, modelo H8610FE ProdigyAdvance, General Electric Medical Systems). A pressão sanguínea foi aferida segundo recomendações de Mancia et al. (2007).

2.7 Biomarcadores metabólicos

O sangue venoso (24 mL) foi coletado no primeiro e no último dia do estudo, após jejum de 12 horas. Posteriormente, foi centrifugado a 3500 rpm por 15 minutos sob a temperatura de 4°C e armazenado em freezer a - 80°C até as análises. As análises de glicose sérica, triglicerídeos (TG), colesterol total, lipoproteína de alta densidade (HDL-c) e lipoproteína de baixa densidade (LDL-c) foram realizadas por meio de ensaio colorimétrico com utilização de kits comerciais (K802, K117, K083, K071, K088, respectivamente; Bioclin[®], MG,Brasil) por sistema automático de análises (BS-200[™] Chemistry Analyzer Mindray). Análises de interleucinas (IL-8; IL-1 β ; IL-6; IL-10; IL-12) e do fator de necrose tumoral – α (TNF- α) foram realizadas por Kits comerciais (Cytometric Bead Kit de Citocinas Inflamatórias Humanas CBA de Matriz, BD Biosciences) e os dados analisados pelo FCAP Array Software v 3.0 (BD Biosciences).

2.8 Marcadores do estresse oxidativo

Os marcadores do estresse oxidativo foram analisados por métodos espectrofotométricos. Para a análise de catalase, foi utilizado o método descrito por Hadwan e Abed (2016) , com modificações. O plasma foi incubado em 100 μ l de substrato (65 mmol/ml de peróxido de hidrogênio em 60 mmol/l de tampão fosfato de sódio-potássio, pH 7,4) durante três minutos ou em 100 μ l de tampão, com posterior adição de 150 μ l molibdato para o interrompimento da reação com peróxido. A curva

padrão foi feita a partir de diluição seriada com tampão e peróxido. Realizou-se a leitura a 374 nm e a atividade de catalase foi expressa em U por ml de plasma. Para dosagem de malondialdeído, o método utilizado teve como princípio a reação do malondialdeído com o ácido tiobarbitúrico (TBA), sendo o produto detectado por leitura espectrofotométrica a 535nm, segundo o método de Buege e Aust (1978). A produção de óxido nítrico foi determinada pela dosagem do total de nitrito das amostras, utilizando-se o reagente de Griess (GRISHAM; JOHNSON; LANCASTER-JUNIOR, 1996). A leitura foi realizada em espectrofotômetro a 570nm. A capacidade antioxidante total do plasma foi avaliada pelo teste de poder antioxidante de redução férrica (FRAP – Ferric Reducing Antioxidant Power), conforme descrito por Benzie e Strain (1996).

2.9 Análises estatísticas

O presente estudo apresentou um poder estatístico de 82,79% (ACTION, 2014) considerando a média e desvio padrão ($72,26 \pm 11,66 \mu\text{M/L}$) de FRAP apresentada pelas participantes deste estudo em condições basais e um aumento de 15% no valor desta variável. Adotamos a capacidade antioxidante plasmática pela redução do ferro como variável principal, já que esta é um indicador de proteção à oxidação. Considerando que quanto maior a medida de FRAP, menor a quantidade de ferro livre para catalisar a formação de radicais OH, através das reações de Fenton e Haber-Weiss (WELCH et al., 2002).

As análises estatísticas foram realizadas no SPSS versão 22.0 para Windows (SPSS, Inc., Chicago, IL, EUA). Antes da realização das análises os valores de outliers foram excluídos, consideramos os seguintes limiares para exclusão: inferior = quartil inferior – (1,5 x intervalo interquartil) e superior = quartil superior + (1,5 x intervalo interquartil). As variáveis foram testadas quanto à normalidade, pelo teste de Shapiro-Wilk e homocedasticidade pelo teste de Levene. ANOVA ou teste de Kruskal-Wallis, foram adotados para avaliar as características no baseline. Os dados foram apresentados como média \pm erro padrão ou mediana (intervalo interquartil). Para avaliar as diferenças intra-grupo (9 semanas vs. baseline) foi usado o teste t pareado ou Wilcoxon. As diferenças entre os grupos foram avaliadas no baseline, ao final da intervenção (9 semanas) e em relação aos valores de Δ absoluto (9 semanas – baseline), pelo teste de ANOVA ou o teste de Kruskal-Wallis, seguido do post hoc de Bonferroni. O nível α de 5% foi considerado significativo.

3. RESULTADOS

3.1 Participantes

Sessenta e duas mulheres completaram o protocolo do estudo e foram incluídas nas análises. As características das participantes não diferiram entre os grupos no baseline (Tabela 3). Segundo o IMC, 53,23% das participantes possuíam sobrepeso (n=33) e 46,77% obesidade (n=29). A média de idade das participantes foi de $27,39 \pm 5,88$ anos. A maioria das participantes possuía perímetro da cintura classificado como risco elevado para doenças crônicas (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2008). Nenhuma das participantes tinha pressão arterial sistólica acima de 139 mmHg e somente uma apresentou a pressão arterial diastólica variando de 90 a 99 mmHg (primeiro estágio da hipertensão). Em relação os parâmetros bioquímicos, 22,58% das participantes possuíam colesterol elevado, 8,06% apresentaram LDL elevado e 6,45% apresentaram triglicérides elevado (FALUDI et al., 2017). Nenhuma das voluntárias apresentava diabetes (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2016), sintomas de infecção e/ou inflamação, alterações do funcionamento do trato gastrointestinal ou alterações menstruais. Considerando os 3 grupos, 14 participantes apresentaram concentração de TNF- α e IL- 1β abaixo dos limites de detecção do Kit de análise.

Tabela 3. Características das participantes do estudo no baseline, de acordo com o grupo experimental.

	Óleo de soja (n = 21)	Óleo de Oliva Extra virgem (n= 22)	Óleo de coco (n= 19)
Idade (anos)	28,33 \pm 1,33	26,82 \pm 1,18	27,00 \pm 1,43
Peso corporal (kg)	80,16 \pm 2,50	77,99 (12,23)	79,24 \pm 3,01
IMC (kg/m ²)	30,18 \pm 0,73	30,80 \pm 0,59	30,90 \pm 0,76
Percentual de gordura corporal total (%)	46,67 \pm 0,82	47,50 \pm 0,93	46,70 \pm 1,13
Percentual de massa magra (%)	49,28 \pm 0,97	48,48 \pm 0,99	49,37 \pm 1,19
Diâmetro abdominal sagital (cm)	19,81 \pm 0,46	19,51 \pm 0,35	19,47 \pm 0,51
Perímetro da cintura (cm)	97,42 \pm 1,60	96,65 (7,70)	96,76 \pm 1,96
Pressão arterial sistólica (mmHg)	111,16 \pm 2,11	114,71 \pm 2,22	111,74 \pm 2,12
Pressão arterial diastólica (mmHg)	69,10 \pm 1,65	74,00 \pm 1,87	69,10 \pm 1,86
Glicose (mmol/L)	4,74 \pm 0,09	4,82 (0,42)	4,78 \pm 0,05
Colesterol total (mmol/L)	4,19 \pm 0,18	4,49 \pm 0,19	4,34 \pm 0,16
HDL-c (mmol/L)	1,19 \pm 0,05	1,28 \pm 0,06	1,18 \pm 0,05
LDL-c (mmol/L)	2,40 \pm 0,15	2,55 \pm 0,15	2,64 \pm 0,13
Triglicérides (mmol/L)	0,96 \pm 0,09	1,21 \pm 0,10	0,98 \pm 0,06

Valores são média \pm EP ou mediana (intervalo interquartilico). Os dados acima não diferiram entre os grupos (ANOVA ou Kruskal-Wallis, $P > 0.05$). IMC: Índice de massa corporal; HDL-c: lipoproteína de alta densidade; LDL-c: lipoproteína de baixa densidade.

3.2 Marcadores metabólicos de inflamação

O consumo de óleo de oliva extra virgem por 9 semanas reduziu as concentrações de IL-1 β . Além disso, ao final da intervenção o grupo que consumiu óleo de soja apresentou aumento nas concentrações de IL-10 e maior valor de Δ (9 semanas-baseline) quando comparado ao grupo que consumiu óleo de coco (Δ OS - $0,24 \pm 0,09$ pg/ml IC 95% 0,05 a 0,44 vs Δ OC - $-0,19 \pm 0,11$ pg/ml IC 95% -0,43 a 0,05) (Tabela 4). Não observamos alterações significantes para as demais citocinas avaliadas (Figura 2).

3.3 Marcadores do estresse oxidativo

O grupo que consumiu óleo de oliva extra virgem apresentou aumento na atividade antioxidante total do plasma (FRAP) e redução nas concentrações de óxido nítrico e malondialdeído após as 9 semanas de intervenção. Observamos também maior concentração de malondialdeído no grupo OOEV ao baseline quando comparado ao grupo OC. O grupo que consumiu óleo de soja apresentou aumento em FRAP e redução de óxido nítrico ao final do experimento. O grupo que consumiu óleo de coco não apresentou alterações significantes nas variáveis avaliadas (Tabela 5 e Figura 3).

Tabela 4. Variáveis de inflamação no baseline, após o consumo dos óleos (9 semanas) e valores de mudança (9 semanas – baseline) de acordo com os grupos experimentais.

		Óleo de soja (n = 21)		Óleo de oliva extra virgem (n= 22)		Óleo de coco (n= 19)		<i>P_{Inter}</i>		
		IC 95%	<i>P_{Intra}</i>	IC 95%	<i>P_{Intra}</i>	IC 95%	<i>P_{Intra}</i>			
IL-12 (pg/mL)	B	1,67 (2,71)	0,616	2,59 ± 0,45	0,254	2,50 ± 0,38	0,584		0,268	
	F	1,54 (2,70)		2,22 ± 0,35		2,75 ± 0,48				0,452
	Δ	0,13 ± 0,41		-0,73; 0,99		-0,36 ± 0,31				-1,01; 0,28
TNF-α (pg/mL)	B	0,00 (0,19)	0,484	0,41 (0,66)	0,776	0,14 (0,84)	0,374		0,720	
	F	0,00 (0,32)		0,19 (0,71)		0,26 (0,90)				0,291
	Δ	0,00 (0,25)		-0,18; 0,42		0,003 ± 0,13				-0,27; 0,28
IL- 10 (pg/mL)	B	0,98 ± 0,10	0,017	1,19 ± 0,13	0,802	1,16 ± 0,13	0,110		0,382	
	F	1,22 ± 0,11		1,22 ± 0,11		0,97 ± 0,14				0,162
	Δ	0,24 ± 0,09 ^a		0,05; 0,44		0,02 ± 0,09 ^{a,b}				-0,16; 0,20
IL- 6 (pg/mL)	B	1,77 ± 0,22	0,846	1,79 ± 0,20	0,412	1,64 (1,13)	0,438		0,985	
	F	1,82 ± 0,27		2,00 ± 0,25		1,49 (1,08)				0,372
	Δ	0,06 ± 0,29		-0,55; 0,67		0,21 ± 0,25				-0,31; 0,73
IL- 1 β (pg/mL)	B	0,54 (1,52)	0,889	0,86 (1,60)	0,014	0,81 (2,37)	0,450		0,607	
	F	0,36 (1,10)		0,12 (0,96)		0,13 (1,42)				0,701
	Δ	-0,05 ± 0,18		-0,44; 0,34		-0,27 (0,81)				-0,98; -0,04
IL- 8 (pg/mL)	B	7,56 ± 0,65	0,757	8,19 ± 0,59	0,109	7,69 ± 0,53	0,064		0,836	
	F	7,73 ± 0,61		8,94 ± 0,77		8,99 ± 0,58				0,331
	Δ	0,17 ± 0,55		-0,99; 1,33		0,75 ± 0,44				-0,18; 1,68

Valores são médias ± EP ou mediana (intervalo interquartilico). B: Baseline; F: Final (após 9 semanas). Valores de Δ (9 semanas – baseline) apresentados como média ± EP ou mediana (intervalo interquartilico) e IC (intervalo de confiança).

P_{Intra} – diferenças dentro do grupo (teste t pareado ou Wilcoxon, P < 0.05). *P_{Inter}* – diferenças entre os grupos (ANOVA ou Kruskal Wallis, P < 0.05, seguido do teste de Bonferroni). Números em negrito indicam diferenças significantes (P < 0.05). Letras diferentes na mesma linha indicam diferenças entre os grupos.

IL-12: interleucina-12; TNF-α: fator de necrose tumoral-α; IL-10: interleucina-10; IL-6: interleucina-6, IL-1β: interleucina-1β, IL-8: interleucina-8.

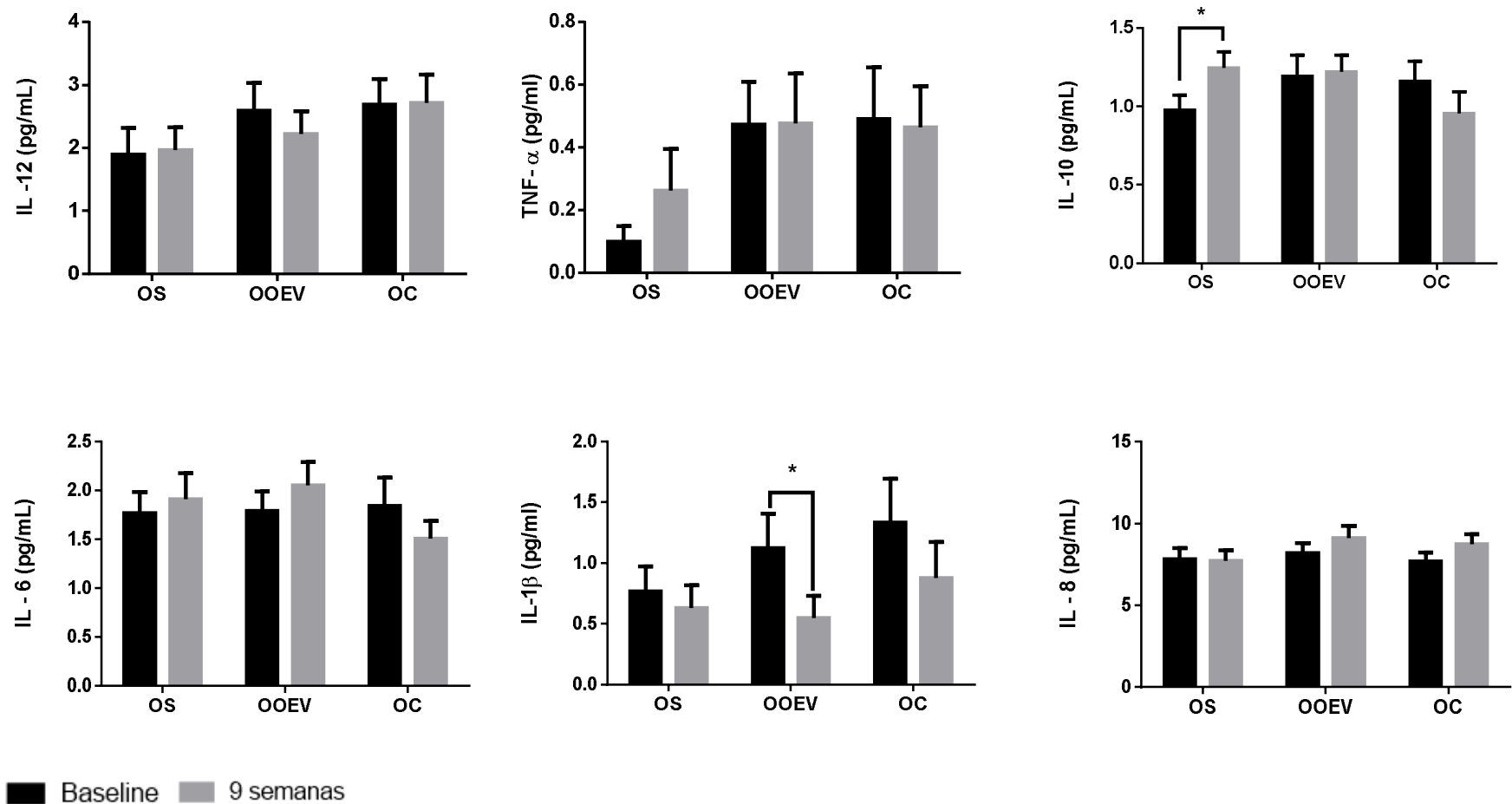


Figura 2. Média \pm EP das variáveis de inflamação (IL-12, TNF- α , IL-10, IL-6, IL-1 β , IL-8) no baseline e ao final do experimento (9 semanas). * Diferenças significantes intra-grupo (teste t pareado ou teste de Wilcoxon, P < 0,05). ** Diferença entre os grupos (ANOVA ou Kruskal Wallis, P < 0,05, seguido do teste de Bonferroni). OS: óleo de soja; OOEV: óleo de oliva extra virgem; OC: óleo coco; IL-12: interleucina-12; TNF- α : fator de necrose tumoral- α ; IL-10: interleucina-10; IL-6: interleucina-6, IL-1 β : interleucina-1 β , IL-8: interleucina-8.

Tabela 5. Variáveis do estresse oxidativo no baseline, após o consumo dos óleos (9 semanas) e valores de mudança (9 semanas – baseline) de acordo com os grupos experimentais.

		Óleo de soja (n = 21)		Óleo de oliva extra virgem (n= 22)		Óleo de coco (n= 19)		<i>P_{Inter}</i>
		IC 95%	<i>P_{Intra}</i>	IC 95%	<i>P_{Intra}</i>	IC 95%	<i>P_{Intra}</i>	
Catalase (U/ml)	B	3905,92 ± 224,15	0,365	3847,39 ± 285,91	0,863	4310,46 ± 212,83	0,271	0,388
	F	3669,64 ± 215,08		3900,03 ± 236,43		3871,12 ± 323,61		0,726
	Δ	-236,28 ± 254,46	-768,86; 296,31	52,64 ± 301,92	-577,15; 682,43	-439,33 ± 385,65	-1256,88; 378,21	
FRAP (μM/L)	B	72,56 ± 2,78	0,013	70,57 ± 2,76	0,033	72,74 ± 2,59	0,067	0,949
	F	85,93 ± 3,17		78,73 ± 2,45		78,36 ± 2,79		0,122
	Δ	13,37 ± 4,84	3,14; 23,58	8,16 ± 3,54	0,72; 15,59	5,62 ± 2,88	-0,45; 11,69	
Malondialdeído (μM/ml)	B	3,30 ± 0,36 ^{a,b}	0,638	4,55 ± 0,46 ^a	0,013	2,54 (1,20) ^b	0,877	0,011
	F	3,12 ± 0,51		3,06 ± 0,24		2,63 (1,48)		0,713
	Δ	-0,18 ± 0,38	-0,98; 0,62	-1,50 ± 0,54	-2,64; -0,36	0,024 ± 0,21	-0,43; 0,48	
Óxido nítrico (μM/ml)	B	213,33 (203,19)	0,005	321,27 ± 37,52	0,030	231,76 (231,90)	0,463	0,150
	F	156,92 (52,98)		236,17 ± 28,61		158,62 (225,86)		0,071
	Δ	-97,26 ± 28,35	-157,07; -37,45	-85,10 ± 35,61	-160,60; -9,60	-54,07 ± 55,77	-172,29; 64,15	

Valores são médias ± EP ou mediana (intervalo interquartilico). B: Baseline; F: Final (após 9 semanas). Valores de Δ (9 semanas – baseline) apresentados como média ± EP ou mediana (intervalo interquartilico) e IC (intervalo de confiança).

P_{Intra} – diferenças dentro do grupo (teste t pareado ou Wilcoxon, $P < 0.05$). *P_{Inter}* – diferenças entre os grupos (ANOVA ou Kruskal Wallis, $P < 0.05$, seguido do teste de Bonferroni). Números em negrito indicam diferenças significantes ($P < 0.05$). Letras diferentes na mesma linha indicam diferenças entre os grupos.

FRAP: Ferric Reducing Antioxidant Power.

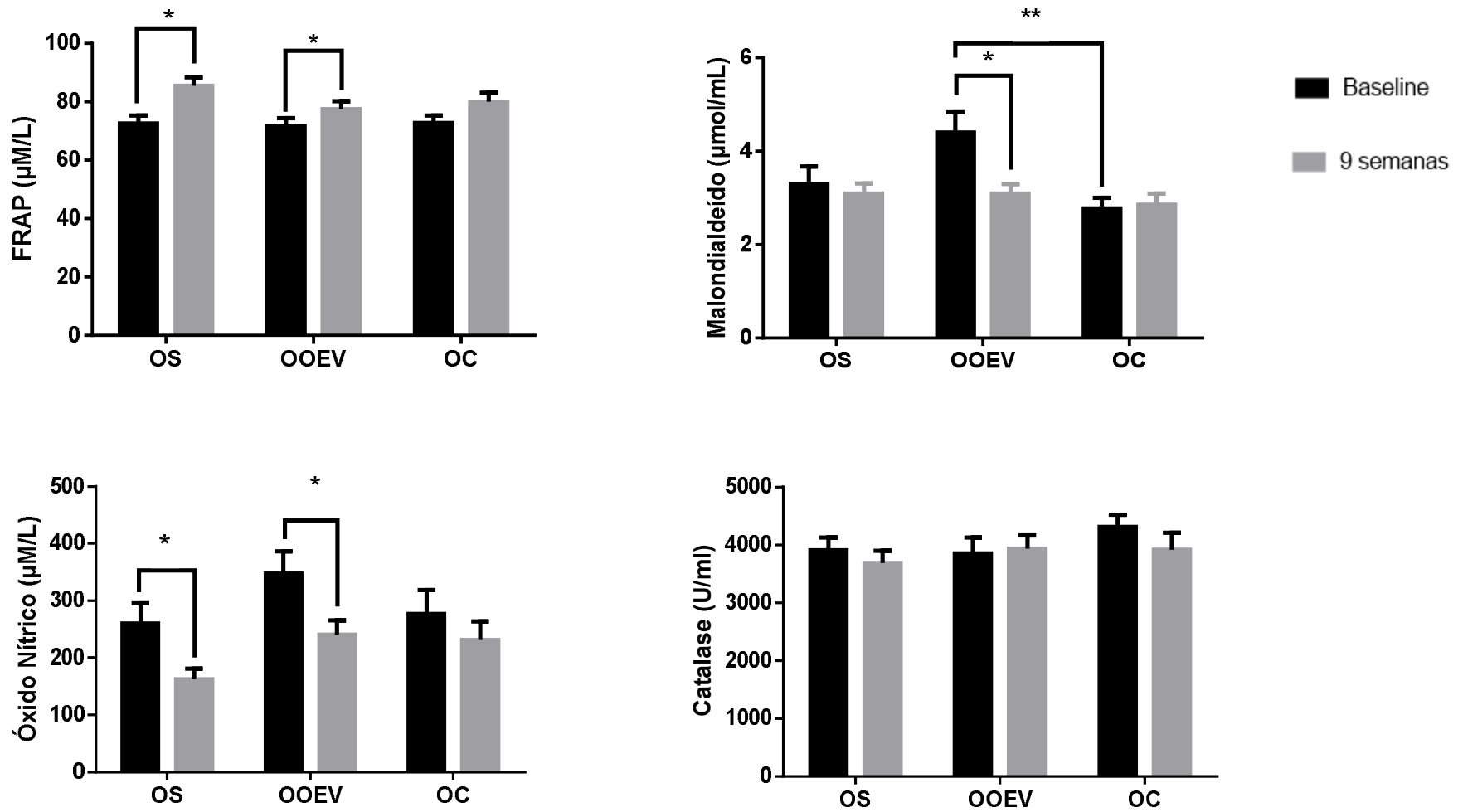


Figura 3. Média ± EP das variáveis de estresse oxidativo (capacidade antioxidante total, malondialdeído, óxido nítrico e catalase) no baseline e ao final do experimento (9 semanas). * Diferenças significantes intra-grupo (teste t pareado ou teste de Wilcoxon, $P < 0,05$). ** Diferença entre os grupos (ANOVA ou Kruskal Wallis, $P < 0,05$, seguido do teste de Bonferroni). OS: óleo de soja; OOEV: óleo de oliva extra virgem; OC: óleo coco; FRAP: Ferric Reducing Antioxidant Power.

