



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE MEDICINA CLÍNICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS

MARIANA DUARTE BONA

**FUNÇÃO DE BARREIRA DO EPITÉLIO INTESTINAL E FATORES DE
RISCO CARDIOVASCULAR EM INDIVÍDUOS COM EXCESSO DE PESO
COM OU SEM SÍNDROME METABÓLICA**

FORTALEZA

2023

MARIANA DUARTE BONA

**FUNÇÃO DE BARREIRA DO EPITÉLIO INTESTINAL E FATORES DE
RISCO CARDIOVASCULAR EM INDIVÍDUOS COM EXCESSO DE PESO
COM OU SEM SÍNDROME METABÓLICA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutora em Ciências Médicas. Área de concentração: Bioquímica.

Orientador: Prof. Dr. Aldo Ângelo
Moreira Lima

Coorientadora: Profa. Dra. Bruna
Leal Lima Maciel

FORTALEZA

2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Sistema de Bibliotecas
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

B685f Bona, Mariana.

Função de barreira do epitélio intestinal e fatores de risco cardiovascular em indivíduos com excesso de peso com ou sem síndrome metabólica / Mariana Bona. – 2023.
108 f. : il. color.

Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas, Fortaleza, 2023.

Orientação: Prof. Dr. Aldo Ângelo Moreira Lima.

Coorientação: Profa. Dra. Bruna Leal Lima Maciel.

1. Excesso de peso. 2. Síndrome Metabólica. 3. Fatores de risco para doenças cardiovasculares. 4. Função de barreira do epitélio intestinal. I. Título.

CDD 610

MARIANA DUARTE BONA

FUNÇÃO DE BARREIRA DO EPITÉLIO INTESTINAL E FATORES DE RISCO CARDIOVASCULAR EM INDIVÍDUOS COM EXCESSO DE PESO COM OU SEM SÍNDROME METABÓLICA

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutora em Ciências Médicas. Área de concentração: Bioquímica.

Orientador: Prof. Dr. Aldo Ângelo Moreira Lima

Coorientadora: Profa. Dra. Bruna Leal Lima Maciel

Aprovada em 28/04/2023.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Aldo Ângelo Moreira Lima (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dra. Bruna Leal Lima Maciel
Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN)

Prof. Dr. Pedro Jorge Caldas Magalhães
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Profa. Dra. Sancha Helena de Lima Vale
Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN)

Profa. Dra. Karine Cavalcanti Mauricio de Sena Evangelista
Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN)

Profa. Dra. Bruna Zavarize Reis
Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN)

FORTALEZA

2023

“...A nação que investe em sua gente
nunca tem desperdício ou prejuízo.
Observo atento e analiso:
só se muda agindo diferente.
O poder de um povo está na mente,
é a chave que abre essa prisão,
é a luz que aponta a direção
pra seguir por qualquer estrada escura.
Um país desnutrido de leitura
só se salva comendo educação.”
(Bráulio Bessa)

À minha mãe (*in memoriam*)

AGRADECIMENTOS

À Deus por guiar meus caminhos ao longo dessa incrível e desafiadora jornada.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Aldo Ângelo Moreira Lima, por me orientar desde a iniciação científica em 2014, contribuindo para o meu crescimento científico e me acompanhando nas várias etapas da minha vida acadêmica; por ser um exemplo de pesquisador científico e crítico para mim; e por me apresentar à Profa. Bruna.

À minha coorientadora, Profa. Dra. Bruna Leal Lima Maciel, por me acolher como sua orientanda assim, meio que de repente, eu sendo recém-chegada na cidade e ainda com medo do novo. Você é um exemplo de professora humana que entende as fraquezas de cada aluno e nos ajuda a reconhecer nossos pontos fortes. Obrigada pelo seu dom de ensinar, pelo entusiasmo, pelas palavras amigas, pelos seus elogios e críticas!

À farmacêutica do Laboratório de Doenças Infecciosas da UFC, Dra. Lyvia Carneiro Magalhães, por, gentilmente, analisar as amostras de urina em HPLC além de sempre responder minhas dúvidas e ter ótimas palavras de apoio, contribuindo substancialmente para a realização deste estudo.

À equipe do projeto BRAZUCA Natal, que me acolheu assim que cheguei em Natal e compartilhou comigo a pesquisa de campo nos vários bairros da cidade sempre com animação e amizade.

À equipe do projeto BRAZUCA Intestino, Carol, Dani, Andressa, Jessica, Leilane e Amanda, pela ajuda na coleta das amostras e dados e por compartilharmos risadas, angústias, desabafos e sonhos enquanto esperávamos as intermináveis cinco horas de coleta da urina (risos!). São amigas que para sempre quero contar!

À Capes e ao CNPq, pelo apoio financeiro ao nosso projeto.

Aos meus amigos do Laboratório de Doenças Infecciosas (LDI-UFC), por compartilharmos por tantos anos essa vida de pesquisa científica com mais tranquilidade de forma que tenho amigas que carrego para além do laboratório.

Às técnicas do LDI, Charliene e Luciana, por todo o suporte técnico auxiliando de forma grandiosa nas análises, além de serem sempre solícitas às minhas dúvidas.

Ao José, por receber ou indicar onde deveriam ser guardadas as alíquotas de urina que eu ou a profa Bruna levávamos para Fortaleza e por torcer por mim.

Ao técnico do Laboratório de Bioquímica da Nutrição (LABAN-UFRN), Marcelo Lisboa, por dar suporte ao nosso projeto organizando o laboratório e nos provendo material quando precisávamos.

A todos os funcionários do IBIMED-UFC e do DNUT-UFRN, pelo apoio técnico e logístico.

À coordenação e secretaria do Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas, pela disponibilidade ágil na ajuda dos esclarecimentos de dúvidas.

Aos participantes do estudo que, gentilmente, aceitaram ser partes preciosas da nossa pesquisa.

Aos professores da UFC e da UFRN que de alguma forma me ajudaram a chegar até aqui.

À minha mãe, Cileide, minha saudade diária, que abdicou de muitas coisas da própria vida em favor da minha para que eu tivesse a melhor educação que ela pudesse me proporcionar, por ser meu exemplo e inspiração de força e por ser o motivo de eu batalhar por melhores oportunidades. Todos os sonhos que eu alcançar nessa vida sempre serão dedicados a ela!

Ao meu pai, Antônio, e minha irmã, Ana Carolina, por serem minhas fontes de amor e de refúgio aqui na Terra.

Ao meu marido, Daniel, por ser meu companheiro de vida, inclusive na vida da pesquisa científica por meio da qual nos conhecemos e compartilhamo-la até hoje.

À vovó Ana, meu exemplo de fé em Deus, e à minha madrinha Jesa, minha segunda mãe, pelas orações e pelo acolhimento quando morei em Fortaleza.

Por fim, a todos os meus amigos e familiares que de alguma forma me ajudaram nessa jornada até aqui! Obrigada a todos!

RESUMO

A disfunção da barreira do epitélio intestinal frente ao estado inflamatório crônico sistêmico observado em condições de excesso de peso ou síndrome metabólica é bem investigada em modelos animais. No entanto, poucos estudos avaliam tal temática em humanos. Este estudo teve como objetivo verificar se há alteração da função de barreira do epitélio intestinal (FBEI) em virtude do excesso de peso, Síndrome Metabólica e fatores de risco para doenças cardiovasculares. Foi realizado um estudo caso-controle no período de Setembro de 2019 a Julho de 2022 em adultos e idosos de Natal-RN. Foram coletados dados sociobiodemográficos, dados de avaliação antropométrica e amostras de urina e sangue. As avaliações antropométrica, bioquímica e inflamatória caracterizaram fatores de risco cardiovascular. A avaliação da FBEI realizou-se por meio do teste de lactulose:manitol em amostras de urina analisadas por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). Correlações entre parâmetros de FBEI, nutricionais e metabólicos foram avaliados utilizando correlações de Spearman (ρ). No total, 92 indivíduos participaram do estudo, onde 34 eram controles, 30 tinham excesso de peso sem Síndrome Metabólica e 28 tinham excesso de peso com Síndrome Metabólica. Os indivíduos com Síndrome Metabólica tiveram aumento de vários fatores de risco cardiovascular, porém sem alteração da FBEI. A excreção urinária de lactulose/manitol foi similar entre os três grupos ($p = 0,473$) estudados. No grupo de pessoas com excesso de peso sem Síndrome Metabólica, houve correlação significativa positiva entre o percentual de excreção do manitol e a pressão diastólica ($\rho = 0,394$, $p = 0,031$), a circunferência da cintura ($\rho = 0,429$, $p = 0,018$) e o índice de adiposidade visceral ($\rho = 0,423$, $p = 0,02$). No grupo de indivíduos com excesso de peso com Síndrome Metabólica, houve correlações positivas significativas entre a excreção de lactulose e a circunferência da cintura ($\rho = 0,397$, $p = 0,037$), entre a excreção de manitol e a lipoproteína VLDL ($\rho = 0,381$, $p = 0,045$) e entre a razão lactulose/manitol e o peso ($\rho = 0,503$, $p = 0,006$) e a circunferência da cintura ($\rho = 0,447$, $p = 0,017$). Os dados mostraram que não houve alteração da FBEI nos participantes com excesso de peso com ou sem Síndrome Metabólica comparada aos controles. No entanto, as variáveis de risco cardiovasculares foram correlacionadas com parâmetros de avaliação da FBEI no excesso de peso com ou sem Síndrome Metabólica, sugerindo que o aumento de fatores de risco cardiovascular foram associados com alteração dos parâmetros de FBEI.

Palavras-chaves: excesso de peso; síndrome metabólica; fatores de risco para doenças cardiovasculares e função de barreira do epitélio intestinal.

ABSTRACT

Intestinal epithelial barrier dysfunction in the face of systemic inflammatory state observed in conditions of overweight/obesity or associated metabolic syndrome is well discussed in animal models. However, there is a lack of studies that evaluate this thematic in humans. This study aimed to verify if there was alteration of the intestinal epithelial barrier function (IEBF) due overweight/obesity, the metabolic syndrome and the risk factors for cardiovascular diseases. A case-control study was carried out from September 2019 to July 2022 with adults and elderly people in Natal-RN. Socio-demographic data, anthropometric assessment data, and urine and blood samples were collected. Anthropometric, biochemical and inflammatory assessment estimated cardiovascular risk factors. IEBF was performed by lactulose:mannitol test using urine samples analyzed by High Pressure Liquid Chromatography (HPLC-PAD). Correlations between IEBF, anthropometric and metabolic parameters were evaluated using Spearman's correlations (ρ). In overall, 92 individuals participated in the study, where 34 were controls, 30 were overweight/obese without metabolic syndrome and 28 were overweight/obese with metabolic syndrome. It was observed that individuals with metabolic syndrome had increased some cardiovascular risk factors, but did not alter IEBF. The urinary excretion of lactulose/mannitol ratio was similar between the groups ($p = 0.473$). In the group of overweight/obese people without metabolic syndrome, there were significant positive correlations between mannitol excretion and diastolic pressure ($\rho = 0,394$, $p = 0,031$), waist circumference ($\rho = 0,429$, $p = 0,018$) and visceral adiposity index ($\rho = 0,423$, $p = 0,02$). In the overweight/obesity with metabolic syndrome group, there were significantly positive correlations between lactulose excretion and waist circumference ($\rho = 0,397$, $p = 0,037$), between mannitol excretion and Very Low Density Lipoprotein (VLDL) ($\rho = 0,381$, $p = 0,045$) and between lactulose/mannitol ratio and weight ($\rho = 0,503$, $p = 0,006$) and waist circumference ($\rho = 0,447$, $p = 0,017$). The data showed that was no change in IEBF associated with overweight/obesity or the metabolic syndrome compared to controls. However, cardiovascular risk variables were correlated with IEBF parameters in overweight/obesity with or without metabolic syndrome suggesting that the increased cardiovascular risk factors were associated with alteration of IEBF parameters.

Keywords: overweight; metabolic syndrome; cardiovascular risk factors; intestinal barrier epithelial function.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Componentes da barreira gastrointestinal	29
Figura 2 – Morfologia do epitélio intestinal e distribuição das células especializadas	31
Figura 3 – Complexo juncional da apical do epitélio intestinal	32
Figura 4 – Mecanismos de transporte relacionados a permeabilidade da barreira do epitélio intestinal	35
Figura 5 – Fluxograma da seleção dos grupos do estudo	43
Figura 6 – Fases da coleta de dados do primeiro período do estudo	44
Figura 7 – Fase da coleta de dados do segundo período do estudo	45
Figura 8 – Resumo dos principais achados do presente estudo	68

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Diagnóstico da Síndrome Metabólica	26
Tabela 2 – Ponto de corte para o diagnóstico de excesso de peso segundo o IMC, estratificado por faixa etária	46
Tabela 3 – Critérios preditores da Síndrome Metabólica segundo o NCEP-ATP III	46
Tabela 4 – Pontos de corte para a Circunferência da Cintura e risco de complicações metabólicas associadas ao excesso de peso por sexo	47
Tabela 5 – Pontos de corte para a Razão Circunferência/Quadril por sexo	47
Tabela 6 – Pontos de corte, estratificado por idade, do Índice de Adiposidade Visceral (IAV) para identificação da disfunção de adiposidade visceral	48
Tabela 7 – Descrição da população estudada de acordo com as variáveis sociobiodemográficas analisadas	52
Tabela 8 – Comparação entre os grupos em relação às variáveis antropométricas e bioquímicas analisadas no estudo	55
Tabela 9 – Parâmetros de função de barreira epitelial intestinal nos grupos estudados	57
Tabela 10 – Correlações de Spearman (ρ) entre as variáveis de parâmetros de função de barreira do epitélio intestinal, as antropométricas e de risco cardiovascular nos grupos estudados	58
Tabela 11 – Correlações de Spearman (ρ) entre as variáveis de parâmetros de função de barreira do epitélio intestinal e as bioquímicas e de risco cardiovascular nos grupos estudados	59

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
1.1 Sobrepeso e obesidade	14
<i>1.1.1 Definições e características</i>	14
<i>1.1.2 Epidemiologia do sobrepeso e obesidade</i>	17
<i>1.1.3 Diagnóstico do sobrepeso e obesidade</i>	18
<i>1.1.3.1 Índice de Massa Corporal (IMC)</i>	18
<i>1.1.3.2 Circunferência da Cintura (CC)</i>	19
<i>1.1.3.3 Razão Circunferência da Cintura/Circunferência do Quadril (RCQ)</i>	20
1.2 Síndrome Metabólica	20
<i>1.2.1 Definição e características</i>	20
<i>1.2.2 Epidemiologia da Síndrome Metabólica</i>	23
<i>1.2.3 Diagnóstico da Síndrome Metabólica</i>	24
1.3 Efeitos do excesso de peso e da Síndrome Metabólica na microbiota intestinal	27
1.4 Função de barreira gastrointestinal	28
<i>1.4.1 Morfologia da barreira gastrointestinal</i>	28
<i>1.4.1.1 Camada de muco</i>	29
<i>1.4.1.2 Epitélio intestinal</i>	30
<i>1.4.1.3 Células imunes da mucosa</i>	34
<i>1.4.2 Fisiologia da barreira do epitélio intestinal</i>	34
1.5 Métodos de avaliação da permeabilidade da barreira gastrointestinal	35
2 JUSTIFICATIVA E RELEVÂNCIA	39
3 OBJETIVOS	41
3.1 Objetivo geral	41
3.2 Objetivos específicos	41
4 MATERIAIS E MÉTODOS	42
4.1 Considerações éticas	42
4.2 Delineamento e população do estudo	42
4.3 Coleta de dados	44
4.4 Determinação do sobrepeso e obesidade	46
4.5 Determinação da Síndrome Metabólica	46
4.6 Avaliação antropométrica e de risco cardiovascular	47
4.7 Avaliação de marcadores bioquímicos, inflamatório e de risco cardiovascular	49
4.8 Avaliação da função de barreira do epitélio intestinal	50

<i>4.8.1 Coleta de amostras para o teste de lactulose/manitol</i>	50
<i>4.8.2 Análise das amostras do teste lactulose/manitol em HPLC</i>	50
4.9 Análise estatística	51
5 RESULTADOS	52
5.1 Caracterização da população estudada	52
5.2 Avaliação das variáveis antropométricas, bioquímicas, inflamatória e de risco cardiovascular	55
5.3 Avaliação dos parâmetros de função da barreira do epitélio intestinal	57
5.4 Correlação entre os parâmetros de permeabilidade intestinal e as variáveis antropométricas, bioquímicas e de risco cardiovascular por grupo	57
6 DISCUSSÃO	61
7 CONCLUSÃO	70
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	71
APÊNDICE A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO DO PRESENTE PROJETO	85
APÊNDICE B – FORMULÁRIO PARA A COLETA DE DADOS DO SEGUNDO PERÍODO DO ESTUDO	88
APÊNDICE C – PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO PARA COLETA DE DADOS E AMOSTRAS	89
ANEXO A – ARTIGO: INTESTINAL BARRIER FUNCTION IN OBESITY WITH OR WITHOUT METABOLIC SYNDROME: A SYSTEMATIC REVIEW PROTOCOL	91
ANEXO B – ARTIGO: INTESTINAL BARRIER PERMEABILITY IN OBESE INDIVIDUALS WITH OR WITHOUT METABOLIC SYNDROME: A SYSTEMATIC REVIEW	92

1 INTRODUÇÃO

1.1 Sobrepeso e obesidade

1.1.1 Definições e características

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), a obesidade é definida como “um anormal ou excessivo acúmulo de gordura corporal que apresenta risco a saúde” (OMS, 1998). Em 2013, a obesidade foi reconhecida como uma doença e tem se tornado uma pandemia, que necessita ser tratada e prevenida devido a suas significantes comorbidades, mortalidade e custos (MELDRUM et al., 2017).

A etiologia da obesidade é considerada resultado da interação de vários fatores como genéticos, ambientais, de estilo de vida e patofisiológicos (FERNANDEZ-NAVARRO et al., 2019). Evolutivamente, seres humanos e seus antecessores tinham que sobreviver a períodos de desnutrição e, portanto, a pressão seletiva, provavelmente, contribuiu para um genótipo que favorecesse o excesso de peso, baixo gasto energético e inatividade física (BLUHER, 2019). Humanos que conseguiam passar longos períodos sem se alimentar, armazenando e mobilizando energia mais eficientemente, podiam reproduzir-se mais do que aqueles sem essas adaptações e isto levou a maior representação de variantes genéticas que promovem a habilidade de comer mais rapidamente, de absorver e de estocar mais energia no tecido adiposo mais eficientemente (YANOVSKI, 2018). E essas variantes genéticas são hereditárias, visto que, uma criança que tenha um dos pais com obesidade tem três vezes maior risco de desenvolver obesidade na vida adulta, enquanto quando ambos os pais tem obesidade, o filho tem 10 vezes maior risco (CORICA et al., 2018).

Em relação aos fatores ambientais, pode-se observar que os chamados moderadores obesogênicos como: aumento da ingestão de alimentos ultraprocessados, demasiado consumo de alimentos *fast-food*, hábitos alimentares, trabalho remoto e sedentarismo podem ter uma grande influência no contexto da obesidade individual (HRUBY; HU, 2015). Indivíduos tem gastado menos energia em adquirir comida, abrigar-se e transportar-se enquanto consomem mais alimentos ricos em gorduras e açúcares (BLUHER, 2019). Modificações no estilo de vida como execução de dieta acompanhada por nutricionista, atividade física e terapias comportamentais compõem o pilar do tratamento da obesidade (WHO, 2000). Em muitos casos, estas ações resultam

em uma substancial perda de peso, levando a redução dos riscos de morbimortalidade (NGUYEN; CLEMENTS, 2017).

Os mecanismos patofisiológicos que causam a obesidade e sua morbimortalidade estão relacionados em como hormônios do tecido adiposo, estômago e fígado regulam o apetite e a saciedade no hipótalamo presente no Sistema Nervoso Central (SNC) (HEYMSFIELD; WADDEN, 2017). A leptina é um hormônio sintetizado pelos adipócitos que promove a redução da ingestão alimentar e o aumento do gasto energético, além de regular a função neuroendócrina e o metabolismo da glicose e de gorduras (FRIEDMANN; HALAAS, 1998). A grelina é um hormônio gastrointestinal que estimula a ingestão alimentar, reduz a oxidação de gorduras e aumenta a motilidade gástrica e a secreção ácida (SAKATA et al., 2009). Estudos indicam que desequilíbrio entre os níveis de secreção de leptina e grelina levam a alteração do padrão de ingestão alimentar e desajustes nutricionais como a obesidade (CUI; LOPEZ; RAHMOUNI, 2017; EZQUERRO et al., 2019).

Ainda sobre os mecanismos patofisiológicos, acredita-se que o tecido adiposo branco é o principal depósito de armazenamento de gordura e também serve como o maior órgão endócrino para secretar adipocinas e citocinas (KAWAI; AUTIERI; SCALIA, 2021). As adipocinas estão envolvidas em várias cascatas de sinalização metabólica e fisiológica e regulam a sinalização de insulina, captação de glicose, oxidação de ácidos graxos, e outros processos metabólicos e produtores de energia (AHIMA; LAZAR, 2008). As citocinas regulam a inflamação assim como o reparo desta, junto com a angiogênese adaptativa (KAWAI; AUTIERI; SCALIA, 2021). O excesso de peso causa uma mudança fenotípica do tecido adiposo branco que se caracteriza pela inflamação dos adipócitos disfuncionais, juntamente com a infiltração de células imunes na fração vascular estromal (HOTAMISLIGIL, 2017). Os adipócitos inflamados secretam, tanto local quanto sistematicamente, citocinas pró-inflamatórias, que por sua vez, interrompem a função normal do tecido adiposo em si (HOTAMISLIGIL, 2017). Assim, o tecido adiposo pode ser considerado um agente imune e órgão secretor; e a obesidade, uma doença imune inflamatória (KAWAI; AUTIERI; SCALIA, 2021). Além disso, a inflamação do tecido adiposo em humanos obesos está associada à diminuição da expressão de marcadores lipogênicos, que leva ao desenvolvimento de complicações metabólicas, como a deposição lipídica ectópica no músculo esquelético e fígado (POULAIN-GODEFROY, 2008). Uma vez que essa deposição diminui a sinalização de insulina, considera-se que inflamação do tecido

adiposo branco tem um grande impacto nos distúrbios metabólicos relacionados à obesidade como resistência sistêmica à insulina e desenvolvimento de *Diabetes Mellitus* tipo 2 (HARDY et al., 2011).

Estima-se que obesidade esteja associada à diminuição da expectativa de vida em 5 a 20 anos, dependendo da severidade da condição e comorbidades (KALISH, 2016). Indivíduos com obesidade tem maior risco de desenvolver um amplo conjunto de alterações fisiológicas (tais como resistência à insulina, dislipidemia, aumento da pressão arterial, hiperglicemia), além de doenças associadas como *Diabetes Mellitus* tipo 2, síndrome metabólica, doença hepática gordurosa não alcoólica, alguns tipos de câncer, alergias, osteoporose, sarcopenia, apneia obstrutiva do sono e depressão (SWINBURN et al., 2011; PICHE; TCHERNOF; DESPRÉS, 2020).

No entanto, nem todos os indivíduos com obesidade apresentam alterações fisiológicas (BLUHER, 2020). Alguns, além do elevado Índice de Massa Corpórea (IMC), não apresentam qualquer outra evidência de doença associada ou fator de risco cardiovascular, o que leva ao desenvolvimento do termo “obeso metabolicamente saudável” (MAYORAL et al., 2020). Embora não exista ainda uma definição padronizada, estudos tem analisado as características clínicas destes indivíduos e observaram que estes possuem menor circunferência da cintura (< 88 cm em mulheres e < 102 em homens), menos tecido adiposo visceral, menores nível sérico de triglicerídeos (< 150 mg/dL), menores níveis pressóricos (<130/85 mmHg) e maiores níveis séricos de lipoproteína de alta densidade (HDL) (> 50 mg/dL em mulheres e > 40 mg/dL em homens) (ECKEL et al., 2018; LAVIE et al., 2018). Além disso, tais indivíduos tem um perfil inflamatório mais favorável – incluindo menores níveis séricos de Proteína C-reativa ultrasensível (PCR-us), de Fator de Necrose Tumoral (TNF α), de Interleucina 6 (IL-6) e de inibidor da ativação de plasminogênio 1 – e maior nível de adiponectina que promove a sensibilidade à insulina e diferenciação de adipócitos (STEFAN et al., 2020).

O sobrepeso também está relacionado ao acúmulo excessivo de gordura, no entanto, comparado a obesidade a quantidade deste excesso de gordura é menor, assim como a probabilidade de impactar na saúde como um todo também é menor (MELO et al., 2020). No Brasil, indivíduos que apresentem sobrepeso ou obesidade são denominados, coletivamente, como indivíduos com excesso de peso (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2020)

O tratamento do sobrepeso e da obesidade, bem como suas comorbidades associadas, geram elevados custos para a saúde pública e utilização de recursos já escassos (ANOMALY, 2012). Estudo de Nilson e colaboradores (2020), que analisou dados dos sistemas de informações em saúde do Sistema Único de Saúde (SUS) do ano de 2018 referente a custos com obesidade, hipertensão arterial e diabetes, observou que R\$ 3,45 bilhões foram gastos com estas doenças incluindo hospitalizações, procedimentos ambulatoriais e medicamentos, e, deste valor gasto, a obesidade, individualmente, foi responsável por 11%. Considerando a obesidade como fator de risco para desenvolvimento das outras doenças, os custos atribuíveis foram de R\$ 1,39 bilhões, o que representou 40,3% do custo total (NILSON et al., 2020).

1.1.2 Epidemiologia do sobrepeso e obesidade

Segundo a Organização Mundial da Saúde, mais de 1 bilhão de pessoas no mundo todo tem obesidade, sendo 650 milhões adultos e idosos (WHO, 2022). É estimado que, por volta de 2025, mais 167 milhões de pessoas terão sobrepeso ou obesidade (WHO, 2022).

No Brasil, a prevalência de excesso de peso, entre 2006 e 2019, aumentou de 42,6% para 55,4% da população. Entre os homens, a frequência dessa condição aumentou com a idade até os 44 anos e foi maior nos estratos extremos de escolaridade. Entre as mulheres, a frequência do sobrepeso aumentou com a idade até os 64 anos e diminuiu, notavelmente, com o aumento da escolaridade (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2020).

Para a obesidade, essa mudança na prevalência foi de 11,8% para 19,8%. Para os homens, a frequência da obesidade aumentou com a idade até os 64 anos, e para as mulheres, até os 54 anos. Além disso, para elas, a frequência da obesidade diminuiu consideravelmente com o aumento da escolaridade (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2020). Se nada for feito, projeções para 2030 indicam que esses valores podem alcançar 68% para o excesso de peso e 26% para a obesidade (BRASIL, 2021).

As análises feitas pela Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico (Vigitel) obtidas em 2019 mostrou que, na região Nordeste, a cidade de Natal tinha a segunda maior prevalência (56,6%) de excesso de peso, sendo que 60,8% dos homens e 52,9% das mulheres estavam nesta condição. Já em relação à obesidade, a cidade de Natal liderava com a maior prevalência (22,5%)

dentre as demais capitais da região, tendo 24,3% dos homens e 21% das mulheres apresentando esta doença (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2020).

1.1.3 Diagnóstico do sobrepeso e obesidade

Para que o indivíduo com sobrepeso ou obesidade possa ser tratado, ou antes disso, para que estas condições possam ser prevenidas, o estado do acúmulo de gordura deste indivíduo precisa ser avaliado (ABESO, 2016). Existem vários métodos para avaliação da presença de excessivo acúmulo de gordura corporal baseados na antropometria, na bioimpedância e em métodos de imagem (NIMPTSCH; KONIGORSKI; PISCHON, 2018).

A avaliação antropométrica é considerada um método menos oneroso, simples, extensivamente aplicável e não invasivo que avalia a proporção, tamanho e composição corporal (BRASIL, 2011). Reflete tanto o estado de saúde como o de nutrição, sendo capaz de prever o desempenho e a sobrevivência dos indivíduos (GAZAROVA; GALSNEIDEROVA; MECIAROVA, 2019). Medidas antropométricas como o Índice de Massa Corporal (IMC), as medidas da circunferência da cintura (CC) e da razão circunferência da cintura/circunferência do quadril (RCQ) são bem validadas e tem sido utilizadas rotineiramente para avaliação do sobrepeso e obesidade tendo sido estabelecidos pontos de corte, a partir da sua relação com riscos de morbidades associadas (NIMPTSCH; KONIGORSKI; PISCHON, 2018).

1.1.4 Índice de Massa Corporal (IMC)

O Índice de Massa Corporal (IMC) é uma das formas mais simples de se avaliar a presença de sobrepeso e obesidade e é calculado pela divisão do peso corporal (em kg) pela altura (em m) elevada ao quadrado (WHO, 2000). Como vantagens de se usar esse método, têm-se: a facilidade de obtenção e padronização das medidas de peso e altura; pode ser usado para ambos os gêneros; possui alta correlação com a massa corporal; e é capaz de prever riscos de morbimortalidade principalmente em seus limites extremos (NIMPTSCH; KONIGORSKI; PISCHON, 2018).

Todavia, o IMC também apresenta algumas importantes limitações quando analisado a nível individual. Esta medida não reflete a distribuição real de tecido adiposo e não consegue distinguir massa gordurosa de massa magra o que leva a imprecisão e classificações errôneas em indivíduos idosos (em decorrência da perda de

massa magra e diminuição do peso) e em indivíduos musculosos (em decorrência da alta densidade de massa magra gerando maior peso e superestimação do valor de IMC) (ABESO, 2016). Outra limitação é que classificar os indivíduos com sobrepeso e obesidade pelo IMC varia entre as diferentes etnias. Por exemplo, ponto de corte do IMC para o excesso de peso tem sido sugerido ter um valor muito elevado para indivíduos de origem asiática resultando em um diagnóstico falho nesta população, portanto pontos de corte baseados nas etnias têm sido propostos (PAN; YEH, 2008).