4. DISCUSSÃO

Em nosso estudo, fornecemos evidências clínicas de que o tipo de ácido graxo ingerido, mesmo em dietas normolipídicas, contribui para diferentes respostas no estresse oxidativo e inflamação. O consumo de óleo de oliva extra virgem (fonte de MUFAs) e de óleo de soja (fonte de PUFAs) associado à dieta com restrição calórica foi capaz de melhorar o *status* oxidativo e inflamatório em mulheres com excesso de peso. Esses resultados sugerem que além da quantidade, o perfil de ácido graxo consumido pode ter grande influência na saúde humana, embora não tenhamos observado alterações nas variáveis avaliadas após o consumo de óleo de coco. Ao nosso conhecimento, este é o primeiro estudo a avaliar o efeito do consumo deste óleo sobre variáveis do estresse oxidativo em indivíduos com excesso de peso.

Em estudo realizado previamente pela nossa equipe, a ingestão de óleo de oliva extra virgem reduziu a gordura corporal e melhorou a pressão arterial em mulheres com excesso de peso (CANDIDO et al., 2017). No presente estudo, verificamos que a ingestão de óleo de oliva extra virgem e de óleo de soja foram capazes de aumentar a capacidade antioxidante plasmática (FRAP) e reduzir as concentrações de óxido nítrico (ON). Além disso, observamos redução em malondialdeído (MDA) e IL-1 β no grupo que consumiu óleo de oliva extra virgem e aumento em IL-10 no grupo que consumiu óleo de soja.

Nossos resultados sugerem que os efeitos benéficos do óleo de oliva extra virgem e do óleo de soja não se limitam apenas a presença de MUFAs e PUFAs, mas também ao conteúdo em compostos antioxidantes. Os polifenóis e a vitamina E presentes nos óleos podem ser os responsáveis pela redução no estresse oxidativo e inflamação observados, visto que são capazes de proteger o DNA, as proteínas e os lipídios dos danos causados pela exposição a ROS e RNS (MARCADENTI; COELHO, 2015). Os antioxidantes dietéticos são capazes também de agir como inibidores de radicais em reações em cadeia, quelantes de metais, inibidores de enzimas oxidativas e cofatores de enzimas antioxidantes (PISOSCHI; POP, 2015).

O óleo de oliva extra virgem utilizado em nossa pesquisa é fonte de compostos fenólicos (13,17 mg/100ml) e carotenoides (33,89 μ g/100ml) (Tabela 2). Apresenta um potencial de inibição do radical DPPH de 68,26%, o que indica uma melhor atividade antioxidante quando comparado ao óleo de soja (9,82%) e óleo de coco (2,36%) (Tabela 2). Adicionado a isso, a vitamina E, encontrada em maior quantidade no óleo de soja, protege as membranas de danos oxidativos causados por lipoproteínas de baixa

densidade (LDL) e inibe processos pró-aterogênicos provenientes de radicais superóxido e da liberação de IL-1 β (DEVARAJ; JIALAL, 1998). Assim, um aumento no sistema de defesa não enzimático, nos grupos OOEV e OS, pode ter controlado e/ou impedido a formação de radicais livres, promovendo melhora do *status* oxidativo e inflamatório.

A ingestão de 25 ml/dia de óleo de oliva extra virgem, com diferentes dosagens de compostos fenólicos em sua composição, foi capaz de prevenir o dano oxidativo lipídico proporcionalmente ao seu conteúdo de fenólicos (COVAS et al., 2006). Zamora-Ros et. al (2013) reportaram aumento nas concentrações de FRAP após dieta mediterrânea suplementada com óleo de oliva extra virgem quando comparada a dieta sem alimentos ricos em antioxidantes. Em nosso estudo, demonstramos que o aumento na capacidade antioxidante foi observado, mesmo quando o óleo de oliva extra virgem não é incorporado a dieta do mediterrâneo, sendo um importante fator de proteção quando associado a dietas de padrão ocidental e restrita em calorias.

Em contraste aos nossos resultados, Napolini e Freitas (2015) verificaram menor defesa antioxidante em mulheres obesas, após a ingestão de 10 ml/dia de óleo de soja associado a dieta com restrição calórica. Em nosso estudo, o consumo do óleo de soja em maior quantidade aliado a um maior período de intervenção podem ter contribuído para a melhora da capacidade antioxidante observada.

Após 9 semanas de consumo do óleo de oliva extra virgem, a concentração de MDA reduziu significativamente em relação aos valores do baseline, enquanto que o consumo de óleo de soja e de óleo de coco não alteraram esta variável. Similar aos nossos resultados, redução dos níveis de MDA foi verificada em uma meta-análise em que se avaliou as propriedades cardioprotetoras do óleo de oliva extra virgem (GEORGE et al., 2018). Adicionalmente, Rus et al. (2017) observaram melhora nas variáveis de estresse oxidativo, com redução de MDA e proteína carbonilada em pacientes com fibromialgia que ingeriram óleo de oliva extra virgem quando comparados com aqueles que consumiram óleo de oliva refinado, livre de compostos antioxidantes.

Observamos menores concentrações de óxido nítrico, após o consumo de óleo de oliva e óleo de soja. Este efeito pode ser atribuído à capacidade dos ácidos graxos linoleico, α -linolênico e oleico em diminuir a atividade do NF-kB (factor nuclear kappa B) (AMBROZOVA; PEKAROVA; LOJEK, 2010; LEE et al., 2003; ZHAO et al., 2005) e conseqüentemente regular a expressão da Óxido Nítrico Sintase Induzível

(iNOS), responsável por sintetizar o ON no organismo (LEWIS et al., 2011). Além disso, o PUFA n-3 também é capaz de inibir a atividade de NOX (nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato oxidase – NADPH oxidase) e conseqüentemente a geração de ROS e RNS (SHEN et al., 2018; WONG et al., 2009).

Acredita-se na existência de relação sinérgica entre dano oxidativo e inflamação, onde a ocorrência de um pode induzir a geração do outro pela ativação de diversas vias (BISWAS, 2016). A ingestão do óleo de oliva extra virgem e óleo de soja foi capaz de reduzir a inflamação após as 9 semanas de intervenção. O grupo OOEV apresentou redução das concentrações de IL-1 β , enquanto o grupo OS apresentou aumento das concentrações de IL-10. Essa mudança (baseline – 9 semanas) no grupo OS foi maior quando comparada ao verificado para o grupo OC. E esse último, por sua vez apresentou redução em IL-10. Nossos resultados confirmam observações previamente reportadas por Finucane et al. (2015), em que o consumo de dieta enriquecida com MUFAs foi capaz de reduzir a inflamação e a resistência à insulina mediada pela secreção de IL-1 β , quando comparada com dieta rica em SFA. Em adição, a IL-10 é reconhecida por ser capaz de inibir a síntese e a atividade de citocinas pró-inflamatórias, neutralizando a inflamação mediada por receptores toll-like (DAGDEVIREN et al., 2016). Em adipócitos de animais, verificou-se o aumento da produção de IL-10 em presença de PUFA, enquanto que em presença de SFA houve aumento em TNF- α e redução em IL-10 (BRADLEY; FISHER; MARATOS-FLIER, 2008).

Em contrapartida, não observamos alterações significantes nas variáveis de estresse oxidativo e inflamação no grupo OC após as 9 semanas de intervenção. Apesar dos resultados dos estudos que envolvem a ingestão de óleo de coco e estresse oxidativo ainda serem conflitantes e escassos em humanos, Eyres et al. (2016) concluíram em sua revisão que o impacto do consumo de óleo de coco parece ser semelhante ao de outras gorduras saturadas, inclusive sobre o risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares.

Nosso trabalho tem vários pontos fortes que aumentam a credibilidade nos resultados que obtivemos. Conduzimos um ensaio clínico randomizado e duplo-cego, com critérios de seleção dos participantes rigorosos e dupla digitação dos dados. O consumo do tipo de óleo testado, a adesão à dieta prescrita e o nível de atividade física exercido pelas participantes foram bem controlados. Além disso, as metodologias empregadas para a avaliação do status oxidativo são bem estabelecidas e estão associados à oxidação de diferentes biomoléculas e ao sistema de defesa antioxidante.

Entretanto, tivemos um número relativamente alto de participantes que descontinuaram a intervenção por motivos não relacionados ao protocolo adotado no estudo. Apesar disto, o número de participantes do estudo foi suficiente para que o estudo apresentasse um poder estatístico necessário para identificar um aumento de 15% na capacidade antioxidante do plasma (FRAP).

5. CONCLUSÃO

O consumo diário de 25 ml de óleos com diferentes perfis em ácidos graxos, modulou de maneira distinta o estresse oxidativo e inflamação. O consumo do óleo de oliva extra virgem (MUFAs) melhorou variáveis do estresse oxidativo, com aumento de FRAP e redução da concentração de MDA e ON, além de reduzir a citocina inflamatória IL1- β após o período de intervenção de 9 semanas. O consumo de óleo de soja (PUFAs) aumentou FRAP e IL-10 e reduziu ON, enquanto que o consumo de óleo de coco, não afetou as variáveis avaliadas. Os efeitos benéficos dos ácidos graxos insaturados avaliados podem estar associados ao poder anti-inflamatório dos MUFAs e PUFAs, com a modulação de vias de sinalização e ao conteúdo de compostos minoritários, como polifenóis e tocoferóis. Assim, acreditamos que o consumo de óleo de oliva extra virgem e de óleo de soja possa atuar como auxiliares no tratamento do excesso de peso e suas complicações, visto que aliado a dieta restrita em calorias os óleos foram capazes de melhorar o status oxidativo e inflamatório.

REFERÊNCIAS

ACTION, S. Equipe Estatcamp. Estatcamp - Consultoria em estatística e qualidade, São Carlos, Brasil, 2014.

AMBROZOVA, G.; PEKAROVA, M.; LOJEK, A. Effect of polyunsaturated fatty acids on the reactive oxygen and nitrogen species production by raw 264.7 macrophages. **European Journal of Nutrition**, v. 49, n. 3, p. 133–139, 2010.

ARLEE, R.; SUANPHAIROCH, S.; PAKDEECHANUAN, P. Differences in chemical components and antioxidant-related substances in virgin coconut oil from coconut hybrids and their parents. **International Food Research Journal**, v. 20, n. 5, p. 2103–2109, 2013.

BENZIE, I.; STRAIN, J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. **Analytical Biochemistry**, v. 239, n. 1, p. 70–6, 1996.

BISWAS, S. K. Does the Interdependence between Oxidative Stress and Inflammation Explain the Antioxidant Paradox? **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2016, p. 1–9, 2016.

BLOOR, S. J. Overview of methods for analysis and identification of flavonoids. **Methods in Enzymology**, v. 335, p. 3–14, 2001.

BRADLEY, R. L.; FISHER, FF. M.; MARATOS-FLIER, E. Dietary Fatty Acids Differentially Regulate Production of TNF- α and IL-10 by Murine 3T3-L1 Adipocytes. **Obesity**, v. 16, n. 5, p. 1–16, 2008.

BUEGE, J. A.; AUST, S. D. Microsomal Lipid Peroxidation. **Methods in Enzymology**, v. 52, p. 302–310, 1978.

CANDIDO, F. G. et al. Consumption of extra virgin olive oil improves body composition and blood pressure in women with excess body fat: a randomized, double-blinded, placebo-controlled clinical trial. **European Journal of Nutrition**, n.57, v.7, p. 2445-2455, 2017.

CHIELLE, E. O. et al. Adipocytokines, inflammatory and oxidative stress markers of clinical relevance altered in young overweight/obese subjects. **Clinical Biochemistry**, v. 49, n. 7–8, p. 548–553, 2016.

COVAS, M. et al. The effect of polyphenols in olive oil on heart disease risk factors: a randomized trial. **Annals of Internal Medicine**, v. 145, n. 5, p. 333–41, 2006.

DAGDEVIREN, S. et al. Altered Interleukin-10 Signaling in Skeletal Muscle Regulates Obesity-Mediated Inflammation and Insulin Resistance. **Molecular and Cellular Biology**, v. 36, n. 23, p. 2956–2966, 2016.

DEVARAJ, S.; JIALAL, I. The effects of alpha-tocopherol on critical cells in atherogenesis. **Current Opinion in Lipidology**, v.9, n.1, p.11-15, 1998.

- EYRES, L. et al. Coconut oil consumption and cardiovascular risk factors in humans. **Nutrition Reviews**, v. 74, n. 4, p. 267–280, 2016.
- FALUDI, A. et al. Atualização da Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 109, n. 01, p. 1–76, out. 2017.
- FINUCANE, O. M. et al. Monounsaturated fatty acid–enriched high-fat diets impede adipose nlrp3 inflammasome–mediated il-1 β secretion and insulin resistance despite obesity. **Diabetes**, v. 64, n. 6, p. 2116–2128, 2015.
- GEORGE, E. S. et al. The effect of high-polyphenol extra virgin olive oil on cardiovascular risk factors : a systematic review and meta-analysis. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 59, n.17, p. 2772-2795, 2018.
- GRISHAM, M. B.; JOHNSON, G. G.; LANCASTER-JUNIOR, J. R. Quantitation of nitrate and nitrite in extracellular fluids. **Methods in Enzymology**, v. 268, p. 237–246, 1996.
- GUTFINGER, T. Polyphenols in olive oils. **Journal of the American Oil Chemists Society**, v. 58, n. 11, p. 966–968, 1981.
- HADWAN, M. H.; ABED, H. N. Data supporting the spectrophotometric method for the estimation of catalase activity. **Data in Brief**, v. 6, p. 194–9, 2016.
- HARTMAN, L.; LAGO, R. . Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids. **Lab Pract**, v. 22, p. 475–76, 1973.
- KESH, S. B.; SARKAR, D.; MANNA, K. High-fat diet-induced oxidative stress and its impact on metabolic syndrome : a review. **Journal of Pharmaceutical and Clinical Research**, v. 9, n. 1, p. 47–52, 2016.
- KWIECIEN, S. et al. Lipid peroxidation, reactive oxygen species and antioxidative factors in the pathogenesis of gastric mucosal lesions and mechanism of protection against oxidative stress - induced gastric injury. **Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 65, n. 5, p. 613–622, 2014.
- LEE, J. Y. et al. Reciprocal modulation of toll-like receptor-4 signaling pathways involving myd88 and phosphatidylinositol 3-kinase/akt by saturated and polyunsaturated fatty acids. **Journal of Biological Chemistry**, v. 278, n. 39, p. 37041–37051, 2003.
- LEWIS, R. S. et al. TLR regulation of SPSB1 controls inducible nitric oxide synthase induction. **The Journal of Immunology**, v. 187, n. 7, p. 3798–3805, 2011.
- LUCAS, K.; MAES, M. Role of the Toll Like Receptor (TLR) Radical Cycle in Chronic Inflammation: Possible Treatments Targeting the TLR4 Pathway. **Molecular Neurobiology**, v. 48, n. 1, p. 190–204, 2013.
- LUGRIN, J. et al. The role of oxidative stress during inflammatory processes. **Biological Chemistry**, v. 395, n. 2, p. 203–230, 2014.

MANCIA, G. et al. Guidelines for the management of arterial hypertension The Task Force for the Management of Arterial Hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC). **European Heart Journal**, p. 1462–1536, 2007.

MARCADENTI, A.; COELHO, C. L. A. Dietary antioxidant and oxidative stress: interaction between vitamins and genetics. **Journal of Nutritional Health & Food Science**, v. 3, n. 1, p. 1–7, 2015.

MCMURRAY, F.; PATTEN, D. A.; HARPER, M. E. Reactive oxygen species and oxidative stress in obesity—recent findings and empirical approaches. **Obesity**, v. 24, n. 11, p. 2301–2310, 2016.

NASPOLINI, N. F.; FREITAS, M. Effects of calorie restriction and soybean and olive oils on oxidative stress in obese. **Journal of Food & Nutritional Disorders**, v. 4, n. 6, p. 1–7, 2015.

NÚCLEO DE ESTUDOS E PESQUISAS EM ALIMENTAÇÃO—NEPA. Tabela Brasileira de Composição de Alimentos—TACO, 4th edn. NEPA-UNICAMP, Campinas, 2011.

OLIVERAS-LÓPEZ, M.-J. et al. Consumption of extra-virgin olive oil rich in phenolic compounds has beneficial antioxidant effects in healthy human adults. **Journal of Functional Foods**, v. 10, p. 475–484, 2014.

PALAZHY, S.; KAMATH, P.; VASUDEVAN, D. M. Dietary fats and oxidative stress: a cross-sectional study among coronary artery disease subjects consuming coconut oil/sunflower oil. **Indian Journal of Clinical Biochemistry**, v. 33, n. 1, p. 69–74, 2018.

PANFILI, G.; FRATIANNI, A.; IRANO, M. Improved normal-phase high-performance liquid chromatography procedure for the determination of carotenoids in cereals. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 21, p. 6373–6377, 2004.

PEAIRS, A. D.; RANKIN, J. W.; LEE, Y. Effects of acute ingestion of different fats on oxidative stress and inflammation in overweight and obese adults. **Nutrition Journal**, v. 10, n. 1, p. 122, 2011.

PEREZ-MARTINEZ, P. et al. Postprandial oxidative stress is modified by dietary fat: evidence from a human intervention study. **Clinical Science**, v. 119, n. 6, p. 251–261, 2010.

PINHEIRO-SANT’ANA, H. M. et al. Method for simultaneous analysis of eight vitamin E isomers in various foods by high performance liquid chromatography and fluorescence detection. **Journal of Chromatography A**, v. 1218, n. 47, p. 8496–8502, 2011.

PISOSCHI, A. M.; POP, A. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 97, p. 55–74, 2015.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Assessment of the provitamin A contents of foods - The Brazilian experience. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 9, n. 3, p. 196–230, 1996.

RUS, A. et al. Extra virgin olive oil improves oxidative stress, functional capacity, and health-related psychological status in patients with fibromyalgia. **Biological Research For Nursing**, v. 19, n. 1, p. 106–115, 2017.

SABITHA, P. et al. Comparison of lipid profile and antioxidant enzymes among south indian men consuming coconut oil and sunflower oil. **Indian Journal of Clinical Biochemistry**, v. 24, n. 1, p. 76–81, 2009.

SCHAEFER, E. J. Lipoproteins, nutrition, and heart disease. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 75, p. 191–212, 2002.

SHEN, J. et al. Omega-3 fatty acid supplement reduces activation of NADPH oxidase in intracranial atherosclerosis stenosis. **Neurological Research**, v. 40, n. 6, p. 499–507, 2018.

TAN, B. L.; NORHAIZAN, M. E.; LIEW, W. P. P. Nutrients and oxidative stress: Friend or foe? **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2018, p. 1–24, 2018.

VASQUES, A. C. et al. Anthropometric indicators of insulin resistance. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 95, n. 1, p. e14–e23, 2010.

WANG, D. D.; HU, F. B. Dietary fat and risk of cardiovascular disease : recent controversies and advances. **Annual Review of Nutrition**, v. 37, n. 27, p. 423–426, 2017.

WELCH, K. et al. Serial review : iron and cellular redox status. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 32, n. 7, p. 577–583, 2002.

WONG, S. W. et al. Fatty acids modulate Toll-like Receptor 4 activation through regulation of receptor dimerization and recruitment into lipid rafts in a reactive oxygen species-dependent manner. **Journal of Biological Chemistry**, v. 284, n. 40, p. 27384–27392, 2 out. 2009.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation. World Health Organization technical report series, v. 894, p. i–xii, 1–253, 2000.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Waist Circumference and Waist-Hip Ratio: Report of a WHO Expert Consultation. 25 jan. 2008. Disponível em: <<http://www.nature.com/articles/ejcn2009139>> Acesso em: setembro, 2018.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Global report on diabetes. p. 1–88, 2016.

ZAMORA-ROS, R. et al. Mediterranean diet and non enzymatic antioxidant capacity in the PREDIMED study: Evidence for a mechanism of antioxidant tuning. **Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases**, v. 23, n. 12, p. 1167–1174, 2013.

ZELEN, M. The randomization and stratification of patients to clinical trials. **Journal of Chronic Diseases**, v. 27, n. 7–8, p. 365–375, 1974.

ZHAO, G. et al. Anti-inflammatory effects of polyunsaturated fatty acids in THP-1 cells. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 336, n. 3, p. 909–917, 2005.

ZULIANI, G. et al. The role of polyunsaturated fatty acids (PUFA) in the treatment of dyslipidemias. **Current Pharmaceutical Design**, v. 15, p. 4087–4093, 2009.

4.4 Artigo 4

EFEITO DA INGESTÃO DE ÓLEOS VEGETAIS ASSOCIADOS À DIETA RESTRITA EM CALORIAS SOBRE A MICROBIOTA E A PERMEABILIDADE INTESTINAIS EM MULHERES COM EXCESSO DE PESO

Resumo

Objetivo: Estudos anteriores sugerem que o tipo de ácido graxo dietético pode modular o ecossistema bacteriano intestinal. No entanto, esse efeito ainda é inconclusivo. Assim, o objetivo desse estudo foi avaliar o efeito da ingestão de óleos ricos em diferentes tipos de ácidos graxos, associados a dietas normolipídicas e restritas em calorias, na microbiota e permeabilidade intestinais, na concentração de LPS, de ácidos graxos de cadeia curta e pH fecais.

Métodos: Trata-se de um ensaio clínico randomizado, paralelo, duplo-cego com duração de 9 semanas consecutivas (\pm 5 dias). Mulheres com excesso de peso receberam diariamente café da manhã contendo 25 ml de um dos óleos testes: óleo de soja (n=17), óleo de oliva extra virgem (n=19) ou óleo de coco (n=16). Amostras sanguíneas, fecais e de urina foram coletadas no primeiro e último dia de experimento para análises das variáveis de interesse.

Resultados: O consumo dos três óleos não afetou a diversidade e a abundância relativa de bactérias intestinais. Observamos aumento na riqueza bacteriana estimada pelo índice de Chao 1, e redução na concentração do ácido graxo isovalérico no grupo que ingeriu óleo de soja. A permeabilidade paracelular e transcelular foram aumentadas após a ingestão de óleo de oliva extra virgem e óleo de coco. Porém, as concentrações de LPS permaneceram inalteradas.

Conclusão: A ingestão de diferentes tipos de ácidos graxos associada à dieta normolipídica e restrita em calorias afetou de forma modesta a microbiota e a permeabilidade intestinais, sem resultar em endotoxemia metabólica em mulheres com excesso de peso.

Palavras-chave: Microbiota intestinal, Sequenciamento rRNA 16S, Permeabilidade, Óleo de coco, Óleo de oliva extra virgem, Óleo de soja.

1. INTRODUÇÃO

O acúmulo anormal ou excessivo de gordura, característicos do sobrepeso e da obesidade são importantes fatores de risco para doenças não transmissíveis, como doenças cardiovasculares, diabetes e alguns tipos de câncer (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2018). Vários autores sugerem a associação da microbiota intestinal no desenvolvimento do excesso de peso e de suas comorbidades (BOUTER et al., 2017; CHÁVEZ-CARBAJAL et al., 2019; ISOLAURI, 2017).

A dieta é um dos maiores determinantes da composição microbiana intestinal (ALOU; LAGIER; RAOULT, 2016; CUEVAS-SIERRA et al., 2019). O efeito da quantidade e da qualidade das gorduras ingeridas sobre a microbiota tem sido cada vez mais investigado pelos pesquisadores (WOLTERS et al., 2018). A ingestão de dieta hiperlipídica (40% de gordura e 46% de carboidrato em relação à energia), contendo óleo de soja, rico em ácidos graxos poliinsaturados (PUFAs) por 6 meses, resultou no aumento da abundância relativa de *Bacteroidetes* e redução de *Firmicutes* em indivíduos eutróficos (WAN et al., 2019). Entretanto, em um estudo com indivíduos obesos e com risco de síndrome metabólica, o consumo de dietas ricas em ácidos graxos monoinsaturados (MUFAs) e PUFAs por 30 dias pouco afetou a composição da microbiota, a nível de filós (PU et al., 2016).

Além disso, aumento da permeabilidade intestinal devido a mudanças na microbiota pode levar a endotoxemia, com instalação da inflamação e de doenças metabólicas (HERSOUG; MØLLER; LOFT, 2018). Alguns autores verificaram o aumento da permeabilidade paracelular em mulheres obesas em relação às magras (TEIXEIRA et al., 2012). Entretanto, outros não identificaram diferenças na permeabilidade intestinal entre indivíduos obesos e magros (BRIGNARDELLO et al., 2010).

Em estudo longitudinal envolvendo indivíduos eutróficos, sobrepesos e obesos, enquanto o maior consumo de MUFAs e PUFAs n-6 foi associado negativamente à menor abundância de bifidobactérias, o consumo de PUFAs n-3 foi associado positivamente à maior abundância de *Lactobacillus*. No entanto, o número de bactérias foi similar entre as categorias de IMC (Índice de massa corporal) (SIMÕES et al., 2013). Por outro lado, o consumo de ácidos graxos saturados (SFAs) foi associado positivamente à abundância de *Blautia* em homens com sobrepeso e síndrome metabólica (ORG et al., 2017). Os resultados desses estudos sugerem que em humanos a modulação da microbiota pelos ácidos graxos dietéticos e em função do IMC

apresentado ainda é inconclusiva e controversa. Por outro lado, em animais está bem consolidado o aumento da razão *Firmicutes/Bacteroidetes* após a ingestão de dietas hiperlipídicas (ABULIZI et al., 2019; MURPHY et al., 2010).

Apesar das evidências de que o tipo de ácidos graxos dietéticos atue sobre o ecossistema microbiano intestinal, mais estudos devem ser conduzidos para abordar o papel da qualidade e da quantidade de gordura ingerida sobre a microbiota (WOLTERS et al., 2018). Não identificamos nenhum estudo em que foi investigado o efeito de óleos fontes de diferentes tipos de ácidos graxos, associado a dieta normolipídica, sobre a microbiota e a permeabilidade intestinais em indivíduos com excesso de peso.

O aumento no consumo de gorduras geralmente leva a variação concomitante da ingestão dos outros nutrientes, como a redução da ingestão de carboidratos. Em nosso estudo, as dietas testadas diferiram apenas quanto ao tipo de lipídeo, tendo apresentado teores similares de macronutrientes. A identificação do efeito dos ácidos graxos predominantes em cada um desses óleos sobre a microbiota e a permeabilidade intestinais pode contribuir para identificar estratégias capazes de prevenir a disbiose e as doenças associadas. Desse modo, avaliamos no presente estudo o efeito da ingestão de óleos com diferentes tipos de ácidos graxos (óleo de soja, óleo de oliva extra virgem e óleo de coco), associados a dietas normolipídicas e restritas em calorias, na microbiota e permeabilidade intestinais, na concentração de LPS, de ácidos graxos de cadeia curta e pH fecais.

2. METODOLOGIA

2.1 Participantes

Setecentos e cinquenta e três (753) mulheres foram recrutadas na comunidade local e avaliadas quanto aos critérios de elegibilidade. Os principais critérios de inclusão foram: índice de massa corporal entre 26 e 35 kg/m², percentual de gordura corporal > 30%, idade de 19 a 41 anos, não fumantes, não gestantes, não lactantes e com nível de atividade física estável (últimos 3 meses). Os critérios de exclusão foram: consumo de álcool (> 15 g de etanol/d); atletas de elite (> 10 h de exercício/semana); uso de medicamentos ou suplementos; presença de doenças cardiovasculares, diabetes, hipertensão arterial, doenças hepáticas e/ou gastrointestinais; presença de intolerância ou alergia alimentar; alterações recentes (< 3 meses) dos hábitos alimentares. Oitenta e cinco mulheres foram consideradas elegíveis e randomizadas em um dos três grupos experimentais: óleo de soja, óleo de oliva extra virgem e óleo de coco, utilizando a

técnica de randomização por blocos (ZELEN, 1974), com ocultação para os pesquisadores. Destas, 72 seguiram para a intervenção. Vinte participantes foram excluídas das análises por fatores como, eventos patológicos secundários (n=5), razões pessoais (n=3), gravidez (n=2) e por não coletarem amostras fecais (n= 10). Após as 9 semanas de intervenção 52 mulheres completaram o protocolo de estudo (Figura 1).

O estudo foi conduzido segundo orientações estabelecidas na Declaração de Helsinki e todos os procedimentos envolvendo os pacientes foram aprovados pelo Comitê de Ética da Universidade Federal de Viçosa (número do protocolo: 892.467 / 2014). O ensaio foi registrado no Registro Brasileiro de Ensaio Clínicos (ReBEC) (identificador: RBR-7z358j).

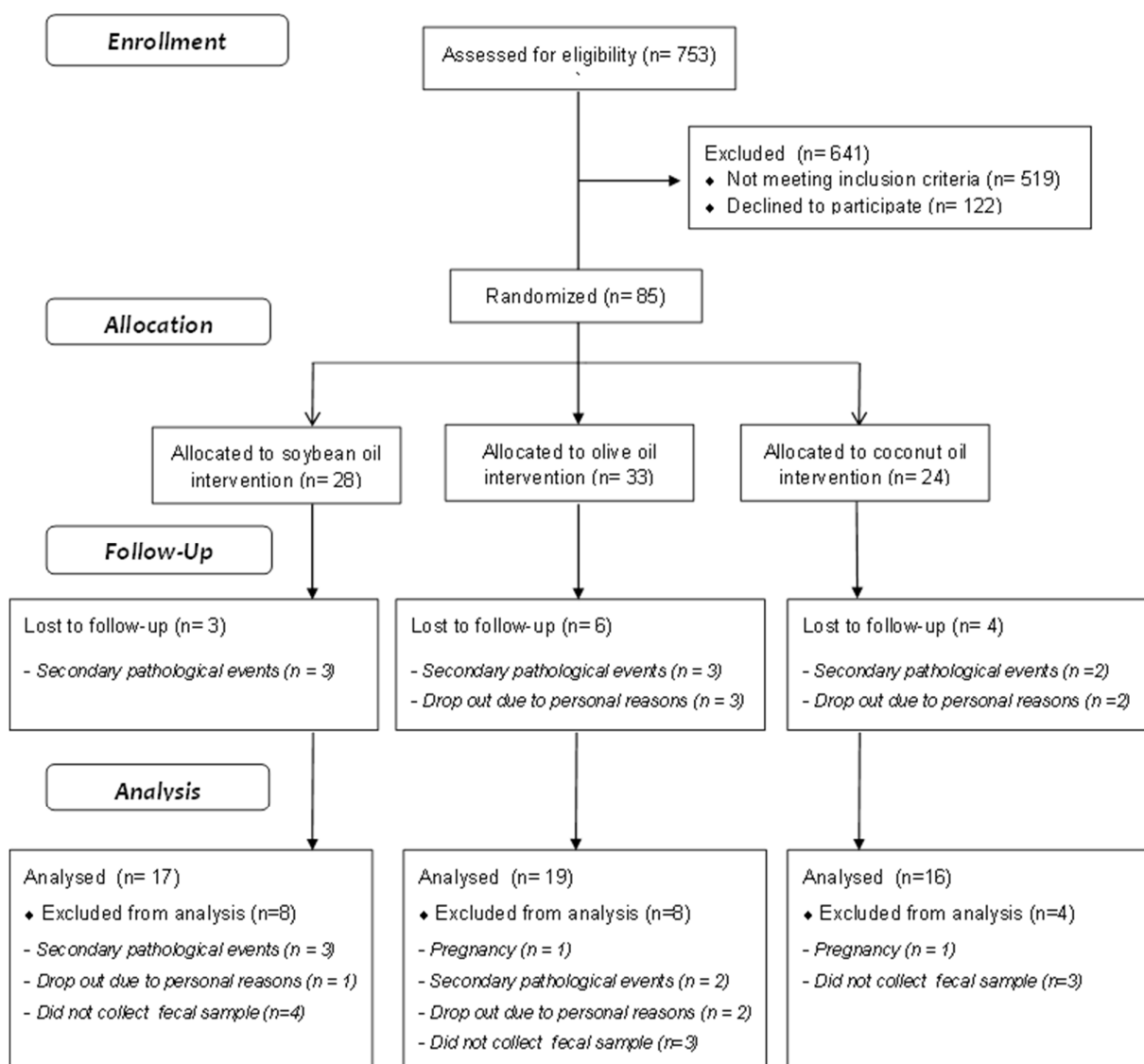


Figura 1. Diagrama CONSORT mostrando o acompanhamento dos participantes em cada estágio do ensaio clínico. CONSORT - Consolidated Standards of Reporting Trials

2.2 Delineamento do estudo

Trata-se de um ensaio clínico randomizado, paralelo, duplo-cego, com duração de 9 semanas consecutivas (± 5 dias), no qual as participantes foram aleatoriamente alocadas nos grupos óleo de soja (OS), óleo de oliva extra virgem (OOEV) e óleo de coco (OC). Durante o estudo, as participantes compareceram diariamente ao Laboratório de Estudos em Ingestão Alimentar para consumirem um café da manhã composto por biscoitos doces ou salgados e uma bebida (300 mL) contendo 25 ml de um dos tipos de óleos testados, como parte da dieta com restrição calórica (-500 kcal/dia) e normolipídica (32% das calorias provenientes de gorduras) individualmente prescrita a cada participante. As bebidas foram servidas em copos coloridos, para evitar a identificação visual do tipo de óleo testado. Aos finais de semana, as participantes receberam os ingredientes para preparo e ingestão da bebida em casa, acompanhado dos biscoitos, nas mesmas quantidades fornecidas no laboratório. Essa ingestão foi monitorada por meio do retorno das embalagens vazias aos pesquisadores e por perguntas feitas às participantes sobre o consumo. As outras refeições do dia foram realizadas em condições de vida livre.

No primeiro e no último dia do estudo (9ª semana) as voluntárias compareceram ao laboratório para serem submetidas aos testes antropométricos e coleta de amostras sanguínea, de fezes e urina. Para reduzir a influência de diferentes nutrientes consumidos nas avaliações realizadas nesses dias de teste, as voluntárias receberam refeição padronizada a ser ingerida na noite anterior aos dias de teste. Esta refeição padrão foi composta por espaguete, queijo ralado e suco (600 kcal, carboidrato: 62% Energia, gordura: 29,4% Energia, proteína: 8,5% Energia). Após a ingestão dessa refeição, as voluntárias realizaram um jejum de aproximadamente 12 horas.

No dia dos testes (primeiro e último dia de experimento) amostras sanguíneas foram coletadas em jejum para análise da concentração dos biomarcadores metabólicos e de LPS. Amostras de urina e fezes também foram coletadas para realização das análises de permeabilidade intestinal, microbiota intestinal, teor de ácidos graxos de cadeia curta e pH fecais. No primeiro dia do estudo (baseline) avaliamos a antropometria, a composição corporal e o nível de atividade física (Questionário Internacional de Atividade Física - IPAQ) (HAGSTROMER; OJA; SJO, 2006). As voluntárias foram orientadas a manterem constante o nível de atividade física e a não ingerirem bebida alcoólica durante toda a intervenção.

2.3 Bebidas testes

As bebidas apresentavam sete diferentes sabores (manga, goiaba, maracujá, morango, uva, chocolate e cappuccino), possuíam conteúdo similar de macronutrientes e calorias, e diferentes tipos de ácidos graxos (Tabela 1). Tais bebidas foram preparadas usando leite em pó desnatado e 25 ml de um dos seguintes óleos: óleo de soja (Corcovado, Archer Daniels Midland, Uberlândia, Brasil), óleo de oliva extra virgem (Andorinha[®], Sovena S.A., Algés, Portugal) ou óleo de coco (Copra, Copra Indústria Alimentícia Ltda., Alagoas, Brasil). A quantidade de óleo adicionada foi baseada na faixa usualmente utilizada em estudos anteriores (ASSUNÇÃO et al., 2009; FUNG et al., 2009), sem exceder a recomendação diária de lipídios (IOM, 2005).

2.4 Dietas prescritas

As dietas prescritas foram calculadas considerando a composição nutricional média do desjejum fornecido diariamente e as necessidades calóricas segundo o EER (Estimated Energy Requirement) (IOM, 2002) para mulheres com sobrepeso e obesidade. O nível de atividade física (HAGSTROMER; OJA; SJO, 2006) foi baseado nos coeficientes de atividade física (1,00 para sedentários ou 1,16 para indivíduos ativos) (IOM, 2005). Em seguida, a restrição de energia foi aplicada (-500kcal/dia). Nenhum outro alimento com teor de lipídios (saturados, mono e poliinsaturados) superior a 25 ml foi prescrito. As dietas prescritas a cada grupo experimental apresentavam densidade calórica e teor de macronutrientes similares (Tabela suplementar 1). Durante todo o período de intervenção, os tipos de alimentos prescritos e a distribuição de macronutrientes foram mantidos, para reduzir a influência da dieta prescrita sobre as variáveis de interesse.

2.5 Ingestão alimentar

A ingestão alimentar foi avaliada aplicando registros alimentares de 3 dias não consecutivos (2 dias da semana e 1 dia de final de semana). As participantes preencheram os registros alimentares uma semana antes do início do estudo (baseline), durante o estudo (4^a semana de intervenção) e na última semana (9^a semana) para verificar a adesão à dieta prescrita. A análise da ingestão de macronutrientes, fibras e calorias foi feita por um único nutricionista, utilizando o software DietPro (versão 5.2i, Agromídia, MG, Brasil), baseado em tabelas de composição dos alimentos (NEPA, 2011; PHILIPPI, 2016; USDA, 2017).

Tabela 1. Média \pm DP da composição nutricional das bebidas testadas, de acordo com o grupo experimental.

Bebidas (média \pm DP de 7 cardápios)	Óleo de soja	Azeite de Oliva Extra virgem	Óleo de coco
Calorias (kcal)	346,63 \pm 25,47	346,63 \pm 25,47	346,63 \pm 25,47
Carboidrato (g)	24,23 \pm 6,23	24,23 \pm 6,23	24,23 \pm 6,23
Proteína (g)	2,94 \pm 0,61	2,94 \pm 0,61	2,94 \pm 0,61
Fibra alimentar (g)	1,29 \pm 2,27	1,29 \pm 2,27	1,29 \pm 2,27
Sódio (mg)	58,58 \pm 3,91	58,58 \pm 3,91	58,58 \pm 3,91
Gordura total (g)	26,40 \pm 0,11	26,40 \pm 0,11	26,40 \pm 0,11
Ácidos graxos (%)			
Ác. Láurico (C12:0)	-	-	10,59 \pm 0,33
Ác. Tridicanóico (C13:0)	-	-	0,01 \pm 0,00
Ác. Mirístico (C14:0)	-	-	5,78 \pm 0,13
Ác. Pentadecanóico (C15:0)	0,002 \pm 0,00	-	0,002 \pm 0,00
Ác. Palmítico (C16:0)	2,78 \pm 0,00	2,47 \pm 0,04	3,60 \pm 0,12
Ác. Margárico (C17:0)	0,05 \pm 0,03	0,07 \pm 0,00	0,007 \pm 0,01
Ác. Estearico (C18:0)	0,81 \pm 0,02	0,53 \pm 0,07	0,54 \pm 0,03
Ác. Araquídico (C20:0)	0,09 \pm 0,005	0,09 \pm 0,005	0,02 \pm 0,00
SFA total	3,74 \pm 0,07	3,16 \pm 0,12	20,56 \pm 0,64
Ác. Miristoléico (C14:1)	0,02 \pm 0,00	0,002 \pm 0,00	-
Ác.10-pentadecanóico (C15:1)	0,005 \pm 0,00	-	-
Ác. Palmitoléico cis (C16:1)	0,02 \pm 0,01	0,16 \pm 0,00	-
Ác. Oleico (C18:1)	5,87 \pm 0,01	20,20 \pm 0,23	3,28 \pm 0,07
Ác. Gadoléico (C20:1 n9)	0,05 \pm 0,00	0,07 \pm 0,00	0,02 \pm 0,00
MUFA total	5,97 \pm 0,04	20,44 \pm 0,25	3,30 \pm 0,07
Ác. Linoleico (C18:2)	13,57 \pm 0,06	1,22 \pm 0,23	1,09 \pm 0,02
Ác. α -linolênico (C18:3)	1,56 \pm 0,01	0,14 \pm 0,23	0,04 \pm 0,04
Ác.8,11-eicosadienóico (C20:2)	0,11 \pm 0,00	0,03 \pm 0,00	0,002 \pm 0,00
PUFA total	15,24 \pm 0,08	1,39 \pm 0,25	1,13 \pm 0,06

A composição nutricional das bebidas foi obtida a partir da Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (NEPA, 2011). O perfil de ácidos graxos dos óleos testados neste estudo foi determinado, segundo a metodologia de (HARTMAN; LAGO, 1973). MUFA: ácidos graxos monoinsaturados; PUFA: ácidos graxos poliinsaturados; SFA: ácidos graxos saturados.

2.6 Antropometria e composição corporal

As avaliações antropométricas foram realizadas por um único pesquisador. O peso foi aferido em balança plataforma com escala de 0,5 kg (Toledo®, Model 2096PP/2, São Paulo, Brasil). A altura foi medida com escala de precisão de 0,1 cm (Wiso, Chapecó, SC, Brazil). O IMC (Índice de massa corporal) foi calculado a partir da relação peso (kg)/altura² (kg/m²) (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2000). O perímetro da cintura e o diâmetro sagital abdominal foram aferidos no ponto médio, entre a última costela e a crista ilíaca (VASQUES et al., 2010).

A composição corporal foi avaliada utilizando equipamento de densitometria por dupla emissão de raios-X (DEXA, modelo H8610FE ProdigyAdvance, General Electric Medical Systems).

2.7 Biomarcadores metabólicos

Ao serem coletadas as amostras sanguíneas foram centrifugadas (3500 rpm, 4°C, 15min) e armazenadas a - 80°C até as análises. A quantificação de glicose, ácido úrico, colesterol total, lipoproteína de alta densidade (HDL-c) e lipoproteína de baixa densidade (LDL-c), triglicerídeos, aspartato amino transferase (TGO) e alanina amino transferase (TGP) foi realizada pelo sistema analítico automático BS-200 (Mindray Medical International Ltd., Shenzhen, China) com o uso de Kits comerciais (Bioclin[®], Minas Gerais, Brasil). A insulinemia foi determinada por método eletroquimioluminescence (Elecsys-Modular E-170, Roche Diagnostics Systems) e HOMA- IR (Homeostasis Model Assessment Index) como proposto por Grisham; Johnson; Lancaster-Junior (1996).

2.8 Lipopolissacarídeo (LPS)

A concentração de LPS foi analisada pelo método de Limulus Amebocyte Lysate (LAL), com a utilização de Kit comercial (Hycult Biotech, Noord-Brabant, The Netherlands), conforme orientações do fabricante. Para a análise, as amostras de plasma foram manipuladas em recipientes apirogênicos e aquecidas a 75 ° C durante 5 min para neutralizar os inibidores de endotoxina. Alíquotas de plasma (5 µL) e padrões foram diluídos em água apirogênica, adicionados de 30 µl do reagente LAL e incubado por 30 min. A absorbância foi lida a 405 nm (Multiskan Go, Thermo Scientific, USA). Solução de ácido acético foi adicionada para interromper a reação quando necessário e nova leitura da absorbância foi realizada. A curva padrão utilizada para o cálculo das concentrações de LPS foi ajustada por regressão logística e os valores de LPS corrigidos pelo fator de diluição (1:6). Dados de concentração de LPS foram apresentados como EU/ml.

2.9 Microbiota intestinal, ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) e pH fecais

As voluntárias foram orientadas a coletarem as amostras de fezes o mais próximo possível da sua entrega ao laboratório e a manterem o material sob refrigeração (4°C) até o momento da entrega.

2.9.1 Microbiota intestinal

As amostras de fezes coletadas foram mantidas a -80°C até o momento das análises. A extração do DNA das amostras de fezes foi realizada por ruptura mecânica (*bead-beating*) (STEVENSON; WEIMER, 2007). A qualidade e quantidade do DNA extraído foram verificadas utilizando $\mu\text{Drop}^{\text{TM}}$ Plate (Thermo Fisher Scientific, Finlândia), a integridade e o tamanho foram medidos por eletroforese em gel de agarose, sendo posteriormente armazenados a -20°C até as análises de sequenciamento.

O sequenciamento de regiões hipervariáveis do gene rRNA 16S de membros do domínio Bacteria (V3 – V4) foi realizado pela empresa Argonne National Laboratory® (Illinois, Estados Unidos), utilizando a plataforma MiSeq (Illumina, San Diego, California, USA). O processamento e a análise dos dados foram realizados no programa Mothur v.1.40.0 (SCHLOSS et al., 2009). As sequências pareadas (paired-end) foram sobrepostas a partir de parâmetros pré definidos no comando “make.contigs”. Foram removidas sequências muito curtas e muito longas, sequências com caracteres ambíguos e homopolímeros. As sequências foram alinhadas usando o banco de dados de referência do gene rRNA 16S SILVA (QUAST et al., 2013). Sequências quimeras foram detectadas e removidas usando UCHIME (EDGAR et al., 2011).