De acordo com as Diretrizes Brasileiras de Obesidade 2016, convencionou-se classificar indivíduos adultos com sobrepeso aqueles que apresentem IMC de 25 a 29,9 kg/m², de adultos com obesidade aqueles com IMC maior ou igual a 30 kg/m² e de adultos com excesso de peso aqueles com IMC maior ou igual a 25 kg/m². Para os indivíduos idosos (definido, no Brasil, como tendo 60 anos ou mais de idade), é definido que o IMC considerado normal varia de > 22 a < 27 kg/m², levando em consideração a diminuição da massa magra e maior risco de sarcopenia (diminuição de massa, força e desempenho muscular além de incapacidade física). São considerados idosos com excesso de peso aqueles que apresentem IMC maior ou igual a 27 kg/m² (ABESO, 2016).

1.1.5 Circunferência da Cintura (CC)

Estudos tem mostrado que a medida da Circunferência da Cintura (CC), utilizada na avaliação da distribuição real da gordura corporal é muito importante por predizer riscos de complicações metabólicas relacionadas à obesidade (PISCHON, 2009). Esta medida reflete indiretamente o conteúdo da gordura visceral e evidências sugerem que o aumento desta gordura traz risco maior para a saúde, correlacionando-se com risco cardiovascular aumentado (ARONNE, 2002). A associação da medida da CC com o IMC melhora a avaliação dos riscos e ajuda a diminuir as limitações de cada uma destas avaliações isoladas (ABESO, 2016).

Segundo a OMS (2000), a medição é feita utilizando uma fita métrica, em posição paralela ao chão, no maior perímetro abdominal, na metade da distância entre a última costela e crista ilíaca anteroposterior. O indivíduo deve estar em pé e na fase final da expiração. Para diagnóstico de risco cardiovascular, a *International Federation of Diabetes* (IDF) leva em conta a etnia do indivíduo para avaliar o ponto de corte da medida de CC. Para os sul-americanos, onde se incluem os brasileiros, considera-se que mulheres que tenham CC maior ou igual a 80 cm e homens que tenham CC maior ou

igual a 90 cm tem risco cardiovascular aumentado (IDF, 2006). Já o *National Cholesterol Education Program* (NCEP), considera como ponto de corte, para medida de CC, 102 cm para homens e 88 cm para mulheres (NCEP, 2001).

1.1.6 Razão circunferência da cintura/circunferência do quadril (RCQ)

A RCQ também é uma medida de avaliação da distribuição da gordura corporal em que se relaciona a medida da circunferência da cintura com a medida da circunferência do quadril, que é medida com fita métrica ao redor do quadril, na maior extensão das nádegas, em um plano horizontal ao chão (OMS, 2000). Na população brasileira, a RCQ também demonstrou estar associada a risco de morbimortalidade e pode ser usada para avaliar a diferença na distribuição da gordura corporal entre homens e mulheres (ABESO, 2016).

Um estudo realizado por Pischon e colaboradores (2008), onde os pesquisadores examinaram a associação entre IMC, CC e RCQ de 359.387 participantes de nove países da Europa, observou que estas medidas antropométricas foram fortemente associadas com o risco de morte. No maior quintil de RCQ, o risco relativo de morte foi mais alto nos homens (1,68) que nas mulheres (1,51).

1.2 Síndrome Metabólica

1.2.1 Definição e características

O termo “síndrome metabólica” foi primeiro proposto, na década de 70, pelo cientista Herman Haller, para identificar um conjunto de fatores de risco cardiovascular, intrinsecamente relacionados, que compreende obesidade visceral, resistência à insulina, hipertensão arterial e dislipidemia (HALLER, 1977). Em 1988, Gerald Reaven propôs um novo termo, que foi “síndrome X” para dar ênfase ao fator resistência à insulina como o fator primordial, argumentando que indivíduos insulinoresistentes poderiam desenvolver a síndrome mesmo não apresentando obesidade (REAVEN, 1988).

A Organização Mundial da Saúde (OMS) e a *American Heart Association*, subsequentemente, reconheceram a Síndrome Metabólica como uma entidade clínica distinta com seu próprio Código Internacional de Doenças (CID: 277.7) (GRUNDY et al., 2004). Apesar disso, ainda não há uma definição mundialmente padronizada para a Síndrome Metabólica (DABKE; HENDRICK; DEVKOTA, 2019). Várias organizações de saúde como a OMS, a *American Association for Clinical Epidemiology*, o *National Cholesterol Program*, a *International Diabetes Federation* e a *American Heart*

Association/National Heart, Lung and Blood Institute estabeleceram suas próprias definições que, embora sejam similares, possuem valores de referência para o diagnóstico dos fatores de risco diferentes (SAKLAYEN, 2018).

Além dos fatores genéticos e epigenéticos, fatores ambientais e de estilo de vida têm sido identificados como os maiores contribuidores do desenvolvimento da Síndrome Metabólica (BOVOLINI et al., 2020). O aumento da adiposidade visceral tem se mostrado como ativadora da maior parte das vias dos mecanismos patológicos da Síndrome Metabólica (PEKGOR et al., 2019). A patofisiologia da Síndrome Metabólica é complexa e não está, ainda, totalmente elucidada. Entre os mecanismos propostos, tem-se que a resistência à insulina, o estresse oxidativo, a inflamação crônica e a ativação neuro-hormonal apresentam papel essencial na progressão da Síndrome Metabólica e posterior transição para doenças cardiovasculares e *Diabetes Mellitus* tipo 2 (ROCHLANI et al., 2017).

Acredita-se que a resistência à insulina tem um papel central na patofisiologia da Síndrome Metabólica (BOVOLINI et al., 2020). Há um aumento da lipólise no tecido adiposo levando a um aumento da concentração dos ácidos graxos livres (AGL) circulantes (LUO et al., 2020). Estes ácidos graxos inibem a ativação da proteína quinase nos músculos, o que reduz a absorção de glicose por este tecido, e aumentam a ativação no fígado, o que promove a gliconeogênese e lipogênese (BODEN; SHULMAN, 2002). O efeito resultante é um estado hiperinsulinêmico no qual o corpo tenta manter a glicemia normal, mas a compensação falha e a secreção de insulina diminui levando a hiperglicemia (ROBERTS; HEVENER; BARNARD, 2013). Além disso, o AGL são também tóxicos para as células beta pancreáticas causando, por si só, a diminuição da secreção de insulina (BODEN; SHULMAN, 2002).

A resistência à insulina também contribui para o desenvolvimento da hipertensão arterial devido à inibição do efeito vasodilatador da insulina e da vasoconstrição causada pelos AGL (BREEN; GIACCA, 2013). Além disso, esta condição causa um aumento na viscosidade do soro, indução do estado pró-trombótico e liberação de citocinas pró-inflamatórias do tecido adiposo, aumento da síntese de triglicerídeos e de apolipoproteína B (MCCRACKEN; MONAGHAN; SREENIVASAN, 2017; BOVOLINI et al., 2020).

Portanto, a análise da resistência à insulina *in vivo* é crucial para o manejo da Síndrome Metabólica e de seus riscos cardiovasculares e metabólicos (MCCRACKEN; MONAGHAN; SREENIVASAN, 2017). Técnicas simples, econômicas e minimamente

invasivas foram estabelecidas para avaliar uma boa acurácia desta condição. Utilizando estas técnicas, apenas com a concentração da glicemia e insulinemia de jejum, é possível calcular o Modelo de Avaliação da Resistência à Insulina (o índice HOMA-IR) e a verificação quantitativa da sensibilidade à insulina (o índice QUICK) (AVIGNON et al., 1999; BONORA et al., 2000). Estes dois índices têm-se mostrado como ferramentas bastante úteis para avaliar a resistência à insulina em estudos epidemiológicos e na prática clínica (MONDAL; SINGH; SAXENA, 2010).

Evidências sugerem que o estresse oxidativo tem um papel importante na patofisiologia da Síndrome Metabólica e em suas complicações vasculares (SANTILLI et al., 2012). Este fator contribui para a disfunção endotelial, que é causada pelo desequilíbrio entre a atividade das enzimas endógenas pró-oxidativas e antioxidantes (PARK et al., 2011). Há redução da bioatividade do óxido nítrico (NO₂), o qual controla o tônus vascular, inibe a função plaquetária e previne a adesão de leucócitos (RAFIKOV et al., 2011). E, portanto, o estresse oxidativo pode levar ao desenvolvimento da aterosclerose que pode acometer indivíduos com Síndrome Metabólica (HUANG, 2009).

A ativação neuro-hormonal está ligada às propriedades endócrinas e imunes das adipocinas, liberadas pelo tecido adiposo visceral frente aos mecanismos patofisiológicos da Síndrome Metabólica (ROCHLANI et al., 2017). A leptina é uma adipocina que controla a homeostase energética e tem sua concentração aumentada em indivíduos obesos, o que é correlacionado com o aumento do risco cardiovascular (SETHI; VIDAL-PUIG, 2007). A adiponectina é uma adipocina que inibe a inflamação e a aterogêneses e seu efeito é contrário ao da leptina (KADOWAKI et al., 2006). O aumento do tecido adiposo é correlacionado com aumento da concentração de leptina e diminuição da concentração de adiponectina, o qual adicionado à presença de citocinas pro-inflamatórias é fortemente associado com Síndrome Metabólica (BARAZZONI; SILVA; SINGER, 2014).

Os vários mecanismos patogênicos responsáveis pelo desenvolvimento da Síndrome Metabólica vistos anteriormente culminam em um estado comum pró-inflamatório que explica a elevação de vários marcadores de inflamação como interleucina-6 (IL-6), fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e proteína C-reativa (PCR), os quais são observados em indivíduos com a Síndrome Metabólica (ROCHLANI et al., 2017). Esta inflamação crônica leva à fibrose dos tecidos, aterogênese e, posteriormente, a doenças cardiovasculares (ECKEL; GRUNDY; ZIMMET, 2005).

A IL-6 é uma citocina produzida por macrófagos e adipócitos e apresentam níveis séricos aumentados nas condições de obesidade e resistência à insulina (WEISBERG et al., 2003). Esta citocina age no fígado aumentando a produção de marcadores inflamatórios de fase aguda como a PCR e o fibrinogênio (KASSI et al., 2011). A concentração sérica de PCR isolada prediz fator de risco para eventos cardiovasculares em pacientes com Síndrome Metabólica e, assim, sugere-se que a análise de marcadores inflamatórios nestes pacientes deve ser realizada para a estratificação do risco cardiovascular (MALIK et al., 2005).

O TNF- α é outra citocina também produzida por macrófagos que tem sua produção elevada com o aumento do tecido adiposo (ROCHLANI et al., 2017). Este causa fosforilação e inativação dos receptores de insulina nos adipócitos e células musculares, além da indução de lipólise e inibição da liberação de adiponectina (WEISBERG et al., 2003). Portanto, o aumento dos níveis séricos de tal fator está associado à obesidade e à resistência à insulina, os quais são relacionados à Síndrome Metabólica.

1.2.2 Epidemiologia da Síndrome Metabólica

A prevalência global da Síndrome Metabólica difere dependendo do critério diagnóstico utilizado e das características sociodemográficas da população tais como gênero, idade e etnia (MCCRACKEN; MONAGHAN; SREENIVASAN, 2017). Além de diminuir a qualidade de vida dos indivíduos, a Síndrome Metabólica tem um impacto econômico significativo, uma vez que o alto risco de desenvolver *Diabetes Mellitus* tipo 2 aumenta para mais de 30% a probabilidade de acometimento de doenças cardiovasculares, que são a principal causa de morte no mundo (SAKLAYEN, 2018).

Nos Estados Unidos, uma pesquisa feita pela *US National Health and Nutrition Examination* observou que, aproximadamente, 1 em cada 3 adultos tinham Síndrome Metabólica e também que 40% dos adultos com 40 anos ou mais eram acometidos por esta (SHERLING; PERUMAREDDI; HENNEKENS, 2017). Em relação à etnia, foi observado que mulheres americanas-hispânicas tinham maior prevalência (BELTRAN-SANCHEZ et al., 2013).

Um estudo epidemiológico realizado na Europa com 15.521 indivíduos, observou que 41,2% dos homens e 37,9% das mulheres apresentavam Síndrome Metabólica e que esta prevalência aumentava com a idade (GAO, 2008). Uma revisão sistemática de estudos provenientes do Oriente Médio reportou uma prevalência de 20,7

- 37,2% em homens e 32,1- 42,7% em mulheres (MABRY et al., 2010). Na China, 58,1% dos indivíduos com 60 anos ou mais apresentam Síndrome Metabólica (LIU et al., 2013).

Estudos realizados na América do Sul, mostraram altos valores de prevalência, variando de 12,3% a 44,6%, dependendo do critério diagnóstico utilizado (PINZÓN ET AL., 2007; MUJICA ET AL., 2008; LIRA NETO ET AL., 2017). No Brasil, um estudo transversal que utilizou dados da Pesquisa Nacional de Saúde (2013) observou que a prevalência de Síndrome Metabólica na população brasileira foi de 38,4% (OLIVEIRA et al., 2020). Estimou-se que as mulheres tiveram maior prevalência de Síndrome Metabólica comparado aos homens (Razão de Prevalência = 1,20). Foi observado também que a prevalência aumentou com a idade, sendo 66,1% dos indivíduos com Síndrome Metabólica tinham 60 anos ou mais. O grupo de menor escolaridade apresentou quase o dobro de prevalência em relação ao grupo de maior escolaridade (Razão de Prevalência = 1,73). Quanto a raça, não foi observada diferença.

Estudo transversal realizado na Bahia com indivíduos adultos com excesso de peso e acompanhados ambulatoriamente, observou que 88% destes tinham Síndrome Metabólica, sendo a maior parte mulheres (87,4%) e de raça não-branca (84,2%) (SANTOS et al., 2021). Outro estudo realizado também no Nordeste, no Piauí, por Lira-Neto e colaboradores (2017) observou que a Síndrome Metabólica esteve presente em 50,7% dos indivíduos com *Diabetes Mellitus tipo 2*, similar a prevalência global desta condição, que varia entre 45,8 a 96,3% (YADAV et al., 2013).

1.2.3 Diagnóstico da Síndrome Metabólica

O diagnóstico da Síndrome Metabólica e as pesquisas realizadas nesta área tem sido dificultado pela ausência de um consenso mundial acerca da sua definição e pontos de corte dos seus componentes. Tal fato tem repercussões na prática clínica e nas políticas de saúde pública.

Em 1998, a OMS foi a primeira a propor critérios para o diagnóstico da Síndrome Metabólica reunindo os principais componentes: resistência à insulina, dislipidemia, obesidade e hipertensão (HUANG et al., 2009). A definição traz que a resistência à insulina deve estar presente (avaliada pelo diagnóstico de DM2, ou alteração na glicemia de jejum ou alteração no teste de tolerância à glicose), em concomitância com, no mínimo, dois dos seguintes parâmetros: obesidade (avaliada pelo IMC ou pela RCQ), dislipidemia, hipertensão arterial e microalbuminúria

aumentada (TABELA 1) (ALBERTI; ZIMMET, 1998). Em 1999, o *European Group for the Study of Insulin Resistance* (EGIR) fez uma modificação nos critérios diagnósticos propostos pela OMS, sugerindo que o indivíduo seria portador de síndrome metabólica se tivesse hiperinsulinemia (definido como sendo maior que 75% do nível plasmático de insulina de indivíduos não-diabéticos) associada à pelo menos duas das seguintes alterações: obesidade central (avaliada pela CC), dislipidemia, hipertensão arterial e glicemia de jejum alterada (TABELA 1) (BALKAU; CHARLES, 1999). O fato das definições da OMS e da EGIR preconizarem a resistência insulínica ou o distúrbio do metabolismo da glicose como ponto de partida dificulta a utilização destas na prática clínica (ARQUIVO BRASILEIRO DE CARDIOLOGIA, 2005)

Em 2001, o *National Cholesterol Education Program's – Adult Treatment Panel III* (NCEP-ATP III) propôs uma definição para a Síndrome Metabólica que foi atualizada em 2004 pela *American Diabetes Association*. Segundo tal definição, o diagnóstico de Síndrome Metabólica dá-se pela presença de pelo menos 3 dos seguintes critérios: elevada circunferência abdominal, hipertensão, hipertrigliceridemia, hiperglicemia de jejum, baixos níveis séricos de lipoproteína de alta densidade (HDL) (TABELA 1) (*EXECUTIVE SUMMARY OF THE THIRD REPORT OF NCEP-ATP III*, 2001). O diagnóstico do NCEP-ATP III tem melhor acurácia e sensibilidade para prever risco cardiovascular, independentemente da idade, gênero, doença cardiovascular prévia, tabagismo, presença de hipercolesterolemia, diabetes e hipertensão (MILIONIS et al., 2007). Esta definição não requer a presença de nenhum critério específico, e assim, a definição não é construída a partir de uma noção pré-concebida de causa da Síndrome Metabólica (HUANG et al., 2009). Devido à simplicidade e praticidade, este critério é o preconizado para uso no Brasil pela I Diretriz Brasileira de Diagnóstico e Tratamento da Síndrome Metabólica (ARQUIVOS BRASILEIROS DE CARDIOLOGIA, 2005)

Em 2005, a *International Diabetes Federation* (IDF) publicou uma nova definição para a Síndrome Metabólica a fim de conceber critérios de diagnóstico de utilização universal e de fácil uso na prática clínica. Para o IDF, a obesidade central é o foco da Síndrome Metabólica e não necessariamente à resistência à insulina. Portanto, a circunferência abdominal aumentada é pré-requisito essencial para o diagnóstico da Síndrome Metabólica nesta definição somada a dois outros critérios entre os demais essencialmente idênticos aos preconizados pelo NCEP-ATP III (TABELA 1) (ZIMMET et al., 2005). O ponto de corte da circunferência abdominal passou a ser definido

levando em consideração a etnia e o sexo de cada indivíduo, tendo em vista que diferentes populações têm variações na distribuição de gordura pelo corpo (HUANG et al., 2009).

Também em 2005, a *American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute* (AHA/NHLBI) uniu-se ao IDF para tentar reconciliar as diferentes definições clínicas (ALBERTI et al., 2009). Apesar do esforço para tanto, o AHA/NHLBI não determinava a obesidade abdominal como um critério requerido assim como suas recomendações separadas continham diferenças relacionadas aos pontos de corte para medidas de circunferência da cintura que caracterizariam tal obesidade abdominal (ALBERTI et al., 2009). Para o AHA/NHLBI, os pontos de corte eram ≥ 102 cm para homens e ≥ 88 cm para mulheres e estes são consistentes com a definição de obesidade abdominal encontrada nas diretrizes de obesidade do National Institute of Health, que equivalem a um IMC de, aproximadamente, 30 kg/m^2 em homens (GRUNDY et al., 2005). Já os valores de ponto de corte para circunferência da cintura preconizados pelo IDF são mais aproximados a um IMC equivalente à 25 kg/m^2 (ZIMMET et al., 2005). Os demais critérios foram idênticos ao IDF.

Tabela 1 – Diagnóstico de Síndrome Metabólica

	OMS (1998)	EGIR (1999)	NCEP-ATP III (atualização 2005)	IDF (2006)
Definição	Resistência à insulina mais dois dos seguintes componentes	Hiperinsulinemia mais dois dos seguintes critérios	Pelo menos 3 dos seguintes critérios	Obesidade central mais dois dos seguintes critérios
Critérios				
Obesidade	IMC $> 30 \text{ kg/m}^2$ e RCQ $> 0,9$ (homens) e $> 0,85$ (mulheres)	CC > 94 cm (homens) e > 80 cm (mulheres)	CC > 102 cm (homens) e > 88 cm (mulheres)	Obrigatoriamente alterada
Glicemia	Obrigatoriamente alterada	Obrigatoriamente alterada	$\geq 110 \text{ mg/dl}$ ou diabetes	$\geq 100 \text{ mg/dl}$ ou diabetes
Perfil lipídico	Triglicerídeos $\geq 150 \text{ mg/dl}$ HDL $< 35 \text{ mg/dl}$	Triglicerídeos $\geq 177 \text{ mg/dl}$ HDL $< 39 \text{ mg/dl}$	Triglicerídeos $\geq 150 \text{ mg/dl}$ HDL $< 40 \text{ mg/dl}$	Triglicerídeos $\geq 150 \text{ mg/dl}$ HDL $< 40 \text{ mg/dl}$

	(homens) e < 39 mg/dl (mulheres)	(homens) e < 50 mg/dl (mulheres)	(homens) e < 50 mg/dl (mulheres)
Pressão arterial	≥ 140/90 mmHg	≥ 140/90 mmHg ou hipertensão	> 130/85 mmHg ou hipertensão
Outros	Microalbuminúria	-	-

Fonte: Adaptado de Huang et al (2009) e Bovolini et al (2020).

1.3 Efeitos do excesso de peso e da Síndrome Metabólica na microbiota intestinal

O trato gastrintestinal é colonizado por mais de 100 trilhões de microrganismos comensais, que constituem uma complexa e dinâmica comunidade chamada microbiota (TREMAROLI; BACKHED, 2012). Esta é constituída pelos filos predominantes Bacteroidetes (exemplo: *Bacteriodes* spp.) e Firmicutes (exemplos: *Clostridium* spp. e *Bacillus* spp.), que representam cerca de 90% da população microbiana (SEHGAL; KHANA, 2021).

A microbiota é importante em funções essenciais fisiológicas e, portanto, tem papel crucial no processo saúde-doença do hospedeiro. As principais funções que ela exerce na mucosa intestinal são: (a) protege contra outros microrganismos patogênicos invasores pela direta competição contra estes (KAMADA et al., 2013); (b) promove a proliferação e diferenciação das células epiteliais intestinais, mantendo a superfície da mucosa intacta (TOMAS et al., 2015); (c) estimula a resposta imune inata pela iniciação da maturação de células dendríticas e diferenciação de linfócitos B e T (BELKAID; HAND, 2014); (d) metaboliza carboidratos não digestíveis como fonte de energia para o hospedeiro (CANFORA; JOCKEN; BLAAK, 2015); (e) sintetiza vitaminas (ARUMUGAM et al., 2011) e (f) metaboliza xenobióticos (SNEDEKER; HAY, 2012).

No entanto, estas funções podem ser prejudicadas pela alteração da composição da microbiota devido a fatores genéticos, imunológicos e ambientais, com ênfase na dieta e sedentarismo (MEZOUAR et al., 2018). Estudos em humanos e animais tem observado que o excesso de peso, a Síndrome Metabólica e dietas com alto teor de gorduras saturadas e baixo teor de fibras têm sido associadas com alterações na microbiota intestinal gerando impacto nas funções imunológicas e metabólicas do hospedeiro (CANI et al., 2008; HARTE et al., 2012; MARTINEZ-MEDINA, 2014 VORS et al., 2015; MORALES et al., 2016; AHMAD et al., 2017; SHI et al., 2019; DABKE; HENDRICK; DEVKOTA, 2019; BAHLOULI et al., 2020). Essas alterações levam a um desequilíbrio na composição da microbiota, resultando em uma maior

concentração do filo Firmicutes comparado ao filo Bacteroidetes, sendo denominada disbiose (ROHR et al., 2020).

A disbiose intestinal induz o aumento da liberação de interferon gama (IFN- γ) pelos linfócitos T adicionada à redução das células e moléculas que mantêm a homeostase sanguínea (células T regulatórias, células T auxiliares - TH17, e interleucinas, como a IL-22) (TILG et al., 2020). Sob essas condições, há um aumento de duas a três vezes da expressão de lipopolissacarídeos (LPS), que são componentes da membrana externa de bactérias gram-negativas presentes na microbiota, e estes ligam-se à lipoproteínas ligantes de LPS (*Lipopolysaccharide Binding Protein* - LBP) entrando na corrente sanguínea, levando a um estado que é chamado de endotoxemia metabólica (COX et al., 2015). Estudos com modelos animais observaram que esses LPS em excesso ligam-se aos receptores toll-like 4 (TLR-4) nos enterócitos, ativando o fator nuclear kappa beta (NF- κ B) e promovendo a transcrição de moléculas pró-inflamatórias (por exemplo: TNF α , IL-1 e IL-6) (WINER et al., 2016). Todo este processo culmina na diminuição da camada de muco intestinal e promoção de eventos inflamatórios no trato gastrointestinal associados à alteração na função de barreira intestinal (ARAÚJO et al., 2017).

1.4 Função de barreira gastrointestinal

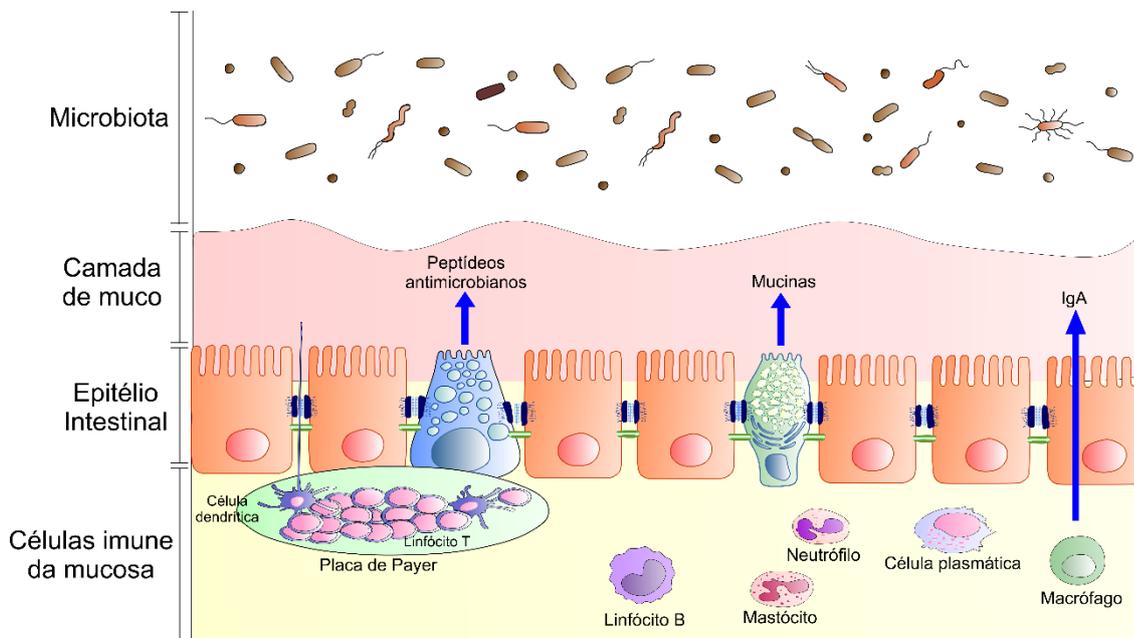
1.4.1 Morfologia da barreira gastrointestinal

A barreira gastrointestinal está localizada na mucosa e configura-se como uma interface primária entre o meio interno e o ambiente luminal (MARTINEZ-AUGUSTIN et al., 2014). Esta barreira permite a absorção do meio externo de eletrólitos, água e nutrientes, mantendo funções essenciais do organismo e contribuindo para a homeostase iônica (MARTINEZ-AUGUSTIN et al., 2014; CHELAKKOT; GHIM; RYU, 2018). E também é permeável à certos antígenos, que tem um papel na regulação da imunidade; de potenciais microrganismos patogênicos da microbiota; e de moléculas tóxicas do lúmen intestinal (CAMILLERI et al., 2019). A função de barreira gastrointestinal constitui-se na capacidade que esta interface tem de proteger o organismo do conteúdo luminoso prejudicial e de controlar a permeabilidade seletiva da mucosa (GHOSH et al., 2020).

Três componentes interagem e constituem a barreira gastrointestinal: a camada de muco, o epitélio intestinal e as células imunes da mucosa (CAMILLERI et al., 2019; FORLANO et al., 2022) (FIGURA 1). A interação equilibrada entre estes três

componentes é essencial para manter a homeostase da barreira, permitindo a absorção de água e nutrientes essenciais enquanto protege de elementos nocivos à saúde do organismo, tais como microrganismos patogênicos e toxinas (CAMILERRI et al., 2019).

Figura 1 – Componentes da barreira gastrointestinal



Fonte: elaborada pela autora, baseada em FARRE et al. (2020) e FORLANO et al (2022). Desenho representativo dos componentes da barreira gastrointestinal composto pela camada de muco, epitélio intestinal e células imunes da mucosa. A primeira camada é formada pelas mucinas, produzidas pelas células caliciformes; pelos peptídeos antimicrobianos, produzidos pelas células de Paneth; e pelo Imunoglobulinas A (IgA), produzidas pelas células imunes da mucosa. A segunda camada é formada pelos enterócitos unidos pelo complexo juncional e as células especializadas. A terceira camada é formada pela Placa de Payer com suas células imunes e pelas demais células inunes da mucosa.

1.4.1.1 Camada de muco

A camada de muco é uma camada de gel que separa o lúmen intestinal do epitélio intestinal, e, portanto, limita a exposição do lado apical deste epitélio ao microbioma, protegendo-o contra microrganismos do lúmen (JOHANSSON et al., 2008). Essa camada é formada por água e glicoproteínas chamadas de mucinas, os quais são secretadas pelas células caliciformes presentes no epitélio intestinal (FIGURA 1). Sua função é facilitar a passagem de pequenas moléculas, mas não de enzimas digestivas e ácidos (FARRE et al., 2020). Além disso, a camada de muco possui atividade antimicrobiana por conter peptídeos antimicrobianos, que são secretados pelas células de Paneth, também presentes no epitélio intestinal, e imunoglobulinas IgA,

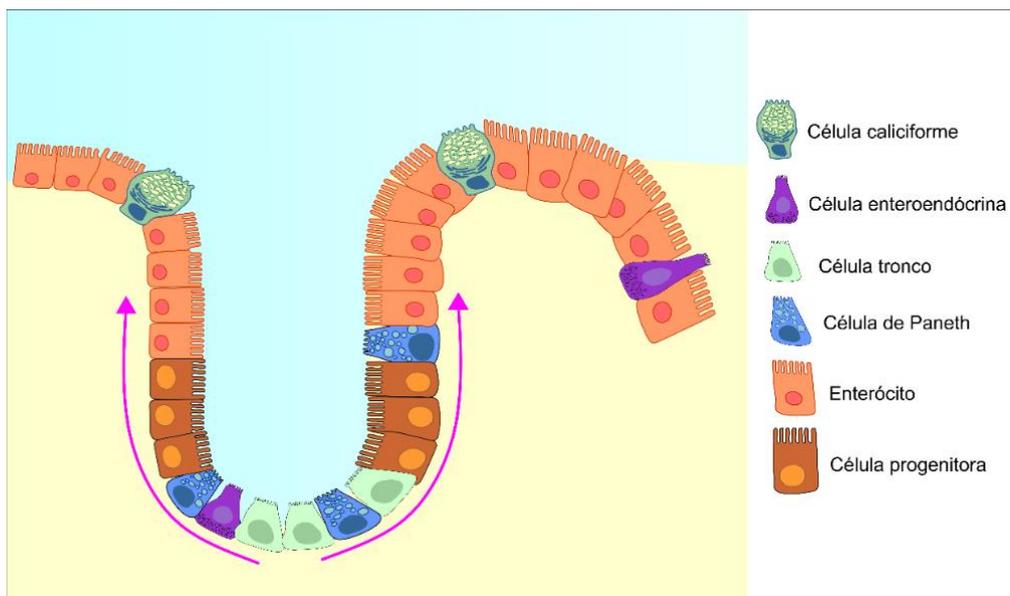
produzidas pelas células imunes da lâmina própria e secretadas no muco (FIGURA 1) (CAMILLERI et al., 2019). A ausência da camada de muco, devido a fatores biológicos como a hipovitaminose A ou à doença celíaca, pode deixar o organismo vulnerável a inflamações intestinais, que levam ao desenvolvimento de colite e até mesmo predisposição ao câncer colorretal (CHEALAKKOT; GHIM; RYU, 2018).

1.4.1.2 Epitélio intestinal

O epitélio intestinal é o componente central da barreira gastrointestinal. Constitui-se de uma camada contínua de células epiteliais intestinais colunares fortemente ligadas entre si (RESCIGNO, 2011). Essa camada, juntamente com a lâmina própria, dobra-se e forma unidades de vilos e criptas (CLEVERS, 2013). Os vilos são invaginações epiteliais que se projetam para o lúmen intestinal para maximizar a superfície absorptiva do epitélio, enquanto as criptas são invaginações encontradas nas bases dos vilos (FIGURA 2) (PETERSON; ARTIS, 2014).

Nas criptas, células-tronco intestinais, constantemente, dividem-se levando a progenitores que se diferenciam em células epiteliais especializadas e migram das criptas em direção ao vilos (PETERSON; ARTIS, 2014; BLOEMENDAAL et al., 2016). Essas células são: a) enterócitos, que são as mais numerosas e estão envolvidas na absorção de nutrientes, eletrólitos e água; b) células caliciformes, que produzem e secretam glicoproteínas (muco) para lubrificar e proteger o epitélio intestinal; c) células de Paneth, que secretam peptídeos antimicrobianos e nutrem as células-tronco intestinais; e d) células enteroendócrinas, que secretam hormônios que regulam as funções digestivas, tais como as catecolaminas (FIGURA 2) (SATO et al., 2011; PETERSON; ARTIS, 2014; BLOEMENDAAL et al., 2016). A constante proliferação e diferenciação das células epiteliais em poucos dias faz desse epitélio um dos tecidos mais ativos do organismo (CHEALAKKOT et al., 2018).

Figura 2 – Morfologia do epitélio intestinal e distribuição das células especializadas



Fonte: Elaborada pela autora, baseada em PETERSON E ARTIS (2014).

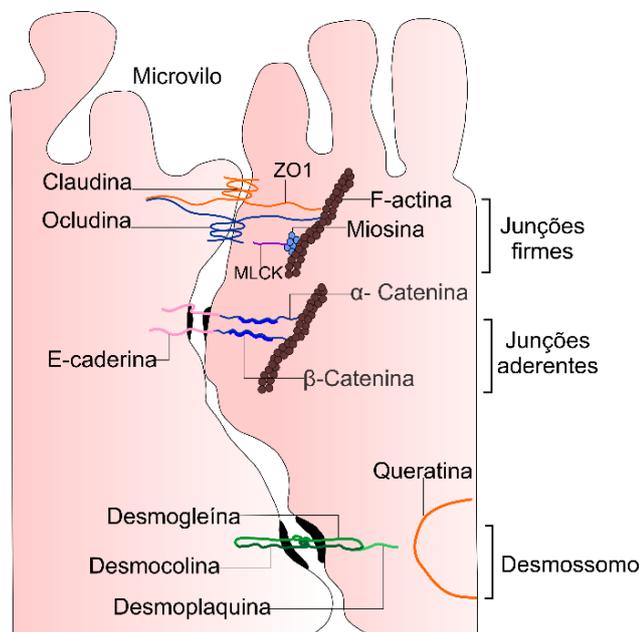
Desenho esquemático da morfologia do epitélio intestinal com suas células constituintes e as invaginações formando as criptas e os vilos. Nas criptas estão as células tronco que se dividem para a formação de células progenitoras que, por sua vez, se diferenciam nas células especializadas, migrando da cripta em direção aos vilos.

As células epiteliais intestinais interagem entre si através de três complexos juncionais: junções firmes (JF), junções aderentes (JA) e desmossomos (KARCZEWSKI et al., 2010) (FIGURA 3).

As junções firmes (JF) são as principais estruturas envolvidas na adesão célula-célula. Tem como função regular a permeabilidade paracelular que está associada com o transporte de soluto, água e íons no espaço entre as células, criando uma diferença de potencial ao longo do epitélio intestinal (FORLANO et al., 2022). A estrutura é constituída por proteínas transmembranares, como as claudinas, ocludinas e trileucina, e proteínas citoplasmáticas, como a zonulas ocludentes (ZO) e cigulinas (TURNER et al., 2009). As proteínas transmembranares constituem as adesões entre as células, vedando os espaços, enquanto as proteínas citoplasmáticas conectam as proteínas transmembranares ao citoesqueleto de actina (FIGURA 3) (CHIBA et al., 2008). Essa interação é necessária para a manutenção da integridade estrutural da função de barreira do epitélio intestinal (RODRIGUES et al., 2016). A regulação das JF é complexa e envolve diversas vias de sinalização, como a proteína quinase C (PKC), proteínas quinases ativadas por mitógenos (MAPK), miosina quinase de cadeia leve (MLCK) e família Rho de pequenas GTPases. Evidências significantes têm destacado também o

papel de citocinas (TNF- α , INF- γ e interleucinas) na regulação das JF em condições patológicas (CHELAKKOT et al., 2018).

Figura 3 – Complexo juncional apical do epitélio intestinal



Fonte: Adaptado de TURNER (2009).

A figura representa o complexo que une as células colunares do epitélio intestinal. Logo abaixo dos microvilos, observa-se o complexo nomeado como junções firmes composto pela interação entre claudina, ocludina, zonulas ocludentes 1 (ZO1) e F-actina. Este complexo é regulado por vias de sinalização, como a MLCK visto na figura. Abaixo deste primeiro, encontra-se o segundo complexo que são as junções aderentes, composto pela interação da F-actina com a E-caderina, β -catenina e α -catenina. Na região basolateral, encontra-se o desmossomo que são junções adesivas formado pela interação entre a desmogleína, desmocolina, desmoplaquina e filamentos de queratina.

As claudinas são uma família de 27 proteínas (20-27 kDa) que possuem quatro domínios transmembranares, com domínio C-terminal e N-terminal citoplasmáticos, e são responsáveis pela regulação do espaço paracelular (TSUKITA; FURUSE; ITOH, 2001). Suas alças extracelulares fazem as interações homofílicas e heterofílicas com células adjacentes, criando uma barreira seletiva para a passagem de determinadas moléculas pela via paracelular (ANDERSON; VAN ITALLIE, 2009). Existem várias isoformas de claudinas, cada uma com papéis diferentes, com características seletivas de permeabilidade dependentes do número e da posição dos aminoácidos carregados na primeira alça extracelular da proteína (CHEALAKKOT et al., 2018). O equilíbrio entre essas isoformas é necessário para a manutenção da integridade paracelular, pois alterações nos níveis de claudinas pode afetar a integridade da barreira intestinal de diferentes formas, dependendo da isoforma de claudina (FINDLEY; KOYAL, 2009). Por exemplo, a desregulação da claudina-5 e 8 pode drasticamente reduzir a integridade

da barreira (ZEISSIG et al., 2007), e em contraste, a isoforma claudina-2, que é necessária para a formação dos canais de água paracelulares, tem sua expressão aumentada em doenças intestinais promovendo inflamação (AHMAD et al., 2014).

As ocludinas foram as primeiras proteínas a serem identificadas nas junções firmes e são fosfoproteínas (65 kDa) (FURUSE et al., 1993). Elas têm duplo papel na barreira intestinal, atuam como reguladora e como uma proteína estrutural importante no estabelecimento das propriedades da barreira (FELDMAN; MULLIN; RYAN, 2005). O nível de expressão de ocludinas foi correlacionado com propriedades da barreira (CHEN et al., 1997; KEVIL et al., 1998; BALDA et al., 2000). A expressão comprometida de ocludina tem sido observada em vários modelos de doenças intestinais inflamatórias, o que sugere o papel crucial destas proteínas para a manutenção da integridade da barreira intestinal (MENNINGEN et al., 2009; LI et al., 2014; NIGHOT et al., 2015).

As zonulas ocludentes são proteínas citoplasmáticas periféricas das junções firmes e são identificadas pelas isoformas ZO-1, ZO-2 e ZO-3 (CHEALAKKOT et al., 2018). E são todos caracterizados pela sua habilidade em interagir com diferentes proteínas celulares através dos seus domínios de ligação, tais como o SH3, o PDZ e o domínio membranal associado à guanilato quinase (GUK) (SUZUKI et al., 2013). As claudinas ligam-se aos primeiros domínios PDZ de ZO-1, -2 e -3 (ITOH et al., 1993), enquanto a ocludina liga-se ao domínio GUK de ZO-1 (ULLUWISHEWA et al., 2011).

As junções aderentes (JA) formam ligações fortes adesivas para a manutenção das interações intercelulares (FIGURA 3). São constituídas por caderinas, que são proteínas transmembranares de abrangência única que interagem homotipicamente com a porção extracelular das células adjacentes (TURNER, 2009). É necessária para a montagem eficiente das JA, a função da caderina epitelial (E-caderina), da α -catenina e da β -catenina (FIGURA 3) (ODENWALD; TURNER, 2017). A ruptura das JA resulta na perda de contato intercelular, disfunção da polarização epitelial, diferenciação e apoptose precoce das células intestinais (HERMISTON; GORDON, 1995).

Os desmossomos são estruturas que se conectam aos filamentos intermediários do citoesqueleto, proporcionando fortes ligações adesivas que mantém a proximidade celular e são também locais de comunicação intercelulares (RODRIGUES et al., 2016). São compostos por múltiplas subunidades de proteínas, tais como desmocolina, desmogleína, e desmoplaquina e, também, por filamentos de queratina que se ligam à membrana plasmática (FIGURA 3) (TURNER, 2009).

1.4.1.3 Células imunes da mucosa

Também conhecida como sistema imune da mucosa, a população de células imunes da mucosa compreende uma variedade de células que residem na lâmina própria e nas placas de Peyer, ambas subjacentes ao epitélio intestinal (FIGURA 1) (CAMILLERI et al., 2019). Este complexo de células imunes conectadas mantém a homeostase imunológica da mucosa intestinal pelo equilíbrio da ativação imune que protege contra a invasão microbiana enquanto, simultaneamente, regula a extensão da inflamação via tolerância imune para prevenir doenças inflamatórias intestinais (TOMASSO et al., 2021). Na população de células imunes estão incluídos os linfócitos T regulatórios e efetores, linfócitos B, células dendríticas, e componentes da resposta imune inata como macrófagos, mastócitos e neutrófilos (NI et al., 2017).

1.4.2 Fisiologia da barreira do epitélio intestinal

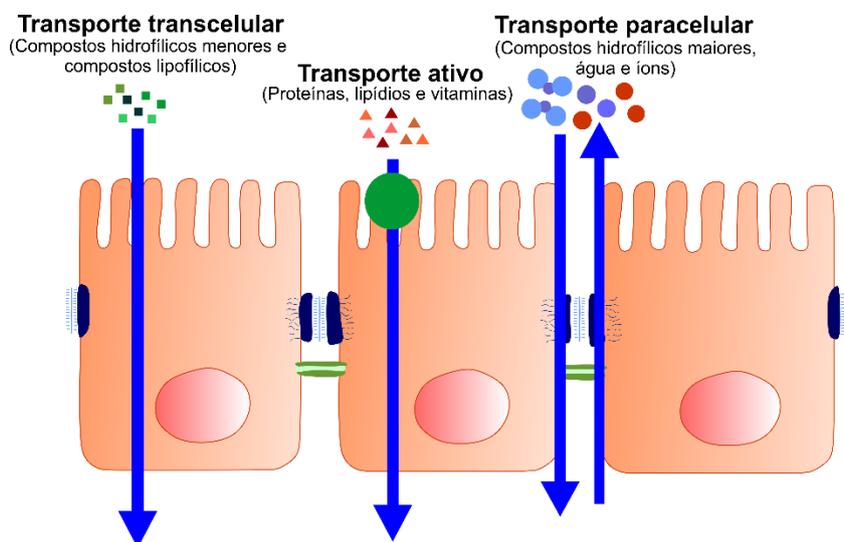
Como já foi mencionado, as células epiteliais formam uma camada única de células (os enterócitos) bastante polarizadas e aderidas umas às outras limitando o lúmen dos espaços intercelulares. Estas propriedades eletroquímicas do epitélio intestinal permitem a permeação de moléculas e solutos, ao longo desta monocamada, por meio de processos coordenados que constituem a permeabilidade intestinal seletiva e dependem das propriedades físicas e químicas das moléculas (CHEALAKKOT et al., 2018; FORLANO et al., 2022). Esta permeabilidade dá-se através de dois principais mecanismos: o transporte transcelular e o transporte paracelular.

A via transcelular está associada ao transporte de pequenos compostos hidrofílicos e lipofílicos que atravessam a membrana plasmática dos enterócitos por meio de difusão passiva (SCHOULTZ et al., 2020) (FIGURA 4). Água, íons e compostos hidrofílicos maiores, com peso molecular entre 400 Da e 10-20 kDa, são absorvidos entre os enterócitos, através dos espaços intercelulares, pela via de transporte paracelular (FARRE et al., 2020) (FIGURA 4). Esta via tem fluxo bidirecional e é regulada pelas JF, que são responsáveis por selar o espaço paracelular entre as células permitindo o transporte de alguns solutos e moléculas hidrofílicas, mas restringindo o transporte de proteínas, lipídios e vitaminas (DIAMOND, 1977; CHEALAKKOT et al., 2018).

Diferentes nutrientes, tais como vitaminas, aminoácidos e carboidratos atravessam os enterócitos através de transportadores epiteliais localizados na membrana

apical e basolateral que usam energia, ou seja, através de transporte ativo (RODRIGUES et al., 2016) (FIGURA 4). Peptídeos maiores, proteínas e bactérias (da microbiota ou invasoras) ou produtos bacterianos de peso elevado atravessam o epitélio intestinal até a corrente sanguínea através de uma combinação das vias de transporte (FORLANO et al., 2022). Algumas formas de LPS e peptídeos quimiotáticos derivados da microflora intestinal, por exemplo, podem, potencialmente, atravessar o epitélio pelo mecanismo de transporte paracelular (TANAKA et al., 2015). Portanto, alterações no mecanismo de transporte paracelular assim como na absorção de peptídeos maiores, antígenos derivados de alimentos e bactérias patogênicas podem ter papel importante na patofisiologia de várias doenças incluindo-se as gastrointestinais (FARRE et al., 2020).

Figura 4 – Mecanismos de transporte relacionados a permeabilidade da barreira do epitélio intestinal



Fonte: elaborada pela autora.

A figura representa os mecanismos de transporte pelos quais moléculas e íons são capazes de atravessar a barreira do epitélio intestinal. O transporte transcelular ocorre por meio do processo de difusão passiva pela membrana dos enterócitos. O transporte ativo ocorre com a ajuda de transportadores ativos localizado na membrana apical dos enterócitos utilizando de gasto de energia. O transporte paracelular é bidirecional e ocorre no espaço intercelular dos enterócitos regulado pelo complexo juncional que seleciona o que pode passar através desse meio.

1.5 Métodos de avaliação da permeabilidade da barreira do epitélio intestinal

A avaliação da permeabilidade intestinal é uma medida útil de como a função de barreira do epitélio intestinal está operando. O objetivo desta mensuração é analisar as disfunções da barreira e correlacionar com risco de desenvolver doenças inflamatórias (CAMILLERI et al., 2019).

A permeabilidade intestinal pode ser avaliada de diferentes formas. As técnicas variam dependendo da configuração (*in vivo* ou *in vitro*), do modelo experimental (animal ou humano), dos marcadores que se quer usar (íons, carboidratos de diferentes tamanhos, macromoléculas e antígenos ou bactérias e seus produtos) e do tipo de amostra coletada para análise (urina, sangue periférico ou sangue da veia porta) (BISCHOFF et al., 2014). Cada metodologia é específica para uma seção do trato gastrointestinal e pode avaliar diferentes aspectos da integridade epitelial do intestino (GALIPEAU; VERDU, 2016).

As técnicas *in vitro* avaliam a permeabilidade intestinal baseada em biópsias de tecido do trato gastrointestinal (KHOSHBIN et al., 2020). Como exemplo, tem-se o método das Câmaras de Ussing, que quantifica a resistência elétrica transepitelial por medir o fluxo de íons através do epitélio intestinal (CAMILLERI et al., 2019). Esta resistência reflete a resistência elétrica do transporte paracelular, regulado pelas JF; do transporte transcelular, o qual indica a resistência à passagem de íons pela membrana apical da célula; da camada basolateral; e da camada subepitelial (FARRE et al., 2020). Além da metodologia da Câmara de Ussing, existem a avaliação da expressão das proteínas das JF nos enterócitos por imuno-histoquímica e ensaios de Reação em Cadeia de Polimerase (RCP) quantitativa (KHOSHBIN; CAMILLERI, 2020). Pelo fato de necessitar de várias amostras de biópsias da mucosa de diferentes regiões do intestino, as técnicas *in vitro* são bastante invasivas para pesquisas com humanos (CAMILLERI et al., 2019).

Portanto, técnicas *in vivo* de avaliação da permeabilidade através de marcadores, ingeridos oralmente, que atravessam o epitélio intestinal e são excretados na urina, são as mais utilizadas na pesquisa clínica (KHOSHBIN; CAMILLERI, 2020). Tais marcadores precisam ser inertes dentro da corrente sanguínea e serem livremente filtrados pelos glomérulos renais, permitindo assim serem coletados na urina sem sofrerem danos à sua estrutura ou reabsorção ativa pelos rins (ODENWALD; TURNER, 2013). No entanto, muitos fatores podem afetar a excreção urinária destes, tais como o tempo do trânsito intestinal, a área de superfície intestinal, a degradação dos marcadores dentro do lúmen intestinal ou da corrente sanguínea, a interferência de fármacos e a disfunção renal (RAO et al., 2011).

Os sacarídeos são as principais moléculas utilizadas como marcadores nas técnicas *in vivo* de avaliação da permeabilidade intestinal. A maioria é absorvida no intestino delgado e no cólon, com diferentes tempos de excreção urinária, o que reflete

diferentes regiões de absorção ao longo do trato gastrointestinal (FORLANO et al., 2022). Dentre estes sacarídeos, os mais utilizados em estudos clínicos são a lactulose, um dissacarídeo que é absorvido nos enterócitos através do transporte paracelular, e o manitol, um monossacarídeo absorvido através das membranas celulares por transporte transcelular (DASTYCH et al., 2008; SCHOULTZ; KEITA et al., 2020). O método de avaliação utilizando estes dois sacarídeos consiste na ingestão simultânea destes dois compostos diluídos em água e, após determinado tempo, a coleta destes na amostra de urina (SCHOULTZ; KEITA, 2020). A razão de excreção lactulose/manitol (L:M) é utilizada para mensurar a permeabilidade duodenal (GALIPEAU; VERDU, 2016). Um alterado valor desta razão tem sido associado com doenças inflamatórias intestinais (LIVERANI et al., 2016; TURPIN et al., 2020).

Outros sacarídeos também oralmente ingeridos em técnicas *in vivo* de mensuração da permeabilidade intestinal são: ramnose, sucralose e sacarose (CAMILLERI et al., 2019). Sucralose é pouco absorvido no intestino e não é degradada pelas bactérias do colón como no caso da lactulose e do manitol, portanto, este açúcar é útil na avaliação da permeabilidade do cólon (OTT et al., 2017). Sacarose é utilizada para analisar absorção no duodeno (KHOSHBIN et al., 2020) e ramnose para o intestino delgado (CAMILLERI et al., 2019). Este último sacarídeo é usado também em combinação com lactulose, substituindo, por vezes, o manitol (SCHOULTZ et al., 2020). A fim de avaliar a permeabilidade intestinal em todo o trato gastrointestinal, alguns estudos analisam a ingestão de uma combinação de todos estes sacarídeos (KHOSHBIN et al., 2020).

Ainda, também coletadas na urina, têm-se os marcadores que não são sacarídeos: polietilenoglicóis (PEGs) e o radioisótopos ^{51}Cr complexada com o ácido etilenodiaminotetracético (^{51}Cr -EDTA). As análises laboratoriais de detecção dos marcadores na urina, normalmente, são realizadas por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) ou por meio de uma combinação desta com a Espectrometria de Massas (BISCHOFF et al., 2014).

Estes testes são bem aceitos pela comunidade científica e considerados precisos, todavia demandam bastante tempo e carecem de padronização na metodologia e nos valores propostos como referência (SEETHALER et al., 2021). Por exemplo, em relação à metodologia da detecção de L:M, há estudo que demandou 3 horas de coleta urinária (COLEMAN et al., 2022); outros, 5 horas (BRIGNARDELLO et al., 2010; TEIXEIRA et al., 2012); e outro, 6 horas (DI PALO et al., 2020). Também, não há

definição do valor padronizado de referência e, então, o ponto de corte em que o resultado da taxa de excreção de L:M é considerado “anormal” é definido com base em outras pesquisas publicadas ou informações trocadas entre laboratórios de análises (LEE et al., 2014).

Outras metodologias são baseadas na mensuração de proteínas endógenas, que normalmente são produzidas pelo organismo, mas que em casos de dano ao tecido epitelial intestinal, podem ter suas concentrações séricas aumentadas (SEETHALER et al., 2021). Quando há injúria tecidual intestinal, a albumina pode passar dos vasos sanguíneos para o espaço intersticial, chegar ao lúmen intestinal e, finalmente, pode ser detectada nas fezes. Portanto, a albumina fecal pode ser considerada como um biomarcador de permeabilidade intestinal (WANG et al., 2015). Outra proteína que também pode ser analisada é a proteína ligante de LPS (*Lipopolysaccharide Binding Protein* - LBP), considerada como marcador de endotoxemia e de alteração da permeabilidade intestinal (RODRIGUES et al., 2016).

A zonulina é uma proteína envolvida na modulação das JF, regulando a permeabilidade do intestino delgado por induzir a abertura dessas junções entre as células (VANUYTSEL; VERMEIRE; CLEYNEN, 2013). Em humanos, altas concentrações séricas de zonulina foram observadas e correlacionadas com o aumento da permeabilidade intestinal em amostras de soro analisadas por ensaio de imunoabsorção enzimática (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* - ELISA) (MORKL et al., 2018). A proteína intestinal de ligação de ácidos graxos (*Intestinal Fatty Acids Binding Protein* – I-FABP) é uma proteína citosólica que atua na absorção e metabolismo de ácidos graxos nos enterócitos e pode aumentar seus níveis e passar do intestino para a corrente sanguínea atuando também como um marcador (THUIJLS et al., 2011). A calprotectina é uma proteína ligante de cálcio e zinco liberada pelos neutrófilos em resposta a estímulos inflamatórios (RODRIGUES et al., 2016). Na inflamação intestinal, níveis elevados de calprotectina fecal têm sido usados como um marcador indireto de aumento da permeabilidade intestinal (OTT et al., 2017).

2. JUSTIFICATIVA E RELEVÂNCIA

Estudos têm observado que o excesso de peso e a Síndrome Metabólica podem ser associadas a mudanças na composição bacteriana da microbiota intestinal (disbiose), levando a um quadro de inflamação de menor grau que pode induzir o desequilíbrio da função de barreira gastrointestinal trazendo impactos para as funções metabólicas e imunológicas do indivíduo (MARTINEZ-MEDINA et al., 2014; MORALES et al., 2016; AHMAD et al., 2017; BAHLOULI et al., 2020). A alteração na barreira gastrointestinal leva ao aumento da permeabilidade intestinal pela regulação negativa de genes codificados pelas proteínas das junções firmes, *zonula occludens* e ocludinas (CANI et al., 2007). Isto favorece a translocação de toxinas das bactérias da microbiota tais como o LPS, resultando em duas a três vezes o aumento da concentração deste na corrente sanguínea, fenômeno reconhecido como endotoxemia (LAUGERETTE et al., 2012; GUO et al., 2013).

Estudos clínicos experimentais têm detectado uma melhora da função da permeabilidade intestinal em indivíduos inicialmente com obesidade que passaram por um tratamento para redução de peso (XIAO et al., 2013; DAMMS-MACHADO et al., 2017; OTT et al., 2017), mas não naqueles que foram submetidos à cirurgia bariátrica (WILBRINK et al., 2019; KELLERER et al., 2019). Em estudos observacionais, foi demonstrado que algumas variáveis que qualificam uma possível disfunção da função de barreira epitelial intestinal foram correlacionadas positivamente com parâmetros antropométricos e metabólicos em indivíduos com obesidade (TEIXEIRA et al., 2012; DI PALO et al., 2020). Outro estudo observou uma diferença significativa na permeabilidade intestinal entre indivíduos com e sem *Diabetes Mellitus* tipo 2, o que pode demonstrar o aumento da permeabilidade em doenças metabólicas como a Síndrome Metabólica (COX et al., 2016).

A associação entre alteração da função de barreira gastrointestinal e excesso de peso e Síndrome Metabólica é bem delineada para estudos com modelos animais. No entanto, estudos com humanos ainda são escassos. Evidências científicas comprovadas, em humanos, de associação entre o aumento da permeabilidade intestinal, excesso de peso e Síndrome Metabólica poderiam ajudar a construir modelos de terapias objetivando a adequada manutenção da função de barreira do epitélio intestinal para diminuir o risco de doenças cardiovasculares e suas morbimortalidade (LEWIS et al., 2020; LUO et al., 2020).

Tendo em vista as implicações clínicas da alteração da função de barreira do epitélio intestinal, do excesso de peso e da Síndrome Metabólica para a saúde dos indivíduos, em particular, e para a economia pública devido aos altos custos do tratamento destes distúrbios metabólicos com altos índices de prevalência, faz-se importante analisar se há associação da disfunção da barreira frente ao excesso de peso acompanhado ou não da Síndrome Metabólica. Portanto, o presente estudo teve como objetivo avaliar a função de barreira do epitélio intestinal, utilizando-se da análise de excreção urinária dos biomarcadores lactulose e manitol, em indivíduos com excesso de peso com ou sem Síndrome Metabólica, além de associar tais resultados com fatores de risco para doenças cardiovasculares.

Como hipótese, temos que o excesso de peso com ou sem Síndrome Metabólica poderá levar a um estado de inflamação, envolvendo desequilíbrio da função de barreira do epitélio intestinal que resultará em aumento da excreção urinária de lactulose, manitol e da fração lactulose:manitol.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Analisar a função de barreira do epitélio intestinal frente ao excesso de peso e à Síndrome Metabólica e a correlação de parâmetros da função de barreira do epitélio intestinal com fatores de risco para doenças cardiovasculares.

3.2 Objetivos específicos

- Caracterizar os indivíduos quanto aos aspectos antropométricos, bioquímicos, inflamatórios e os fatores de risco para doenças cardiovasculares;
- Avaliar a excreção urinária de marcadores referentes aos parâmetros de função da barreira do epitélio intestinal quanto à presença de excesso de peso e Síndrome Metabólica;
- Correlacionar os parâmetros de função da barreira do epitélio intestinal com variáveis antropométricas, bioquímicas, inflamatórias e de risco para doenças cardiovasculares.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Considerações éticas

O presente estudo foi submetido e aprovado no Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do Hospital Universitário Onofre Lopes da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (HUOL/UFRN), CAAE nº 18923719.0.0000.5292, parecer nº 3.623.997, conforme as diretrizes regulamentadas do Conselho Nacional de Saúde, com relação à pesquisas envolvendo seres humanos (Resolução 466/12). As pessoas elegíveis para a pesquisa foram devidamente informadas quanto aos objetivos, riscos e benefícios e apenas participaram do estudo aquelas que concordaram e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (APÊNDICE A).

4.2 Delineamento e população do estudo

Este estudo é do tipo observacional, quantitativo, caso-controle e analítico. A coleta de dados foi realizada durante dois períodos: de setembro de 2019 a março de 2020 (quando foi interrompida pela pandemia de COVID-19) e então, de novembro de 2021 a julho de 2022, em Natal-RN.