A classificação taxonômica foi realizada utilizando o mesmo banco de dados acima citado. A unidade taxonômica operacional (OTU) foi agrupada com ponto de corte de 97% de similaridade e a cobertura do sequenciamento de todas as amostras foi avaliada pelo “Good’s Coverage”. Para o cálculo dos índices de alfa diversidade foram utilizados os índices de Chao1 (estima a riqueza da comunidade), de Shannon e de Simpson (estimam a diversidade). A beta diversidade foi avaliada pela Análise de Coordenadas Principais (PCoA) baseada no índice de dissimilaridade de Bray-Curtis. As sequências brutas foram depositadas no banco de dados National Center for Biotechnology Information (NCBI) Sequence Read Archive (SRA) com número de acesso PRJNA 542277.

2.9.2 Ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) e pH fecais

Para a análise de AGCC, amostras de fezes (~500 mg) foram homogeneizadas em 1mL de água Milli-Q com o auxílio de vórtex e centrifugadas a 12000 xg por 10 minutos. O sobrenadante foi retirado e as demais etapas realizadas conforme descrito por (SIEGFRIED, R.; RÜCKEMANN, H.; STUMPF, 1984). Posteriormente, as

amostras foram analisadas por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), utilizando cromatógrafo Dionex Ultimate 3000 Dual acoplado a um detector de índice de refração (IR) Shodex RI-101 mantido a 40 °C, e coluna de troca iônica Phenomenex Rezex ROA, 300 x 7,8 mm mantida a 40 °C. A fase móvel utilizada foi ácido sulfúrico (H₂SO₄) 5 mM com fluxo de 0,7 mL/min. Para calibração da curva padrão foram utilizados os ácidos graxos acético, propiônico, butírico, isobutírico, valérico, isovalérico e o ácido crotônico como padrão interno.

Para a análise do pH fecal cerca de 1g de fezes foi homogeneizada em 10ml de água destilada, com auxílio de esferas de vidro em vórtex. Posteriormente, foi realizada a inserção do eletrodo de vidro do pHmetro. As medidas foram realizadas em duplicata.

2.10 Permeabilidade intestinal

Inicialmente, as voluntárias eliminaram toda urina residual. A seguir, ingeriram uma solução isomolar (200 mL) contendo 6,25g de lactulose e 2,0g de manitol e permaneceram por 6 h no laboratório. Durante este período, as voluntárias ingeriram cerca de 600 ml de água em intervalos regulares e toda urina produzida foi coletada e transferida para frascos contendo 12 mg de timerosal para impedir o crescimento bacteriano. As amostras foram armazenadas em freezer a -20°C até as análises. Para a análise, dois mililitros de urina foram levadas ao banho Maria por 10 minutos a 56°C e centrifugadas a 10.000 rpm por 7 min. Foram filtradas através de uma membrana microporosa polietersulfônica (PES) (0,22 µm x 13 mm) e cerca de 600 µL transferidos para vials. As excreções urinárias de lactulose e manitol foram avaliadas por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), Dionex Ultimate 3000 Dual acoplado a um detector de índice de refração (IR) Shodex RI-101 mantido a 40 °C, e coluna de troca iônica Phenomenex Rezex ROA, 300 x 7,8 mm mantida a 40 °C. A fase móvel utilizada foi ácido sulfúrico 5 mM com fluxo de 0,7 mL/min. Para a curva de normalização foram utilizados os padrões de lactulose e manitol. O volume total de urina coletado foi multiplicado pela concentração determinada de cada açúcar, obtendo-se assim a quantidade excretada na urina. A partir da dose de manitol e lactulose administradas foi realizado o cálculo da percentagem de lactulose (%L) e manitol (%M). Em seguida calculou-se a razão Lactulose/Manitol (L/M) (TEIXEIRA et al., 2012; VILELA et al., 2008).

2.11 Análise estatística

O presente estudo apresentou um poder estatístico de 99% (MERA; THOMPSON; PRASAD, 1998) para se detectar uma diferença de 50% no valor de LPS (BOUTAGY et al., 2017), considerando a média e desvio padrão ($0,56 \pm 0,26$ EU/ml) da variável apresentada pelas participantes deste estudo em condições basais. Adotamos a concentração de LPS como variável principal, já que esta é um indicador de endotoxemia metabólica que está associado a alterações no metabolismo e na microbiota intestinal. As análises estatísticas das variáveis antropométricas, do consumo alimentar, dos marcadores bioquímicos, da permeabilidade intestinal, além dos dados de pH fecal e concentrações de LPS e AGCC foram realizadas no SPSS, versão 22.0 para Windows (SPSS, Inc., Chicago, IL, EUA). Para estas variáveis os valores de outliers foram excluídos (inferior = quartil inferior - (1,5 x intervalo interquartil) e superior = quartil superior + (1,5 x intervalo interquartil). Diferenças intra grupo (9 semanas vs. baseline) foram avaliadas pelo teste t pareado ou Wilcoxon. Diferenças entre grupos foram avaliadas pelo teste de ANOVA ou Kruskal-Wallis, seguido do post hoc de Bonferroni. O nível α de 5% foi considerado significativo. A normalidade foi testada pelo teste de Shapiro-Wilk para todas as variáveis analisadas.

Os índices de alfa diversidade foram calculados utilizando o Mothur (SCHLOSS et al., 2009), diferenças intra e entre grupos foram analisadas pelo SPSS versão 22.0 para Windows (SPSS, Inc., Chicago, IL, EUA), utilizando o teste de Wilcoxon e Kruskal-Wallis respectivamente. Nas análises de beta diversidade para comparar a composição microbiana no baseline e após as 9 semanas de intervenção em cada grupo e entre os grupos, a nível de OTUs, filo e gênero, foi utilizada a Análise de Coordenadas Principais (PCoA) baseada na distância pareada de Bray-Curtis e análise não paramétrica de similaridades (ANOSIM) com número de permutação 10000 e auxílio do software PAST (HAMMER; HARPER; RYAN, 2001). Diferenças na abundância relativa de OTUs após o consumo de cada óleo foi avaliada pelo White's non-parametric t-teste e diferenças entre os grupos avaliadas pelo teste Kruskal-Wallis, utilizando o software STAMP v 2.1.3 (Statistical Analysis of Taxonomic and Functional Profiles Statistical Analysis of Taxonomic and Functional Profiles) (PARKS et al., 2014).

Para análises da abundância relativa a nível de filos e gêneros, o teste de Wilcoxon foi utilizado para detectar diferenças intra grupo após a intervenção, diferenças entre grupos foram analisadas pelo teste Kruskal-Wallis. Para visualização das diferenças foi

calculado o “fold change” (razão entre duas quantidades medidas em tempos diferentes, final/ baseline). Os valores de p foram ajustados utilizando a razão de falsas descobertas (False Discovery Rate, FDR) de Benjamini-Hochberg. Valores de $P < 0,05$ e $P_{FDR} < 0,05$ foram considerados significantes em todas as análises. As análises foram realizadas no programa R (versão 3.5.0), usando os pacotes phyloseq e DESeq2 (LOVE; HUBER; ANDERS, 2014; MCMURDIE; HOLMES, 2013).

3. RESULTADOS

3.1 Características dos participantes do estudo

Cinquenta e duas mulheres concluíram o protocolo de estudo e foram incluídas nas análises. As medidas antropométricas, a composição corporal e as variáveis bioquímicas foram similares entre os grupos no baseline (Tabela 2).

A média do percentual de gordura corporal das participantes no baseline foi de $46,83 \pm 0,58\%$. De acordo com o IMC, 53,85% (n=28) das participantes possuíam sobrepeso e 46,15%, obesidade (n=24). A média de idade das mulheres foi de $26,81 \pm 0,74$ anos e a média do perímetro da cintura foi de $96,88 \pm 1,04$ cm. Segundo os pontos de corte estabelecidos pela Sociedade Brasileira de Cardiologia (FALUDI et al., 2017), as participantes tinham concentração alta de colesterol (23,07%), triglicerídeos (9,61%) e LDL (7,69%). Nenhuma das voluntárias apresentava diabetes (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2016), sintomas de infecção e/ou inflamação, alterações do funcionamento do trato gastrointestinal ou alterações menstruais.

O consumo de calorias, carboidratos, proteínas, gordura total e fibras não diferiu significativamente entre os grupos durante o período de intervenção. Como esperado, devido a diferenças nos tipos de ácidos graxos ingeridos nas bebidas testes, o consumo de ácidos graxos saturados, monoinsaturados e poliinsaturados foi significantemente diferente entre os grupos (Figura suplementar 1).

3.2 Concentração de ácidos graxos de cadeia curta e pH fecal

O consumo de óleo de soja por 9 semanas reduziu a concentração do ácido graxo de cadeia curta isovalérico. Os demais ácidos graxos e pH fecal não diferiram ao final de cada intervenção e entre os grupos (Tabela 3).

Tabela 2. Características das participantes do estudo no baseline.

Características	Óleo de soja	Óleo de oliva extra virgem	Óleo de coco
Participantes (n)	17	19	16
Idade (anos)	26,18 ± 1,21	26,79 ± 1,10	27,50 ± 1,62
Peso (kg)	80,90 (16,92)	77,55 (11,95)	75,00 (15,95)
IMC (kg/m ²)	30,05 (5,78)	29,70 (5,31)	29,98 (5,99)
Percentual de gordura (%)	47,20 ± 0,74	46,93 ± 1,01	46,32 ± 1,25
Percentual de massa magra (%)	38,73 (2,63)	38,68 (5,77)	36,28 (7,25)
Perímetro da cintura (cm)	96,23 ± 1,65	97,57 ± 1,64	96,75 ± 2,21
Diâmetro Abdominal Sagital (cm)	19,70 ± 0,49	19,53 ± 0,43	19,50 ± 0,57
Insulina (pmol/L)	55,98 ± 3,82	63,68 ± 4,51	54,03 ± 5,97
Glicose (mmol/L)	4,74 ± 0,11	4,94 ± 0,09	4,86 ± 0,12
HOMA -IR	1,58 (0,79)	1,96 (1,18)	1,56 (1,04)
Colesterol total (mmol/L)	4,11 ± 0,20	4,49 ± 0,21	4,50 ± 0,14
HDL-c (mmol/L)	1,19 ± 0,07	1,28 ± 0,08	1,17 ± 0,05
LDL-c (mmol/L)	2,29 ± 0,15	2,58 ± 0,15	2,80 ± 0,11
Triglicérides (mmol/L)	1,01 ± 0,10	1,22 ± 0,12	1,01 ± 0,06
Ácido úrico (mg/dL)	3,52 ± 0,14	3,36 ± 0,19	3,69 ± 0,24
TGO (U/L)	34,00 (12,75)	29,00 (13,00)	33,00 (13,50)
TGP (U/L)	16,00 (6,50)	14,00 (8,00)	14,00 (9,00)

Valores são média ± EP ou mediana (intervalo interquartilico). Letras diferentes indicam significância estatística (ANOVA ou Kruskal-Wallis, $P > 0.05$, seguido do post hoc de Bonferroni). IMC: Índice de massa corporal; HDL-c: lipoproteína de alta densidade; LDL-c: lipoproteína de baixa densidade. TGO: aspartato amino transferase; TGP: alanina amino transferase.

3.3 Permeabilidade intestinal e concentração de LPS

Houve aumento da excreção urinária de lactulose em resposta ao consumo de óleo de oliva extra virgem e do óleo de coco, enquanto que o consumo de óleo de coco resultou no aumento da excreção de manitol ao final do experimento. O consumo de óleo de oliva extra virgem também aumentou a razão lactulose/manitol após as 9 semanas de intervenção. Não observamos alterações significantes na concentração de LPS entre os grupos (Tabela 4).

Tabela 3. Concentração de ácidos graxos e valores de pH ao baseline, após as 9 semanas de intervenção e valores de delta (9 semanas – baseline), de acordo com o grupo experimental.

		Óleo de soja (n=17)	P_{Intra}	Óleo de oliva extra virgem (n= 19)	P_{Intra}	Óleo de coco (n= 16)	P_{Intra}	P_{Inter}
Acético (g/L)	B	5,90 (2,98)	0,084	5,35 (2,24)	0,968	4,25 (1,68)	0,569	0,142
	F	5,57 (3,92)		5,62 (3,84)		4,51 (2,64)		0,455
	Δ	0,82 ± 0,41		-0,03 ± 0,44		0,16 ± 0,55		0,406
Propionico (g/L)	B	2,90 (2,24)	0,246	3,38 (1,82)	0,948	2,16 (1,88)	0,955	0,437
	F	3,27 (2,86)		3,42 (2,56)		2,71 (1,90)		0,264
	Δ	0,69 ± 0,50		0,10 ± 0,42		0,04 ± 0,46		0,552
Butírico (g/L)	B	4,53 (3,82)	0,535	4,86 (3,44)	0,058	2,56 (2,40)	0,878	0,240
	F	4,89 (4,99)		3,59 (4,01)		2,97 (4,48)		0,757
	Δ	0,44 ± 0,55		-1,01 ± 0,57		0,67 ± 0,82		0,085
Isobutírico (g/L)	B	0,69 (0,58)	0,925	0,58 (0,49)	0,215	0,94 (0,90)	0,638	0,668
	F	0,69 (0,46)		0,56 (0,66)		0,71 (0,78)		0,421
	Δ	-0,01 ± 0,13		-0,11 ± 0,11		-0,05 ± 0,22		0,890
Valérico (g/L)	B	1,04 (1,01)	0,379	0,91 (0,62)	0,420	0,80 (0,85)	0,374	0,733
	F	0,94 (1,11)		0,94 (0,77)		0,90 (1,09)		0,873
	Δ	-0,09 ± 0,18		-0,11 ± 0,13		0,17 ± 0,27		
Isovalérico (g/L)	B	0,58 ± 0,08	0,026	0,48 ± 0,07	0,416	0,48 ± 0,07	0,687	0,562
	F	0,39 ± 0,04		0,45 ± 0,06		0,49 ± 0,06		0,353
	Δ	-0,20 ± 0,07		0,10 ± 0,11		0,05 ± 0,13		0,114
Ácidos Graxos Totais (g/L)	B	14,25 ± 1,36	0,302	16,39 ± 1,05	0,464	12,59 ± 1,37	0,610	0,106
	F	15,84 ± 1,73		15,23 ± 1,58		13,56 ± 2,06		0,661
	Δ	1,59 ± 1,50		-1,16 ± 1,56		0,97 ± 1,87		0,448
pH	B	7,22 (0,59)	0,510	7,08 (0,62)	0,093	7,32 (0,25)	0,629	0,170
	F	7,23 (0,64)		7,24 (0,27)		7,20 (0,52)		0,942
	Δ	-0,23 ± 0,15		0,13 ± 0,13		-0,14 ± 0,13		0,143

Dados são média ± EP ou mediana (intervalo interquartilico). B: Baseline; F: Final (após 9 semanas). Valores de Δ (9 semanas – baseline). P_{Intra} – diferenças dentro do grupo (teste t pareado ou Wilcoxon, $P < 0.05$). P_{Inter} – diferenças entre os grupos (ANOVA ou Kruskal Wallis, $P < 0.05$). Números em negrito indicam diferenças significantes ($P < 0.05$).

Tabela 4. Variáveis de permeabilidade intestinal e concentração de LPS ao baseline, após as 9 semanas de intervenção e valores de delta (9 semanas – baseline), de acordo com o grupo experimental.

		Óleo de soja (n =17)	P_{Intra}	Óleo de oliva extra virgem (n= 19)	P_{Intra}	Óleo de coco (n= 16)	P_{Intra}	P_{Inter}
LPS (EU/ml)	B	0,52 (0,36)	0,087	0,60 (0,56)	0,053	0,39 (0,40)	0,875	0,112
	F	0,44 (0,27)		0,34 (0,54)		0,43 (0,18)		0,836
	Δ	-0,05 (0,24)		-0,15 (0,41)		0,03 (0,24)		0,246
Lactulose (%)	B	0,37 ± 0,10	0,167	0,52 ± 0,08	0,005	0,45 ± 0,07	0,001	0,672
	F	0,88 ± 0,27		1,33 ± 0,20		1,83 ± 0,29		0,305
	Δ	0,51 ± 0,33		0,81 ± 0,24		1,38 ± 0,31		0,137
Manitol (%)	B	4,09 ± 0,50	0,357	4,71 ± 0,38	0,289	4,06 ± 0,37	0,004	0,679
	F	5,39 ± 1,06		5,59 ± 0,66		7,82 ± 1,16		0,098
	Δ	1,31 ± 1,21		0,88 ± 0,80		3,76 ± 1,05		0,112
L/M	B	0,10 ± 0,04	0,287	0,15 ± 0,06	0,022	0,17 ± 0,08	0,158	0,830
	F	0,26 ± 0,06		0,23 ± 0,04		0,28 ± 0,08		0,731
	Δ	0,12 ± 0,10		0,17 ± 0,03		0,12 ± 0,05		0,713

Dados são média ± EP ou mediana (intervalo interquartilico). B: Baseline; F: Final (após 9 semanas). Valores de Δ (9 semanas – baseline). P_{Intra} – diferenças dentro do grupo (teste t pareado ou Wilcoxon, $P < 0.05$). P_{Inter} – diferenças entre os grupos (ANOVA ou Kruskal Wallis, $P < 0.05$). Números em negrito indicam diferenças significantes ($P < 0.05$).

3.4 Microbiota intestinal

Ao todo, foram geradas 3.540.737 sequências bacterianas, com um comprimento máximo de 302 pb, comprimento médio de 253 pb e comprimento mínimo de 151 pb em todas as amostras. Após a trimagem, filtragem e remoção de quimeras foram obtidas 2.541.747 sequências bacterianas. A quantidade média de sequências e OTUs que passaram pelas etapas de filtração, limpeza e normalização estão demonstradas na tabela suplementar 2. O “Good’s coverage” da comunidade bacteriana foi de 0,99 para todos os tratamentos, indicando cobertura suficiente para comparações de abundância entre as amostras e análises de comunidades.

As comunidades bacterianas não variaram quanto aos índices de alfa diversidade estimados por Shannon e Simpson. Entretanto, a riqueza microbiana, estimada pelo índice de Chao 1 aumentou após a intervenção no grupo que consumiu óleo de soja, enquanto que nos demais grupos permaneceu inalterada (Figura 2).

De acordo com as análises de beta diversidade, nenhuma mudança significativa entre as comunidades bacterianas foi observada em resposta ao consumo dos três tipos de óleos, a nível de OTU, filo e gênero, indicadas pela análise de PCoA e ANOSIM (Figura 3 A, B, C). Não observamos diferenças significantes, a nível de OTU, filo e gênero, ao compararmos os três grupos experimentais no baseline e ao final do experimento (Figura suplementar 2).

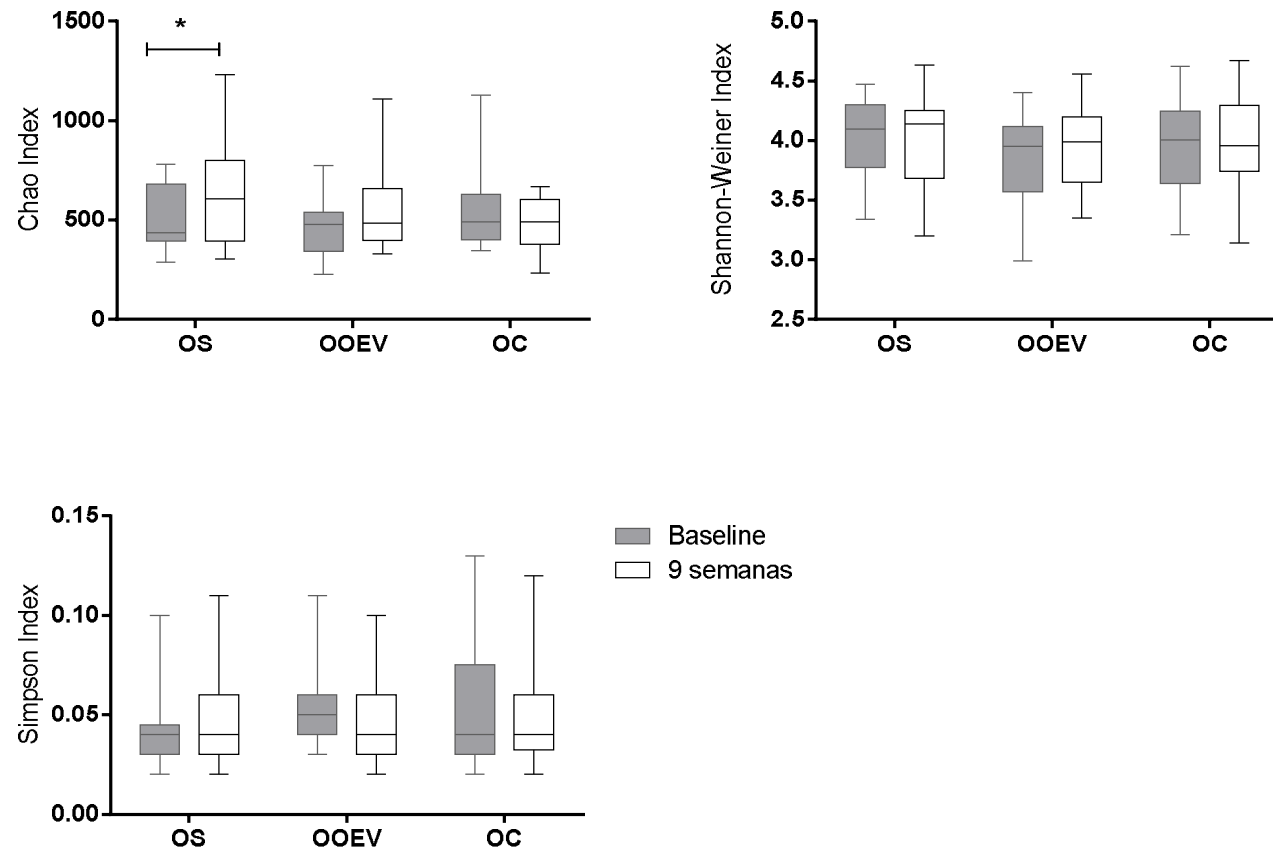
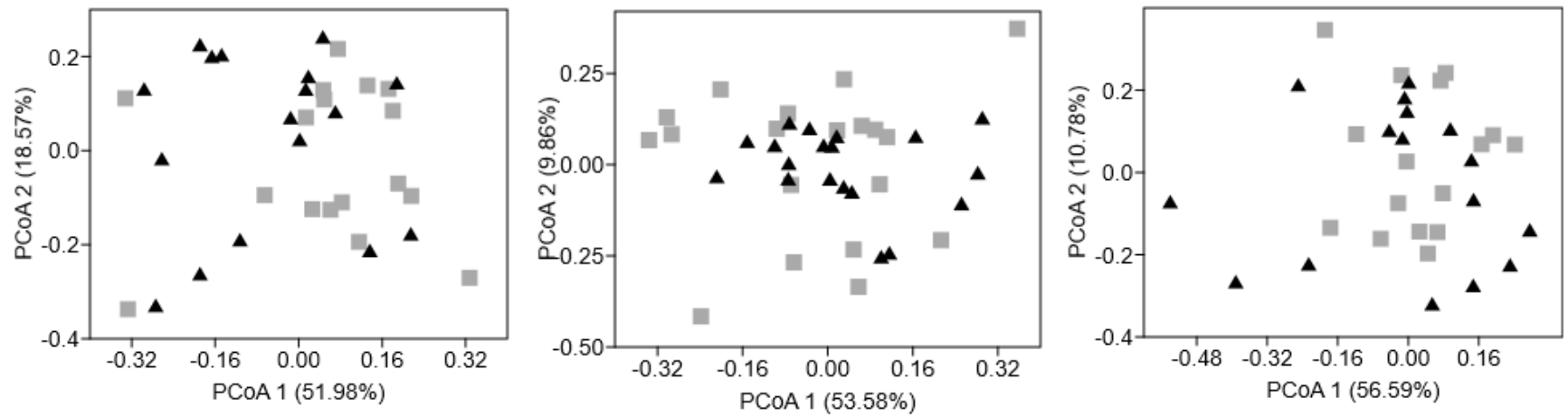
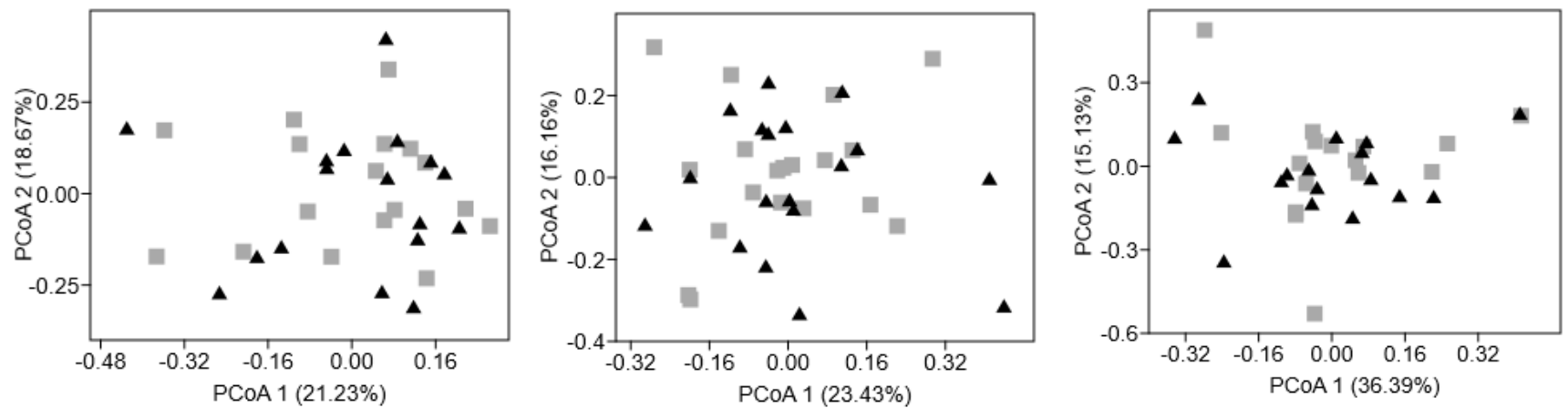


Figura 2. Alfa- diversidade estimada pelos índices de Chao 1, Shannon-Weiner e Simpson no baseline e após 9 semanas de ingestão de 25 ml de óleo de soja (OS) (n=17), óleo de oliva extra virgem (OOEV) (n=19) e óleo coco (OC) (n=16). * Diferenças significantes intra grupo (teste t pareado ou teste de Wilcoxon, $P < 0,05$). ** Diferença entre os grupos (ANOVA ou Kruskal Wallis, $P < 0,050$).