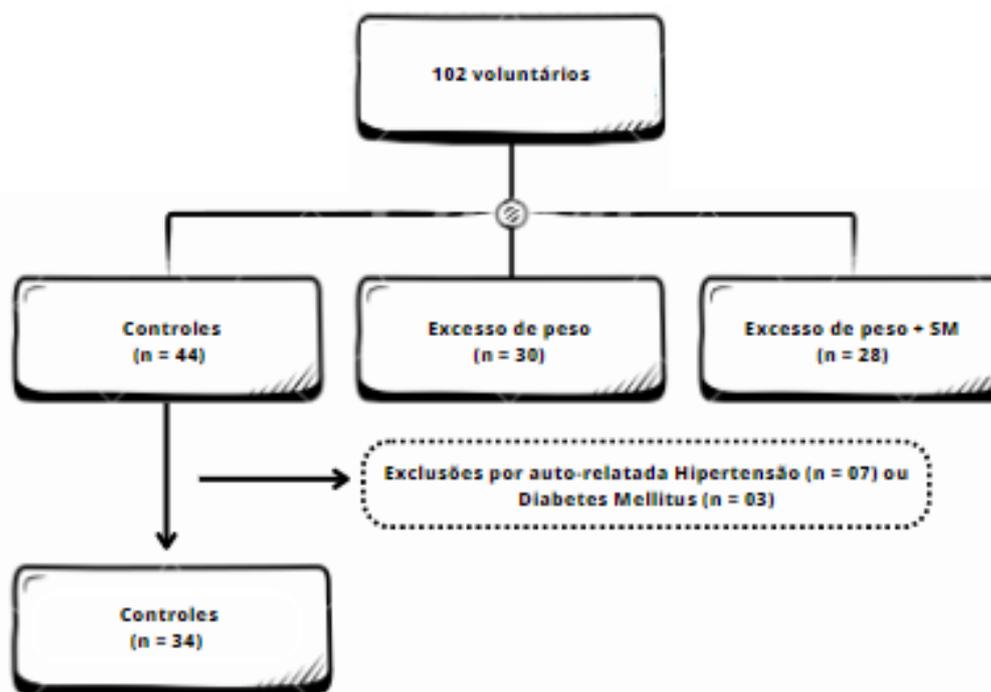
O presente estudo está vinculado ao projeto intitulado “Sobrepeso e obesidade em diferentes ciclos de vida: associações com o consumo alimentar, micronutrientes, barreira funcional gastrointestinal e fatores determinantes para doenças cardiovasculares e Síndrome Metabólica em Natal, RN, Brasil”. Este projeto foi desenvolvido como complemento de um outro projeto com seguimento concomitante, intitulado “Insegurança alimentar, condições de saúde e de nutrição em população adulta e idosa de uma capital do Nordeste do Brasil: Estudo BRAZUCA Natal”, articulando os dados deste com as linhas do cuidado do sobrepeso e obesidade na Atenção Básica, através da inclusão de relação de outras variáveis como: função de barreira intestinal e deficiências de micronutrientes. Tais variáveis foram associadas com a prevalência do excesso de peso e com o consumo e padrões alimentares, nos diferentes ciclos de vida. Essa união dos dados fez-se importante para as linhas de cuidado, prevenção e tratamento do sobrepeso e obesidade no município de Natal, RN.

A população do estudo consistiu de adultos (> 18 anos) de ambos os sexos; residindo em Natal-RN; e que assinaram o termo de consentimento para participação no estudo. Não foram incluídas pessoas que, no momento da coleta de amostras, faziam uso de antimicrobianos ou antivirais, tratamento quimio e/ou radioterápico ou que apresentavam algum tipo de infecção intestinal, doença inflamatória intestinal, diarreia,

vômito ou febre. O recrutamento foi realizado pela divulgação em mídias sociais e contato por telefone e, assim, 102 voluntários participaram do estudo.

Os indivíduos foram então divididos em três grupos: 1) controles (n = 34) – indivíduos sem sobrepeso, obesidade, síndrome metabólica, hipertensão arterial ou *Diabetes Mellitus* tipo 1 ou 2 (10 voluntários foram excluídos deste grupo por relatar terem hipertensão arterial [n = 7] ou diabetes [n = 3]); 2) Com excesso de peso (n = 30) – os quais apresentavam excesso de peso e não apresentavam síndrome metabólica; 3) Com excesso de peso + Síndrome Metabólica (n = 28) - os quais apresentavam excesso de peso acompanhado de síndrome metabólica (FIGURA 5).

Figura 5 – Fluxograma da seleção dos grupos do estudo



Fonte: elaborada pela autora.

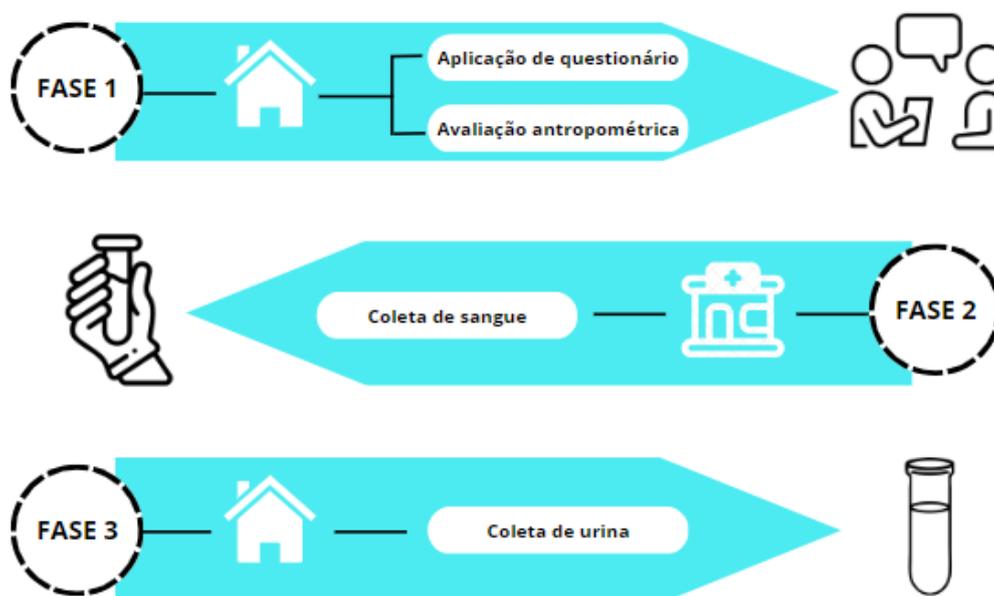
A figura 5 representa o processo de seleção da população do estudo distribuída entre os grupos de acordo com a característica de cada um e as exclusões realizadas onde voluntários com Hipertensão Arterial Sistêmica e Diabetes Mellitus foram excluídos do grupo controle a fim de deixar o grupo mais homogêneo.

O cálculo amostral (<https://clinical.com/stats/Power.aspx>) foi realizado usando a porcentagem de incidência de 30% de indivíduos nos grupos com excesso de peso (N variando de 28 a 30 pessoas) versus 1% para o grupo controle (N = 34) e valor alfa (erro tipo I de probabilidade) de 0,05. Para avaliar a probabilidade do erro tipo II, calculamos o poder estatístico do estudo que variou entre 90,6% a 91,4%.

4.3 Coleta de dados

Durante o primeiro período do estudo, a coleta de dados ocorreu, simultaneamente, ao projeto BRAZUCA-Natal. Os dados sociodemográficos (idade, sexo, raça, renda familiar); de estilo de vida (etilismo, tabagismo, prática de atividade física); de diagnóstico auto referido de Doenças Crônicas Não-Transmissíveis (DCNT) (doenças de pele, alergia, anemia, doença de coluna, artrite, doenças renais, acidente vascular cerebral, depressão, enxaqueca, osteoporose, cirrose, epilepsia, doença de Chagas, hanseníase, tuberculose, esquistossomose, câncer, doenças coronárias, doenças pulmonares, doenças digestivas, rinite, sinusite); e uso de medicamentos foram coletados no domicílio dos participantes, conforme metodologia do BRAZUCA-Natal, que utilizou questionário em plataforma digital (<https://five.epicollect.net>), padronizado e revisado a partir de protocolos da Pesquisa Nacional de Saúde (PNS) (IBGE, 2015). Além disso, foram incluídas neste questionário os dados de avaliação antropométrica. As coletas de sangue para avaliação bioquímica e inflamatória foram realizadas em Unidades Básicas de Saúde, por profissional de um laboratório particular, e contemplaram alguns indivíduos selecionados dentre aqueles que participaram da fase anterior. A partir destes indivíduos, foram selecionados aqueles aptos para a fase de coleta de urina, que aconteceu no domicílio dos participantes, para a avaliação dos parâmetros de função da barreira epitelial intestinal. As fases deste primeiro período estão descritas na Figura 6.

Figura 6 - Fases de coleta de dados do primeiro período do estudo



Fonte: elabora pela própria autora.

Desenho esquemático representando o primeiro período do estudo que ocorreu de setembro de 2019 a março de 2020 concomitante ao estudo BRAZUCA Natal onde desenvolveu-se em três fases de acordo com um fluxograma.

Com o advento da pandemia de COVID-19, as coletas de dados do BRAZUCA e, conseqüentemente, também do presente estudo foram suspensas em março de 2020 por medidas de segurança. E, então, deu-se o segundo período do estudo. Em novembro de 2021, foram retomadas as coletas de dados do projeto “Sobrepeso e obesidade em diferentes ciclos de vida: associações com o consumo alimentar, micronutrientes, barreira funcional gastrointestinal e fatores determinantes para doenças cardiovasculares e síndrome metabólica em Natal, RN, Brasil”, agora sem mais estar vinculado ao projeto BRAZUCA-Natal. Com a readequação, os dados foram coletados de voluntários que tivessem algum vínculo com a UFRN, desde que atendessem aos critérios de elegibilidade e concedessem participação na pesquisa. Para estes, a coleta de todos os dados foi feita em somente um único dia e foi realizada no Departamento de Nutrição (DNUT-UFRN), seguindo as normas de biossegurança pré-estabelecidas. As metodologias para coleta de amostras biológicas seguiram os mesmos procedimentos do primeiro período, e apenas o questionário anterior foi readaptado para o formato de formulário (APÊNDICE B) e um Procedimento Operacional Padrão (POP) foi elaborado para este novo período (APÊNDICE C). A fase única deste segundo período está descrita na Figura 7.

Figura 7. Fases de coleta de dados do segundo período do estudo



Fonte: elabora pela própria autora.

Desenho esquemático representando o segundo período do estudo que ocorreu de novembro de 2021 a julho de 2022, não mais concomitante ao Estudo Brazuca Natal e após o tempo de isolamento social imposto pela pandemia de COVID-19. Tal período desenvolveu-se em uma única fase realizada e em um único local.

4.4 Determinação do sobrepeso e obesidade

O peso corpóreo foi mensurado a partir de uma balança eletrônica, com capacidade de 150 kg e precisão de 50 g. A medição da estatura foi realizada por meio do estadiômetro portátil com precisão de 1,0 mm e base antiderrapante. O indivíduo foi posicionado no centro e abaixo do equipamento com a cabeça em plano de *Frankfurt* e livre de adereços e foi realizada a leitura da estatura com o indivíduo ainda posicionado, sem soltar a parte móvel do equipamento.

O peso e a altura de cada participante foram utilizados para o cálculo do IMC, que serviu para o diagnóstico de excesso de peso conforme pontos de corte por estrato etário estudado (TABELA 2).

Tabela 2 - Ponto de corte para o diagnóstico de excesso de peso segundo o IMC, estratificado por faixa etária

Estrato	IMC (kg/m²)	Classificação
Adultos (20 a 59 anos)	≥ 25,0	Excesso de peso
Idosos (≥ 60 anos)	≥ 27,0	

Fonte: LIPSCHITZ, 1994; BRASIL, 2011.

4.5 Determinação da Síndrome Metabólica

Para determinar a Síndrome Metabólica, utilizou-se a definição recomendada pela I Diretriz Brasileira de Diagnóstico e Tratamento da Síndrome Metabólica (ARQUIVOS BRASILEIROS DE CARDIOLOGIA, 2005), que considera os critérios propostos pelo *National Cholesterol Education Program's Adult Treatment Panel III* (NCEP-ATP III) (TABELA 3).

Tabela 3 – Critérios preditores da Síndrome Metabólica segundo o NCEP-ATP III

Critério	Ponto de corte
Circunferência abdominal	
Homens	> 102 cm
Mulheres	> 88 cm
Triglicérides	≥ 150 mg/dL
HDL colesterol	
Homens	< 40 mg/dL
Mulheres	< 50 mg/dL
Pressão arterial	≥ 130 mmHg (sistólica) ou ≥ 85 mmHg

	(diastólica) ou diagnóstico de hipertensão
Glicemia de jejum	≥ 110 mg/dL ou diagnóstico de <i>Diabetes Mellitus</i>

Fonte: Arquivos Brasileiros de Cardiologia, 2005

Os critérios do NCEP-ATP III foram então usados a fim de detectar quais participantes do estudo que apresentavam pelo menos 3 dos 5 critérios e, portanto, Síndrome Metabólica.

4.6 Avaliação antropométrica e de risco cardiovascular

Para a avaliação antropométrica, foram coletadas as medidas de peso, altura, perímetro da cintura e do quadril.

A medida da circunferência da cintura (CC) foi mensurada com o auxílio de uma trena ergonômica, de 150 cm, estando o indivíduo em posição ortostática e circundando o ponto médio entre a última costela e a crista ilíaca. Os pontos de corte, específicos por sexo, da CC para identificação de risco para complicações metabólicas estão indicados na Tabela 4.

Tabela 4 – Pontos de corte, por sexo, para a Circunferência da Cintura e risco de complicações metabólicas associadas ao excesso de peso

	Circunferência da cintura (cm)	
	Homens	Mulheres
Risco aumentado	≥ 94	≥ 80
Risco bastante aumentado	≥ 102	≥ 88

Fonte: WHO, 2000

Com o indivíduo na mesma posição, a circunferência do quadril foi realizada circundando a maior protuberância glútea. Estas medidas foram utilizadas para o cálculo da razão circunferência da cintura/circunferência do quadril (RCQ). Os pontos de corte, específicos por sexo, indicados como desfavorável e, portanto, associados ao risco cardiovascular estão apresentados na Tabela 5.

Tabela 5 – Pontos de corte para a Razão Cintura/Quadril por sexo

Sexo	Desfavorável
Homens	$\geq 1,0$

Mulheres $\geq 0,85$

Fonte: WHO, 2000

O Índice de Adiposidade Visceral (IAV) é um modelo matemático, gênero-específico, e desenvolvido para estimar disfunções da adiposidade visceral associadas ao risco cardiovascular (AMATO; GIORDANO, 2014). Foi calculado a partir das variáveis antropométricas CC e IMC e das variáveis bioquímicas HDL e TGL, conforme a seguinte equação:

$$IAV (mulheres) = \frac{CC}{36,58 + (1,89 \times IMC)} \times \frac{TGL *}{0,81} \times \frac{1,52}{HDL *}$$

$$IAV (homens) = \frac{CC}{39,68 + (1,88 \times IMC)} \times \frac{TGL *}{1,03} \times \frac{1,31}{HDL *}$$

* TGL e HDL devem ter valores em mmol/l

Segundo Amato e Giordano (2014), o ponto de corte para o valor de IAV é estratificado por faixas de idade e avaliado de acordo com o grau de disfunção da adiposidade visceral como elencado na Tabela 6.

Tabela 6 - Pontos de corte estratificados por idade do Índice de Adiposidade Visceral (IAV) para identificação da disfunção da adiposidade visceral

Grau de disfunção da adiposidade visceral				
Idade	Ausente	Leve	Moderada	Grave
< 30 anos	$\leq 2,52$	2,53-2,58	2,59-2,73	$> 2,73$
$\geq 30 < 42$ anos	$\leq 2,23$	2,24-2,53	2,54-3,12	$> 3,12$
$\geq 42 < 52$ anos	$\leq 1,92$	1,93-2,16	2,17-2,77	$> 2,77$
$\geq 52 < 66$ anos	$\leq 1,93$	1,94-2,32	2,32-3,25	$> 3,25$
≥ 66 anos	$\leq 2,00$	2,01-2,41	2,41-3,17	$> 3,17$

Fonte: AMATO E GIORDANO, 2014

A pressão arterial foi mensurada utilizando o aparelho de pressão arterial automático de braço (Comfort – HEM 7122 – BR2 Omron® Healthcare, São Paulo,

Brasil). Foram empregados dois tamanhos de braçadeiras, dependendo do diâmetro do braço (22 cm a 32 cm e 32 a 42 cm de perímetro), seguindo técnica padronizada (SOCIEDADE BRASILEIRA DE HIPERTENSÃO, 1998). Os instrumentos tinham certificação do Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (INMETRO). Foram utilizados como pontos de corte os valores recomendados por Barroso et al (2021).

4.7 Avaliação de marcadores bioquímicos e de risco cardiovascular

Para análise dos exames bioquímicos, os indivíduos do estudo foram submetidos a uma punção em veia periférica, no período da manhã, após jejum de 12 horas, realizada por um técnico de enfermagem contratado para tal fim. Foi coletado um volume de 4 mL de sangue em tubo sem anticoagulante e com gel separador. Este sangue foi destinado para as análises de colesterol total e frações, triglicerídeos, glicemia de jejum, insulinemia de jejum e Proteína C Reativa ultrasensível. Todas estas análises foram realizadas por um laboratório de referência contratado no município de Natal-RN.

Métodos enzimáticos foram utilizados para as análises de glicemia de jejum, colesterol total e triglicerídeos. As dosagens de HDL colesterol foram medidas por ensaio colorimétrico enzimático homogêneo. Os valores de LDL colesterol foram obtidos por meio da fórmula de Friedewald [LDL-c = Colesterol total – HDL-c + (Triglicerídeos/5)]. Os valores de não-HDL foram calculados pela fórmula de subtração simples [não HDL-c = Colesterol Total – HDL-c]. A insulina foi determinada por imunoensaio a partir da técnica de *sandwich* e a PCR, por ensaio imunoturbidimétrico. Todas essas análises foram realizadas utilizando métodos automatizado (COBAS 6000 - Roche® Professional Diagnostics, Risch-Rotkreuz, Switzerland).

O *Homeostasis Model Assessment of Insulin Resistance* (HOMA-IR) é um índice calculado por método matemático usado para avaliar a resistência à insulina em pesquisas clínicas, além de ser um fator de risco cardiovascular. O cálculo é feito com base nos valores de glicemia e insulinemia de jejum e segue a seguinte equação:

$$HOMA - IR = \frac{\text{glicose} \left(\frac{mg}{dL} \right) \times 0,0555 \times \text{insulina} \left(\frac{mUI}{L} \right)}{22,5}$$

Para o HOMA-IR foi adotado o ponto de corte > 2,71, indicativo de resistência à insulina, proposto por Geloneze et al (2009).

4.8 Avaliação da função de barreira do epitélio intestinal

4.8.1 Coleta de amostras para o teste de lactulose/manitol

No dia da realização da coleta de amostras de urina, os participantes do estudo receberam uma solução-teste para ingestão oral contendo 5,0 g de Lactulose (Duphar Laboratories, Southampton, Reino Unido) e 1,0 g de Manitol (Henrifarma Chemicals and Pharmaceuticals LTDA, São Paulo, Brasil), dissolvidos em 20 mL de água (LIMA et al., 2007). O participante tinha que estar em jejum; não ter ingerido alimentos ricos em carboidratos ou gorduras e nem bebidas alcoólicas nas últimas 24 horas; não realizar uso de antimicrobianos ou antivirais e não apresentar desconforto intestinal. Toda a fase de coleta de amostra foi acompanhada por um integrante do projeto.

Após a ingestão da solução teste, o voluntário permaneceu em jejum por mais 1 hora e, a cada micção, toda urina foi coletada por ele mesmo em recipiente plástico e, então, entregue ao integrante do projeto que a depositava em proveta plástica graduada, onde ficava armazenada até o final do período da coleta. Este período tinha duração de 5 horas e o volume de urina na proveta era preservado com o conservante clorexidina (0,236 mg/mL de urina, Sigma Chemical, St Louis, Estados Unidos), adicionado à amostra na concentração de 1 gota a cada 50 mL de urina. Ao final de cada coleta, os volumes urinários foram mensurados diretamente na proveta, registrados, homogeneizados, distribuídos em três alíquotas em criotubos e armazenados a – 80°C em freezer no Laboratório de Bioquímica da Nutrição (LABAN-UFRN).

4.8.2 Análise das amostras do teste lactulose/manitol em HPLC-PAD

As análises das amostras foram realizadas no Centro de Cromatografia e Espectrometria de Massas (CCEM) do Laboratório de Doenças Infecciosas (LDI-UFC) por meio de cromatografia líquida de alta eficiência com detecção amperométrica pulsada (High Performance Liquid Chromatography with Pulsed Amperometric Detection – HPLC-PAD). Utilizou-se técnica padronizada pelo referido laboratório. Duas soluções-padrão de carboidratos foram usadas para calibrar o sistema de do HPLC-PAD. Cada padrão contém 60 µM dos seguintes açúcares: glucosamina, manitol, melibiose e lactulose (grupo I); e inositol, sorbitol, glucose e lactose (grupo II). As soluções-padrão foram utilizadas para calibrar o sistema no início das medições e entre os grupos, para corrigir a perda de sensibilidade devido ao acúmulo de materiais nos

eletrodos. Para determinar a variação intra-experimento, foram empregados os grupos I e II na concentração de 0,1 mM. Para o estudo, foram misturados 50 µl de urina mais 50 µl de uma solução contendo melibiose (3,6 mM) diluída em 1,9 ml de água destilada e deionizada duas vezes. Após feita uma centrifugação, 50 µl da mistura anterior foi utilizado para determinação da concentração de lactulose e manitol por HPLC-PAD, conforme descrito previamente (BARBOZA et al., 1999).

4.9 Análise estatística

Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando o *software* Statistical Package for Social Sciences (SPSS) versão 23.0 (IBM Inc. Chicago, IL). Os resultados foram considerados significativos quando apresentaram nível de significância menor que 5% ($p < 0,05$).

As variáveis quantitativas foram analisadas quanto a sua normalidade utilizando o teste de Shapiro-Wilk. Aquelas que seguiram distribuição normal foram apresentadas na forma de média (desvio padrão) e as sem distribuição normal foram apresentadas na forma de mediana (Q1 – Q3). Para testar se houve diferença entre as variáveis quantitativas, foi utilizado o teste one-way ANOVA seguido do pós-teste de Tukey para as variáveis de distribuição normal e o teste de Kruskal-Wallis e pós-teste de Dunns para as variáveis sem distribuição normal. As variáveis categóricas foram analisadas por meio do teste de Qui-Quadrado.

Para determinar a correlação entre as variáveis de permeabilidade intestinal, nutricionais e metabólicas (bioquímicas, inflamatória e estimadores de risco cardiovascular) foi utilizado o coeficiente de Spearman (ρ), tendo em vista que as variáveis de permeabilidade intestinal não apresentaram distribuição normal.

5. RESULTADOS

5.1 Caracterização da população estudada

Os grupos estudados foram similarmente distribuídos em relação a idade, renda familiar, sexo, cor/raça e escolaridade (TABELA 7). Em relação à prática de atividade física, 55,4% dos participantes responderam que não praticavam atividade física e a prevalência destes foi significativamente maior no grupo Excesso de peso + Síndrome Metabólica ($p < 0,0005$) Em relação à presença de Doenças Crônicas Não Transmissíveis (DCNT), os indivíduos do grupo Excesso de peso + Síndrome Metabólica, apresentaram significativamente maior número destas ($p = 0,019$, (TABELA 7).

Tabela 7 – Descrição da população estudada de acordo com as variáveis sociobiodemográficas analisadas

Variável	Total (n = 92)	Controle (n = 34)	Excesso de peso (n = 30)	Excesso de peso + SM (n = 28)	Teste de Kruskal- Wallis, p valor
	Mediana (Q1-Q3)	Mediana (Q1-Q3)	Mediana (Q1-Q3)	Mediana (Q1-Q3)	
Idade (anos)	43,50 (30,25–59,75)	38,50 (28,75-56,25)	38,50 (30,75–56,25)	52,00 (40,25–65,75)	0,155
Renda familiar (reais)	2.500 (1.454 – 6.000)	3.000 (1.650 – 9.250)	2.500 (1.278 – 4.687)	2.500 (1.297 – 4.561)	0,449
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	Teste Qui- Quadrado, p valor
Sexo					
<i>Masculino</i>	40 (43,5%)	16 (47,1%)	16 (53,3%)	8 (28,6%)	0,143
<i>Feminino</i>	52 (56,5%)	18 (52,9%)	14 (46,7%)	20 (71,4%)	
Cor/raça					
<i>Branca</i>	39 (42,4%)	16 (47,1%)	14 (46,7%)	9 (32,1%)	0,443
<i>Parda</i>	40 (43,5%)	13 (38,2%)	10 (33,3%)	17 (60,7%)	
<i>Negra</i>	11 (12,0%)	4 (11,8%)	5 (16,7%)	2 (7,1%)	
<i>Indígena</i>	2 (2,2%)	1 (2,9%)	1 (3,3%)	0 (0,0%)	
Escolaridade					
<i>Analfabeto (a)</i>	3 (3,3%)	1 (2,9%)	0 (0,0%)	2 (7,1%)	0,104
<i>Ensino fundamental</i>	20 (21,7%)	7 (20,6%)	7 (23,3%)	6 (21,4%)	
<i>Ensino médio incompleto</i>	17 (18,5%)	1 (2,9%)	10 (33,3%)	6 (21,4%)	
<i>Ensino médio completo</i>	18 (19,6%)	6 (17,6%)	5 (16,7%)	7 (25,0%)	
<i>Curso técnico</i>	3 (3,3%)	1 (2,9%)	1 (3,3%)	1 (3,6%)	
<i>Curso superior incompleto</i>	8 (8,7%)	6 (17,6%)	1 (3,3%)	1 (3,6%)	
<i>Curso superior completo</i>	23 (25,0%)	12 (35,3%)	6 (20,0%)	5 (17,9%)	

Pratica atividade física

<i>Sim</i>	41 (44,6%)	23 (67,6%)	14 (46,7%)	4 (14,3%)	< 0,0005*
<i>Não</i>	51 (55,4%)	11 (32,4%)	16 (53,3%)	24 (85,7%)	

Número de DCNT

<i>Nenhuma</i>	26 (28,3%)	15 (44,1%)	8 (26,7%)	3 (10,7%)	0,019*
<i>Uma</i>	21 (22,8%)	9 (26,5%)	8 (26,7%)	4 (14,3%)	
<i>Duas</i>	16 (17,4%)	5 (14,7%)	5 (16,7%)	6 (21,4%)	
<i>Três ou mais</i>	29 (31,5%)	5 (14,7%)	9 (30,0%)	15 (53,6%)	

SM: Síndrome Metabólica; DCNT: Doenças Crônicas Não Transmissíveis. * p < 0,05.

5.2 Avaliação das variáveis antropométricas, bioquímicas, inflamatória e de risco cardiovascular

Os grupos foram avaliados quanto aos dados referentes às variáveis clínicas do estudo e os resultados estão apresentados na Tabela 8. Pode-se observar que todas as variáveis apresentaram maiores valores – ou menores no caso do HDL-C – com o excesso de peso e com o agravamento do perfil metabólico dos grupos.

Tabela 8 – Comparação entre os grupos em relação às variáveis antropométricas e bioquímicas analisadas no estudo

Variável	Controle (n = 34)	Excesso de peso (n = 30)	Excesso de peso + SM (n = 28)	Teste ANOVA ou Kruskal- Wallis
	Média (DP) ou Mediana (Q1-Q3)	Média (DP) ou Mediana (Q1-Q3)	Média (DP) ou Mediana (Q1-Q3)	
Variáveis antropométricas e de risco cardiovascular				
Peso (kg)	62,98 (1,55)	81,57 (1,92)	86,80 (3,13)	< 0,0005 ^a
IMC (kg/m ²)	23,80 (21,78-24,69)	28,60 (26,82-33,00)	32,14 (30,09-37,57)	< 0,0005
Pressão sistólica (mmHg)	113,00 (99,75-124,00)	124,00 (114,00-133,00)	134,50 (126,00-144,75)	< 0,0005
Pressão diastólica (mmHg)	71,00 (66,75-78,25)	78,50 (75,50-85,00)	87,50 (83,25-94,75)	< 0,0005
Circunferência da cintura (cm)	80,96 (1,53)	97,68 (1,77)	108,50 (2,34)	< 0,0005 ^a
Circunferência do quadril (cm)	95,50 (93,00-100,00)	108,00 (100,00-112,00)	109,65 (105,12-119,75)	< 0,0005
Razão cintura/quadril	0,84 (0,14)	0,90 (0,15)	0,96 (0,10)	< 0,0005 ^a
Índice de Adiposidade Visceral	0,95 (0,67-1,39)	1,53 (1,14-2,27)	3,88 (2,94-5,34)	< 0,0005
Variáveis bioquímicas e de risco cardiovascular				
Colesterol total (mg/dL)	186,62 (5,65)	198,30 (6,44)	208,82 (6,25)	0,040 ^b
HDL-C (mg/dL)	58,50 (48,75-67,50)	44,50 (40,00-61,00)	43,00 (36,00-46,50)	< 0,0005
LDL-C (mg/dL)	111,57 (5,35)	125,05 (5,39)	123,91 (6,48)	0,172
Não HDL-C (mg/dL)	128,53 (33,68)	148,43 (31,29)	167,07 (33,25)	< 0,0005

VLDL-C (mg/dL)	15,30 (12,45-20,25)	21,80 (17,80-28,65)	41,40 (30,95-54,95)	< 0,0005
Triglicérides (mg/dL)	76,50 (62,25-101,25)	109,00 (89,00-143,25)	207,00 (161,25-274,75)	< 0,0005
PCR-us (mg/dL)	0,12 (0,05-0,21)	0,27 (0,11-0,51)	0,37 (0,19-0,88)	0,001
Glicemia de jejum (mg/dL)	83,50 (80,00-90,00)	91,50 (82,00-96,00)	100,00 (90,00-114,00)	< 0,0005
Insulina de jejum (μ U/mL)	6,01 (5,00-8,25)	11,00 (6,98-14,27)	20,06 (13,37-33,38)	< 0,0005
HOMA-IR	1,34 (1,06-1,75)	2,52 (1,40-3,17)	6,07 (3,56-8,14)	< 0,0005

^a O pós-teste de Tukey indicou diferença significativa dos grupos com excesso de peso comparado ao grupo controle; ^b O pós-teste de Tukey indicou diferença significativa do grupo Excesso de peso com Síndrome Metabólica comparado ao grupo controle. IMC: Índice de Massa Corpórea; HDL-C: Colesterol HDL; LDL-C: Colesterol LDL; não HDL-C: Colesterol não HDL; VLDL-C: Colesterol VLDL; PCR-us: Proteína C Reativa Ultrassensível.