A) Filo Óleo de soja (ANOSIM p=0,055) Óleo de oliva extra virgem (ANOSIM p=0,480) Óleo de coco (ANOSIM p=0,700)



B) Gênero Óleo de soja (ANOSIM p=0,657) Óleo de oliva extra virgem (ANOSIM p=0,858) Óleo de coco (ANOSIM p=0,996)



C) OTU

Óleo de soja (ANOSIM p=0,989)

Óleo de oliva extra virgem (ANOSIM p=0,965)

Óleo de coco (ANOSIM p=0,992)

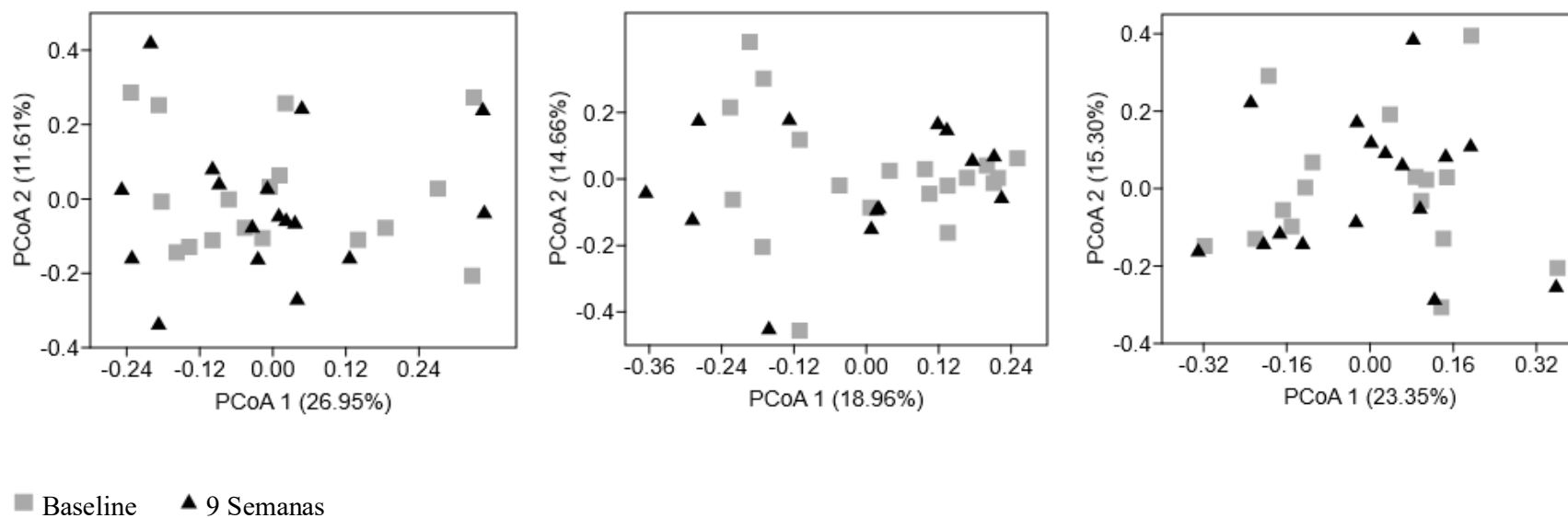


Figura 3. Mudanças na β -diversidade após a intervenção. A) Análise de Coordenadas Principais (PCoA) baseada na distância de Bray-Curtis a nível de Filo. B) Análise de Coordenadas Principais (PCoA) baseada na distância de Bray-Curtis a nível de Gênero. C) Análise de Coordenadas Principais (PCoA) baseada na distância de Bray-Curtis a nível de OTU. ■ Baseline ▲ 9 Semanas

Análises taxonômicas da comunidade bacteriana no grupo que consumiu óleo de soja revelaram a existência de 1927 OTUs que foram classificadas em 15 filos, 20 classes, 35 ordens, 66 famílias e 226 gêneros. Observamos 1865 OTUs, 16 filos, 23 classes, 38 ordens, 71 famílias e 243 gêneros no grupo que consumiu óleo de oliva extra virgem. Enquanto que no grupo que consumiu óleo de coco, foram identificadas 1645 OTUs, 15 filos, 22 classes, 38 ordens, 70 famílias e 225 gêneros. As OTUs que apresentaram abundância relativa $> 0,5\%$ após o consumo de cada óleo estão demonstradas na Tabela suplementar 3. No entanto, não foram observadas alterações significantes entre os grupos experimentais quanto às OTUs verificadas.

Os filos mais abundantes ($>0,1\%$) em todos os grupos experimentais antes e após a intervenção foram: Firmicutes, Bacteroidetes, Actinobacteria, Proteobacteria, Tenericutes, Verrucomicrobia e Lentisphaerae. Não observamos variações significantes na abundância relativa dos filos após o consumo por 9 semanas de nenhum dos óleos testados ou entre os óleos no baseline e ao final do experimento (Tabela 5). Ao considerarmos os dois filos predominantes, Firmicutes e Bacteroidetes, não observamos alterações significantes entre e após o consumo dos óleos. Como também não observamos alterações significantes na razão Firmicutes/ Bacteroidetes dentro e entre os grupos experimentais (Figura 4).

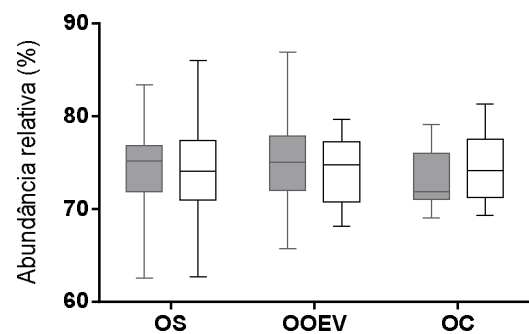
Em nível de gênero, algumas mudanças significantes foram observadas após o consumo dos três diferentes tipos de óleos. No entanto, após a retirada de falsos positivos, utilizando a razão de falsas descobertas (FDR) de Benjamini-Hochberg, essas diferenças não permaneceram significantes a nível α de 5% de significância estatística (Figura 5). Além disso, também não verificamos diferenças nas comparações entre os grupos (Tabela suplementar 4).

Tabela 5. Composição bacteriana em nível de filós ao baseline e após as 9 semanas de intervenção, de acordo com o grupo experimental.

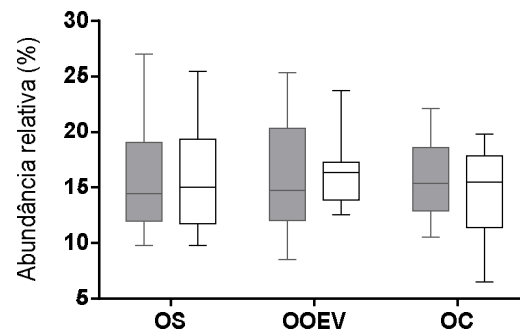
Filos (%)		Óleo de soja (n =17)	<i>P_{Intra}</i>	Óleo de oliva extra virgem (n= 19)	<i>P_{Intra}</i>	Óleo de coco (n= 16)	<i>P_{Intra}</i>	<i>P_{Inter}</i>
Firmicutes	B	74,51 ± 4,19	0,50	74,79 ± 5,35	0,75	73,21 ± 2,88	0,26	0,33
	F	73,45 ± 4,22		74,30 ± 3,46		74,51 ± 3,47		0,94
Bacteroidetes	B	15,53 ± 4,36	0,94	15,82 ± 4,74	0,79	15,97 ± 3,52	0,35	0,84
	F	15,66 ± 4,79		16,19 ± 2,77		14,71 ± 3,87		0,57
Actinobacteria	B	4,68 ± 1,47	0,30	4,54 ± 1,56	0,37	3,85 ± 1,50	0,93	0,18
	F	5,31 ± 1,99		4,07 ± 1,61		3,78 ± 2,14		0,06
Proteobacteria	B	2,69 ± 0,64	0,84	2,93 ± 0,67	0,84	3,00 ± 0,61	0,17	0,28
	F	2,75 ± 0,90		2,88 ± 0,84		2,63 ± 0,83		0,64
Tenericutes	B	1,09 ± 0,92	0,99	0,97 ± 1,08	0,83	1,97 ± 1,30	0,97	0,05
	F	1,09 ± 0,77		1,04 ± 1,00		1,94 ± 1,32		0,08
Verrucomicrobia	B	0,60 ± 0,54	0,50	0,36 ± 0,28	0,27	0,78 ± 0,75	0,50	0,28
	F	0,75 ± 0,64		0,56 ± 0,72		0,97 ± 0,82		0,16
Lentisphaerae	B	0,08 ± 0,13	0,49	0,08 ± 0,21	0,39	0,20 ± 0,41	0,80	0,61
	F	0,13 ± 0,22		0,13 ± 0,26		0,24 ± 0,29		0,21
Outros*	B	0,34 ± 0,04	-	0,20 ± 0,02	-	0,40 ± 0,04	-	-
	F	0,25 ± 0,02		0,34 ± 0,04		0,58 ± 0,07		-

Dados são média ± DP. B: Baseline; F: Final (após 9 semanas). *P_{Intra}* – diferenças dentro do grupo (Wilcoxon, $P < 0.05$). *P_{Inter}* – diferenças entre os grupos (Kruskal Wallis, $P < 0.05$). Números em negrito indicam diferenças significantes ($P < 0.05$). A categoria “Outros” corresponde aos filós com abundância relativa $< 0,1\%$, são eles: Fusobacteria, Spirochaetes, Elusimicrobia, Epsilonbacteraeota, Synergistetes, Kiritimatiellaeota, Acidobacteria, Planctomycetes, Cloacimonetes, Deferribacteres, Patescibacteria.

A) Firmicutes



B) Bacteroidetes



C) Razão Firmicutes/Bacteroidetes

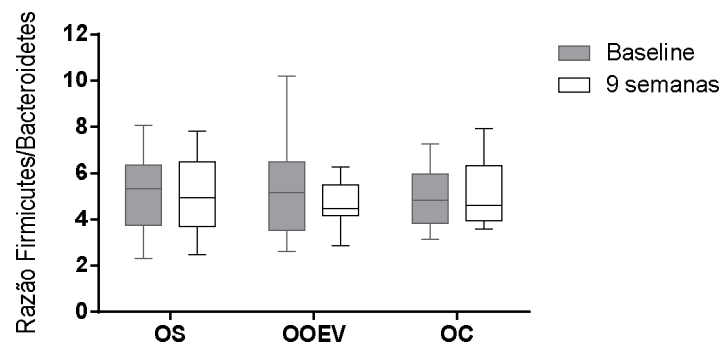


Figura 4. Abundância relativa dos gêneros Firmicutes e Bacteroidetes e razão Firmicutes/Bacteroidetes antes e após 9 semanas de ingestão de 25 ml de óleo de soja (OS) (n=17), óleo de oliva extra virgem (OOEV) (n=19) e óleo coco (OC) (n=16).

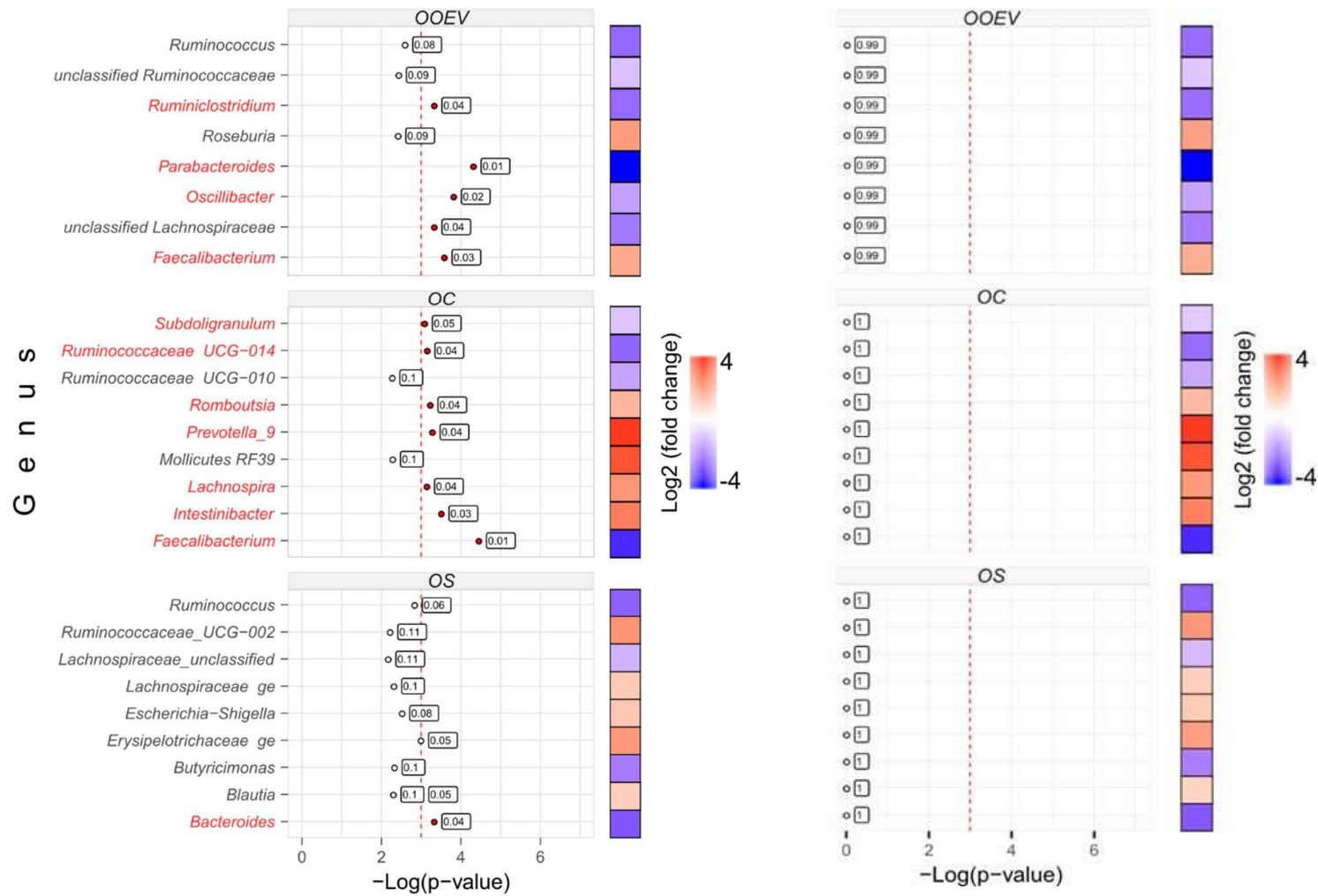


Figura 5. Mudanças na abundância relativa de gêneros após 9 semanas de ingestão de 25 ml de óleo de soja (OS) (n=17), óleo de oliva extra virgem (OOEV) (n=19) e óleo coco (OC) (n=16). Na primeira coluna números indicam significância estatística (**p-valor sem correção de FDR**), na segunda coluna números indicam significância estatística (**p-valor com correção de FDR**). O heatmap lateral tem sua coloração proporcional a taxa de variação (fold change) da abundância de cada gênero.

4. DISCUSSÃO

Ao nosso conhecimento, este é o primeiro ensaio clínico randomizado, paralelo e duplo cego, a investigar o efeito da ingestão de diferentes tipos de óleos, associados à dieta normolipídica e restrita em calorias sobre a microbiota e permeabilidade intestinal de mulheres com excesso de peso. Apesar do consumo de 25 ml /dia de óleo de soja (rico em PUFA), óleo de oliva extra virgem (rico em MUFA) ou óleo de coco (rico em SFA), durante 9 semanas, não ter induzido mudanças significantes na diversidade microbiana intestinal, observamos aumento da riqueza bacteriana no grupo que ingeriu óleo de soja. Além disso, apesar da integridade e a função absorptiva da mucosa intestinal terem sido alteradas após a ingestão de óleo de oliva extra virgem e óleo de coco, tais alterações não levaram a endotoxemia metabólica.

Nossos resultados sugerem que o consumo de diferentes tipos de óleos pode levar a alterações modestas na microbiota e permeabilidade intestinais em mulheres com excesso de peso. Os resultados obtidos em outros estudos de intervenção em humanos também sugerem que o efeito dos lipídios sobre a composição da microbiota intestinal pode ser modesto e até mesmo nulo (BLAEDEL et al., 2016; LANG et al., 2018; MORALES et al., 2016; RAJKUMAR et al., 2014). Por outro lado, autores de estudos observacionais sugerem uma forte associação da microbiota com o consumo de lipídios e fatores cardiometabólicos (ORG et al., 2017; RÖYTIÖ et al., 2017; SIMOES et al., 2013).

A digestão dos lipídios se inicia com ação de lipases linguais e gástricas, e é completada pela lipase pancreática. Após a hidrólise, os ácidos graxos livres podem ser absorvidos no intestino delgado (WANG et al., 2013). Estima-se que 7% dos lipídios ingeridos não são absorvidos e chegam ao intestino grosso (GABERT et al., 2011). Assim, em nosso estudo cerca de 1,75 ml devem ter atingido o cólon. Acreditamos que esta quantidade tenha sido insuficiente para promover alterações significantes na diversidade e abundância relativa bacteriana intestinal em nosso estudo. Contudo, observamos aumento na riqueza, estimada pelo índice de Chao 1, após a ingestão de óleo de soja, rico em PUFA.

Os ácidos graxos de cadeia longa (> 12 átomos de carbono) são digeridos e absorvidos mais lentamente que os de cadeia curta e média (YE et al., 2019). Além disso, tais ácidos graxos são incorporados aos quilomícrons e transportados pelo sistema linfático, enquanto os ácidos graxos de cadeia curta e média são absorvidos diretamente na circulação sistêmica (YE et al., 2019). Assim, é possível que o óleo de soja, no qual

predominam ácidos graxos de cadeia longa, tenha apresentado menor taxa de digestão e absorção e maior tempo de trânsito intestinal, possibilitando que os mesmos atingissem o colón, interagindo com a microbiota e aumentando a riqueza bacteriana.

Em contraste aos nossos resultados, o consumo de dieta contendo óleo de soja como sua principal fonte de lipídios e apresentando teor moderado de lipídios (30% gordura em relação a energia) por indivíduos saudáveis não afetou a riqueza Chao1 e Ace, após 6 meses de experimento (WAN et al., 2019). A ingestão de óleos ricos em MUFAs e PUFAs em dietas com 35% de gordura, por 30 dias por indivíduos com risco de síndrome metabólica também não exerceu impacto sobre os índices de alfa-diversidade (PU et al., 2016). Alterações no conteúdo de energia da dieta também podem modular mudanças na microbiota (HEINSEN et al., 2016). Assim, acreditamos que a associação da restrição calórica ao consumo de PUFAs seja responsável pelo aumento no número de espécies, podendo assim explicar a divergência no resultado que obtivemos em relação aos obtidos por Pu et al. (2016) e Wan et al. (2019).

Acredita-se que uma menor riqueza microbiana seja um dos fatores associados à maior adiposidade, resistência a insulina, dislipidemia e fatores inflamatórios (CHATELIER et al., 2013). Apesar da alfa diversidade sozinha não ser determinante dos benefícios da microbiota sobre o hospedeiro, o aumento da riqueza pode beneficiar a saúde (CHATELIER et al., 2013), além de estar associada a menor permeabilidade intestinal (MOKKALA; RO; EKBLAD, 2016). Apesar disto, no presente estudo, a permeabilidade permaneceu inalterada após a ingestão de óleo de soja, sugerindo que a composição bacteriana pode ter um maior impacto na função de barreira do que o número de espécies (riqueza) em si.

Os resultados de estudos anteriores sugerem que a ingestão de dietas hiperlipídicas pode aumentar a permeabilidade intestinal, facilitando a passagem de endotoxinas, ativando o sistema imune e levando a inflamação de baixo grau, associada à patogênese de várias doenças metabólicas (MOREIRA et al., 2012; ROHR et al., 2019; WISNIEWSKI; DOWDEN; CAMPBELL, 2019). No entanto, em nosso estudo, não observamos alterações nas concentrações de LPS após a ingestão de dieta normolipídica contendo os três diferentes tipos de ácidos graxos. Assim, acreditamos que prejuízos na permeabilidade por si não foram condição suficiente para gerar endotoxemia metabólica.