Com foco, primeiramente, nas variáveis antropométricas, analisou-se que as medidas de peso, circunferência da cintura, e razão cintura/quadril foram significativamente menores no grupo controle comparado aos outros dois grupos com excesso de peso, indicado pelo pós-teste de Tukey. Observou-se que o IMC dos indivíduos com Síndrome Metabólica foi maior que 30, o que demonstra que a maior parte das pessoas deste grupo tinham obesidade, e que os valores de pressão sistólica, pressão diastólica e circunferência da cintura destes foram maiores que o ponto de corte para critério de diagnóstico de Síndrome Metabólica, como esperado. Em relação aos estimadores de risco cardiovascular, razão cintura/quadril e IAV, foi possível estimar que os participantes com Síndrome Metabólica teriam risco aumentado. Tendo em vista que a maior parte da população deste grupo era feminina e que a média da razão cintura/quadril deste grupo foi maior que $> 0,85$ pode-se determinar maior risco dentre os grupos. Para o IAV, baseado na mediana de idade do grupo com Síndrome Metabólica que foi de 52 anos, o valor da mediana deste índice foi maior que 3,25 o que corresponde à uma grave disfunção da adiposidade visceral, enquanto os outros dois grupos não apresentaram qualquer grau de disfunção.

Em relação às variáveis bioquímicas, o Colesterol Total apresentou diferença estatisticamente significativa entre o grupo controle e o grupo excesso de peso + Síndrome Metabólica ($p = 0,040$). Com exceção da lipoproteína LDL, as demais variáveis apresentaram valores significativamente diferentes nos indivíduos com Síndrome Metabólica comparados aos outros dois grupos. Também neste grupo, foi

observado valor de HOMA-IR > 2,7 ou seja, acima do ponto de corte para detecção de resistência à insulina.

5.3 Avaliação dos parâmetros de função da barreira do epitélio intestinal

Os dados referentes aos parâmetros de porcentagem de excreção urinária dos biomarcadores lactulose e manitol utilizados no estudo para análise da função de barreira epitelial intestinal (FBEI), bem como a razão entre os dois, estão mostrados na Tabela 9. Tais parâmetros não foram alterados pelo excesso de peso ou pela Síndrome Metabólica tendo em vista que não houve diferença significativa entre os grupos.

Tabela 9 – Parâmetros de função da barreira do epitélio intestinal nos grupos estudados

Variável	Controles (n = 34)	Excesso de peso (n = 30)	Excesso de peso + SM (n = 28)	Teste Kruskal- Wallis, p valor
	Mediana (Q1-Q3)	Mediana (Q1-Q3)	Mediana (Q1-Q3)	
%Lactulose	0,526 (0,246-0,917)	0,399 (0,226-0,601)	0,394 (0,239-0,821)	0,730
%Manitol	12,443 (9,874-17,718)	15,443 (11,482-21,278)	14,538 (11,498-21,636)	0,218
Razão lactulose/manitol	0,038 (0,014-0,076)	0,020 (0,014-0,049)	0,026 (0,013-0,077)	0,473

SM: Síndrome Metabólica; %Lactulose: porcentagem de excreção urinária de lactulose; %Manitol: porcentagem de excreção urinária de manitol.

5.4 Correlação entre os parâmetros de permeabilidade intestinal e as variáveis antropométricas, bioquímicas, inflamatória e de risco cardiovascular por grupo

A porcentagem de excreção urinária de cada sacarídeo e a razão de excreção destes foram correlacionadas com as variáveis clínicas dos participantes do estudo em cada grupo estudado a fim de testar se alguma destas estaria associada com o aumento ou diminuição dos parâmetros de função de barreira do epitélio intestinal (TABELA 10 e TABELA 11).

A Tabela 10 demonstra as correlações entre os parâmetros de permeabilidade intestinal e as variáveis antropométricas e de risco cardiovascular. No grupo dos controles, não houve correlações significativas. No grupo excesso de peso houve correlações positivas significativas entre a excreção de manitol e as seguintes variáveis: pressão diastólica ($\rho = 0,394$, $p = 0,031$), circunferência da cintura ($\rho = 0,429$, $p = 0,018$) e índice de adiposidade visceral ($\rho = 0,423$, $p = 0,02$). No grupo excesso de peso + Síndrome Metabólica, houve correlações positivas significativas entre a excreção de

lactulose e a circunferência da cintura ($\rho = 0,397$, $p = 0,037$), a razão lactulose/manitol e o peso ($\rho = 0,503$, $p = 0,006$) e a razão lactulose/manitol e a circunferência da cintura ($\rho = 0,447$, $p = 0,017$).

Tabela 10 - Correlações de Spearman (ρ) entre as variáveis de parâmetros de função de barreira do epitélio intestinal, as antropométricas e de risco cardiovascular nos grupos estudados

Variável	Controle		
	% Lactulose	% Manitol	Razão L/M
Peso (kg)	-0,034	0,277	-0,131
IMC (kg/m ²)	-0,092	0,210	-0,152
Pressão sistólica (mmHg)	0,022	0,076	-0,051
Pressão diastólica (mmHg)	0,001	0,128	-0,084
Circunferência da cintura (cm)	-0,234	0,109	-0,253
Circunferência do quadril (cm)	-0,153	0,221	-0,188
Razão cintura/quadril	-0,136	-0,012	-0,151
Índice de adiposidade visceral	0,002	-0,216	0,082
Variável	Excesso de peso		
	% Lactulose	% Manitol	Razão L/M
Peso (kg)	-0,089	0,311	-0,205
IMC (kg/m ²)	-0,322	0,269	-0,427
Pressão sistólica (mmHg)	0,122	0,045	0,119
Pressão diastólica (mmHg)	0,177	0,394*	0,051
Circunferência da cintura (cm)	-0,209	0,429*	-0,360
Circunferência do quadril (cm)	-0,309	0,120	-0,336
Razão cintura/quadril	0,067	0,337	-0,063
Índice de adiposidade visceral	-0,052	0,423*	-0,215
Variável	Excesso de peso + SM		
	% Lactulose	% Manitol	Razão L/M
Peso (kg)	0,368	-0,458	0,503**
IMC (kg/m ²)	0,328	-0,317	0,370
Pressão sistólica (mmHg)	0,110	-0,193	0,171
Pressão diastólica (mmHg)	0,080	-0,005	0,035
Circunferência da cintura (cm)	0,397*	-0,270	0,447*

Circunferência do quadril (cm)	0,177	-0,185	0,206
Razão cintura/quadril	0,300	-0,061	0,325
Índice de adiposidade visceral	-0,032	0,360	-0,160

SM: Síndrome Metabólica; IMC: Índice de Massa Corpórea; IAV: Índice de Adiposidade Visceral. * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$

A tabela 11 demonstra as correlações entre os parâmetros de permeabilidade intestinal e as variáveis bioquímicas. No grupo excesso de peso, foram evidenciadas duas correlações negativas significativas: entre a excreção de lactulose e a glicemia ($\rho = -0,412$, $p = 0,024$) e a razão lactulose/manitol e a glicemia ($\rho = -0,405$, $p = 0,027$). No grupo excesso de peso + Síndrome Metabólica, houve correlação negativa significativa entre a excreção de lactulose e a lipoproteína LDL ($\rho = -0,385$, $p = 0,043$) e houve correlação positiva significativa entre a excreção de manitol e a lipoproteína VLDL ($\rho = 0,381$, $p = 0,045$).

Tabela 11 – Correlações de Spearman (ρ) entre as variáveis de parâmetros de função de barreira do epitélio intestinal e as bioquímicas e de risco cardiovascular nos grupos estudados

Variável	Controle		
	% Lactulose	% Manitol	Razão L/M
Colesterol total (mg/dL)	0,015	0,224	-0,072
HDL-C (mg/dL)	-0,131	0,255	-0,172
LDL-C (mg/dL)	0,062	0,231	-0,053
Não HDL-C (mg/dL)	0,065	0,166	-0,020
VLDL-C (mg/dL)	0,129	-0,304	0,241
Triglicerídeos (mg/dL)	0,129	-0,304	0,241
PCR-us (mg/dL)	0,041	0,398	-0,106
Glicemia de jejum (mg/dL)	0,190	0,009	0,162
Insulina de jejum (μ U/mL)	-0,023	0,172	-0,083
HOMA-IR	0,026	0,131	-0,024
Variável	Excesso de peso		
	% Lactulose	% Manitol	Razão L/M
Colesterol total (mg/dL)	0,020	-0,227	0,020
HDL-C (mg/dL)	-0,117	-0,327	0,002
LDL-C (mg/dL)	0,167	-0,309	0,174
Não HDL-C (mg/dL)	0,135	-0,162	0,108

VLDL-C (mg/dL)	-0,147	0,316	-0,242
Triglicerídeos (mg/dL)	-0,147	0,316	-0,242
PCR-us (mg/dL)	0,234	0,163	0,105
Glicemia de jejum (mg/dL)	-0,412*	0,278	-0,405*
Insulina de jejum (μU/mL)	-0,224	0,247	-0,225
HOMA-IR	-0,297	0,289	-0,294
Excesso de peso + SM			
Variável			
	% Lactulose	% Manitol	Razão L/M
Colesterol total (mg/dL)	-0,334	-0,004	-0,327
HDL-C (mg/dL)	0,140	-0,121	0,185
LDL-C (mg/dL)	-0,385*	-0,242	-0,259
Não HDL-C (mg/dL)	-0,305	0,015	-0,307
VLDL-C (mg/dL)	0,014	0,381*	-0,172
Triglicerídeos (mg/dL)	-0,027	0,327	-0,153
PCR-us (mg/dL)	0,197	-0,289	0,227
Glicemia de jejum (mg/dL)	0,167	0,324	0,030
Insulina de jejum (μU/mL)	0,366	0,188	0,201
HOMA-IR	0,345	0,230	0,167

SM: Síndrome Metabólica; Lac: excreção de lactulose; Man: excreção de manitol; L/M: fração de excreção de lactulose/manitol; HDL: Colesterol HDL; LDL: Colesterol LDL; VLDL: Colesterol VLDL; TGL: Triglicerídeos; PCR: Proteína C Reativa Ultrasensível; GLI: Glicemia; INS: Insulina, H-IR: Índice HOMA-IR . * $p < .05$; ** $p < .01$.

6. DISCUSSÃO

O presente estudo avaliou se havia alteração dos parâmetros de FBEI no excesso de peso com ou sem Síndrome Metabólica. Além disso, buscou-se correlações entre tais parâmetros na presença de excesso de peso com ou sem Síndrome Metabólica e fatores de risco para doenças cardiovasculares. A porcentagem de excreção urinária de lactulose, de manitol ou de fração de excreção de lactulose/manitol foram similares entre os grupos, apesar da deterioração do perfil metabólico com o excesso de peso e a Síndrome Metabólica. No entanto, os parâmetros de FBEI foram correlacionados com fatores de risco cardiovasculares associados ao excesso de peso e a Síndrome Metabólica. Este estudo foi pioneiro em fazer uma avaliação da FBEI em indivíduos com excesso de peso com ou sem Síndrome Metabólica, usando um grupo controle metabolicamente saudável.

Em relação as variáveis de estado de saúde, observou-se que aqueles com Síndrome Metabólica apresentaram maior número de respostas negativas ao serem perguntados se praticavam atividade física. A falta de atividade física, juntamente com a alta ingestão calórica, tem sido identificada como os principais contribuidores para o desenvolvimento da Síndrome Metabólica (FAHED et al., 2022). Estudo de revisão de McMurray e Hackney (2005) constatou que a atividade física regular diminui significativamente a inflamação crônica sistêmica relacionada a obesidade e suas condições associadas. Além disso, os participantes com Síndrome Metabólica tinham maior prevalência de presença de 3 ou mais DCNT, o que leva a um estado inflamatório mais acentuado e aumento do risco cardiovascular comparado aos demais participantes (PHILLIPS et al., 2019).

A avaliação das variáveis antropométricas, bioquímicas e de risco cardiovascular entre os grupos mostrou, como esperado, que os indivíduos do grupo excesso de peso + SM foram associados com alterações antropométricas e bioquímicas, corroborando para a deterioração do estado metabólico destes. A mediana do IMC dos participantes com Síndrome Metabólica foi maior que 30 indicando que a maior parte destes tinham obesidade. Isso é confirmado também pela mediana da CC acima de 102 cm caracterizando a obesidade central na maior parte dos participantes deste último grupo e critério de diagnóstico de Síndrome Metabólica (ARQUIVOS BRASILEIRO DE CARDIOLOGIA, 2005). A associação da medida de CC com o IMC pode oferecer uma

forma combinada de avaliação de risco cardiovascular e ajudar a diminuir as limitações de cada avaliação (ABESO, 2016).

Na mensuração da pressão arterial dos participantes, observou-se que tanto a pressão sistólica como a diastólica diferiram entre os grupos. Isto foi observado por estudo de Teixeira e colaboradores (2012) em que a pressão das mulheres obesas foi significativamente maior, mas ainda dentro dos níveis pressóricos considerados normais. A mediana das pressões dos participantes com Síndrome Metabólica do nosso estudo, no entanto, estava acima dos níveis pressóricos normais ($> 130/85$ mmHg) o que caracterizou risco cardiovascular aumentado para este grupo (STEFAN, 2020).

Ainda sobre os fatores de risco cardiovascular, foram analisados a razão cintura/quadril e o índice IAV. Em relação ao primeiro fator, os valores de mediana foram significativamente diferentes entre as pessoas com excesso de peso e as do grupo controle, sendo significativamente maior naquelas com excesso de peso + Síndrome Metabólica. Teixeira e colaboradores (2012) também observaram que pessoas com excesso de peso tinham significativamente maior razão cintura/quadril comparado a eutróficas. Maiores valores desta razão em indivíduos com Síndrome Metabólica, no entanto, não foi observada em estudo de Coleman e colaboradores (2022) o qual demonstrou valores similares comparado aos indivíduos controles. No presente estudo, o valor da razão cintura/quadril acima do ponto de corte neste grupo está associado ao aumento de risco cardiovascular, como esperado. Em relação ao IAV, observou-se que os participantes com Síndrome Metabólica apresentaram, significativamente, maior valor indicando uma grave disfunção de adiposidade visceral. Este índice tem sido associado com resistência à insulina, hiperglicemia e aumento do risco cardiovascular em indivíduos de todas as faixas etárias e além disso tem se mostrado uma ferramenta útil para detectar a Síndrome Metabólica nos indivíduos (AMATO et al., 2011; MOTAMED et al., 2017; ALVERO-CRUZ et al., 2021; VIZZUSO et al., 2021).

Como esperado, os valores dos marcadores bioquímicos e inflamatório, significativamente diferiram entre os grupos, sendo maiores (ou menores no caso da lipoproteína HDL) com a piora da condição metabólica. O valor de Colesterol total dos participantes com Síndrome Metabólica foi significativamente maior do que o valor dos participantes controles. Isto foi observado em estudo de Allam-Ndoul e colaboradores (2016) e demonstra a contribuição do aumento do colesterol total para a dislipidemia associada aos participantes com Síndrome Metabólica (BOVOLINI et al., 2020). O

valor da lipoproteína LDL foi similar entre todos os três grupos assim como em outros estudos analisados (BRIGNARDELLO et al., 2010; TEIXEIRA et al., 2012; ALLAM-NDOUL et al., 2016). Este marcador tem associação já bem conhecida com doenças cardiovasculares, no entanto, não faz parte dos critérios para definição de Síndrome Metabólica e as evidências de associação entre este e a Síndrome Metabólica não são abundantes na literatura. Portanto, a contribuição do LDL para a dislipidemia na Síndrome Metabólica não está clara (ALLAM-NDOUL et al., 2016).

Estudos epidemiológicos observaram que o colesterol não-HDL-C pode ser um parâmetro mais específico e sensível para avaliação de risco cardiovascular que o LDL-C calculado pela fórmula de Friedwald, tendo em vista que o primeiro é calculado de maneira mais simples e não é influenciado pela mensuração dos triglicérides (LANGLOIS; NORDESTGAARD, 2018; WINTER et al., 2018; SORAN et al., 2019; KATHARIYA et al., 2020). Ensaios clínicos observaram esta superioridade como preditor de risco cardiovascular em pacientes de ambos os gêneros, em todas as raças, e em grupos de indivíduos com ou sem *Diabetes Mellitus* (The Emerging Risk Factors Collaboration, 2012). Estudo de Khan et al (2018), em similaridade com o presente estudo, observou que indivíduos com Síndrome Metabólica apresentaram maiores valores de não-HDL-C comparado aos indivíduos metabolicamente saudáveis.

A proteína C reativa (PCR) é um marcador sorológico inflamatório que prediz eventos cardiovasculares em estados de inflamação de baixo grau como a Síndrome Metabólica (BARAZZONI et al., 2014). O presente estudo observou um valor acima de 0,3 mg/dL para a maioria dos indivíduos com Síndrome Metabólica o que reflete maior risco comparado aos demais. Outro marcador da avaliação bioquímica analisado que também é preditor de risco é o índice HOMA-IR, um indicador de resistência à insulina (STEFAN, 2020). Observou-se que o valor obtido dos indivíduos com Síndrome Metabólica foi maior que o ponto de corte proposto por Geloneze e colaboradores (2009) para caracterizar resistência à insulina na população brasileira, enquanto que os indivíduos dos outros grupos tiveram valores abaixo, o que corroborou com estudo de Coleman e colaboradores (2022). Portanto, sugere-se que a resistência à insulina foi observada apenas nos participantes do grupo de excesso de peso com Síndrome Metabólica.

Apesar da identificação de uma possível inflamação de baixo grau nos indivíduos com excesso de peso com ou sem Síndrome Metabólica, a porcentagem de

excreção urinária de lactulose e manitol, bem como a razão lactulose/manitol, não foram alteradas nestes indivíduos quando comparada aos controles. Sendo assim, a hipótese do estudo, anteriormente concebida, foi refutada. A alteração dos parâmetros de função de barreira epitelial intestinal em animais com obesidade em associação com elevada endotoxemia e disfunção do metabolismo da glicose já é bem descrita (CANI et al., 2007; CANI et al., 2008). No entanto, estudos em humanos são poucos, principalmente os que investiguem também a Síndrome Metabólica associada (BRIGNARDELLO et al., 2010; MORENO-NAVARRETE et al., 2012; TEIXEIRA et al., 2012; VERDAM et al., 2013; ZAK-GOLAB et al., 2013; MOKKALA et al., 2017, MORKL et al., 2018; DI PALO et al., 2020; COLEMAN et al., 2022).

Recentemente, em uma revisão sistemática publicada pelo nosso grupo (BONA et al., 2022) (ANEXO 2) para responder a pergunta de partida “Há alteração da permeabilidade da barreira intestinal em indivíduos com excesso de peso com ou sem síndrome metabólica”, foram analisados oito estudos observacionais que avaliaram a função de barreira do epitélio intestinal de indivíduos com excesso de peso, com foco nos biomarcadores utilizados em cada um e na avaliação da qualidade metodológica e do nível de evidência. Nenhum destes estudos avaliou tal variável em indivíduos com Síndrome Metabólica como um grupo isolado, mas apenas a associação desta com alguns marcadores bioquímicos de critério diagnóstico de Síndrome Metabólica (MORENO-NAVARRETE et al., 2012; TEIXEIRA et al., 2012; MOKKALA et al., 2017)

O biomarcador lactulose/manitol foi analisado em três (BRIGNARDELLO et al., 2010; TEIXEIRA et al., 2012; DIPALO et al., 2020) dos oito estudos e em nenhum destes houve alteração significativa do biomarcador nas pessoas com excesso de peso. Apenas um estudo (TEIXEIRA et al., 2012) observou maior porcentagem de excreção significativa de lactulose em mulheres obesas comparada a mulheres eutróficas, mas sem diferenças em relação ao manitol ou à razão lactulose/manitol. Além disso, essa excreção de lactulose aumentada teve correlação positiva com maiores valores de índice HOMA-IR, peso, IMC, circunferências da cintura e do abdômen e porcentagem de gordura corporal.

Portanto, devido ao baixo número de estudos encontrados que avaliaram o biomarcador lactulose/manitol e a inconsistência de resultados entre eles, o nível de evidência para a alteração da permeabilidade intestinal por este marcador foi

considerado baixo, necessitando de um maior número de estudos com poucas limitações (BONA et al., 2022). Levando em consideração os resultados encontrados no presente estudo, o que poderia explicar os achados seria que o aumento do peso levou a um aumento da superfície epitelial intestinal, levando a um aumento da excreção de manitol. No entanto, a inflamação sendo de baixo grau, como esperado para o excesso de peso em humanos, não levou ao comprometimento da função de barreira epitelial intestinal.

Estudo coorte recente de Coleman e colaboradores (2022) analisou a saúde do trato gastrointestinal de indivíduos com Síndrome Metabólica (n = 8) pela avaliação do grau de inflamação intestinal – através da mensuração da calprotectina fecal – e pela avaliação da função de barreira do epitélio intestinal – através da taxa de excreção de biomarcador lactulose/manitol. Os autores não observaram qualquer sinal de inflamação intestinal ou de aumento da função de barreira epitelial intestinal e sugeriram que a interação hospedeiro-microbiota estaria associada em como o trato gastrointestinal está envolvido nas doenças metabólicas. Portanto, eles postularam que seu coorte não mostrou sinais de disfunção da barreira do epitélio intestinal devido ao fato de que as mudanças metabólicas na interação hospedeiro-microbiota poderiam preceder e induzir à inflamação de baixo grau que caracterizaria a Síndrome Metabólica, além de serem requeridas para que viesse a causar alterações na FBEL.

Para Suzuki e Hara (2010), a relação entre a ocorrência de distúrbios metabólicos e função da barreira epitelial intestinal, como alteração dos parâmetros de avaliação da função de barreira epitelial intestinal, ainda permanecem obscuros mesmo em estudos animais. Estes pesquisadores demonstraram que a obesidade, por si só, não aumentou os parâmetros de função de barreira epitelial intestinal em ratos de um modelo genético de obesidade e *Diabetes Mellitus* tipo 2, enquanto que a alimentação baseada em uma dieta com alto teor de gordura saturadas aumentou tanto neste modelo como em ratos do grupo controle.

Estudos clínicos observaram que uma dieta com alto teor de gordura induziu elevação na concentração de endotoxina circulante tanto em indivíduos saudáveis como com excesso de peso ou com *Diabetes Mellitus* tipo 2 quando comparada com as concentrações basais desta (ERRIDGE et al., 2007; HARTE et al., 2012; DEOPURKAR et al., 2010; GHANIM et al., 2010; ANDERSON et al., 2015). Similar aos estudos em animais, essa elevação pós-prandial da endotoxina ocorreu em conjunto

com o aumento da ativação da via pró-inflamatória e geração de espécies reativas de oxigênio. Tal quadro, conhecido como endotoxemia, pode levar a disfunção da barreira intestinal pela diminuição da camada de muco e alteração da permeabilidade intestinal (ARAUJO et al., 2017).

Outro estudo, realizado por Hulston e colaboradores (2015), observou que uma dieta hipercalórica com alto teor de gordura conduzida de maneira aguda (por 7 dias) prejudicou a sensibilidade à insulina em indivíduos não obesos e levou estes a ganhar peso. Enquanto aqueles indivíduos que faziam uso de probióticos mantiveram sua sensibilidade a insulina e seu peso. Os achados então sugeriram que, embora não tenha sido mensurado a concentração de endotoxinas, a favorável composição da diversidade da microbiota preveniu mudanças na sensibilidade da insulina e no peso daquele grupo de indivíduos, mesmo com o consumo de uma dieta com alto teor de gordura.

Tendo em vista a detecção do aumento das variáveis relacionadas a fatores de risco cardiovascular nos indivíduos, foram encontradas significativas correlações entre parâmetros de permeabilidade intestinal e tais variáveis no presente estudo.

Nos indivíduos do grupo excesso de peso, encontrou-se que o aumento da pressão diastólica, da circunferência da cintura e do índice de adiposidade visceral foi positivamente correlacionado com a excreção de manitol. Estes dados sugerem que a alta excreção de manitol está correlacionada com aumento dos fatores de risco cardiovasculares associados à adiposidade abdominal. Já o aumento da glicose foi negativamente correlacionado com a excreção de lactulose e da razão lactulose/manitol. Um estudo com ratos obesos (THAISS et al., 2018), observou que a hiperglicemia causou danos as células epiteliais intestinais diretamente por alterar a integridade das junções firmes o que levaria a disfunção do transporte da via paracelular marcado pelo aumento da excreção de lactulose. Sugere-se então que a causa de o aumento da glicemia no nosso estudo não ter levado ao aumento da excreção de lactulose possa ser explicado pelo fato de que a maior parte dos indivíduos não apresentou hiperglicemia já que a mediana da glicose estava dentro dos valores considerados normais.

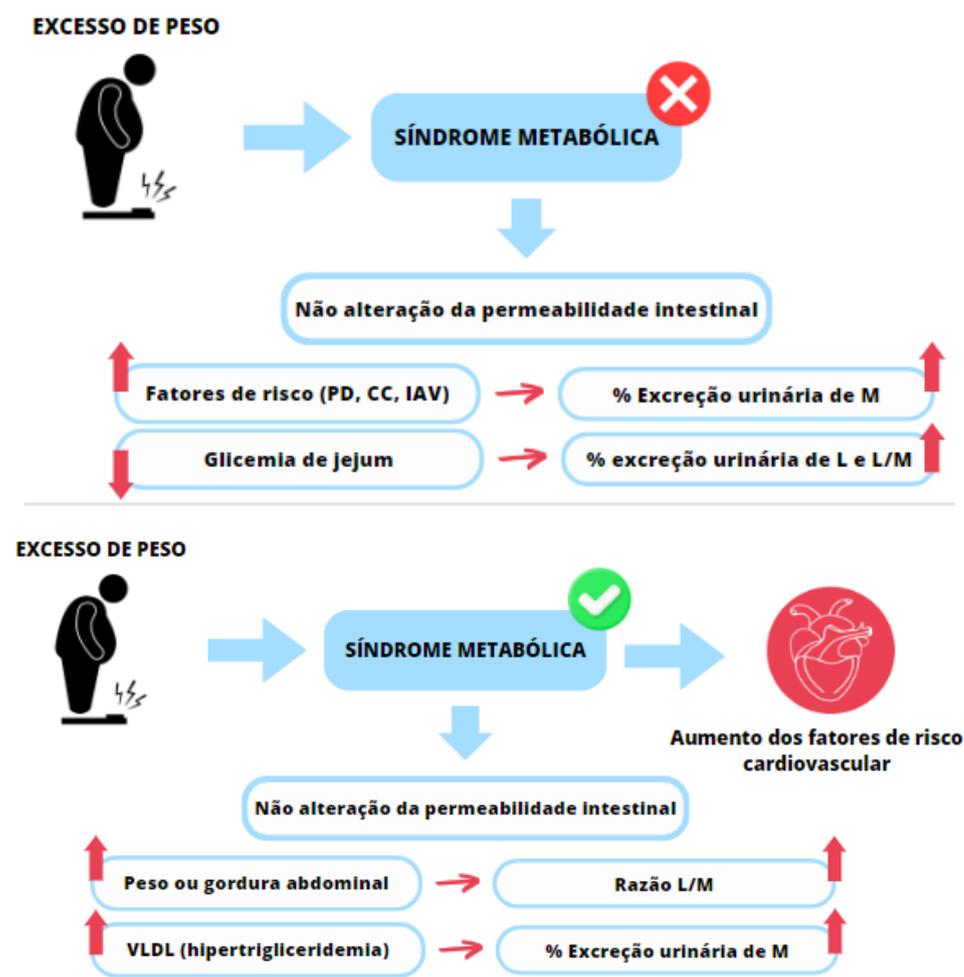
Nos indivíduos do grupo excesso de peso + Síndrome Metabólica, observou-se que o peso e a circunferência da cintura neste grupo foram positivamente correlacionados com a fração de excreção de lactulose/manitol. O estudo de Teixeira e colaboradores (2012) também observou essa correlação. Então, tais dados sugerem que o aumento do

peso ou da gordura abdominal nos indivíduos com excesso de peso e Síndrome Metabólica foram correlacionados com o aumento da excreção da fração de lactulose/manitol. A lipoproteína VLDL foi correlacionada positivamente com excreção individual de manitol. Isto pode indicar que a hipertrigliceridemia foi correlacionada com o aumento da excreção de manitol. Estudo com modelo animal de Garcia-Miranda e colaboradores (2013) observou que a ruptura de receptor da lipoproteína VLDL na mucosa do intestino delgado destes animais reduziu a proliferação, migração e apoptose celular epitelial, como também o número de células de Paneth. Então, nossos dados sugerem que a disfunção deste receptor, como por exemplo, pela hipertrigliceridemia com aumento de VLDL nos indivíduos com excesso de peso e Síndrome Metabólica do nosso estudo, leva a defeitos no transporte transcelular por levar a um desequilíbrio do epitélio intestinal. No entanto, Garcia-Miranda e colaboradores (2013), demonstraram que a ruptura de receptor da lipoproteína VLDL não afetou a estrutura das junções firmes e nem a permeabilidade paracelular. Então, estudos futuros devem focar no entendimento da alteração da permeação intestinal transcelular e paracelular de triglicérides na presença do excesso de peso e Síndrome Metabólica em humanos.

O presente estudo teve algumas limitações. Primeiramente, o tamanho amostral, calculado de forma condizente, não foi suficiente para uma análise multivariada. No entanto, é comum que em estudos clínicos de associação/correlação o tamanho amostral calculado seja pequeno assim como o nosso (TEIXEIRA et al., 2012; COLEMAN et al., 2022) e, além disso, o poder amostral do presente estudo foi alto variando entre 90,6 a 91,4%. Outro ponto foi que, considerando o excesso de peso e a Síndrome Metabólica dentre os grupos, há um espectro de fenótipos clínicos que poderiam ser melhor avaliados em um estudo maior. O fato de o estudo ter sido realizado em dois períodos, com um intervalo de tempo relativo entre eles devido à pandemia mundial do COVID-19, também poderia ser considerado uma limitação. No entanto, os critérios de elegibilidade foram fielmente seguidos nos dois períodos de coleta para evitar vieses de seleção. Como pontos fortes do presente estudo, pode-se indicar que foi um estudo pioneiro na investigação da permeabilidade intestinal focada em pessoas com excesso de peso acompanhada ou não da Síndrome Metabólica e com maiores fatores de risco cardiovascular associado, utilizando-se de grupo controle para comparação e, ainda, por ter encontrado correlações significativas entre tais fatores de risco cardiovascular e parâmetros de disfunção da barreira gastrointestinal.

Nosso estudo mostrou que, embora FBEI pode não ter sido alterada em indivíduos com excesso de peso com ou sem Síndrome Metabólica do nosso estudo, mudanças metabólicas induzidas por esta condição foram correlacionadas com parâmetros de avaliação de FBEI. Como perspectivas para aprofundar o entendimento na área, pretende-se incluir a análise de metabólitos inflamatórios intestinais e de níveis de concentração de endotoxina, a fim de verificar a presença de endotoxemia e inflamação intestinal. Além disso, planeja-se analisar a diversidade da microbiota intestinal, para avaliar o desequilíbrio da composição microbiana desta e a interação metabólica hospedeiro-microbiota. E por fim, intenciona-se avaliar o consumo alimentar dos participantes do estudo a fim de analisar a presença de dieta com alto teor de gordura saturada nos grupos. Tais análises poderiam contribuir para melhor compreensão dos possíveis fatores que podem vir a alterar a função de barreira intestinal e sua regulação no excesso de peso e Síndrome Metabólica.

Figura 8 – Resumo dos principais achados do presente estudo



Fonte: elaborada pela autora.

Ilustração esquemática dos principais resultados encontrados e discutidos em cada grupo do presente estudo. Os indivíduos com excesso de peso - mas sem Síndrome Metabólica - não apresentaram disfunção da barreira gastrointestinal, mas apresentaram correlações entre algumas variáveis clínicas e parâmetros de permeabilidade intestinal. Os indivíduos com excesso de peso e Síndrome Metabólica apresentaram aumento dos fatores de risco para doenças cardiovasculares e do estado inflamatório e metabólico, mas também não apresentaram disfunção da barreira gastrointestinal comparado ao controle.

7. CONCLUSÃO

Os resultados apresentados permitem concluir que:

- O quadro metabólico foi mais grave de acordo com o estado de excesso de peso e Síndrome Metabólica. Aqueles com Síndrome Metabólica tiveram maior presença de fatores de risco associados com alterações antropométricas (como maior pressão arterial, obesidade abdominal e disfunção da adiposidade visceral) e com alterações bioquímicas (como dislipidemia, inflamação de baixo grau e resistência à insulina).
- Os parâmetros de função da barreira do epitélio intestinal não foram alterados frente ao excesso de peso ou à Síndrome Metabólica
- Houve correlações significativas dos parâmetros de avaliação da função de barreira epitelial intestinal com o aumento ou a diminuição de fatores de risco cardiovascular

Sugere-se que intervenções focadas na modulação de parâmetros da função de barreira epitelial intestinal devam ser exploradas no contexto do excesso de peso e da síndrome metabólica a fim de reduzir a incidência e mortalidade de doenças cardiovasculares.

REFERÊNCIAS

ABESO. Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica. Diretrizes brasileiras de obesidade 2016. 4 ed. – São Paulo, SP.

AFSHIN A, et al. Health effects of overweight and obesity in 195 countries over 25 years. **N Engl J Med.**, v. 377, p. 13–27, 2017

AHIMA, R. S.; LAZAR M. A. Adipokines and the peripheral and neural control of energy balance. **Mol Endocrinol**, v. 22, p. 1023-1031, 2008.

AHMAD, R. et al. Obesity-induces organ and tissue specific tight junction restructuring and barrier deregulation by Claudin switching. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 1-16, 2017.

AHMAD, R. et al. Targeted colonic claudin-2 expression renders resistance to epithelial injury, induces immune suppression, and protects from colitis. **Mucosal Immunol.**, v. 7, p. 1340–1353, 2014.

ALBERTI K. G.; ZIMMET P. Z. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation. **Diabet Med**, v. 15, p. 539-553, 1998.

ALBERTI K. G. et al. Harmonizing the Metabolic Syndrome. **Circulation**, v. 120, n. 16, p. 1640-1645, 2009.

ALLAM-NDOUL, B. et al. Association between metabolite profiles, metabolic syndrome and obesity status. **Nutrients**, v. 8, n. 6, p. 1–11, 2016.

ALVERO-CRUZ, J. R. et al. Sex differences for predicting metabolic syndrome by adipose dysfunction markers in institutionalized elderly. **European Journal of Cardiovascular Nursing**, v. 20, n. 6, p. 534–539, 2021.

AMATO, M. C.; GIORDANO, C. Visceral adiposity index: An indicator of adipose tissue dysfunction. **International Journal of Endocrinology**, v. 2014, 2014.

AMATO, M.C. et al. Cut-off points of the visceral adiposity index (VAI) identifying a visceral adipose dysfunction associated with cardiometabolic risk in a Caucasian Sicilian population. **Lipids Health Dis.**, v. 10, n. 183, 2011.

ANDERSON, A. S. et al. Early skeletal muscle adaptations to short-term high-fat diet in humans before changes in insulin sensitivity. **Obesity**, v. 23, n. 4, 2015.

ANDERSON, J. M.; VAN ITALLIE, C. M. Physiology and Function of the Tight Junction. **Cold Spring Harbor Perspectives in Biology**, v. 1, n. 2, 2009.

ANOMALY, J. Is obesity a public health problem? **Public Health Ethics**, v. 5, n. 3, p. 216–221, 2012.

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.

ARONNE, L.J. Classification of obesity and assessment of obesity-related health risks. **Obes Res**, v. 10, n. 2, p. 105S-15S, 2002.

ARQUIVOS BRASILEIRO DE CARDIOLOGIA. Sociedade Brasileira de Cardiologia. I Diretriz Brasileira de Diagnóstico e Tratamento da Síndrome Metabólica, v. 84, São Paulo, SP, abril, 2005.

ARUMUGAM, M., et al. Enterotypes of the human gut microbiome. **Nature**, v. 473, p. 174–180, 2011.

AVIGNON A. et al. Assessment of insulin sensitivity from plasma insulin and glucose in the fasting or post oral glucose-load state. **Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.**, v. 23, n. 5, p. 512-517, 1999.

BAHLOULI, W. et al. Stress-induced intestinal barrier dysfunction is exacerbated during diet-induced obesity. **J Nutr Biochem.**, v. 81, p. 1-11, 2020.

BALDA, M. S. et al. Multiple domains of occludin are involved in the regulation of paracellular permeability. **J. Cell Biochem.**, v. 78, p. 85–96, 2000.

BALKAU B.; CHARLES M. A. Comment on the provisional report from the WHO consultation. European Group for the Study of Insulin Resistance (EGIR). **Diabet Med**, v. 16, p. 442-443, 1999.

BARAZZONI, R.; SILVA, V.; SINGER, P. Clinical biomarkers in metabolic syndrome. **Nutrition in Clinical Practice**, v. 29, n. 2, p. 215–221, 2014.

BARBOZA JR., M. S. et al. Measurement of intestinal permeability using mannitol and lactulose in children with diarrheal diseases. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 32, n. 12, p. 1499–1504, 1999.

BARROSO, W. K. S et al. Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial – 2020. **Arq Bras Cardiol**, v. 116, n. 3, p. 516-658, 2021.

BELKAID, Y.; HAND, T.W. Role of the microbiota in immunity and inflammation. **Cell**, v. 157, p. 121–141, 2014.

BELTRAN-SANCHEZ H. et al. Prevalence and trends of metabolic syndrome in the adult U.S. population, 1999-2010. **J. Am. Coll. Cardiol.**, v. 62, p. 697–703, 2013.

BISCHOFF, S. C. et al. Intestinal permeability - a new target for disease prevention and therapy. **BMC Gastroenterology**, v. 14, n. 1, p. 1–25, 2014.

BLOEMENDAAL, A.L.A. Intestinal stem cells and intestinal homeostasis in health and in inflammation: A review. **Surgery**, v. 159, p. 1237–1248, 2016.

BLÜHER, M. Obesity: global epidemiology and pathogenesis. **Nature Reviews Endocrinology**, v. 15, n. 5, p. 288–298, 2019.

BLUHER, M. Metabolically Health Obesity. **Endocrine Reviews**, v. 41, n. 3, p. 1-49, 2020.

BODEN G.; SHULMAN G. I. Free fatty acids in obesity and type 2 diabetes: defining their role in the development of insulin resistance and beta-cell dysfunction. **Eur J Clin Invest**, v. 32, p. 14–23, 2002.

BONA, M. D. et al. Intestinal Barrier Permeability in Obese Individuals with or without Metabolic Syndrome: A Systematic Review. **Nutrients**, v. 14, n. 17, p. 1–11, 2022.

BONORA E. et al. Homeostasis model assessment closely mirrors the glucose clamp technique in the assessment of insulin sensitivity: studies in subjects with various degrees of glucose tolerance and insulin sensitivity. **Diabetes Care**, v. 23, n. 1, p. 57-63, 2000.

BOVOLINI, A. et al. Metabolic Syndrome Pathophysiology and Predisposing Factors. **International Journal of Sports Medicine**, v. 42, n. 3, p. 199–214, 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. Orientações para a coleta e análise de dados antropométricos em serviços de saúde: Norma Técnica do Sistema de Vigilância Alimentar e Nutricional - SISVAN / Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Atenção Básica. – Brasília: Ministério da Saúde, 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Análise em Saúde e Vigilância de Doenças Não Transmissíveis. Plano de Ações Estratégicas para o Enfrentamento das Doenças Crônicas e Agravos Não Transmissíveis no Brasil, 2021-2030. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Análise em Saúde e Vigilância de Doenças Não Transmissíveis – Brasília: Ministério da Saúde, 2021.

BREEN D.M.; GIACCA A. Effects of insulin on the vasculature. **Current Vascular Pharmacology**, v. 9, n. 3, p.321-332, 2011.

BRIGNARDELLO, J. et al. Pilot study: Alterations of intestinal microbiota in obese humans are not associated with colonic inflammation or disturbances of barrier function. **Alimentary Pharmacology and Therapeutics**, v. 32, n. 11–12, p. 1307–1314, 2010.

CAMILLERI, M. et al. Role for diet in normal gut barrier function: Developing guidance within the framework of food-labeling regulations. **American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology**, v. 317, n. 1, p. G17–G39, 2019.

CAMILLERI, M. Leaky gut: mechanisms, measurement and clinical implications in humans. **Gut**, v. 68, n. 8, p. 1516–1526, 2019.

CANFORA E.E.; JOCKEN J.W.; BLAAK E.E. Short-chain fatty acids in control of body weight and insulin sensitivity. **Nat. Rev. Endocrinol.**, v. 11, p. 577–591, 2015.

CANI P.D. et al. Changes in gut microbiota control metabolic endotoxemia-induced inflammation in high-fat diet-induced obesity and diabetes in mice. **Diabetes**, v. 57, p. 1470–1481, 2008.

CANI P.D. et al. Selective increases of bifidobacteria in gut microflora improve high-fat-diet-induced diabetes in mice through a mechanism associated with endotoxaemia. **Diabetologia**, v. 50, p. 2374–2383, 2007.

CHELAKKOT, C.; GHIM, J.; RYU, S. H. Mechanisms regulating intestinal barrier integrity and its pathological implications. **Experimental and Molecular Medicine**, v. 50, n. 8, 2018.

CHEN, Y. et al. COOH terminus of occludin is required for tight junction barrier function in early *Xenopus* embryos. **J. Cell Biol.**, v. 138, p. 891–899, 1997.

CHIBA, H. et al. Transmembrane proteins of tight junctions. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes**, v. 1778, n. 3, p. 588–600, 2008.

CLEVERS, H. The intestinal crypt, a prototype stem cell compartment. **Cell.**, v. 154, p. 274-284, 2013.

COLEMAN, M. J. et al. Individuals with Metabolic Syndrome Show Altered Fecal Lipidomic Profiles with No Signs of Intestinal Inflammation or Increased Intestinal Permeability. **Metabolites**, v. 12, n. 5, 2022.

CORICA D, et al. Does Family History of Obesity, Cardiovascular, and Metabolic Diseases Influence Onset and Severity of Childhood Obesity. **Front Endocrinol (Lausanne)**, v. 9, n. 187, p. 1-6, 2018.

COX, A. J. et al. Increased intestinal permeability as a risk factor for type 2 diabetes. **Diabetes and Metabolism**, v. 43, n. 2, p. 163–166, 2017.

COX, A. J.; WEST, N. P.; CRIPPS, A. W. Obesity, inflammation, and the gut microbiota. **The Lancet Diabetes and Endocrinology**, v. 3, n. 3, p. 207–215, 2015.

CUI, H.; LOPEZ, M.; RAHMOUNI K. The cellular and molecular bases of leptin and ghrelin resistance in obesity. **Nature Reviews of Endocrinology**, v. 13, n. 6, p. 338-351, 2017.

DABKE, K.; HENDRICK, G.; DEVKOTA, S. The gut microbiome and metabolic syndrome. **Journal of Clinical Investigation**, v. 129, n. 10, p. 4050–4057, 2019.

DAMMS-MACHADO, A. et al. Gut permeability is related to body weight, fatty liver disease, and insulin resistance in obese individuals undergoing weight reduction. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 105, n. 1, p. 127–135, 2017.

DASTYCH, M. et al. Lactulose/mannitol test and specificity, sensitivity, and area under curve of intestinal permeability parameters in patients with liver cirrhosis and Crohn's disease. **Digestive Diseases and Sciences**, v. 53, n. 10, p. 2789–2792, 2008.

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, p.991–997, 2010.

DI PALO, D. M. et al. Increased colonic permeability and lifestyles as contributing factors to obesity and liver steatosis. **Nutrients**, v. 12, n. 2, 2020.

DIAMOND, J.M. Twenty-first Bowditch lecture. The epithelial junction: bridge, gate, and fence. **Physiologist**, v. 20, p. 10–18, 1977.

ECKEL R. H.; GRUNDY S. M.; ZIMMET P. Z. The metabolic syndrome. **Lancet**, v. 365, p. 1415-1428.

ERRIDGE, C. A high-fat meal induces low-grade endotoxemia: Evidence of a novel mechanism of postprandial inflammation. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 86, p. 1286–1292, 2007.

EXECUTIVE SUMMARY OF THE THIRD REPORT OF THE NATIONAL CHOLESTEROL EDUCATION PROGRAM EXPERT PANEL ON DETECTION, EVALUATION AND TREATMENT OF HIGH BLOOD CHOLESTEROL IN ADULTS (NCEP-ATP III). **JAMA**, v. 285, p. 2486-97, 2001.

- EZQUERRO, S. et al. Ghrelin reduces TNF- α -induced human hepatocyte apoptosis, autophagy, and pyroptosis: role in obesity-associated NAFLD. **The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 104, n. 1, p. 21-37, 2019.
- FAHED, G. et al. Metabolic Syndrome: Updates on Pathophysiology and Management in 2021. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 2, p. 1–38, 2022.
- FARRÉ, R. et al. Intestinal permeability, inflammation and the role of nutrients. **Nutrients**, v. 12, n. 4, p. 1–18, 2020.
- FELDMAN, G. J.; MULLIN, J. M.; RYAN, M. P. Occludin: structure, function and regulation. **Adv. Drug Deliv. Rev.**, v. 57, p. 883–917, 2005
- FERNANDEZ-NAVARRO T., et al. Exploring the interactions between serum free fatty acids and fecal microbiota in obesity through a machine learning algorithm. **Food Res. Int.**, v. 121, p. 533–541, 2019.
- FINDLEY, M. K.; KOVAL, M. Regulation and roles for claudin-family tight junction proteins. **IUBMB Life**, v. 61, p. 431–437, 2009.
- FRIEDMAN, J. M.; HALAAS, J. L. Leptin and the regulation of body weight in mammals. **Nature**, v. 395, p. 763–770, 1998.
- FORLANO, R. et al. The Intestinal Barrier and Its Dysfunction in Patients with Metabolic Diseases and Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 2, 2022.
- FURUSE, M. et al. Occludin: a novel integral membrane protein localizing at tight junctions. **J. Cell Biol.**, v. 123, p. 1777–1788, 1993.
- GALIPEAU, H. J.; VERDU, E. F. The complex task of measuring intestinal permeability in basic and clinical science. **Neurogastroenterology and Motility**, v. 28, n. 7, p. 957–965, 2016.
- GAO, W. G. et al. Does the constellation of risk factors with and without abdominal adiposity associate with different cardiovascular mortality risk? **International Journal of Obesity**, v. 32, n. 5, p. 757–762, 2008.
- GARCÍA-MIRANDA, P. et al. Reelin is involved in the crypt-villus unit homeostasis. **Tissue Engineering - Part A**, v. 19, n. 1–2, p. 188–198, 2013.
- GAZAROVA M., GALSNEIDEROVA M., MECIAROVA L. Obesity diagnosis and mortality risk based on a body shape index (ABSI) and other indices and anthropometric parameters in university students. **Roczniki Panstwowego Zakladu Higieny**, v. 70, n. 3, p. 267-275, 2019.
- GELONEZE, B. et al. HOMA1-IR and HOMA2-IR indexes in identifying insulin resistance and metabolic syndrome: Brazilian Metabolic Syndrome Study (BRAMS). **Arq Bras Endocrinol Metabol**, v. 53, p. 281-7, 2009.
- GHANIM, H. et al. Orange juice neutralizes the proinflammatory effect of a high-fat, high-carbohydrate meal and prevents endotoxin increase and toll-like receptor expression. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 91, p. 940–949, 2010.
- GHOSH, S. S. et al. Intestinal barrier function and metabolic/liver diseases. **Liver Research**, v. 4, n. 2, p. 81–87, 2020.

GRUNDY S.M. et al. Definition of metabolic syndrome: report of the National Heart, Lung, and Blood Institute/American Heart Association conference on scientific issues related to definition. **Circulation**, v. 109, n. 3, p. 433–8, 2004.

GRUND, S.M. et al. Diagnosis and management of the metabolic syndrome: an American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement. **Circulation**, v. 112, p. 2735-2752, 2005.

GUO, S. et al. Lipopolysaccharide causes an increase in intestinal tight junction permeability in vitro and in vivo by inducing enterocyte membrane expression and localization of TLR-4 and CD14. **Am. J. Pathol.**, v. 182, p. 375-387, 2013

HALLER H. Epidermiology and associated risk factors of hyperlipoproteinemia. **Z Gesamte Inn Med**, v. 32, n. 8, p.124–8, p. 1977.

HARDY, O. T. et al. Body mass index-independent inflammation in omental adipose tissue associated with insulin resistance in morbid obesity. **Surg Obes Relat Dis**, v. 7, p. 60-67, 2011.

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, p. 375–382, 2012.

HERMISTON, M. L.; GORDON, J. I. In vivo analysis of cadherin function in the mouse intestinal epithelium: essential roles in adhesion, maintenance of differentiation, and regulation of programmed cell death. **J. Cell Biol**, v. 129, p. 489–506, 1995.

HEYMSFIELD S. B.; WADDEN T. A. Mechanisms, pathophysiology, and management of obesity. **New England Journal of Medicine**, v. 376, n. 3, p. 254-66, 2017.

HOTAMISLIGIL, G. S. Inflammation, metainflammation and immunometabolic disorders. **Nature**, v. 542, p. 177-185, 2017.

HOTAMISLIGIL, G. S. Foundations of immunometabolism and implications for metabolic health and disease. **Immunity**, v. 47, p. 406-420, 2017.

HRUBY A, HU FB. The epidemiology of obesity: a big picture. **Pharmacoeconomics**, v. 33, p. 673–89, 2015.

HUANG, P. L. A comprehensive definition for metabolic syndrome. **DMM Disease Models and Mechanisms**, v. 2, n. 5–6, p. 231–237, 2009.

HULSTON C. J.; CHURNSIDE A. A.; VENABLES M. C. Probiotic supplementation prevents high-fat, overfeeding-induced insulin resistance in human subjects. **British Journal of Nutrition**, v. 113, p. 596–602, 2015.

INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION: The IDF consensus worldwide definition of the metabolic syndrome, 2006. Disponível em: <http://www.idf.org/webdata/docs/IDF_Meta_def_final.pdf>. Acesso em: 05 de agosto de 2022.

ITOH, M. et al. The 220-kD protein colocalizing with cadherins in non-epithelial cells is identical to ZO-1, a tight junction-associated protein in epithelial cells: cDNA cloning and immunoelectron microscopy. **Journal of Cell Biology**, v. 121, n. 3, p. 491–502, 1993.

JOHANSSON, M.E. et al. The inner of the two Muc2 mucin dependent mucus layers in colon is devoid of bacteria. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, v. 105, p. 15064–15069, 2008.

- KADOWAKI T. et al. Adiponectin and adiponectin receptors in insulin resistance, diabetes, and the metabolic syndrome. **J. Clin. Invest.**, v. 116, n. 7, p.1784-1792, 2006.
- KALISH, V. B. Obesity in Older Adults. **Primary Care - Clinics in Office Practice**, v. 43, n. 1, p. 137–144, 2016.
- KAMADA, N. et al. Control of pathogens and pathobionts by the gut microbiota. *Nat. Immunol.*, v. 14, p. 685–690, 2013.
- KARCZEWSKI, J et al. Regulation of human epithelial tight junction proteins by *Lactobacillus plantarum* in vivo and protective effects on the epithelial barrier. **Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol**, v. 298, p. 851–859, 2010.
- KASSI, E. et al. Metabolic syndrome: Definitions and controversies. **BMC Medicine**, v. 9, n. 1, p. 48, 2011.
- KAWAI, T; AUTIERI, M. V.; SCALIA, R. Adipose tissue inflammation and metabolic dysfunction in obesity. **Am J Physiol Cell Physiol**, v. 320, p. 375-391, 2021.
- KELLERER, T. et al. Impact of Laparoscopic Sleeve Gastrectomy on Gut Permeability in Morbidly Obese Subjects. **Obesity Surgery**, v. 29, n. 7, p. 2132–2143, 2019.
- KEVIL, C. G. et al. Expression of zonula occludens and adherens junctional proteins in human venous and arterial endothelial cells: role of occludin in endothelial solute barriers. **Microcirculation**, v. 5, p. 197–210, 1998.
- KHOSHBIN, K; CAMILLERI, M. Effects of dietary components on intestinal permeability in health and disease. **Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol**, v. 319, n. 5, p. G589-608.
- LAUGERETTE et al. Oil composition of high-fat diet affects metabolic inflammation differently in connection with endotoxin receptors in mice. **Am J Physiol – Endocrinol Metab**, v. 302, n. 3, p. 374-386.
- LAVIE, C. J. Healthy weight and obesity prevention. **JACC**, v. 72, p. 1506-1531, 2018.
- LEE, G. O. et al. Lactulose: Mannitol diagnostic test by HPLC and LC-MSMS platforms: Considerations for field studies of intestinal barrier function and environmental enteropathy. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, v. 59, n. 4, p. 544–550, 2014.
- LEWIS, C. V.; ROBERT TAYLOR, W. Intestinal barrier dysfunction as a therapeutic target for cardiovascular disease. **American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology**, v. 319, n. 6, p. H1227–H1233, 2020.
- LI, X. et al. Somatostatin regulates tight junction proteins expression in colitis mice. **Int. J. Clin. Exp. Pathol.**, v. 7, p. 2153–2162, 2014.
- LIN, X.; LI, H. Obesity: Epidemiology, Pathophysiology, and Therapeutics. **Frontiers in Endocrinology**, v. 12, n. September, p. 1–9, 2021.
- LIPSCHITZ, D. A. Screening for nutritional status in the elderly. **Primary Care**, v. 21, n. 1, p. 55-57, 1994.
- LIRA NETO, J. C. G. et al. Prevalence of metabolic syndrome in individuals with type 2 diabetes mellitus. **Rev Bras Enferm.**, v. 70, n. 2, p. 265-70, 2017.

- LIU M. et al. Increasing Prevalence of Metabolic Syndrome in a Chinese Elderly Population: 2001-2010. **Plos One**, v. 8, p. 1-6, 2013.
- LIVERANI, E et al. How to predict clinical relapse in inflammatory bowel disease patients. **World J Gastroenterol**, v. 22, p. 1017-1033, 2016.
- LUO, Z. et al. A review of saponin intervention in metabolic syndrome suggests further study on intestinal microbiota. *Pharmacol Res*, v. 160, p. 1-12, 2020.
- MABRY R. M. et al. Gender differences in prevalence of the metabolic syndrome in Gulf Cooperation Council Countries: a systematic review. **Diabet Med**, v. 27, p. 593-597, 2010.
- MALIK S. et al. Cardiovascular disease in U.S. patients with metabolic syndrome, diabetes, and elevated C-reactive protein. **Diabetes Care**, v. 28, n. 3, p. 690-693, 2005.
- MARTÍNEZ-AUGUSTIN, O. et al. Food derived bioactive peptides and intestinal barrier function. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 15, n. 12, p. 22857–22873, 2014.
- MARTINEZ-MEDINA, M. et al. Western diet induces dysbiosis with increased E coli in CEABAC10 mice, alters host barrier function favouring AIEC colonization. **Gut**, v. 63, p. 116–124, 2014.
- MAYORAL, L. P. et al. Obesity subtypes, related biomarkers & heterogeneity. **Indian Journal of Medical Research**, v. 151, p. 11-21, 2020.
- MCCRACKEN, E.; MONAGHAN, M.; SREENIVASAN, S. Pathophysiology of the metabolic syndrome. **Clinics in Dermatology**, v. 36, n. 1, p. 14–20, 2018.
- MCMURRAY, R. G.; HACKNEY, A. C. Interactions of metabolic hormones, adipose tissue and exercise. **Sports Medicine**, v. 35, n. 5, p. 393–412, 2005.
- MELDRUM, D. R.; MORRIS, M. A.; GAMBONE, J. C. Obesity pandemic: causes, consequences, and solutions—but do we have the will? **Fertility and Sterility**, v. 107, n. 4, p. 833–839, 2017.
- MELO, S. P. S. C. et al. Sobrepeso, obesidade e fatores associados aos adultos em uma área urbana carente do Nordeste Brasileiro. **Rev. Bras. Epidemiol.**, v. 23, p. 1-14, 2020.
- MENNIGEN, R. et al. Probiotic mixture VSL#3 protects the epithelial barrier by maintaining tight junction protein expression and preventing apoptosis in a murine model of colitis. **Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.**, v. 296, p. 1140–1149, 2009.
- MEZOUAR, S. et al. Microbiome and the immune system: from a healthy steady-state to allergy associated disruption. **Hum. Microbiome J.**, v. 10, p. 11–20, 2018.
- MILIONIS H. J. et al. Different definitions of the metabolic syndrome and risk of first-ever acute ischaemic non-embolic stroke in elderly subjects. **Int J Clin Pract**, v. 61, n. 4, p. 545–551, 2007.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Análise em Saúde e Vigilância de Doenças Não Transmissíveis. Vigitel Brasil 2019: vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico: estimativas sobre frequência e distribuição sociodemográfica de fatores de risco e

proteção para doenças crônicas nas capitais dos 26 estados brasileiros e no Distrito Federal em 2019. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Análise em Saúde e Vigilância de Doenças Não Transmissíveis. Brasília: Ministério da Saúde, 2020.

MOKKALA, K. Increased intestinal permeability, measured by serum zonulin, is associated with metabolic risk markers in overweight pregnant women. **Metabolism: Clinical and Experimental**, v. 69, p. 43-50, 2017.

MONDAL, N.; SINGH, V.; SAXENA, V. Determining the interaction between groundwater and saline water through groundwater major ions chemistry. **J. Hydrol.**, v. 388, p. 100–111, 2010.

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, e161, 2016.

MORENO-NAVARRETE, J. M. et al. Circulating zonulin, a marker of intestinal permeability, is increased in association with obesity-associated insulin resistance. **Plos One**, v. 7, p. 1-5, 2012.

MÖRKL, S. et al. Gut microbiota, dietary intakes and intestinal permeability reflected by serum zonulin in women. **European Journal of Nutrition**, v. 57, n. 8, p. 2985–2997, 2018.

MOTAMED, N. et al. Discriminatory Ability of Visceral Adiposity Index (VAI) in Diagnosis of Metabolic Syndrome: A Population Based Study. **Experimental and Clinical Endocrinology and Diabetes**, v. 125, n. 3, p. 202–207, 2017.

MUJICA, V. et al. Evaluation of metabolic syndrome in adults of Talca city, Chile. **Nutr J.**, v. 7, p. 14, 2008.

NGUYEN B, CLEMENTS J. Obesity Management Among Patients With Type 2 Diabetes. **Gut**, v. 66, p. 1025–1032, 2017.

NIGHT, P. et al. Matrix metalloproteinase 9-induced increase in intestinal epithelial tight junction permeability contributes to the severity of experimental DSS colitis. **Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.**, v. 309, p. 988–997, 2015.

NILSON, E. A. F. et al. Costs attributable to obesity, hypertension, and diabetes in the Unified Health System, Brazil, 2018. **Revista Panamericana de Salud Publica/Pan American Journal of Public Health**, v. 44, p. 1–7, 2020.

NIMPTSCH, K.; KONIGORSKI, S.; PISCHON, T. Diagnosis of obesity and use of obesity biomarkers in science and clinical medicine. **Metabolism: Clinical and Experimental**, v. 92, p. 61–70, 2019.

ODENWALD, M. A.; TURNER, J. R. Intestinal Permeability Defects: Is It Time to Treat? **Clinical Gastroenterology and Hepatology**, v. 11, n. 9, p. 1075–1083, 2013.

ODENWALD, M. A.; TURNER, J. R. The intestinal epithelial barrier: A therapeutic target? **Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology**, v. 14, n. 1, p. 9–21, 2017.

OLIVEIRA, L. V. A. et al. Prevalence of the metabolic syndrome and its components in the Brazilian adult population. **Ciencia e Saude Coletiva**, v. 25, n. 11, p. 4269–4280,

2020.

OTT, B. et al. Effect of caloric restriction on gut permeability, inflammation markers, and fecal microbiota in obese women. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 1–10, 2017.

PAN, W. H.; YEH, W.T. How to define obesity? Evidence-based multiple action points for public awareness, screening and treatment: an extension of Asian-Pacific recommendations. **Asia Pac J Clin Nutr**, v. 15, p. 370-374, 2008.

PARK S. et al. Rage and cardiovascular disease. **Front. Biosci.**, v. 16, p. 486–497, 2011

PEKGOR et al. The Role of Visceral Adiposity Index Levels in Predicting the Presence of Metabolic Syndrome and Insulin Resistance in Overweight and Obese Patients. **Metabolic Syndrome Related Disorders.**, v. 17, p. 296–302, 2019

PETERSON L.W.; ARTIS D. Intestinal epithelial cells: regulators of barrier function and immune homeostasis. **Nature**, v. 14, p. 141–153, 2014.