Após a ingestão de óleo de oliva extra virgem, observamos aumento da excreção de lactulose e da razão lactulose/manitol, refletindo comprometimento da integridade da

mucosa intestinal, com prejuízos no complexo de multiproteínas que formam as junções firmes, responsáveis pelo transporte pela via paracelular (WELLS et al., 2017). Aliado ao aumento na excreção de lactulose, observamos uma maior excreção de manitol após a ingestão de óleo de coco, indicando aumento na função absorptiva com diminuição da resistência das células epiteliais intestinais pela via transcelular (WELLS et al., 2017). Tais resultados sugerem que a ingestão de diferentes tipos de ácidos graxos por 9 semanas levou a diferentes respostas na permeabilidade intestinal em mulheres com excesso de peso.

Em estudo *in vitro*, os PUFAs foram capazes de melhorar a integridade da barreira epitelial, enquanto que o ácido graxo saturado palmítico (C16:0) foi ineficiente nesta função (WILLEMSSEN et al., 2008). Estes efeitos podem ser atribuídos à capacidade dos PUFAs em aumentar a formação das junções firmes e estimular a diferenciação e maturação das células intestinais (TEIXEIRA et al., 2014). Em animais, aumento na permeabilidade em resposta a ingestão de SFAs foi associado à maior abundância de bactérias sulfidogênicas como *Bilophila* (LAM et al., 2015). Enquanto que a ingestão de PUFAs n-3 foi relacionada à presença de bactérias que preservam a função de barreira, como as bifidobactérias (GRIFFITHS et al., 2004; PATTERSON et al., 2017).

Acreditamos na possibilidade da existência de uma ligação entre alterações da composição da microbiota induzida pela dieta e permeabilidade intestinal em nosso estudo. No entanto, a questão é como a composição da microbiota do cólon interfere na permeabilidade do intestino delgado ou vice versa. Acreditamos que o aumento na permeabilidade do intestino delgado observado em nosso estudo pode estar relacionado a alterações da composição da microbiota no local, as quais não foram identificadas pela análise de fezes realizada. A análise de amostras fecais, como fizemos em nosso estudo, refletem com maior eficácia as porções distais do intestino (KASTL JR et al., 2019; ZOETENDAL et al., 2012). Interessantemente, dando suporte à nossa ideia, a redução da abundância da classe Clostridia, comumente presente no intestino delgado, foi associada à redução da função de barreira e ao aumento da permeabilidade nesta porção intestinal (ARAÚJO et al., 2017).

Apesar da população de bactérias do intestino delgado ser menos diversa e abundante (duodeno 10^3 , jejuno 10^4 , ileo 10^7 , colon 10^{12} células/g) (SOMMER; BEACKHED, 2016), a interação entre tais bactérias e o hospedeiro parece ser essencial para regulação dos processos de digestão e absorção dos lipídios em animais

(MARTINEZ-GURYN et al., 2018). Em humanos, o papel das bactérias presentes no intestino delgado tem sido negligenciado, sendo escassos os estudos sobre esse tópico (CHANG; MARTINEZ-GURYN, 2019). São necessárias mais investigações sobre os mecanismos e interações microbiota-hospedeiro no intestino delgado e sua relação com o metabolismo de lipídios e o excesso de peso (KASTL JR et al., 2019).

Em nosso estudo verificamos que o consumo de óleo de soja reduziu a concentração do ácido graxo isovalérico. Provavelmente, as espécies bacterianas presentes tiveram uma fermentação colônica menos eficiente e menor produção de AGCC. Possíveis alterações em bactérias proteolíticas, como *Bacteroides* e *Clostridium* podem estar associadas com a produção de ácidos graxos de cadeia curta ramificados como o isovalérico (GRANADO-SERRANO et al., 2019).

Sugere-se ainda que a influência da microbiota no metabolismo pode residir na presença de bactérias menos abundantes (CUEVAS-SIERRA et al., 2019). Além disso, estudos relatam que alterações na microbiota podem ser ocultadas por altas variações interindividuais, principalmente em intervenções dietéticas com quantidades moderadas de nutrientes (LANG et al., 2018; WAN et al., 2019). Outra possível explicação para alterações modestas na microbiota intestinal observadas no presente estudo, é a ação antimicrobiana e anti-inflamatória exercida pelos ácidos graxos (COELHO; CÂNDIDO; ALFENAS, 2018). Em estudo *in vitro* realizado pelo nosso grupo de pesquisa observamos que o óleo de coco, teve grande atividade antibacteriana, mesmo em concentrações muito baixas. A exposição aos ácidos graxos presentes no óleo de coco, principalmente o láurico, foi capaz de inibir o crescimento de bactérias relacionadas ao excesso de peso (dados ainda não publicados). Ácidos graxos de cadeia longa, MUFAs e PUFAs, entre eles o alfa-linolênico (C-18: 3), linoleico (C-18: 2) e oleico (C-18: 1) também podem afetar a sobrevivência bacteriana (COELHO; CÂNDIDO; ALFENAS, 2018; JACKMAN et al., 2016).

Efeitos significantes dos lipídios na microbiota intestinal tem sido relatados em resposta à ingestão de lipídios acima do recomendado (> 35% de energia proveniente de gorduras) associada à menor ingestão de carboidratos (FAVA et al., 2012; WAN et al., 2019), ou em resposta a tratamentos dietéticos insustentáveis (69,5% de lipídios em relação a energia) aplicados por curto período de tempo (10 dias) (DAVID et al., 2014). No entanto, em nosso estudo utilizamos estratégia nutricional comumente usada no tratamento do excesso de peso. Os grupos experimentais receberam dietas isocalóricas, normolipídicas, restritas em calorias, com teores similares de macronutrientes e fibras,

variando apenas no tipo de ácido graxo ingerido. Portanto, os resultados foram obtidos sem que a proporção da ingestão de outros nutrientes fosse alterada, principalmente daqueles que são metabolizados primariamente pelas bactérias intestinais, como os carboidratos.

Outro ponto forte de nosso estudo é que utilizamos método de sequenciamento de Nova Geração (Next Generation Sequencing) baseado no sequenciamento do gene rRNA 16S, permitindo uma avaliação mais completa e abrangente da microbiota intestinal. Além disso, conduzimos um ensaio clínico randomizado e duplo-cego, com critérios de seleção dos participantes rigorosos e dupla digitação dos dados. O consumo do tipo de óleo testado, a adesão à dieta prescrita e o nível de atividade física exercido pelas participantes foram bem controlados.

Por outro lado, a análise de amostras fecais que realizamos pode não refletir a microbiota predominante em todas as partes do intestino, sendo associada principalmente a comunidades colônicas. Apesar de mais invasiva e de difícil acesso, a coleta de material do intestino delgado teria sido desafiadora e interessante para se obter uma análise da microbiota em todo o intestino. A determinação fecal das concentrações dos ácidos graxos saturados, mono e poliinsaturados que compõem os óleos testados seria um importante indicador do nível de absorção dos mesmos. Além disso, como o método utilizado não nos permitiu chegar a classificação das bactérias a nível de espécie, pequenas alterações taxonômicas podem não ter sido identificadas. É possível ainda que as 9 semanas de intervenção não tenham sido suficientes para observarmos os efeitos dos óleos testados sobre a microbiota. Por outro lado, em um estudo com animais ficou claro o efeito do tipo de óleo sobre a microbiota com 5 semanas de intervenção (ABULIZI et al., 2019).

5. CONCLUSÃO

O consumo diário de 25 ml de óleos com diferentes tipos de ácidos graxos associado à dieta normolipídica e restrita em calorias não alterou a diversidade e a abundância relativa de bactérias intestinais. No entanto, o consumo de óleo de soja, fonte de PUFAs, aumentou a riqueza e reduziu a concentração do ácido graxo de cadeia curta isovalérico. A permeabilidade paracelular e transcelular foram aumentadas após a ingestão de óleo de oliva extra virgem e óleo de coco. Porém, as concentrações de LPS permaneceram inalteradas, configurando ausência de endotoxemia metabólica.

Assim, a ingestão de dieta normolipídica, contendo diferentes tipos de ácidos graxos, associada à dieta restrita em calorias afetou de forma modesta a microbiota e permeabilidade intestinais em mulheres com excesso de peso. O conhecimento dos efeitos de óleos, fontes de diferentes tipos de ácidos graxos (SFAs, MUFAs e PUFAs) sobre a composição do microbioma e permeabilidade intestinal em indivíduos com excesso peso pode ter implicações terapêuticas potenciais para a manutenção da saúde humana.

TABELAS SUPLEMENTARES

Tabela suplementar 1. Composição nutricional das dietas prescritas de acordo com o grupo experimental.

Nutrientes	Óleo de soja (n=17)	Óleo de oliva extra virgem (n= 19)	Óleo de coco (n= 16)
Calorias (kcal)	1916,19 ± 56,85	1888,28 ± 36,14	1869,40 ± 67,25
Proteínas (g)	89,08 ± 3,65	89,41 ± 2,74	91,55 ± 3,69
Proteínas (%E)	18,60 ± 0,50	19,01 ± 0,58	19,71 ± 0,73
Carboidratos (g)	239,39 ± 9,21	230,60 ± 6,00	231,38 ± 9,90
Carboidratos (%E)	49,78 ± 0,62	48,81 ± 0,72	49,38 ± 0,69
Lipídios totais (g)	66,92 ± 1,54	67,58 ± 2,21	64,20 ± 2,59
Lipídios totais (%E)	31,62 ± 0,63	32,18 ± 0,78	30,91 ± 0,55
Colesterol (mg)	172,42 ± 7,56	182,19 ± 8,17	176,81 ± 8,13
Fibras (g)	19,50 ± 1,10	22,50 ± 1,06	21,46 ± 1,49

Os dados são média ± EP. Informação nutricional obtida a partir de tabelas de composição nutricional (Tabela Brasileira de Composição de Alimentos – TACO). O cálculo das dietas prescritas foi realizado por meio do software DietPro (version 5.2i, Agromídia, Viçosa, Brasil). %E: percentual de energia total. Não foi observado diferenças significantes entre os grupos (P > 0,05, Anova).

Tabela suplementar 2. Dados de sequenciamento no baseline e após as 9 semanas de intervenção, de acordo com o grupo experimental.

Tratamento		Good's coverage	Sequencias Brutas	Após filtragem e limpeza		Após normalização	
			Reads	Reads	OTUs	Reads	OTUs
Óleo de soja	B	0.997 ± 0.001	38.358 ± 1.080	26.979 ± 8.163	524 ± 98	4.678 ± 32	281 ± 58
	F	0.996 ± 0.001	30.189 ± 8.088	21.651 ± 5.998	460 ± 81	4.716 ± 40	306 ± 62
Óleo de oliva	B	0.997 ± 0.001	34.425 ± 11.914	25.233 ± 8.311	459 ± 100	4.689 ± 30	258 ± 54
	F	0.996 ± 0.001	34.907 ± 10.766	25.005 ± 7.901	489 ± 80	4.696 ± 33	283 ± 61
Óleo de coco	B	0.997 ± 0.001	33.327 ± 10.042	23.623 ± 7.801	492 ± 61	4.687 ± 39	294 ± 63
	F	0.996 ± 0.003	32.808 ± 10.391	23.909 ± 7.797	475 ± 104	4.693 ± 16	286 ± 64

Valores representados como média ± desvio padrão. B: baseline; F: final

Tabela Suplementar 3. OTUs mais abundantes (abundância > 0.5%, após 9 semanas), no baseline e após as 9 semanas de intervenção, de acordo com o grupo experimental.

Óleo de soja (n =17)					
OTU	Taxonomia*	Baseline (%)	9 semanas (%)	p-values	
Otu00001	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae;Faecalibacterium;	8.58 ±7.70	7.81±7.64	0.78	
Otu00002	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Bacteroidaceae;Bacteroides;	3.94±2.40	3.98±2.98	0.96	
Otu00008	Bacteria;Actinobacteria;Actinobacteria;Bifidobacteriales;Bifidobacteriaceae;Bifidobacterium;	2.82±4.06	3.41±5.11	0.71	
Otu00011	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae;Faecalibacterium;	1.73±2.66	2.80±4.71	0.51	
Otu00003	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae;Agathobacter;	2.72±2.85	2.78±1.97	0.97	
Otu00015	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Prevotellaceae;Prevotella_9;	1.41±5.56	2.58±7.15	0.53	
Otu00012	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae;Ruminococcus_2;	2.77±4.05	2.35±4.02	0.77	
Otu00010	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Bacteroidaceae;Bacteroides;	1.60±0.97	2.11±1.52	0.25	
Otu00007	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae;Subdoligranulum;	2.73±2.79	1.98±1.51	0.36	
Otu00018	Bacteria;Verrucomicrobia;Verrucomicrobiae;Verrucomicrobiales;Akkermansiaceae;Akkermansia;	0.59±0.94	1.79±2.74	0.09	
Otu00013	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae;Subdoligranulum;	1.36±1.40	1.72±1.77	0.53	
Otu00006	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae;Ruminococcus_2;	2.41±3.50	1.60±1.89	0.43	
Otu00028	Bacteria;Actinobacteria;Actinobacteria;Bifidobacteriales;Bifidobacteriaceae;Bifidobacterium;	1.14±2.40	1.35±3.16	0.83	
Otu00009	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae;Blautia;	2.08±1.74	1.18±0.97	0.08	
Otu00005	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Prevotellaceae;Prevotella_9;	0.66±1.17	1.17±2.87	0.62	
Otu00016	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae;Ruminococcaceae_UCG-002;	1.27±1.22	1.15±1.17	0.79	
Otu00033	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae;Ruminococcaceae_UCG-002;	0.99±0.99	1.09±1.72	0.86	
Otu00063	Bacteria;Actinobacteria;Actinobacteria;Bifidobacteriales;Bifidobacteriaceae;Bifidobacterium;	0.48±1.44	1.07±2.60	0.46	
Otu00004	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae;Faecalibacterium;	0.51±1.25	1.02±2.78	0.52	
Otu00026	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Rikenellaceae;Alistipes;	0.84±0.92	0.99±0.86	0.64	
Otu00017	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae;Ruminococcaceae_ge;	1.19±2.20	0.91±2.23	0.72	
Otu00014	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Bacteroidaceae;Bacteroides;	0.83±1.55	0.91±2.33	0.91	
Otu00031	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae;Lachnospiraceae_ge;	1.07±1.28	0.90±0.86	0.68	
Otu00059	Bacteria;Tenericutes;Mollicutes;Mollicutes_RF39;Mollicutes_RF39_fa;Mollicutes_RF39_ge;	0.70±1.91	0.86±2.85	0.80	
Otu00054	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae;Faecalibacterium;	0.14±0.40	0.86±2.36	0.25	
Otu00034	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Tannerellaceae;Parabacteroides;	0.78±0.60	0.85±0.81	0.82	

Otu00025	Bacteria;Firmicutes;Erysipelotrichia;Erysipelotrichales;Erysipelotrichaceae;Holdemanelia;	1.20±2.21	0.82±1.07	0.55
Otu00021	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae;Dorea;	1.05±0.92	0.79±0.64	0.40
Otu00027	Bacteria;Firmicutes;Erysipelotrichia;Erysipelotrichales;Erysipelotrichaceae;Catenibacterium;	0.66±1.08	0.79±1.18	0.76
Otu00051	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Clostridiales_unclassified;Clostridiales_unclassified;	0.93±1.64	0.77±1.61	0.80
Otu00022	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Peptostreptococcaceae;Romboutsia;	1.28±2.14	0.74±0.92	0.41
Otu00029	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Bacteroidaceae;Bacteroides;	1.24±1.77	0.73±1.41	0.40
Otu00020	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae;Roseburia;	0.72±0.84	0.72±0.75	0.99
Otu00019	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae;Blautia;	1.54±1.94	0.71±0.51	0.07
Otu00024	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae;Fusicatenibacter;	0.79±0.67	0.65±0.50	0.52
Otu00040	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae;Lachnospiraceae_ge;	0.83±0.92	0.60±0.42	0.35
Otu00035	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae;Blautia;	0.61±0.49	0.56±0.64	0.86
Otu00062	Bacteria;Firmicutes;Negativicutes;Selenomonadales;Acidaminococcaceae;Phascolarctobacterium;	0.33±0.62	0.56±0.81	0.36
Otu00085	Bacteria;Firmicutes;Negativicutes;Selenomonadales;Veillonellaceae;Dialister;	0.34±1.34	0.56±2.22	0.49
Otu00056	Bacteria;Actinobacteria;Coriobacteriia;Coriobacteriales;Coriobacteriaceae;Collinsella;	0.61±0.66	0.55±0.52	0.81
Otu00023	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae;Lachnospiraceae_NK4A136_group;	0.41±0.48	0.54±0.60	0.51
Otu00048	Bacteria;Firmicutes;Negativicutes;Selenomonadales;Veillonellaceae;Dialister;	0.40±0.94	0.53±1.24	0.68
Otu00042	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae;Blautia;	0.99±1.78	0.50±0.52	0.37

Óleo de oliva extra virgem (n= 19)

OTU	Taxonomia*	Baseline (%)	9 semanas (%)	p-values
Otu00001	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae;Faecalibacterium;	8.28±6.90	7.08±6.99	0.63
Otu00004	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae;Faecalibacterium;	3.70±6.19	5.80±8.55	0.43
Otu00002	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Bacteroidaceae;Bacteroides;	3.93±4.22	4.50±3.02	0.65
Otu00003	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae;Agathobacter;	5.27±3.39	3.71±2.36	0.11
Otu00005	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Prevotellaceae;Prevotella_9;	3.92±6.99	2.75±5.08	0.56
Otu00006	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae;Ruminococcus_2;	2.92±4.19	2.21±3.81	0.61
Otu00010	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Bacteroidaceae;Bacteroides;	1.30±1.06	1.92±1.61	0.20
Otu00009	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae;Blautia;	1.85±1.31	1.78±1.76	0.91
Otu00007	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae;Subdoligranulum;	2.99±3.83	1.55±1.52	0.15
Otu00046	Bacteria;Verrucomicrobia;Verrucomicrobiae;Verrucomicrobiales;Akkermansiaceae;Akkermansia;	0.11±0.25	1.46±4.64	0.28
Otu00013	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae;Subdoligranulum;	1.47±1.13	1.43±1.19	0.90

Otu00012	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae;Ruminococcus_2;	0.79±2.35	1.42±2.52	0.44
Otu00023	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae;Lachnospiraceae_NK4A136_group;	1.11±1.37	1.36±1.43	0.60
Otu00008	Bacteria;Actinobacteria;Actinobacteria;Bifidobacteriales;Bifidobacteriaceae;Bifidobacterium;	1.65±2.18	1.24±1.58	0.49
Otu00014	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Bacteroidaceae;Bacteroides;	0.81±1.26	1.15±2.00	0.59
Otu00011	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae;Faecalibacterium;	1.38±2.73	1.03±1.27	0.72
Otu00020	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae;Roseburia;	1.39±1.50	1.00±0.99	0.37
Otu00032	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae;Faecalibacterium;	0.92±1.69	0.98±1.53	0.90
Otu00022	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Peptostreptococcaceae;Romboutsia;	0.77±0.69	0.97±1.50	0.68
Otu00048	Bacteria;Firmicutes;Negativicutes;Selenomonadales;Veillonellaceae;Dialister;	0.98±2.29	0.93±2.20	0.95
Otu00016	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae;Ruminococcaceae_UCG-002;	1.33±1.34	0.89±0.75	0.25
Otu00017	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae;Ruminococcaceae_ge;	1.20±1.54	0.87±1.54	0.51
Otu00021	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae;Dorea;	0.83±0.54	0.85±0.54	0.91
Otu00039	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae;Lachnospiraceae_unclassified;	0.52±0.75	0.84±1.19	0.36
Otu00019	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae;Blautia;	0.80±0.56	0.79±0.73	0.95
Otu00029	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Bacteroidaceae;Bacteroides;	0.50±0.67	0.77±1.25	0.44
Otu00030	Bacteria;Firmicutes;Negativicutes;Selenomonadales;Veillonellaceae;Megamonas;	1.17±2.82	0.76±2.04	0.63
Otu00043	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae;Butyrivibrio;	0.50±1.77	0.70±1.44	0.73
Otu00024	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae;Fusicatenibacter;	0.96±0.84	0.69±0.72	0.30
Otu00018	Bacteria;Verrucomicrobia;Verrucomicrobiae;Verrucomicrobiales;Akkermansiaceae;Akkermansia;	0.84±2.67	0.69±1.59	0.89
Otu00033	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae;Ruminococcaceae_UCG-002;	0.32±0.44	0.67±0.90	0.13
Otu00077	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae;Ruminococcaceae_UCG-014;	0.23±0.85	0.66±1.67	0.38
Otu00026	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Rikenellaceae;Alistipes;	0.62±0.69	0.66±0.54	0.86
Otu00035	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae;Blautia;	0.63±0.53	0.64±0.56	0.97
Otu00037	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae;Roseburia;	0.66±1.04	0.63±0.94	0.93
Otu00066	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae;Lachnospira;	0.40±0.77	0.62±0.86	0.44
Otu00028	Bacteria;Actinobacteria;Actinobacteria;Bifidobacteriales;Bifidobacteriaceae;Bifidobacterium;	0.22±0.80	0.62±2.09	0.67
Otu00057	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae;Ruminococcus_1;	0.45±0.61	0.58±0.91	0.67
Otu00089	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae;Roseburia;	0.31±0.69	0.57±1.74	0.75
Otu00079	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae;Lachnospiraceae_unclassified;	0.23±0.31	0.57±0.87	0.11
Otu00036	Bacteria;Proteobacteria;Gammaproteobacteria;Enterobacteriales;Enterobacteriaceae;Escherichia-Shigella;	0.71±0.82	0.57±0.71	0.57
Otu00051	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Clostridiales_unclassified;Clostridiales_unclassified;	0.27±0.85	0.55±1.69	0.60

Otu00027	Bacteria;Firmicutes;Erysipelotrichia;Erysipelotrichales;Erysipelotrichaceae;Catenibacterium;	0.56±1.32	0.53±1.39	0.95
Otu00093	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Bacteroidaceae;Bacteroides;	0.23±0.78	0.51±1.31	0.39
Otu00085	Bacteria;Firmicutes;Negativicutes;Selenomonadales;Veillonellaceae;Dialister;	0.34±1.44	0.51±1.85	0.63
Otu00044	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae;Lachnospiraceae_ge;	0.41±0.48	0.50±0.88	0.74

Óleo de coco (n= 16)