PHILLIPS, C. M. et al. Dietary inflammatory index and non-communicable disease risk: A narrative review. **Nutrients**, v. 11, n. 8, p. 1–32, 2019.

PICHÉ, M. E.; TCHERNOF, A.; DESPRÉS, J. P. Obesity Phenotypes, Diabetes, and Cardiovascular Diseases. **Circulation Research**, p. 1477–1500, 2020.

PINZÓN, J. B. et al. Impact of the new definitions in the prevalence of the metabolic syndrome in an adult population at Bucaramanga, Colombia. **Biomédica (Bogotá)**, v. 27, n. 2, p.172-9, 2007.

PISCHON T. Use of obesity biomarkers in cardiovascular epidemiology. **Dis Markers**, v. 26, p. 247–63, 2009.

POULAIN-GODEFROY, O. et al. Inflammation is associated with a decrease of lipogenic factors in omental fat in women. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v. 295, p. 1-7, 2008.

RAFIKOV R. et al. Enos activation and no function: structural motifs responsible for the posttranslational control of endothelial nitric oxide synthase activity. **J. Endocrinol.**, v. 210, n. 3, p. 271–284, 2011.

RAO, A. S. et al. Urine sugars for in vivo gut permeability: validation and comparisons in irritable bowel syndrome-diarrhea and controls. **Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.**, v. 301, p. G919–28, 2011.

REAVEN, G.M. Banting Lecture 1988. Role of insulin resistance in human disease. **Diabetes**, v. 37, p. 1595-1607

RESCIGNO, M. The intestinal epithelial barrier in the control of homeostasis and immunity. **Trends in Immunology**, v. 32, n. 6, p. 256–264, 2011.

ROBERTS C. K.; HEVENER A. L.; BARNARD R. J. Metabolic syndrome and insulin resistance: underlying causes and modification by exercise training. **Compr Physiol**, v. 3, p. 1-58, 2013.

ROCHLANI et al. Metabolic Syndrome: pathophysiology, management, and modulation by natural compounds. **Therapeutic Advances in Cardiovascular Disease**, v. 11, n. 8, p. 215-225, 2017.

RODRIGUES, F. A. DE P. et al. Fisiologia da Barreira Epitelial Intestinal. In: ORIÁ, R. B.; BRITO, G. A. DE C. (Eds.). **Sistema Digestório: Integração Básico-Clínica**. 1. ed. [s.l.] Editora Blucher, 2016. p. 441–478.

ROHR, M. W. et al. Negative Effects of a High-Fat Diet on Intestinal Permeability: A Review. **Advances in Nutrition**, v. 11, n. 1, p. 77–91, 2020.

SAKATA et al. Characterization of a novel ghrelin cell reporter mouse. **Regulatory Peptides**, v. 155, p. 91–98, 2009.

SAKLAYEN, M. G. The Global Epidemic of the Metabolic Syndrome. **Current Hypertension Reports**, v. 20, n. 12, p. 1–8, 2018.

SANTILLI F, VAZZANA N, LIANI R, GUAGNANO MT, DAVÌ G. Platelet activation in obesity and metabolic syndrome. **Obesity Reviews**, v. 13, n. 1, p. 27–42 2012.

SANTOS, I. S. C. et al. Factors associated with metabolic syndrome and quality of life of adults in a northeast brazilian municipality. **Revista Cuidarte**, v. 12, n. 2, 2021.

SATO, T. et al. Paneth cells constitute the niche for Lgr5 stem cells in intestinal crypts. **Nature**, v. 469, p. 415–418, 2011.

SCHOULTZ, I.; KEITA, Å. V. The Intestinal Barrier and Current Techniques for the Assessment of Gut Permeability. **Cells**, v. 9, n. 8, p. 1–30, 2020.

SCHUMANN, R. R. et al. Structure and function of lipopolysaccharide binding protein. **Science**, v. 249, p. 1429–31, 1990.

SEETHALER, B. et al. Biomarkers for assessment of intestinal permeability in clinical practice. **American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology**, v. 321, n. 1, p. G11–G17, 2021.

SEHGAL, K.; KHANNA, S. Gut microbiota: a target for intervention in obesity. **Expert Review of Gastroenterology and Hepatology**, v. 15, n. 10, p. 1169–1179, 2021.

SETHI J. K., VIDAL-PUIG A. J. Thematic review series: adipocyte biology. Adipose tissue function and plasticity orchestrate nutritional adaptation. **J Lipid Res.**, v. 48, n. 6, p. 1253–1262, 2007.

SHERLING, D. H.; PERUMAREDDI, P.; HENNEKENS, C. H. Metabolic Syndrome: Clinical and Policy Implications of the New Silent Killer. **Journal of Cardiovascular Pharmacology and Therapeutics**, v. 22, n. 4, p. 365–367, 2017.

SHI, C. et al. High fat diet exacerbates intestinal barrier dysfunction and changes gut microbiota in intestinal-specific ACF7 knockout mice. **Biomed. Pharmacother.**, v. 110, p. 537–545, 2019

SNEDEKER, S.M.; A.G. HAY. Do interactions between gut ecology and environmental chemicals contribute to obesity and diabetes? **Environ. Health Perspect.**, v. 120, p. 332–339, 2012.

SOARES, P. G.; PÁDUA, T. V. DE. Relação entre cintura-quadril e imagem corporal em mulheres de meia-idade e idosas ativas fisicamente. **Revista Kairós Gerontologia**, v. 17, n. 1, p. 283–295, 2014.

- SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA. 7ª Diretriz Brasileira de Hipertensão Arterial. Arquivo Brasileiro de Cardiologia. 2016. 107 (3).
- SOCIEDADE BRASILEIRA DE HIPERTENSÃO. III Consenso Brasileiro de Hipertensão Arterial. 1998. 54p
- STEFAN, N. Metabolically Healthy and Unhealthy Normal Weight and Obesity. **Endocrinology and Metabolism**, v. 35, n. 3, p. 487–493, 2020.
- SUZUKI, T. Regulation of intestinal epithelial permeability by tight junctions. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 70, n. 4, p. 631–659, 2013.
- SUZUKI, T.; HARA, H. 2010 Dietary fat and bile juice, but not obesity, are responsible for the increase in small intestinal permeability. **Nutrition and Metabolism**, v. 7, p. 1–17, 2010.
- SWINBURN, B. A. et al. The global obesity pandemic: shaped by global drivers and local environments. **Lancet**, v. 378, p. 804–814, 2011.
- TANAKA, H. et al. Intestinal deletion of Claudin-7 enhances paracellular organic solute flux and initiates colonic inflammation in mice. **Gut**, v. 64, p. 1529–1538, 2015.
- TEIXEIRA, T. F. S. et al. Intestinal permeability parameters in obese patients are correlated with metabolic syndrome risk factors. **Clinical Nutrition**, v. 31, n. 5, p. 735–740, 2012.
- THAISS, C. A. et al. Hyperglycemia drives intestinal barrier dysfunction and risk for enteric infection. **Science**, v. 359, n. 6382, p. 1376–1383, 2018.
- THUIJLS, G et al. Early diagnosis of intestinal ischemia using urinary and plasma fatty acid binding proteins. **Ann Surg**, v. 253, p. 303–308, 2011.
- TILG, H. et al. The intestinal microbiota fueling metabolic inflammation. **Nat. Rev. Immunol.**, v. 20, p. 40-54, 2020.
- TOMAS, J. et al. Early 447 colonizing *Escherichia coli* elicits remodeling of rat colonic epithelium shifting 448 toward a new homeostatic state. **The ISME Journal**, v. 9, p. 46–58, 2015.
- TOMASSO, N. D.; GASBARRINI, A.; PONZIANI, F. R. Intestinal barrier in human health and disease. **Int. J. Environm. Res. Pub Health**, v. 18, p. 1-23, 2021.
- TREMAROLI V.; BACKHED F. Functional interactions between the gut microbiota and host metabolism. **Nature**, v. 13, n. 489, p. 242-9, 2012.
- TSUKITA, S.; FURUSE, M.; ITOH, M. Multifunctional strands in tight junctions. **Nature reviews. Molecular cell biology**, v. 2, n. 4, p. 285–293, 2001.
- TURNER, J. R. Intestinal mucosal barrier function in health and disease. **Nature reviews. Immunology**, v. 9, n. 11, p. 799–809, 2009.
- TURPIN, W. et al. Increased Intestinal Permeability Is Associated with Later Development of Crohn’s Disease. **Gastroenterology**, v. 159, p. 2092–2100. 2020.
- ULLUWISHEWA, D. et al. Regulation of Tight Junction Permeability by Intestinal Bacteria and Dietary Components. **Journal of Nutrition**, v. 141, n. 5, p. 769–776, 2011.

- VANUYTSEL, T.; VERMEIRE, S.; CLEYNEN, I. The role of Haptoglobin and its related protein, Zonulin, in inflammatory bowel disease. **Tissue barriers**, v. 1, n. 5, p. 1-9, 2013.
- VERDAM, F. J. et al. Human intestinal microbiota composition is associated with local and systemic inflammation in obesity. **Obesity**, v. 21, p. E607-615, 2013.
- VIZZUSO, S. et al. Visceral adiposity index (VAI) in children and adolescents with obesity: No association with daily energy intake but promising tool to identify metabolic syndrome (MetS). **Nutrients**, v. 13, n. 2, p. 1–15, 2021.
- VORS C., et al. Postprandial endotoxemia linked with chylomicrons and lipopolysaccharides handling in obese versus lean men: A lipid dose-effect trial. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, v. 100, n. 9, p. 3427-3435, 2015.
- WANG, L. et al. Methods to determine intestinal permeability and bacterial translocation during liver disease. **Journal of Immunological Methods**, v. 421, p. 44–53, 2015.
- WEISBERG S. P. et al. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. **J. Clin. Invest.**, v. 112, p. 1796–808, 2003.
- WILBRINK, J. et al. Intestinal barrier function in morbid obesity: results of a prospective study on the effect of sleeve gastrectomy. **International Journal of Obesity**, v. 44, n. 2, p. 368–376, 2020.
- WINER, D. A. et al. The intestinal immune system in obesity and insulin resistance. **Cell Metabolism**, v. 23, n. 3, p. 413–426, 2016.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. Obesity: Preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO Consultation on Obesity. Geneva (Suíça), 1998.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation, 894. World Health Organ Tech Rep Ser; 2000. p. 1–253.
- XIAO, S. et al. A gut microbiota-targeted dietary intervention for amelioration of chronic inflammation underlying metabolic syndrome. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 87, n. 2, p. 357–367, 2014.
- YADAV D et al. Prevalence of metabolic syndrome in type 2 diabetes mellitus using NCEPATPIII, IDF and WHO definition and its agreement in Gwalior Chambal region of central India. **Global Journal of Health Science**, v. 5, n. 6, p. 142-155, 2013.
- YANOVSKI, J. A. Obesity: Trends in underweight and obesity — scale of the problem. **Nat. Rev. Endocrinol.**, v. 14, p. 5–6, 2018.
- ZEISSIG, S. et al. Changes in expression and distribution of claudin-2, 5 and 8 lead to discontinuous tight junctions and barrier dysfunction in active Crohn's disease. **Gut**, v. 56, p. 61–72, 2007.
- ZAK-GOLAB, A. Gut microbiota, microinflammation, metabolic profile, and zonulin concentration in obese and normal weight subjects. **Int. J. Endocr.**, v. 2013, p. 1-9, 2013

ZIMMET, P. The metabolic syndrome: a global public health problem and a new definition. **J. Atheroscler. Thromb**, v. 12, p. 295-300, 200

APÊNDICE A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO DO PRESENTE PROJETO



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE NUTRIÇÃO

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Esclarecimentos

Este é um convite para o (a) Sr (a) participar da pesquisa **“Sobrepeso e obesidade em diferentes ciclos de vida: associações com o consumo alimentar, micronutrientes, barreira funcional gastrointestinal e fatores determinantes para doenças cardiovasculares síndrome metabólica em Natal, RN, Brasil”**, que tem como pesquisador responsável a Prof^a Dr^a Bruna Leal Lima Maciel.

Esta pesquisa pretende determinar as relações entre o sobrepeso e a obesidade com o consumo alimentar, micronutrientes, barreira funcional gastrointestinal e fatores determinantes para doenças cardiovasculares e síndrome metabólica em uma amostra da população de Natal – RN, considerando diferentes ciclos de vida.

O motivo que nos leva a fazer este estudo é a condição de transição nutricional brasileira nos diferentes ciclos de vida e a necessidade de estudos que visem a observação do excesso de peso e suas comorbidades nas dimensões do consumo alimentar, micronutrientes e saúde do intestino.

Caso você decida participar, você deverá responder a algumas perguntas contidas em um questionário sobre seus dados pessoais, de saúde, se pratica atividade física, fuma ou consome bebida alcoólica, se tem diagnóstico de alguma doença, o seu acesso a alimentos e o que você comeu no dia anterior. Este momento levará aproximadamente 1 hora.

Faremos também a medida do peso e altura, e de outras avaliações que mostrarão a quantidade de gordura que no seu corpo, além de verificar a sua pressão arterial e a como está a sua força física. Você poderá ser convidado(a) a comparecer a uma Unidade Básica de Saúde próxima do seu domicílio, onde será feita uma coleta de sangue e exame de urina para avaliação de algumas proteínas, vitaminas e minerais, açúcar e gorduras no seu sangue. Nossa equipe combinará um dia e horário com você e fará o seu encaminhamento para a Unidade Básica de Saúde, onde você será recebido(a) por nossa equipe e serão realizados os exames de sangue e urina por um auxiliar ou técnico de enfermagem, integrante da equipe de pesquisa. Para o exame de urina você receberá 20 mL de um xarope com marcadores da saúde do intestino e sua urina será coleta por um período de 5 horas. Os resultados dos exames serão, posteriormente, entregues a você. Você não é obrigado a realizar a coleta de sangue ou exame de urina, podendo negar, se quiser. Seu sangue será armazenado no laboratório LABAN da UFRN e a urina no Laboratório de Bioquímica da Nutrição na UFRN podendo, a qualquer momento, a seu pedido, serem descartados. Você pode ter acesso ao resultado do seu exame, o qual será revelado apenas a você, e que poderá também ser utilizado em pesquisas futuras. Na Unidade Básica de Saúde, além dessa coleta de sangue, você fará um exame chamado bioimpedância, para saber a quantidade de água, gordura e músculos que há no seu corpo.

Em um terceiro momento, entraremos em contato por telefone para perguntar novamente algumas informações sobre a sua alimentação. Caso você não queira responder uma pergunta feita por qualquer dos profissionais ou não ache que deva ser examinado por algum dos profissionais, é só dizer que não quer responder ou não quer ser examinado.

Durante a realização da entrevista, o risco que você corre é semelhante àquele sentido num exame físico ou psicológico de rotina, pois os riscos que poderão ocorrer decorrerão do constrangimento em responder a alguma pergunta do questionário. Pode acontecer um desconforto causado por cansaço ou aborrecimento ao responder alguma questão, o que será

minimizado pela equipe treinada que controlará o tempo de entrevista e conduzirá o momento em local reservado. Em relação à coleta do sangue, o que pode acontecer é depois da coleta ficar um pouco dolorido e roxo no local, mas os técnicos que irão coletar o sangue, além da prática que possuem, lhe farão recomendações para que isso não venha a acontecer. Em relação ao xarope para medida da sua saúde intestinal, ele não deverá causar desconforto ou alergias e você poderá se alimentar normalmente após 20 minutos da ingestão da solução. Caso você não se sinta bem durante a coleta do sangue ou da urina, ficará em repouso e caso seja necessário, um médico será solicitado ao serviço de emergência.

Você terá os seguintes benefícios ao participar da pesquisa: contribuirá para que as informações acerca de saúde/doença sejam obtidas e com isso proporcionará a detecção de algum problema, de modo que você possa ser encaminhado ao profissional adequado para tratar o problema, a fim de que ele avalie o exame e passe algum remédio, dieta, exercício ou indique algum outro tratamento para manter a sua saúde. Além disso, você terá uma avaliação nutricional completa a partir das informações do seu peso, altura, largura da cintura, sua alimentação e sua absorção intestinal de nutrientes.

Você contribuirá ainda para que as informações relativas à situação de insegurança alimentar e doenças crônicas sejam obtidas, e com isso, poderá proporcionar a detecção de algum problema, que será encaminhado às autoridades de seu município, podendo propiciar demanda de políticas públicas e ações governamentais.

Em caso de algum problema que você possa ter relacionado com a pesquisa, você terá direito a assistência gratuita que será prestada pela equipe de entrevistadores da UFRN, que lhe fará recomendações para que isso não venha a acontecer.

Durante todo o período da pesquisa você poderá tirar suas dúvidas ligando para Bruna Leal Lima Maciel, no telefone (84) 99188-9594 ou ainda no e-mail **brunalimamaciel@gmail.com**.

Você tem o direito de se recusar a participar ou retirar seu consentimento, em qualquer fase da pesquisa sem nenhum prejuízo para você.

Os dados que você irá nos fornecer serão confidenciais e serão divulgados apenas em congressos ou publicações científicas, não havendo divulgação de nenhum dado que possa lhe identificar.

Estes dados serão guardados pelo pesquisador responsável por esta pesquisa em local seguro e por um período de 5 anos.

Se você tiver algum gasto pela sua participação nessa pesquisa, ele será assumido pelo pesquisador e reembolsado para você.

Se você sofrer algum dano comprovadamente decorrente desta pesquisa, você será indenizado.

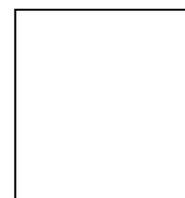
Qualquer dúvida sobre a ética dessa pesquisa você deverá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Onofre Lopes, telefone: 3342-5003, endereço: Av. Nilo Peçanha, 620 – Petrópolis, Espaço João Machado – 1º andar – Prédio administrativo – CEP: 59.012-300 - Natal/RN, e-mail: cep.huol@ebserh.gov.br

Este documento foi impresso em duas vias. Uma ficará com você e a outra com o pesquisador responsável, Bruna Leal Lima Maciel.

CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Após ter sido esclarecido sobre os objetivos, importância e o modo como os dados serão coletados nessa pesquisa, além de conhecer os riscos, desconfortos e benefícios que ela trará para mim e ter ficado ciente de todos os meus direitos, concordo em participar voluntariamente da pesquisa **“Sobrepeso e obesidade em diferentes ciclos de vida: associações com o consumo alimentar, micronutrientes, barreira funcional gastrointestinal e fatores determinantes para doenças cardiovasculares e síndrome metabólica em Natal, RN, Brasil”**, e autorizo a divulgação das informações por mim fornecidas em congressos e/ou publicações científicas desde que nenhum dado possa me identificar.

Natal, ____/____/____



Assinatura do participante da pesquisaImpressão datiloscópica
do participante**Nome do(a) Participante:**

ID do(a) participante: _____*Declaração do pesquisador responsável*

Como pesquisador responsável pelo estudo “**Sobrepeso e obesidade em diferentes ciclos de vida: associações com o consumo alimentar, micronutrientes, barreira funcional gastrintestinal e fatores determinantes para doenças cardiovasculares e síndrome metabólica em Natal, RN, Brasil**”, declaro que assumo a inteira responsabilidade de cumprir fielmente os procedimentos metodologicamente e direitos que foram esclarecidos e assegurados ao participante desse estudo, assim como manter sigilo e confidencialidade sobre a identidade do mesmo.

Declaro ainda estar ciente que na inobservância do compromisso ora assumido estarei infringindo as normas e diretrizes propostas pela Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde – CNS, que regulamenta as pesquisas envolvendo o ser humano.

Natal, ____/____/____

Assinatura do pesquisador

CPF do pesquisador:

**APÊNDICE B – FORMULÁRIO PARA COLETA DE DADOS DO SEGUNDO
PERÍODO DO ESTUDO**

DADOS PESSOAIS:	
Identificação (ID):	
Sexo: (1) Masculino (2) Feminino	Data de Nascimento:
Raça: (1) Branca (2) Parda (3) Preta (4) Indígena	Escolaridade: (1) Nenhuma (2) Ensino fundamental completo (3) Ensino médio incompleto (4) Ensino médio completo (5) Curso técnico de nível médio completo (6) Curso superior incompleto (7) Curso superior completo
Trabalha? (1) Sim (0) Não	Se sim, qual profissão?
Renda familiar:	
Possui alguma doença crônica? (1) Sim (0) Não	
Se sim, qual(ais)? () Hipertensão () Diabetes () Doença de pele () Alergia () Anemia () Doença de coluna () Artrite () Doença renal () AVC () Depressão () Enxaqueca () Osteoporose () Cirrose () Epilepsia () Doença de chagas () Hanseníase () Tuberculose () Esquistossomose () Câncer () Doença coronária () Doença pulmonar () Doença digestiva () Rinite () Sinusite () Outras doenças – Qual(ais)? _____	
Faz uso de alguma medicação? (1) Sim (0) Não	Se sim, qual(ais)?
Faz consumo de álcool? (1) Sim (0) Não	É tabagista? (1) Sim (0) Não
AVALIAÇÃO ANTROPOMÉTRICA:	
Peso:	Altura:
Circunferência da cintura:	
Circunferência do quadril:	
Pressão sistólica:	Pressão diastólica:
Pratica atividade física? (1) Sim (0) Não	
EXAMES BIOQUÍMICOS:	
Coleta de sangue: (1) Sim (0) Não	Quantidade (mL):
Observações:	

APÊNDICE C – PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO PARA COLETA DE DADOS E AMOSTRAS

	PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRONIZADO (POP) PARA A COLETA DE AMOSTRAS BIOLÓGICAS E DADOS	
OBJETIVO	Instruir os avaliadores sobre os procedimentos para a padronização das coletas de amostras biológicas e dados	
RESPONSABILIDADE E COMPETÊNCIA	Docentes e discentes do DNUT/UFRN envolvidos no projeto BRAZUCA	
PROCEDIMENTOS		
SEQUÊNCIA	TAREFA	
1	Antes de iniciar a coleta, realize a higienização das mãos (com água e sabonete líquido ou álcool gel a 70%) e faça uso de EPI (máscaras, álcool em gel a 70% e luvas, os quais devem ser exclusivos para as coletas)	
2	Separar as pranchetas, formulários e materiais necessários para a realização das coletas;	
3	Ao iniciar, apresente-se ao voluntário e faça uma breve explicação sobre o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), ressaltando a importância de se consentir com os procedimentos da pesquisa, coletando a assinatura do participante nas 2 vias do TCLE, ficando 1 via com ele e a outra com o avaliador responsável;	
4	Certifique-se de que o voluntário está em jejum de no mínimo 8 horas;	
5	Momento da coleta de sangue pelo técnico habilitado do Centro de Patologia;	
6	Orientar o voluntário a ir ao banheiro e realizar o esvaziamento da bexiga;	
7	Solicitar ao voluntário que faça a ingestão da solução lactulose/manitol do teste;	
8	Após 1 hora da ingestão da solução, liberar a alimentação, no entanto, sem suco de frutas, geleias, refrigerantes, laticínios, chocolate, mel, feijão, cogumelos, aipo, goma de mascar;	
9	A coleta de urina deverá ser feita durante 5 horas em recipientes oferecidos e	

	armazenada em proveta, onde a cada 50 mL de urina deverá ser adicionada 1 gota de clorexidina 2,35%;
10	Durante os intervalos da coleta de amostras biológicas, deve-se iniciar o preenchimento do formulário e dar prosseguimento as demais etapas da coleta (medidas antropométricas, dados pessoais e recordatório 24h)
11	Coleta das medidas antropométricas: para esta etapa o avaliador deve se dirigir ao Laboratório de Avaliação Nutricional do DNUT juntamente com voluntário para a realização das medidas;
12	Coleta de dados pessoais para o formulário;
13	Realizar o preenchimento do Recordatório 24h;
14	Finalização da coleta de urina com homogeneização da amostra total na proveta de urina somado às gotas de clorexidina;
15	Recolher duas alíquotas da amostra para criotubos que devem ser armazenados em caixas para eppendorff no freezer a - 80 °C

ANEXO A – ARTIGO PUBLICADO: INTESTINAL BARRIER FUNCTION IN OBESITY WITH OR WITHOUT METABOLIC SYNDROME: A SYSTEMATIC REVIEW PROTOCOL

BMJ Open Intestinal barrier function in obesity with or without metabolic syndrome: a systematic review protocol

Mariana Duarte Bona ,¹ Carlos Henrique de Medeiros Torres,² Severina Carla Vieira Cunha Lima,^{2,3} Aldo Angelo Moreira Lima,¹ Bruna Leal Lima Maciel^{2,3,4}

To cite: Bona MD, Torres CHdM, Lima SCVC, *et al.* Intestinal barrier function in obesity with or without metabolic syndrome: a systematic review protocol. *BMJ Open* 2021;**11**:e043959. doi:10.1136/bmjopen-2020-043959

► Prepublication history for this paper is available online. To view these files, please visit the journal online (<http://dx.doi.org/10.1136/bmjopen-2020-043959>).

Received 20 August 2020
Accepted 19 April 2021



© Author(s) (or their employer(s)) 2021. Re-use permitted under CC BY-NC. No commercial re-use. See rights and permissions. Published by BMJ.

¹Institute of Biomedicine for Brazilian Semiarid, Faculty of Medicine, Federal University of Ceara, Fortaleza, Brazil

²Department of Nutrition, Federal University of Rio Grande do Norte, Natal, Brazil

³Postgraduate Program in Nutrition, Federal University of Rio Grande do Norte, Natal, Brazil

⁴Postgraduate Program in Health Sciences, Federal University of Rio Grande do Norte, Natal, Brazil

Correspondence to

Professor Bruna Leal Lima Maciel;
brunalimamaciel@gmail.com

ABSTRACT

Introduction Intestinal barrier function is dependent on the structure and function of intestinal epithelial cells and paracellular pathway. The derangement of the intestinal barrier function can originate from conditions involving local and systemic chronic inflammation and metabolic diseases such as obesity and metabolic disorders. This study aims to describe a systematic review protocol investigating if obesity with or without metabolic syndrome is associated with an altered intestinal barrier function.

Methods and analysis This protocol is guided by the Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses Protocols. The databases to be searched are PubMed, Embase, Scopus, Science Direct and Web of Science. The systematic review will include original articles with adults and the elderly, who present obesity with or without metabolic syndrome, that address the intestinal barrier function. Two independent reviewers will perform study selection, data extraction and methodological quality assessment. Key information will be tabulated and a narrative synthesis will be conducted. The Grading of Recommendation, Assessment, Development and Evaluation framework will be used to assess the quality of evidence concerning the associations between intestinal barrier function and obesity with or without metabolic syndrome. The present protocol will assist in producing a systematic review that addresses if obesity with or without metabolic syndrome alters intestinal barrier function.

Ethics and dissemination No ethical statement will be required. The results will be disseminated through a peer-reviewed publication and conference presentations.

PROSPERO registration number CRD42020178658.

INTRODUCTION

The incidence of obesity and metabolic syndrome has risen significantly worldwide over the last decades and reached epidemic proportions affecting all ages and socioeconomic groups.^{1–2} Some evidence supports a causal pathway between diet, gut microbiota, intestinal barrier function and metabolic dysfunction.^{3–5} Most of this knowledge is based on animal studies, where the link between alterations in the gut microbiota and in intestinal barrier function was shown.^{6–7}

Strengths and limitations of this study

- This study will focus on clinical research instead of the majority that focus on animal model researches.
- It will bring evidence of the most used in vivo tests to assess intestinal barrier function and integrity.
- In this study, individuals with obesity with or without metabolic syndrome will be included.
- The scarcity of researches with the elderly and the methodological quality of studies may be the main limitations of the study.

The intestinal barrier is a complex multi-layer system, consisting of an external physical barrier and an inner functional immunological barrier. The interaction of these two barriers enables the maintenance of equilibrated intestinal barrier function.⁸ It prevents against loss of water and electrolytes and entry of antigens and microorganisms into the body while allowing the exchange of molecules between host and environment and the absorption of nutrients from the diet.⁹

Many factors can alter intestinal barrier function such as gut microbiota modifications, mucus layer alterations and epithelial damage, resulting in translocation of luminal content to the inner layers of the intestinal epithelial cells.^{10–11} Evidence obtained in animal models as well as in humans is accumulating, supporting a role of alterations of intestinal barrier function in many conditions, which include not only intestinal disorders such as malnutrition, diarrhoeal diseases, environmental enteric disease, inflammatory bowel disease, irritable bowel syndrome, hepatic fibrosis, inflammation, sepsis and pancreatitis, but also obesity and metabolic syndrome.^{12–15}

Intestinal barrier function and integrity can be measured in different ways. The techniques used for this assessment vary depending on

the setting (in vitro vs in vivo measurements), the species (human or animals), the marker molecules used (ions, carbohydrates of different sizes, macromolecules and antigens, bacterial products and bacteria), and the compartments used for measurement of the marker molecules (peripheral blood, portal vein blood or urine).^{16 17} Each method is specific for a certain section of the gastrointestinal tract and measures different functional aspects of epithelial integrity of the intestine.

In vivo assessments of intestinal barrier absorption, damage and permeability in humans are currently possible by using intestinal barrier function biomarkers and assays. One of the most used assays is the oral lactulose:mannitol permeability test, a quantitative non-invasive test that directly measures the ability of two non-metabolised sugar molecules, lactulose and mannitol, to permeate the intestinal mucosa.¹⁸ Lactulose, a disaccharide, is absorbed through cell junctions or epithelial cell turnover or damage; while mannitol, a monosaccharide, is absorbed most across the epithelial cell membranes.¹⁹ Once absorbed, these sugars are excreted unmetabolised in the urine, and the sugar excretion is determined by chromatography. Elevated lactulose to mannitol ratio is an indicator of intestinal barrier dysfunction.¹¹ Other sugar probes used to evaluate the intestinal barrier function include sucralose, rhamnose and sucrose, and these are also measured in the urine after an oral dose.²⁰ The extent of sucrose absorption and subsequently excretion correlates with gastroduodenal permeation.³ Sucralose is resistant to bacterial utilisation in the colon and therefore has been used for measuring colonic permeability.²¹ Rhamnose is used as a marker for small bowel permeability.²² Sometimes, all these saccharide markers are used together to appraise pan-gastrointestinal permeability.³

The human protein zonulin is the main physiological modulator of tight junctions (TJs) in the intestinal epithelial layer that increases intestinal permeability in small intestine by inducing the opening of TJ and also participates in intestinal innate immunity.²³ Circulating zonulin in serum is considered as a useful marker of intestinal barrier integrity and is measured using ELISA.²⁴ In humans, it has been validated using lactulose/mannitol tests, being serum zonulin strongly correlated with the lactulose/mannitol ratio.²⁵

Despite the test's immense potential, application in clinical research remains limited due to variations in the methodologies such as study population, sugar solution formulation and administration, urine collection time, assay method and sensitivity.²⁶ These variations restrict the clinical sensibility and accuracy of the diagnostic tests of intestinal permeability, for example, the relationship between intestinal barrier function, integrity and inflammatory outcomes in diseases such as obesity and metabolic syndrome.