OTU	Taxonomia*	Baseline (%)	9 semanas (%)	p-values
Otu00002	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Bacteroidaceae;Bacteroides;	4.40±4.90	4.41±4.87	0.99
Otu00001	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae;Faecalibacterium;	3.76±4.61	4.04±6.10	0.89
Otu00018	Bacteria;Verrucomicrobia;Verrucomicrobiae;Verrucomicrobiales;Akermansiaceae;Akermansia;	1.60±2.95	3.36±5.81	0.33
Otu00005	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Prevotellaceae;Prevotella_9;	4.75±8.78	3.09±5.43	0.58
Otu00008	Bacteria;Actinobacteria;Actinobacteria;Bifidobacteriales;Bifidobacteriaceae;Bifidobacterium;	2.90±5.12	2.80±4.88	0.95
Otu00003	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae;Agathobacter;	3.22±2.82	2.65±2.33	0.52
Otu00004	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae;Faecalibacterium;	2.80±3.75	2.48±3.05	0.84
Otu00007	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae;Subdoligranulum;	1.65±1.63	2.32±2.29	0.39
Otu00015	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Prevotellaceae;Prevotella_9;	1.80±6.69	2.08±8.01	0.95
Otu00011	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae;Faecalibacterium;	0.73±0.77	2.06±3.76	0.26
Otu00027	Bacteria;Firmicutes;Erysipelotrichia;Erysipelotrichales;Erysipelotrichaceae;Catenibacterium;	1.32±2.05	1.65±2.69	0.73
Otu00009	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae;Blautia;	1.60±1.33	1.46±1.33	0.75
Otu00010	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Bacteroidaceae;Bacteroides;	1.38±1.24	1.40±1.39	0.98
Otu00006	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae;Ruminococcus_2;	2.04±3.03	1.36±1.89	0.49
Otu00017	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae;Ruminococcaceae_ge;	0.78±1.20	1.11±1.81	0.58
Otu00012	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae;Ruminococcus_2;	1.62±2.79	1.10±2.36	0.57
Otu00202	Bacteria;Spirochaetes;Spirochaetia;Spirochaetales;Spirochaetaceae;Treponema_2;	0.14±0.43	1.02±2.97	0.34
Otu00028	Bacteria;Actinobacteria;Actinobacteria;Bifidobacteriales;Bifidobacteriaceae;Bifidobacterium;	0.58±1.11	0.97±2.54	0.78
Otu00016	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae;Ruminococcaceae_UCG-002;	0.91±0.62	0.97±1.10	0.90
Otu00043	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae;Butyrivibrio;	0.96±1.88	0.94±1.48	0.98
Otu00014	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Bacteroidaceae;Bacteroides;	1.43±2.35	0.94±1.53	0.50
Otu00019	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae;Blautia;	0.63±0.35	0.93±1.22	0.42
Otu00050	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae;Coprococcus_2;	0.66±1.22	0.81±1.14	0.73
Otu00026	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Rikenellaceae;Alistipes;	0.74±0.88	0.79±0.98	0.90

Otu00024	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae;Fusicatenibacter;	0.65±0.66	0.79±0.95	0.66
Otu00020	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae;Roseburia;	0.83±1.18	0.76±0.86	0.84
Otu00047	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Christensenellaceae;Christensenellaceae_R-7_group;	0.47±0.80	0.75±0.96	0.38
Otu00039	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae;Lachnospiraceae_unclassified;	0.89±1.65	0.74±1.31	0.79
Otu00070	Bacteria;Verrucomicrobia;Verrucomicrobiae;Verrucomicrobiales;Akkermansiaceae;Akkermansia;	2.05±7.92	0.72±2.77	0.47
Otu00033	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae;Ruminococcaceae_UCG-002;	0.66±0.72	0.69±0.78	0.90
Otu00145	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Rikenellaceae;Alistipes;	0.38±1.07	0.64±2.43	0.89
Otu00155	Bacteria;Fusobacteria;Fusobacteriia;Fusobacteriales;Fusobacteriaceae;Fusobacterium;	0.06±0.23	0.64±2.48	0.50
Otu00051	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Clostridiales_unclassified;Clostridiales_unclassified;	0.43±0.77	0.62±0.94	0.55
Otu00073	Bacteria;Firmicutes;Bacilli;Lactobacillales;Lactobacillaceae;Lactobacillus;	0.99±2.54	0.60±1.62	0.65
Otu00021	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae;Dorea;	0.59±0.35	0.59±0.39	0.96
Otu00038	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae;Anaerostipes;	0.47±0.52	0.59±0.79	0.68
Otu00040	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae;Lachnospiraceae_ge;	0.39±0.30	0.55±0.50	0.32
Otu00067	Bacteria;Tenericutes;Mollicutes;Mollicutes_RF39;Mollicutes_RF39_fa;Mollicutes_RF39_ge;	0.63±1.13	0.53±0.74	0.78
Otu00192	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Prevotellaceae;Alloprevotella;	0.27±1.05	0.53±2.06	0.71
Otu00068	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Bacteroidaceae;Bacteroides;	0.42±0.57	0.53±0.76	0.68
Otu00023	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae;Lachnospiraceae_NK4A136_group;	0.36±0.37	0.53±0.37	0.22
Otu00042	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae;Blautia;	0.31±0.21	0.51±0.43	0.11

Dados são média ± DP. p-values – diferenças dentro do grupo (White's non-parametric t-test , $P < 0.05$). Números em negrito indicam diferenças significantes (p-values < 0.05). *A taxonomia para cada OTU é dada na seguinte ordem: reino, filo, classe, ordem, família e gênero.

Tabela Suplementar 4. Abundância relativa de gêneros (abundância > 0.2%) após as 9 semanas de intervenção, de acordo com o grupo experimental.

Gêneros (%)*	Óleo de soja (n=17)	Óleo de oliva extra virgem (n= 19)	Óleo de coco (n= 16)	P_{Inter}	P_{FDR}
<i>Bacteroides</i>	6.38 ± 2.36	7.67 ± 3.04	5.50 ± 3.19	0.10	1.0
<i>Parabacteroides</i>	2.74 ± 2.12	1.67 ± 1.00	1.89 ± 1.48	0.24	0.96
<i>Blautia</i>	2.03 ± 0.95	2.24 ± 0.89	2.00 ± 0.74	0.51	1.0
<i>Bifidobacterium</i>	2.55 ± 1.50	1.81 ± 1.32	1.70 ± 1.50	0.15	1.0
<i>Ruminococcaceae_ge</i>	1.38 ± 0.72	1.34 ± 0.77	1.73 ± 0.99	0.48	1.0
<i>Ruminococcus_2</i>	1.38 ± 0.85	1.36 ± 1.00	1.23 ± 0.78	0.93	1.0
<i>Christensenellaceae_R-7_group</i>	2.20 ± 1.23	1.83 ± 1.06	2.14 ± 1.13	0.42	0.95
<i>Subdoligranulum</i>	2.17 ± 1.20	2.21 ± 1.13	2.20 ± 1.06	0.95	1.0
<i>Ruminococcaceae_UCG-005</i>	1.17 ± 0.75	1.14 ± 0.60	1.69 ± 0.67	0.03	1.0
<i>Mollicutes_RF39_ge</i>	1.05 ± 0.72	1.00 ± 0.99	1.86 ± 1.28	0.08	0.85
<i>Ruminococcaceae_UCG-014</i>	1.00 ± 0.68	1.18 ± 1.01	1.64 ± 0.91	0.13	1.0
<i>Alistipes</i>	2.26 ± 0.59	1.85 ± 0.76	1.98 ± 1.08	0.18	1.0
<i>Dialister</i>	0.56 ± 0.74	0.79 ± 0.73	0.46 ± 0.49	0.33	0.98
<i>Catenibacterium</i>	0.45 ± 0.54	0.43 ± 0.66	0.56 ± 0.53	0.37	0.96
<i>Ruminococcus_1</i>	1.01 ± 0.54	1.17 ± 0.51	1.10 ± 0.49	0.86	1.0
<i>Ruminiclostridium_5</i>	0.84 ± 0.52	0.73 ± 0.39	0.65 ± 0.51	0.38	0.95
<i>Prevotella_2</i>	0.30 ± 0.49	0.20 ± 0.27	0.34 ± 0.42	0.70	1.0
<i>Lactobacillus</i>	0.33 ± 0.45	0.45 ± 0.29	0.68 ± 0.56	0.03	1.0
<i>Erysipelotrichaceae_UCG-003</i>	0.36 ± 0.44	0.35 ± 0.20	0.45 ± 0.45	0.49	1.0
<i>Phascolarctobacterium</i>	0.52 ± 0.42	0.56 ± 0.42	0.56 ± 0.30	0.95	1.0
<i>Lachnoclostridium</i>	1.08 ± 0.41	1.04 ± 0.39	1.02 ± 0.48	0.73	1.0
<i>Megasphaera</i>	0.18 ± 0.41	0.25 ± 0.29	0.22 ± 0.35	0.22	0.95
<i>Muribaculaceae_ge</i>	0.28 ± 0.40	0.40 ± 0.39	0.34 ± 0.46	0.55	1.0
<i>Lachnospiraceae_ge</i>	1.65 ± 0.39	1.36 ± 0.22	1.46 ± 0.31	0.04	1.0
<i>Oscillibacter</i>	0.70 ± 0.39	0.47 ± 0.23	0.43 ± 0.26	0.15	1.0
<i>Clostridium_sensu_stricto_1</i>	0.58 ± 0.38	0.69 ± 0.28	0.68 ± 0.39	0.66	1.0
<i>Clostridiales_vadinBB60_group_ge</i>	0.22 ± 0.35	0.24 ± 0.26	0.50 ± 0.73	0.64	1.0
<i>Lachnospira</i>	0.62 ± 0.35	0.69 ± 0.67	0.53 ± 0.16	0.91	1.0
<i>Ruminiclostridium_9</i>	0.45 ± 0.35	0.40 ± 0.28	0.42 ± 0.40	0.86	1.0
<i>Roseburia</i>	0.89 ± 0.33	1.13 ± 0.58	0.90 ± 0.48	0.21	1.0
<i>Streptococcus</i>	0.84 ± 0.32	0.96 ± 0.57	0.59 ± 0.33	0.07	1.0
<i>Anaerostipes</i>	0.63 ± 0.31	0.52 ± 0.43	0.60 ± 0.40	0.26	1.0
<i>Coprococcus_2</i>	0.33 ± 0.31	0.31 ± 0.36	0.61 ± 0.51	0.08	0.81
<i>Parasutterella</i>	0.33 ± 0.31	0.37 ± 0.29	0.36 ± 0.27	0.84	1.0
<i>Family_XIII_AD3011_group</i>	0.63 ± 0.30	0.61 ± 0.25	0.84 ± 0.31	0.08	1.0
<i>Ruminococcaceae_NK4A214_group</i>	0.53 ± 0.30	0.45 ± 0.27	0.49 ± 0.27	0.60	1.0
<i>Agathobacter</i>	0.91 ± 0.28	0.96 ± 0.38	0.77 ± 0.33	0.11	1.0
<i>Lachnospiraceae_UCG-004</i>	0.44 ± 0.27	0.45 ± 0.27	0.48 ± 0.28	0.93	0.96
<i>Sutterella</i>	0.34 ± 0.27	0.29 ± 0.26	0.32 ± 0.32	0.82	1.0
<i>Acidaminococcus</i>	0.18 ± 0.26	0.14 ± 0.28	0.20 ± 0.42	0.85	1.0
<i>Desulfovibrio</i>	0.27 ± 0.25	0.24 ± 0.23	0.35 ± 0.24	0.39	0.96

<i>Negativibacillus</i>	0.28 ± 0.25	0.28 ± 0.18	0.25 ± 0.15	0.92	1.0
<i>Ruminococcaceae_UCG-013</i>	0.61 ± 0.25	0.50 ± 0.28	0.72 ± 0.25	0.07	1.0
<i>Butyricoccus</i>	0.43 ± 0.24	0.38 ± 0.27	0.50 ± 0.40	0.90	1.0
<i>Romboutsia</i>	0.37 ± 0.24	0.42 ± 0.33	0.35 ± 0.28	0.63	1.0
<i>Dorea</i>	0.69 ± 0.23	0.69 ± 0.26	0.59 ± 0.22	0.36	1.0
<i>Actinomyces</i>	0.33 ± 0.22	0.31 ± 0.24	0.22 ± 0.21	0.20	1.0
<i>Barnesiella</i>	0.19 ± 0.22	0.21 ± 0.18	0.25 ± 0.31	0.86	1.0
<i>Butyricimonas</i>	0.36 ± 0.22	0.36 ± 0.26	0.35 ± 0.25	0.88	1.0
<i>Coprococcus_3</i>	0.31 ± 0.22	0.30 ± 0.23	0.35 ± 0.21	0.46	0.99
<i>Fusicatenibacter</i>	0.38 ± 0.22	0.47 ± 0.32	0.57 ± 0.34	0.36	1.0
<i>Lachnospiraceae_UCG-010</i>	0.36 ± 0.22	0.31 ± 0.16	0.38 ± 0.20	0.72	1.0
<i>Marvinbryantia</i>	0.44 ± 0.22	0.44 ± 0.18	0.52 ± 0.27	0.52	1.0
<i>Ruminiclostridium_6</i>	0.31 ± 0.22	0.36 ± 0.25	0.41 ± 0.29	0.40	1.0
<i>Ruminococcaceae_UCG-003</i>	0.35 ± 0.20	0.42 ± 0.24	0.49 ± 0.28	0.32	1.0
<i>Hungatella</i>	0.25 ± 0.19	0.19 ± 0.17	0.27 ± 0.27	0.65	1.0
<i>Lachnospiraceae_NK4A136_group</i>	0.37 ± 0.19	0.51 ± 0.20	0.45 ± 0.20	0.13	1.0
<i>Bilophila</i>	0.32 ± 0.18	0.34 ± 0.12	0.21 ± 0.18	0.02	1.0
<i>Butyrivibrio</i>	0.12 ± 0.18	0.19 ± 0.28	0.23 ± 0.34	0.84	0.99
<i>Collinsella</i>	0.46 ± 0.17	0.31 ± 0.21	0.37 ± 0.22	0.03	1.0
<i>Flavonifractor</i>	0.39 ± 0.17	0.39 ± 0.19	0.34 ± 0.14	0.66	1.0
<i>Holdemania</i>	0.28 ± 0.16	0.24 ± 0.14	0.20 ± 0.14	0.34	1.0
<i>Lachnospiraceae_FCS020_group</i>	0.30 ± 0.15	0.32 ± 0.19	0.31 ± 0.15	0.65	1.0
<i>Fournierella</i>	0.12 ± 0.14	0.12 ± 0.14	0.20 ± 0.17	0.31	1.0
<i>Lachnospiraceae_UCG-001</i>	0.35 ± 0.14	0.40 ± 0.24	0.43 ± 0.24	0.71	1.0
<i>GCA-900066575</i>	0.31 ± 0.12	0.33 ± 0.22	0.24 ± 0.11	0.24	1.0
<i>Lachnospiraceae_ND3007_group</i>	0.19 ± 0.12	0.24 ± 0.14	0.28 ± 0.16	0.54	1.0
<i>Family_XIII_UCG-001</i>	0.16 ± 0.11	0.20 ± 0.06	0.21 ± 0.08	0.75	1.0
<i>Odoribacter</i>	0.24 ± 0.11	0.28 ± 0.14	0.24 ± 0.13	0.45	0.95
<i>UBA1819</i>	0.27 ± 0.10	0.21 ± 0.11	0.23 ± 0.21	0.11	1.0
<i>Alloprevotella</i>	0.04 ± 0.08	0.08 ± 0.13	0.25 ± 0.55	0.41	1.0
<i>Coprococcus_1</i>	0.21 ± 0.06	0.25 ± 0.08	0.27 ± 0.12	0.63	1.0
<i>Escherichia-Shigella</i>	0.21 ± 0.06	0.22 ± 0.08	0.23 ± 0.07	0.95	1.0
<i>Prevotella_9</i>	1.28 ± 1.97	1.60 ± 1.87	1.53 ± 2.00	0.72	1.0
<i>Faecalibacterium</i>	5.01 ± 2.85	6.34 ± 2.63	4.91 ± 2.63	0.22	1.0
<i>Akkermansia</i>	0.73 ± 0.65	0.55 ± 0.72	0.96 ± 0.82	0.15	1.0
<i>Holdemanella</i>	0.62 ± 0.62	0.44 ± 0.52	0.32 ± 0.47	0.31	0.93
<i>Ruminococcaceae_UCG-002</i>	1.64 ± 0.77	1.72 ± 0.64	1.99 ± 0.77	0.32	0.95
<i>Ruminococcaceae_UCG-010</i>	0.84 ± 0.63	0.61 ± 0.47	1.42 ± 1.12	0.08	1.0
Unclassified (total)	27.04 ± 4.02	26.45 ± 3.00	26.17 ± 3.5	0.75	0.96

Dados são média ± DP. P_{Inter} - diferenças entre os grupos (Kruskal Wallis, $P < 0.05$). P_{FDR} - valores de P corrigidos utilizando a razão de falsas descobertas (FDR) de Benjamini-Hochberg. Números em negrito indicam diferenças significantes ($P_{FDR} < 0.05$). * Corresponde aos gêneros com abundância relativa média >0.2%.

FIGURAS SUPLEMENTARES

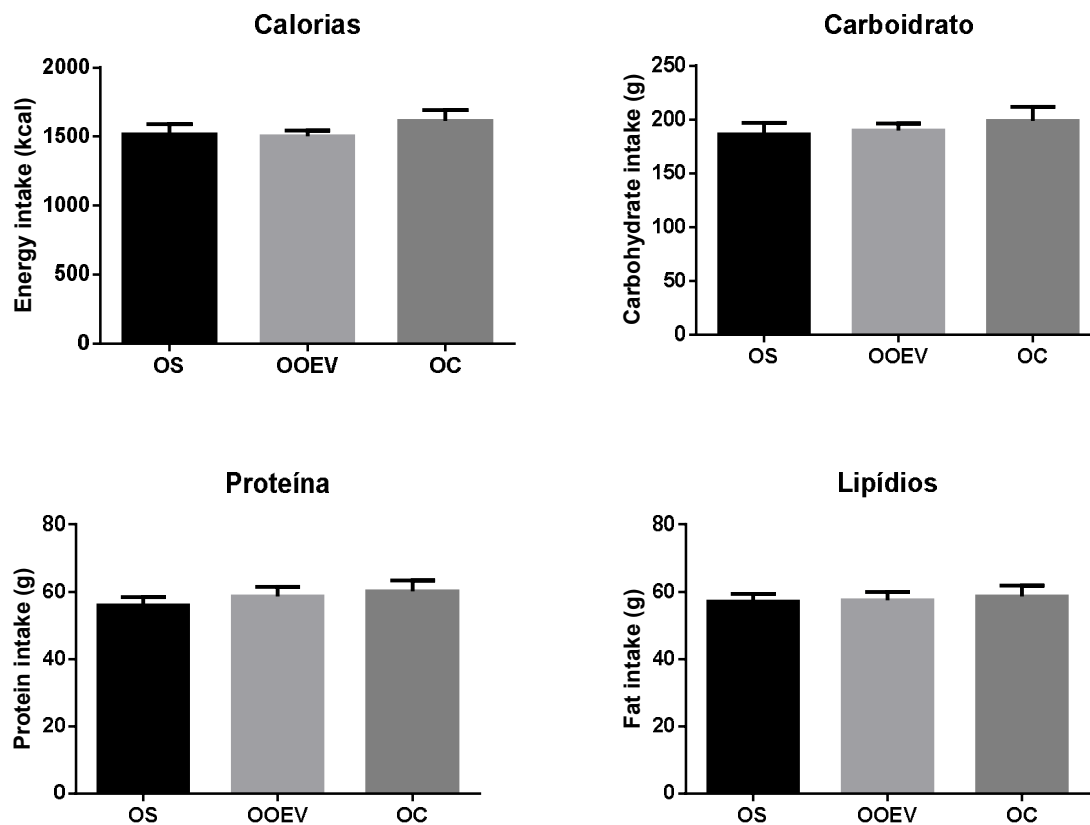


Figura suplementar 1. Ingestão de calorias e de macronutrientes durante o período de intervenção de acordo com o grupo experimental. Letras diferentes indicam diferença entre os grupos (ANOVA ou Kruskal Wallis, $P < 0.05$, seguido do teste de Bonferroni). Óleo de soja (OS) ($n=17$), óleo de oliva extra virgem (OOEV) ($n=19$) e óleo de coco (OC) ($n=16$).

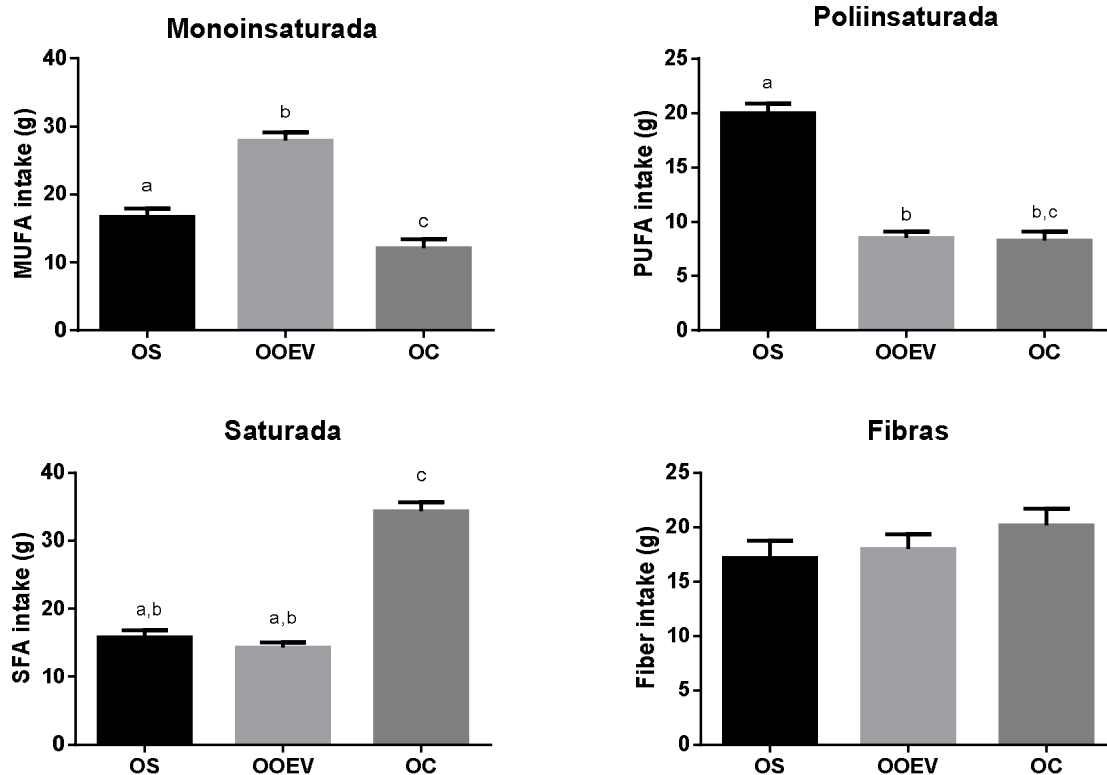
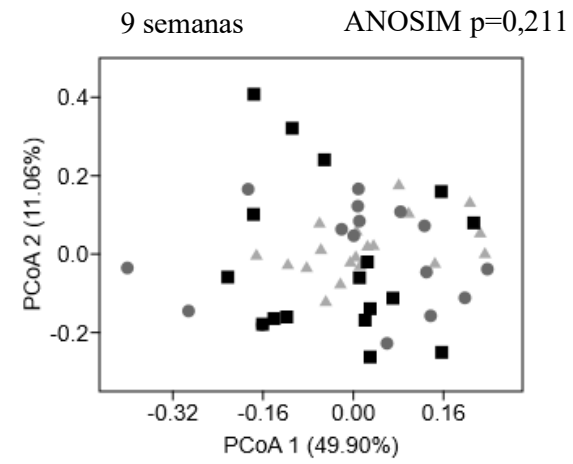
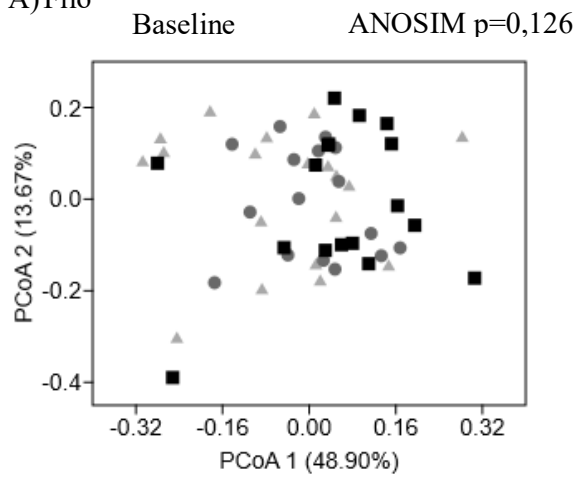
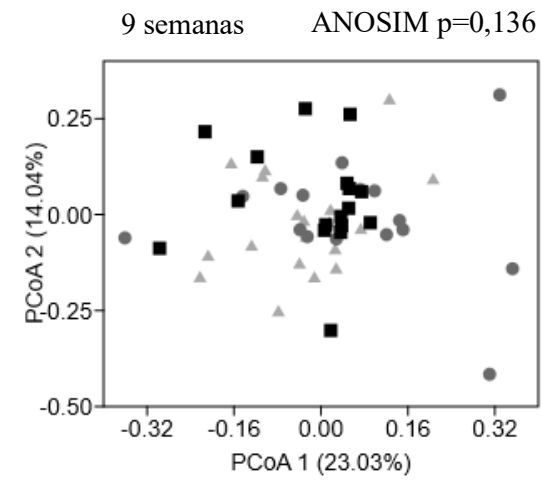
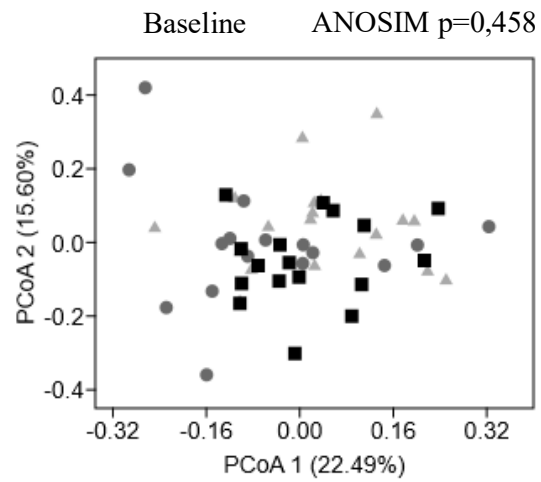


Figura suplementar 1 continuação . Ingestão de fibras e de gordura monoinsaturada, poli-insaturada e saturada durante o período de intervenção de acordo com o grupo experimental. Letras diferentes indicam diferença entre os grupos (ANOVA ou Kruskal Wallis, $P < 0.05$, seguido do teste de Bonferroni). Óleo de soja (OS) (n=17), óleo de oliva extra virgem (OOEV) (n=19) e óleo coco (OC) (n=16). MUFA: ácidos graxos monoinsaturados; PUFA: ácidos graxos poliinsaturados; SFA: ácidos graxos saturados.

A) Filo



B) Gênero



C) OTU

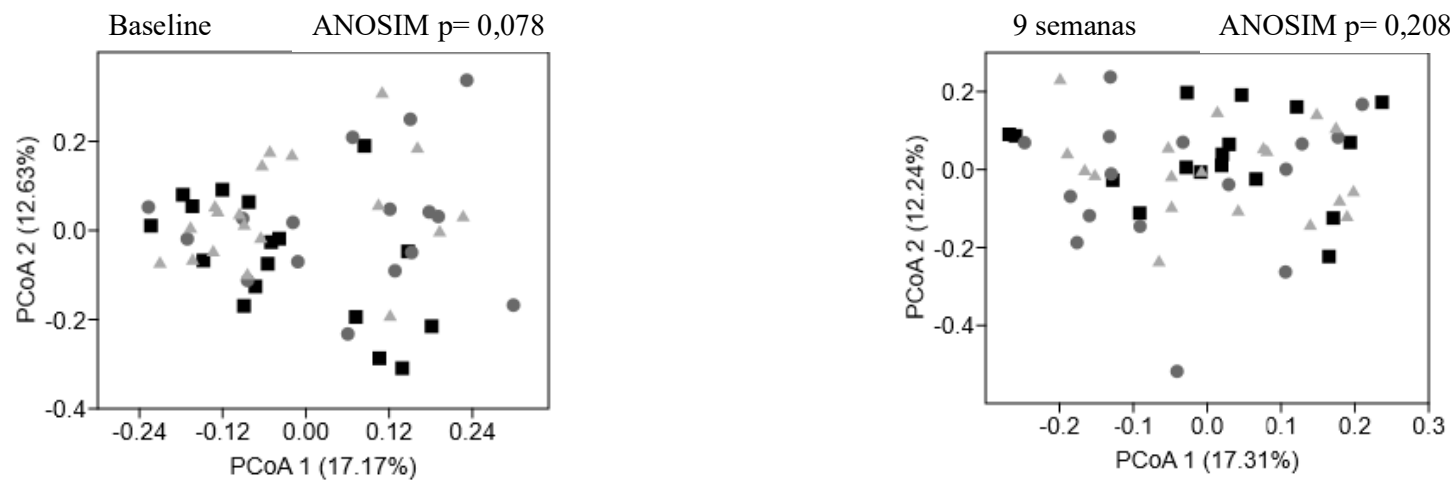


Figura Suplementar 2 continuação. Análise de Coordenadas Principais (PCoA) baseada na distância de Bray-Curtis entre os grupos experimentais no baseline e após 9 semanas de ingestão de 25 ml de um dos tipos de óleos testados a nível de Filo (A), Gênero (B) e OTU (C). ● Óleo de coco (n=16); ■ Óleo de oliva extra virgem (n=19); ▲ Óleo de soja (n=17).

REFERÊNCIAS

- ABULIZI, N. et al. Gut mucosal proteins and bacteriome are shaped by the saturation index of dietary lipids. **Nutrients**, v. 11, n. 2, p. 1–24, 2019.
- ALOU, M. T.; LAGIER, J.-C.; RAOULT, D. Diet influence on the gut microbiota and dysbiosis related to nutritional disorders. **Human Microbiome Journal**, v. 1, p. 3–11, 2016.
- ARAÚJO, J. R. et al. Impact of high-fat diet on the intestinal microbiota and small intestinal physiology before and after the onset of obesity. **Biochimie**, v. 141, p. 97–106, 2017.
- ASSUNÇÃO, M. L. et al. Effects of dietary coconut oil on the biochemical and anthropometric profiles of women presenting abdominal obesity. **Lipids**, v. 44, n. 7, p. 593–601, 2009.
- BLAEDEL, T. et al. A randomised, controlled, crossover study of the effect of diet on angiotensin-like protein 4 (ANGPTL4) through modification of the gut microbiome. **Journal of Nutritional Science**, v. 5, n. e45, p. 1–10, 2016.
- BOUTAGY, N. E. et al. Metabolic endotoxemia with obesity: is it real and is it relevant? **Biochimie**, v. 124, p. 11–20, 2017.
- BOUTER, K. E. et al. Role of the gut microbiome in the pathogenesis of obesity and obesity-related metabolic dysfunction. **Gastroenterology**, v. 152, n. 7, p. 1671–1678, 2017.
- CHANG, E. B.; MARTINEZ-GURYN, K. Small intestinal microbiota: the neglected stepchild needed for fat digestion and absorption. **Gut Microbes**, v. 10, n. 2, p. 235–240, 2019.
- CHATELIER, E. LE et al. Richness of human gut microbiome correlates with metabolic markers. **Nature**, v. 500, p. 541–545, 2013.
- CHÁVEZ-CARBAJAL, A. et al. Gut microbiota and predicted metabolic pathways in a sample of mexican women affected by obesity and obesity plus metabolic syndrome. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 438, p. 1–18, 2019.
- COELHO, O. G. L.; CÂNDIDO, F. G.; ALFENAS, R. DE C. G. Dietary fat and gut microbiota: mechanisms involved in obesity control. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 8398, p. 01–30, 2018.
- CUEVAS-SIERRA, A. et al. Diet, gut microbiota, and obesity: links with host genetics and epigenetics and potential applications. **American Society for Nutrition**, v. 10, n. 9, p. S17–S30, 2019.
- DAVID, L. A. et al. Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome. **Nature**, v. 505, p. 559–563, 2014.
- EDGAR, R. C. et al. UCHIME improves sensitivity and speed of chimera detection. **Bioinformatics**, v. 27, n. 16, p. 2194–2200, 2011.

FALUDI, A. et al. Atualização da Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 109, n. 01, p. 1–76, out. 2017.

FAVA, F. et al. The type and quantity of dietary fat and carbohydrate alter faecal microbiome and short-chain fatty acid excretion in a metabolic syndrome ‘ at-risk ’ population. **International Journal of Obesity**, v. 37, n. 2, p. 216–223, 2012.

FUNG, T. T. et al. Mediterranean diet and incidence of and mortality from coronary heart disease and stroke in women. **Circulation**, v. 3, p. 1093–1100, 2009.

GABERT, L. et al. ^{13}C tracer recovery in human stools after digestion of a fat-rich meal labelled with [1,1,1- ^{13}C]tripalmitin and [1,1,1- ^{13}C]triolein†. **Rapid Commun. Mass Spectrom**, v. 25, p. 2697–2703, 2011.

GRANADO-SERRANO, A. B. et al. Faecal bacterial and short- chain fatty acids signature in hypercholesterolemia. **Nature**, v. 9, n. 1772, p. 1–13, 2019.

GRIFFITHS, E. A. et al. In vivo effects of bifidobacteria and lactoferrin on gut endotoxin concentration and mucosal immunity in Balb/c mice. **Digestive Diseases and Sciences**, v. 49, n. 4, p. 579–589, 2004.

GRISHAM, M. B.; JOHNSON, G. G.; LANCASTER-JUNIOR, J. R. Quantitation of nitrate and nitrite in extracellular fluids. **Methods in Enzymology**, v. 268, p. 237–246, 1996.

HAGSTROMER, M.; OJA, P.; SJO, M. The International Physical Activity Questionnaire (IPAQ): a study of concurrent and construct validity. **Public Health Nutrition**, v. 9, n. 6, p. 755–762, 2006.

HAMMER, Ø.; HARPER, D. A. T.; RYAN, P. D. PAST : Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. **Palaeontologia Electronica**, v. 4, n. 1, p. 1–9, 2001.

HARTMAN, L.; LAGO, R. C. Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids. **Lab Pract**, v. 22, p. 475–76, 1973.

HEINSEN, F. et al. Beneficial effects of a dietary weight loss intervention on human gut microbiome diversity and metabolism are not sustained during weight maintenance. **Obesity Facts**, p. 379–391, 2016.

HERSOUG, L.-G.; MØLLER, P.; LOFT, S. Role of microbiota-derived lipopolysaccharide in adipose tissue inflammation, adipocyte size and pyroptosis during obesity. **Nutrition Research Reviews**, v. 31, n. 2, p. 153–163, 2018.

IOM- INSTITUTE OF MEDICINE. Dietary reference intakes for energy, carbohydrate, fiber, fat, fatty acids, cholesterol, protein and amino acids. Washington, DC: **The National Academic Press**, 2005. IOM - INSTITUTE OF MEDICINE. Dietary Reference Intakes (DRIs): Acceptable macronutrient Distribution ranges. Washington, DC: **The National Academic Press**, 2002.

ISOLAURI, E.; SHERMAN, P.; WALKER, W. Microbiota and Obesity. **Nestlé Nutr Inst Workshop Ser**, v. 88, p. 95–105, 2017.

JACKMAN, J. A. et al. Nanotechnology formulations for antibacterial free fatty acids and monoglycerides. **Molecules**, v. 27, n. 305, p. 1–19, 2016.

KASTL JR, A. J. et al. The structure and function of the human small intestinal. **Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology**, Article in press, p. 1–13, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.jcmgh.2019.07.006>

LAM, Y. Y. et al. Effects of dietary fat profile on gut permeability and microbiota and their relationships with metabolic changes in mice. **Obesity**, v. 23, n. 7, p. 1429–1439, 2015.

LANG, J. M. et al. Impact of Individual Traits , Saturated Fat , and Protein Source on the Gut Microbiome. **mBio**, v. 9, n. 6, p. 1–14, 2018.

LOVE, M. I.; HUBER, W.; ANDERS, S. Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2. **Genome Biology**, v. 15, n. 550, p. 1–21, 2014.

MARTINEZ-GURYN, K. et al. Small intestine microbiota regulate host digestive and absorptive adaptive responses to dietary lipids. **Cell Host Microbe**, v. 23, n. 4, p. 458–469, 2018.

MCMURDIE, P. J.; HOLMES, S. Phyloseq : An R Package for Reproducible Interactive Analysis and Graphics of Microbiome Census Data. **PLoS Medicine**, v. 8, n. 4, p. 1–11, 2013.

MERA, R.; THOMPSON, H.; PRASAD, C. How to calculate sample size for an experiment: a case-based description. **Nutritional Neuroscience**, v. 1, n. 1, p. 87–91, 1998.

MOKKALA, K.; RO, H.; EKBLAD, U. Gut microbiota richness and composition and dietary intake of overweight pregnant women are related to serum zonulin concentration , a marker for intestinal permeability. **The Journal of Nutrition Nutrition and Disease**, v. 146, p. 1694–1700, 2016.

MORALES, P. et al. Impact of dietary lipids on colonic function and microbiota : an experimental approach involving orlistat-induced fat malabsorption in human volunteers. **Clinical and Translational Gastroenterology**, v. 7, n. e161, p. 1–10, 2016.

MOREIRA, A. P. B. et al. Influence of a high-fat diet on gut microbiota, intestinal permeability and metabolic endotoxaemia. **British Journal of Nutrition**, v. 108, n. 5, p. 801–809, 2012. MURPHY, E. F. et al. Composition and energy harvesting capacity of the gut microbiota : relationship to diet , obesity and time in mouse models. **Gut Microbiota**, v. 59, p. 1635–1642, 2010.

NEPA- Núcleo de Estudos e pesquisas em Alimentação. Tabela Brasileira de Composição de Alimentos - TACO, 4th edn. UNICAMP, Campinas, 2011.

ORG, E. et al. Relationships between gut microbiota , plasma metabolites , and metabolic syndrome traits in the METSIM cohort. **Genome Biology**, v. 18, n. 70, p. 1–14, 2017.

PARKS, D. H. et al. STAMP : statistical analysis of taxonomic and functional profiles. **Bioinformatics**, v. 30, n. 21, p. 3123–3124, 2014.

PATTERSON, E. et al. Impact of dietary fatty acids on metabolic activity and host intestinal microbiota composition in C57BL / 6J mice. **British Journal of Nutrition**, n. 2014, p. 1905–1917, 2017.

PHILIPPI, S. T. Tabela de Composição de Alimentos : suporte para decisão nutricional. Editora Manole, 5th edn., São Paulo, 2016.

PU, S. et al. Interactions between Obesity Status and Dietary Intake of Monounsaturated and Polyunsaturated Oils on Human Gut Microbiome Profiles in the Canola Oil Multicenter Intervention Trial (COMIT). **Frontiers in Microbiology**, v. 7, p. 1–14, 2016.

QUAST, C. et al. The SILVA ribosomal RNA gene database project : improved data processing and web-based tools. **Nucleic Acids Research**, v. 41, p. 590–596, 2013.

RAJKUMAR, H. et al. Effect of probiotic (VSL # 3) and omega-3 on lipid profile , insulin sensitivity , inflammatory markers , and gut colonization in overweight adults : a randomized , controlled trial. **Mediators of Inflammation**, v. 2014, p. 1–8, 2014.

ROHR, M. W. et al. Negative effects of a high-fat diet on intestinal permeability : a review. **American Society for Nutrition**, p. 1–15, 2019.

RÖYTIÖ, H. et al. Dietary intake of fat and fibre according to reference values relates to higher gut microbiota richness in overweight pregnant women. **British Journal of Nutrition**, v. 118, p. 343–352, 2017.

SCHLOSS, P. D. et al. Introducing Mothur : open-source , platform-independent , community-supported software for describing and comparing microbial communities. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 75, n. 23, p. 7537–7541, 2009.

SIEGFRIED, R.; RÜCKEMANN, H.; STUMPF, G. E. HPLC-Methode zur Bestimmung organischer Säuren in Silagen (A HPLC method to determine organic acids in silages). **Landwirtschaftliche Forschung**, v. 37, p. 298–304, 1984.

SIMOES, C. D. et al. Habitual dietary intake is associated with stool microbiota composition in monozygotic twins. **Journal of Nutrition**, v. 143, n. 4, p. 417–423, 2013.

SOMMER, F.; BEACKHED, F. Know your neighbor: Microbiota and host epithelial cells interact locally to control intestinal function and physiology. **Bioessays**, v. 38, p. 455–464, 2016.

STEVENSON, D. M.; WEIMER, P. J. Dominance of Prevotella and low abundance of classical ruminal bacterial species in the bovine rumen revealed by relative quantification real-time PCR. **Appl Microbiol Biotechnol**, v. 75, p. 165–174, 2007.

TEIXEIRA, T. et al. Intestinal permeability measurements: general aspects and possible pitfalls. **Nutrición Hospitalaria**, v. 29, n. 2, p. 269–281, 2014.

TEIXEIRA, T. F. S. et al. Intestinal permeability parameters in obese patients are correlated with metabolic syndrome risk factors. **Clinical Nutrition**, v. 31, p. 735–740, 2012.

USDA - US Department of Agriculture, Agricultural Research Service, Nutrient Data Laboratory. USDA National Nutrient Database for Standard Reference. Disponível em: < <http://www.ars.usda.gov/ba/bhnrc/ndl>>. Acesso em: Out 2018.

VASQUES, A. C. et al. Anthropometric indicators of insulin resistance. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 95, n. 1, p. e14–e23, 2010.

VILELA, E. G. et al. Influence of *Saccharomyces boulardii* on the intestinal permeability of patients with Crohn's disease in remission. **Scandinavian Journal of Gastroenterology**, v. 43, p. 842–849, 2008.

WAN, Y. et al. Effects of dietary fat on gut microbiota and faecal metabolites, and their relationship with cardiometabolic risk factors: a 6-month randomised. **Gut microbiota**, v. 0, p. 1–13, 2019.

WANG, T. Y. et al. New insights into the molecular mechanism of intestinal fatty acid absorption. **European Journal of Clinical Investigation**, v. 43, n. 11, p. 1203–1223, 2013.

WELLS, J. M. et al. Homeostasis of the gut barrier and potential biomarkers. **American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology**, v. 312, p. G-171-193, 2017.

WILLEMSSEN, L. E. M. et al. Polyunsaturated fatty acids support epithelial barrier integrity and reduce IL-4 mediated permeability in vitro. **European Journal of Nutrition**, v. 47, n. 4, p. 183–191, 2008.

WISNIEWSKI, P. J.; DOWDEN, R. A.; CAMPBELL, S. C. Role of dietary lipids in modulating inflammation through the gut microbiota. **Nutrients**, v. 11, n. 117, p. 1–30, 2019.

WOLTERS, M. et al. Dietary fat, the gut microbiota, and metabolic health: a systematic review conducted within the MyNewGut project. **Clinical Nutrition**, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2018.12.024>

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation. World Health Organization technical report series, v. 894, p. i–xii, 1–253, 2000.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Global report on diabetes. p. 1–88, 2016.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Obesity and overweight. Disponível em:<<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>>. Acesso em: Agos, 2019.

YE, Z. et al. Fatty acid profiles of typical dietary lipids after gastrointestinal digestion and absorption: A combination study between in-vitro and in-vivo. **Food Chemistry**, v. 280, p. 34–44, 2019.

ZELLEN, M. The randomization and stratification of patients to clinical trials. **Journal of Chronic Diseases**, v. 27, n. 7–8, p. 365–375, 1974.

ZOETENDAL, E. G. et al. The human small intestinal microbiota is driven by rapid uptake and conversion of simple carbohydrates. **The ISME Journal**, v. 6, p. 1415–1426, 2012.

5 CONCLUSÕES GERAIS

- Evidências científicas, originadas principalmente em estudos com animais, demonstram que o consumo de dietas hiperlipídicas pode modular a composição da microbiota intestinal, afetando negativamente a integridade da mucosa do intestino e resultando em endotoxemia metabólica.
- A análise crítica de estudos que avaliaram a influência do tipo de lipídio sobre a endotoxemia metabólica, demonstrou que a ingestão de refeições ricas em SFAs aumentou as concentrações plasmáticas pós-prandiais de LPS, enquanto que a ingestão de refeições ricas em PUFAs promoveu redução. Nesse sentido, os SFAs parecem atuar como um fator de risco e os PUFAs como fator de proteção dietético para a instalação da endotoxemia metabólica pós-prandial.
- O consumo de 25ml/dia de óleo de soja, óleo de oliva extra virgem e óleo de coco durante 9 semanas modulou de maneira distinta o estresse oxidativo e inflamação em mulheres com excesso de peso. O consumo do óleo de oliva extra virgem (rico em MUFAs) aumentou as concentrações de FRAP e reduziu as de MDA e ON, além de reduzir a citocina inflamatória IL1- β . O consumo de óleo de soja (rico em PUFAs) aumentou FRAP e IL-10 e reduziu ON, enquanto que o consumo de óleo de coco, não afetou as variáveis avaliadas.
- O consumo de 25 ml/dia dos diferentes tipos de óleos, associados à dieta normolipídica e restrita em calorias, por 9 semanas não alterou a diversidade e a abundância relativa de bactérias intestinais. No entanto, o consumo de óleo de soja levou ao aumento na riqueza medida pelo índice Chao e redução na concentração fecal do ácido graxo de cadeia curta, isovalérico.
- A permeabilidade paracelular e transcelular aumentaram após a ingestão de óleo de oliva extra virgem e óleo de coco. Porém, as concentrações de LPS permaneceram inalteradas, sem instalação de endotoxemia metabólica.
- Os efeitos de óleos, ricos em diferentes tipos de ácidos graxos, sobre o estresse oxidativo, inflamação, composição do microbioma, e permeabilidade intestinal em

indivíduos com excesso peso pode ter implicações terapêuticas potenciais para a manutenção da saúde humana. Por isto, estudos bem delineados e de longa duração devem ser conduzidos para avaliar o efeito do consumo desses óleos na prevenção e/ou no controle do excesso de peso e de outras doenças crônicas.