Animal models have shown that communication between the gut–adipose tissue and the gut–brain is essential for maintaining energy balance, and this communication is impaired during obesity and type 2 diabetes.²⁷

In this context, metabolic endotoxemia, characterised by an increase in lipopolysaccharides in plasma, was identified as one of the main factors that leads to the development of metabolic inflammation and insulin resistance. Increasing evidence supports that the intestinal microflora is responsible for the development of a low-grade inflammation that generates dysfunctions in the intestinal barrier, increases its permeability and allows a consequent endotoxemia.²⁸

Although these findings are well delineated for animal models, few studies in humans have been performed.²⁹ A study compared two groups of women with and without obesity, assessing intestinal permeability by urinary lactulose/mannitol ratio. Although both sugars' urinary excretions were higher in women with obesity, a statistically significant difference in the lactulose/mannitol ratio was not found between the studied groups. Nevertheless, a higher lactulose/mannitol ratio was associated with higher homeostatic model assessment, insulin and low-density lipoprotein/high-density lipoprotein (HDL) concentrations, and lower HDL concentrations.³⁰ Thus, the intestinal barrier function might be associated with obesity and metabolic syndrome.

This study aims to describe a systematic review protocol investigating if obesity with or without metabolic syndrome is associated with an altered intestinal barrier function. In addition, the systematic review will evaluate methodologies used in the studies regarding intestinal barrier function biomarkers and assay methods. This review protocol will address if obesity or obesity associated with metabolic syndrome alters intestinal barrier function and integrity.

METHODS

Patient and public involvement

No patients involved.

Protocol and registration

This protocol has been prepared according to the guidelines described in Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses Protocols (PRISMA-P).³¹ A 27-item checklist was used to improve the quality of the systematic review data. The protocol was registered with the International Prospective Register of Systematic Reviews on 10 July 2020 and is available at: https://www.crd.york.ac.uk/prospero/display_record.php?ID=CRD42020178658.

Eligibility criteria

Observational studies, published in scientific journals, will be included in the review. The guiding question in order to ensure the systematic search of available literature is: 'Is there alteration of intestinal barrier function in individuals with obesity with or without metabolic syndrome?' Thus, studies that have addressed as population individuals with obesity with or without metabolic syndrome assessing intestinal permeability as a variable will be included in the systematic review.

Inclusion criteria

The review will include original articles studying adults and the elderly with obesity with or without metabolic syndrome (according to modified National Cholesterol Education Program criteria is the presence of three or more of the following components: (1) waist circumference more than 90 cm in men or 80 cm in women; (2) triacylglycerols equal to or more than 150 mg/dL; (3) HDL cholesterol less than 40 mg/dL in men or 50 mg/dL in women; (4) blood pressure equal to or more than 130/85 mg Hg; and (5) fasting glucose between 100 and 125 mg/dL),³² studies regarding the intestinal barrier function in this population and studies evaluating the intestinal epithelial cells integrity from individuals with obesity with or without metabolic syndrome.

All diagnostic tests for intestinal barrier function will be considered for the systematic review (urinary measurement of orally administrated sugar probe molecules and assays that use zonulin as a marker for intestinal permeability).

Exclusion criteria

Review articles, case reports, comments, editorials, letters to the editor, theses, conference proceedings, studies with animals or cell models, studies with children, studies with adults and/or the elderly that have other metabolic diseases, and studies that did not evaluate the intestinal barrier function.

Information sources and literature search

The search will be elaborated and implemented according to the PRISMA-P checklist as guidance. Search strategies will be developed based on keywords indexed in the Medical Subject Headings to identify the studies to be included in the systematic review. The descriptors used will be related to intestinal barrier function, obesity and metabolic syndrome, such as anthropometric data, biochemical analysis, intestinal permeability and integrity methodologies and assays. These descriptors will be accompanied by Boolean operators 'AND' and 'OR'.

Two reviewers will independently conduct sensitive search for eligible studies through the electronic databases PubMed Database, Embase Database, Cochrane Library, Scopus, Web of Science and Science Direct. In order to reflect the latest data, a search of the literature from the last 15 years (2006–2021) will be performed. Articles will be imported into Mendeley Reference Manager (V.1.19.4) and duplicates will be deleted. Initial screening of studies will be based on the information in their title, keywords and abstracts, following the eligibility criteria. When the reviewers disagree, the article will be re-evaluated and, if the disagreement persists, a third reviewer will make a final decision. Full-paper screening will be conducted by the same independent investigators. The references of the included articles will also be reviewed to identify those potentially eligible studies not found in the database search, considered as manual search.

Data extraction

For data extraction, two independent Microsoft Excel spreadsheets will be elaborated for two reviewers to summarise the data from the included studies. The following information will be extracted and entered in the spreadsheet: first author; year and language of publication; the country where the study was conducted; characteristics of the population (metabolic syndrome presence, age, gender, health conditions, total sample size, chronic diseases); methods to evaluate the intestinal barrier function; effects of obesity with or without metabolic syndrome in the intestinal barrier function; description of results and conclusions that are relevant to the overview; key findings and reported limitations.

Methodological quality assessment

Assessment of methodological quality and risk of bias in the studies with case–control design will be performed using the adapted Newcastle–Ottawa Scale,³³ in which studies that receive at least five stars (maximum of eight) will be classified as good quality studies. Two independent reviewers will assess the methodological quality of eligible studies. These independent reviewers will score the selected studies, and a third reviewer will resolve any disagreement.

Data analysis and synthesis

The systematic review will describe the relevant information of the included studies. Key information on characteristics, methods, results and quality scores of included studies will be tabulated. Following this, a narrative synthesis will be conducted.

First, in the narrative review, the number of studies to be included in the synthesis will be reported and characteristics of each study will be described as well the location, kind and study population. Second, the narrative synthesis will report and discuss the methods used to evaluate the intestinal permeability and the relevant data. Also, the quality of the methods used will be discussed based on the related and observed study limitations. Finally, the observation of altered intestinal barrier function in obesity with or without metabolic syndrome will be explored and similarities and differences of findings will be reported.

The best-evidence synthesis will be guaranteed, and the risk of bias due to selective publication will be controlled by following the steps described above and assessing the quality of the evidence. The Grading of Recommendation, Assessment, Development and Evaluation (GRADE) framework will be used to assess the quality of evidence concerning the association between intestinal barrier function alteration in obesity with or without metabolic syndrome. GRADE ranks the evidence as high (when there is strong certainty that the association is close to the estimated); moderate (when there is moderate certainty in the estimated association); low (when certainty in association is limited); and very low (when certainty in the

association estimate is very limited owing to a significant degree of uncertainty in the findings).³⁴

DISCUSSION

Obesity has become a global epidemic and is a substantial threat to patients and healthcare systems because of related morbidity and costs.³⁵ Metabolic and cardiovascular complications are a major obesity-associated burden, with critical roles for insulin resistance, type 2 diabetes and atherosclerosis.³⁶ Given the increasing prevalence of obesity worldwide, it is necessary to identify individuals with or without metabolic syndrome as a clinical priority.

Evidence has proposed the potential role of the gut microbiota as a pathogenic factor affecting host metabolic balance and disorders.¹ Gut microbiota seems to exert a great variety of functional properties impacting human physiology and pathology: modulation of host nutrition and energy harvest by the production of vitamins and fermentation of food components indigestible by the host; influence on intestinal epithelial homeostasis; intestinal barrier function; development of host immune system; protection against pathogens and drug metabolism.⁷

Animal models and some human studies are accumulating to support alterations of the intestinal barrier function in a vast array of conditions, which include obesity and metabolic syndrome.³⁷ Given the importance of the intestinal barrier function and integrity, understanding what can disrupt it and cause the loss of function and integrity is necessary. Even though no final conclusions exist, it is more evident that besides nutrients acting as downregulators of TJs or as histone deacetylase inhibitors, also viral infections, toxins, hypoperfusion of the gut play a role.^{38,39} Lifestyle factors such as living place, physical activity, dietary patterns and drug usage seem to play an important role as well, and they offer new approaches for improving gut barrier function.³⁹

In this perspective, this systematic review will address studies that evaluated individuals with obesity with or without metabolic syndrome, focusing on the analysis of their intestinal barrier function. This review will also generate evidence for the use of different tests for the diagnosis of in vivo intestinal barrier function and integrity.

Acknowledgements The authors thank the Postgraduation Program in Medical Sciences of Federal University of Ceará and Postgraduation Program in Nutrition of Federal University of Rio Grande do Norte.

Contributors MDB, CHMT, SCVCL and BLLM conceived the idea, planned and designed the study protocol. MDB and CHMT wrote the first draft. SCVCL and BLLM planned the data extraction and statistical analysis. AAML and BLLM provided critical insights. All authors have approved and contributed to the final written manuscript

Funding This research was funded by the National Council for Scientific and Technological Development (award number: 406353/2018-2 CNPq).

Competing interests None declared.

Patient and public involvement Patients and/or the public were not involved in the design, or conduct, or reporting, or dissemination plans of this research.

Patient consent for publication Not required.

Provenance and peer review Not commissioned; externally peer reviewed.

Open access This is an open access article distributed in accordance with the Creative Commons Attribution Non Commercial (CC BY-NC 4.0) license, which permits others to distribute, remix, adapt, build upon this work non-commercially, and license their derivative works on different terms, provided the original work is properly cited, appropriate credit is given, any changes made indicated, and the use is non-commercial. See: <http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>.

ORCID ID

Mariana Duarte Bona <http://orcid.org/0000-0002-5856-2175>

REFERENCES

- Liu R, Hong J, Xu X. Gut microbiome and serum metabolome alterations in obesity and after weight-loss intervention. *Nature Medicine* 2017;7:859–68.
- Candi E, Tesaro M, Cardillo C, et al. Metabolic profiling of visceral adipose tissue from obese subjects with or without metabolic syndrome. *Biochem J* 2018;475:1019–35.
- Khoshbin K, Camilleri M. Effects of dietary components on intestinal permeability in health and disease. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2020;319:G589–608.
- Ridaura VK, Faith JJ, Rey FE, et al. Gut microbiota from twins discordant for obesity modulate metabolism in mice. *Science* 2013;341:1241214–22.
- Cox AJ, West NP, Obesity CAW. Inflammation, and the gut microbiota. *The Lancet* 2015;3:207–15.
- Cani PD, Possemiers S, Van de Wiele T, et al. Changes in gut microbiota control inflammation in obese mice through a mechanism involving GLP-2-driven improvement of gut permeability. *Gut* 2009;58:1091–103.
- Tran CD, Grice DM, Wade B, et al. Gut permeability, its interaction with gut microflora and effects on metabolic health are mediated by the lymphatics system, liver and bile acid. *Future Microbiol* 2015;10:1339–53.
- Scaldaferri F, Pizzoferrato M, Gerardi V. The gut barrier: new acquisitions and therapeutic approaches. *Journal of Clinical Gastroenterology* 2012;46:S12–17.
- Brandtzaeg P. The gut as communicator between environment and host: immunological consequences. *Eur J Pharmacol* 2011;668:S16–32.
- König J, Wells J, Cani PD, et al. Human intestinal barrier function in health and disease. *Clin Transl Gastroenterol* 2016;7:e196–13.
- Leech B, McIntyre E, Steel A, et al. Risk factors associated with intestinal permeability in an adult population: a systematic review. *Int J Clin Pract* 2019;73:1–26.
- Sánchez de Medina F, Romero-Calvo I, Mascaraque C, et al. Intestinal inflammation and mucosal barrier function. *Inflamm Bowel Dis* 2014;20:2394–404.
- Kosek M, Guerrant RL, Kang G, et al. Assessment of environmental enteropathy in the MAL-ED cohort study: theoretical and analytic framework. *Clin Infect Dis* 2014;59:S239–47.
- Kosek MN, Lee GO, Guerrant RL, et al. Age and sex normalization of intestinal permeability measures for the improved assessment of enteropathy in infancy and early childhood: results from the MAL-ED study. *JPGN* 2017;65:31–9.
- Richard SA, McCormick BJJ, Murray-Kolb LE, et al. Enteric dysfunction and other factors associated with attained size at 5 years: MAL-ED birth cohort study findings. *Am J Clin Nutr* 2019;110:131–8.
- Bischoff SC, Barbara G, Buurman W, et al. Intestinal permeability – a new target for disease prevention and therapy. *BMC Gastroenterol* 2014;14:1–25.
- Galipeau HJ, Verdu EF. The complex task of measuring intestinal permeability in basic and clinical science. *Neurogastroenterol. Motil.* 2016;28:957–65.
- Ordiz MI, Davitt C, Stephenson K, et al. EB 2017 Article: Interpretation of the lactulose:mannitol test in rural Malawian children at risk for perturbations in intestinal permeability. *Exp Biol Med* 2018;243:677–83.
- Vojdani A. For the assessment of intestinal permeability, size matters. *Altern Ther Health Med* 2013;19:12–24.
- Camilleri M, Lyle BJ, Madsen KL, et al. Role for diet in normal gut barrier function: developing guidance within the framework of food-labeling regulations. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2019;317:G17–39.

- 21 Farhadi Aet al. Gas chromatographic method for detection of urinary sucralose: application to the assessment of intestinal permeability. *J. Chromatogr B* 2003;84:45–54.
- 22 Wilbrink J, Bernards N, Mujagic Z, et al. Intestinal barrier function in morbid obesity: results of a prospective study on the effect of sleeve gastrectomy. *Int J Obes* 2020;44:368–76.
- 23 Fasano A. Zonulin and its regulation of intestinal barrier function: the biological door to inflammation, autoimmunity, and cancer. *Physiol Rev* 2011;91:151–75.
- 24 Tripathi A, Lammers KM, Goldblum S, et al. Identification of human zonulin, a physiological modulator of tight junctions, as prehaptoglobin-2. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009;106:16799–804.
- 25 Sapone A, de Magistris L, Pietzak M, et al. Zonulin upregulation is associated with increased gut permeability in subjects with type 1 diabetes and their relatives. *Diabetes* 2006;55:1443–9.
- 26 Lee GO, McCormick BJJ, Seidman JC, et al. Infant nutritional status, feeding practices, enteropathogen exposure, socioeconomic status, and illness are associated with gut barrier function as assessed by the lactulose mannitol test in the MAL-ED birth cohort. *Am J Trop Med Hyg* 2017;97:281–90.
- 27 Geurts L, Neyrinck AM, Delzenne NM, et al. Gut microbiota controls adipose tissue expansion, gut barrier and glucose metabolism: novel insights into molecular targets and interventions using prebiotics. *Benef Microbes* 2014;5:3–17.
- 28 Cani PD, Osto M, Geurts L, et al. Involvement of gut microbiota in the development of low-grade inflammation and type 2 diabetes associated with obesity. *Gut Microbes* 2012;3:279–88.
- 29 Portune KJ. Gut microbiota, diet and obesity-related disorders: the good, the bad and the future challenges. *Mol Nutr Food Res* 2016;61:1–38.
- 30 Teixeira TFS, Collado MC, Ferreira CLLF, et al. Potential mechanisms for the emerging link between obesity and increased intestinal permeability. *Nutrition Research* 2012;32:637–47.
- 31 Moher D, Liberati A, Tetzlaff J, et al. Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: the PRISMA statement. *PLoS Med* 2009;6:e1000097–6.
- 32 Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults . Executive summary of the third report of the National cholesterol education program (NCEP) expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (adult treatment panel III). *JAMA* 2001;285:2486–97.
- 33 The Newcastle-Ottawa quality assessment scale. Available: http://www.ohri.ca/programs/clinical_epidemiology/nosgen.pdf [Accessed on 01 Mar 2021].
- 34 Guyatt GH, Oxman AD, Vist GE, et al. Grade: an emerging consensus on rating quality of evidence and strength of recommendations. *BMJ* 2008;336:924–6.
- 35 Biüher M. Obesity: global epidemiology and pathogenesis. *Nat Rev Endocrinol* 2019;15:288–98.
- 36 LT W, Shen YF, Hu L. Prevalence and associated factors of metabolic syndrome in adults: a population-based epidemiological survey in Jiangi Province, China. *BMC Public Health* 2020;20:1–10.
- 37 Brignardello J, Morales P, Diaz E, et al. Pilot study: alterations of intestinal microbiota in obese humans are not associated with colonic inflammation or disturbances of barrier function. *Aliment Pharmacol Ther* 2010;32:1307–14.
- 38 Groschwitz KR, Hogan SP. Intestinal barrier function: molecular regulation and disease pathogenesis. *J Allergy Clin Immunol* 2009;124:3–20.
- 39 Bischoff SC. 'Gut health': a new objective in medicine? *BMC Med* 2011;9:1–14.

**ANEXO B – ARTIGO PUBLICADO: INTESTINAL BARRIER
PERMEABILITY IN OBESE INDIVIDUALS WITH OR WITHOUT
METABOLIC SYNDROME: A SYSTEMATIC REVIEW**

Systematic Review

Intestinal Barrier Permeability in Obese Individuals with or without Metabolic Syndrome: A Systematic Review

Mariana Duarte Bona ^{1,2} , Carlos Henrique de Medeiros Torres ³, Severina Carla Vieira Cunha Lima ^{3,4}, Ana Heloneida de Araújo Morais ^{3,4,5}, Aldo Ângelo Moreira Lima ^{1,2} and Bruna Leal Lima Maciel ^{3,4,*} 

¹ Institute of Biomedicine, Department of Medicine, Federal University of Ceara, Fortaleza 60430-270, Brazil

² Postgraduate Medical Sciences Program, Department of Medicine, Federal University of Ceara, Fortaleza 60430-270, Brazil

³ Department of Nutrition, Center for Health Science, Federal University of Rio Grande do Norte, Natal 59078-970, Brazil

⁴ Postgraduate Nutrition Program, Center for Health Science, Federal University of Rio Grande do Norte, Natal 59078-970, Brazil

⁵ Postgraduate Biochemistry and Biology Molecular Program, Bioscience Center, Federal University of Rio Grande do Norte, Natal 59078-970, Brazil

* Correspondence: bruna.maciell@ufrn.br; Tel.: +55-84-99188-9594



Citation: Bona, M.D.; Torres, C.H.d.M.; Lima, S.C.V.C.; Morais, A.H.d.A.; Lima, A.Â.M.; Maciel, B.L.L. Intestinal Barrier Permeability in Obese Individuals with or without Metabolic Syndrome: A Systematic Review. *Nutrients* **2022**, *14*, 3649. <https://doi.org/10.3390/nu14173649>

Academic Editors: Ben Witteman and Max Petrov

Received: 28 July 2022

Accepted: 1 September 2022

Published: 3 September 2022

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2022 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Abstract: Altered intestinal barrier permeability has been associated with obesity and its metabolic and inflammatory complications in animal models. The purpose of this systematic review is to assess the evidence regarding the association between obesity with or without Metabolic Syndrome (MetS) and alteration of the intestinal barrier permeability in humans. A systematic search of the studies published up until April 2022 in Latin America & Caribbean Health Sciences Literature (LILACS), PubMed, Scopus, Embase, and ScienceDirect databases was conducted. The methodological quality of the studies was assessed using the Newcastle–Ottawa scale (NOS) and the Agency for Healthcare Research and Quality (AHRQ) checklist. The Grading of Recommendations Assessment, Development and Evaluation (GRADE) framework was used to assess the quality of the evidence. Eight studies were included and classified as moderate to high quality. Alteration of intestinal barrier permeability was evaluated by zonulin, lactulose/mannitol, sucralose, sucrose, lactulose/L-rhamnose, and sucralose/erythritol. Impaired intestinal barrier permeability measured by serum and plasma zonulin concentration was positively associated with obesity with MetS. Nonetheless, the GRADE assessment indicated a very low to low level of evidence for the outcomes. Thus, clear evidence about the relationship between alteration of human intestinal barrier permeability, obesity, and MetS was not found.

Keywords: intestinal barrier permeability; markers; obesity; metabolic syndrome

1. Introduction

The obesity pandemic is a severe health problem because of related morbidity and costs [1]. Metabolic and cardiovascular complications are a major obesity-associated burden, especially for type-2 diabetes mellitus, metabolic syndrome, (MetS) and, in the long-term, cardiovascular diseases [2].

MetS includes the coexistence of physiological, biochemical, clinical, and metabolic factors associated with an increased risk of cardiovascular diseases [3]. It is characterized by the presence of three of five risk factors (high waist circumference, elevated plasma glucose, raised plasma triglycerides, reduced plasma high-density lipoprotein (HDL) cholesterol, and increased blood pressure), according to the National Cholesterol Education Program's Adult Treatment Panel III (NCEP: ATP III) [4]. Studies have shown that obesity and MetS may be associated with changes in intestinal microbiota composition (dysbiosis), and this

could induce impairment in intestinal barrier function, leading to a major impact on both immunological and metabolic functions in the host [5–9].

The integrity of intestinal barrier function is the result of ongoing equilibrium and crosstalk involving the gut microbiota, mucus, enterocytes, gut immune system, and gut-vascular barrier, allowing the permeability of essential ions, nutrients, and water but restricting the entry of toxins and potentially pathogenic bacteria [10]. In experimental animal models of obesity, significant alterations in the intestinal barrier function occur, leading to increased intestinal permeability and favoring translocation of microbiota-derived lipopolysaccharide (LPS) to the bloodstream [11–13]. This results in a two- to threefold increase in LPS serum concentration in response to non-infectious stimuli, which is defined as metabolic endotoxemia [14]. Endotoxemia may trigger toll-like receptors (TLR) into 4-mediated inflammatory activation, eliciting a chronic low-grade proinflammatory and prooxidative stress status associated with obesity and MetS [15,16].

Clinical studies have observed a decrease in intestinal barrier permeability (IBP) after treatments for weight reduction in patients with obesity [17–19]. Another study has also demonstrated an increase in the IBP of individuals with type-2 diabetes mellitus, which was implicated in an important contribution to MetS [20].

The IBP can be measured by quantification of the passage of nondigestible markers which pass across the epithelial cell layer either between the epithelial cells (paracellular route) or through the cell membranes (transcellular route) [21,22]. These methods aim to analyze the flow of molecules from the intestinal lumen to the extraintestinal space, such as blood, specific organs, or urine, to evaluate intestinal barrier function integrity [23].

Sugar probes are the most common molecules used to test IBP and are ingested orally and dosed in urine after some time [24]. Among these probes, the most frequently used are lactulose and mannitol, which are passively absorbed from the gut without considerable metabolism and are unalterably excreted in the urine, directly correlating to their absorbed amount from the intestine [22]. Thus, an elevated lactulose/mannitol ratio suggests intestinal barrier dysfunction [25]. Other orally administered sugar probes used to evaluate the IBP are sucralose, sucrose, and rhamnose [26]. Sucralose is a sugar which is poorly absorbed in the human intestine and poorly degraded by the colonic microbiota as lactulose and mannitol; for this reason, it is useful in assessing colonic permeability [27]. Sucrose tests the gastroduodenal permeation [28], and rhamnose is used as a marker for small-bowel permeability [26]. In some studies, all these sugar probes are used simultaneously in order to appraise pan-gastrointestinal permeability [28].

As another IBP marker, zonulin is a protein involved in the modulation of intracellular tight junctions (TJ) and is implicated in the regulation of small intestine permeability by inducing the opening of TJ between epithelial cells [29]. In humans, high serum concentrations of zonulin were validated and correlated with increased IBP measured with ELISA [30].

These *in vivo* tests have immense potential in clinical research, as they provide a non-invasive real-life setting where the intestinal barrier function can be analyzed as a relevant factor in health and disease [31]. On the other hand, these tests are time-consuming, and several confounding factors can compromise the interpretation of results [32]. Individual differences in motility, intestinal cell surface, epithelial cell integrity, renal function, bacterial degradation, gastric dilution, and diet can influence *in vivo* intestinal permeability interpretations [33]. Moreover, variations in the methodologies, such as sugar solution concentration, urine collection period, assay method, and sensitivity can result in variations leading to missing standardized protocols [21]. Studies have suggested that assay duration, fasting periods, and consistency in the probes used could help reduce variations [34,35], reducing some *in vivo* confounding factors [36].

Although the association between impaired IBP and obesity and its metabolic disorders are well described for animal experimental models [5–9], studies in humans are still scarce. Evidence in humans of an association between altered IBP, obesity, and MetS could lead to

treatments that correct the IBP, decreasing the cardiovascular risk factors associated with obesity and MetS [37,38].

Given the considerable clinical implications of altered IBP, obesity, and MetS, this study conducted a systematic review that aimed to investigate the presence of an association between obesity with or without MetS and altered IBP in humans. In addition, the systematic review evaluated assays and markers used in the studies regarding IBP methodologies.

2. Materials and Methods

2.1. Protocol Registration

The systematic review protocol was registered in the International Prospective Register of Systematic Reviews (PROSPERO) on 10 July 2020 (CRD42020178658) and is available at https://www.crd.york.ac.uk/prospero/display_record.php?ID=CRD42020178658. (accessed on 20 July 2022). The drafting of this manuscript, including the flow diagram used in the search strategy, adhered to the PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analysis) guideline (Table S1) [39]. The writing of the manuscript was based on the systematic review protocol published by Bona et al. [40], and the guiding question for the systematic search was: “Is there alteration of intestinal barrier permeability in individuals with obesity with or without metabolic syndrome?”.

2.2. Inclusion and Exclusion Criteria

This systematic review included observational studies published without language restriction in scientific journals that met the eligibility criteria [40] used to evaluate IBP in adults and/or elderlies with obesity with or without MetS diagnosis.

Review researches, systematic reviews, case reports, books, conference proceedings, short communications, editorials, clinical trials, randomized studies, letters to the editor, theses, dissertations, studies with animal models, studies with children or teenagers (which assessed IBP mainly in the context of infections and undernutrition), and studies that evaluated IBP in adults and/or elderlies with obesity and/or with other diseases such as hepatic or celiac diseases (because they could significantly impact the degree of inflammation) were excluded.

2.3. Search Strategy

A comprehensive virtual search of the literature from the last 15 years (2007–2022) was performed using the PubMed, LILACS, Scopus, EMBASE, and ScienceDirect databases. The search strategy is presented in Supplement File S1 using keywords indexed in the Medical Subject Heading (MeSH) as a search strategy with high sensitivity. Articles were transmitted to the Mendeley Reference Manager (V.1.19.4), and duplicates were detected and deleted. Following the eligibility criteria, two authors (MB and CT) performed the initial screening of studies based on the information contained in their titles and abstracts, and subsequently a full-paper screening was conducted by the same independent investigators. Where the reviewers disagreed, a third reviewer made a final decision (BM). A screening of the references of the included articles was also performed to identify potentially eligible studies not found in the original database search.

2.4. Data Extraction

After choosing the studies to be included in the review, two reviewers elaborated independent Microsoft Excel spreadsheets with the data from these articles. The following information was extracted and summarized in the spreadsheet: study characteristics (title, authorship, year and language of publication, site where the study was conducted, and study design); population characteristics (health status, sample size, age, and gender of the participants); methods to evaluate intestinal permeability; description of the results; relevant conclusions; and reported limitations.

2.5. Methodological Quality

The methodological quality assessment and risk of bias was carried out by two independent trained reviewers (MB and CT) using the Newcastle–Ottawa scale (NOS) for case-control studies and the Agency for Healthcare Research and Quality (AHRQ) checklist for cross-sectional studies. A third reviewer resolved any disagreement (BM).

The NOS includes eight questions analyzing the studies in terms of selection of participants, comparability between the subjects, and verification of exposure. The questions are scored with “one” or “no stars,” and the sum of these stars classifies the article [41]. The AHRQ consists of eleven items with the options “Yes,” “No,” or “Unclear.” A score “0” is attributed to items evaluated with “No” or “Unclear,” and a score “1” for those evaluated with “Yes” [41]. To better present and unify the results, the scores evaluated by the NOS and the AHRQ were converted into three quality categories: 0–3 (low quality); 4–7 (moderate quality); and 8–11 (high quality), as proposed by Cabral et al. [42].

2.6. Best-Evidence Synthesis

The best-evidence synthesis was guaranteed and the risk of bias due to selective publication was controlled by a narrative synthesis, according to the review protocol [40] and assessment of the quality of evidence. The Grading of Recommendation, Assessment, Development, and Evaluation (GRADE) framework was used to assess the level of evidence regarding the association evaluated in this systematic review. GRADE ranks the evidence as high (when there is high certainty that the association is very unlikely to change); moderate (when there is moderate certainty that the association may not change); low (when there is limited certainty that the association may not change); and very low (when certainty in the association estimated is very limited, leading any finding to be uncertain) [43].

3. Results

3.1. Search Selection

The virtual search of the PubMed, LILACS, Scopus, EMBASE, and ScienceDirect databases, encompassing the full electronic search strategies (Supplement File S1), retrieved 21,752 records, along with four additional records identified through a manual search. After the exclusion of duplicates, 5876 records had their titles and abstracts screened, and 5802 were excluded due to not contemplating the eligibility criteria. Of the 75 articles selected for full-text assessment, 67 were excluded because they evaluated obesity with other metabolic disorders such as Nonalcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD), celiac disease, and inflammatory bowel disease ($n = 15$); evaluated IBP due to the modulation of gut microbiota using prebiotics and probiotics ($n = 9$); evaluated IBP due to surgical intervention ($n = 6$); evaluated only intestinal microbiota but not IBP ($n = 22$); described the study design incorrectly ($n = 10$); or because the full text was not available despite an attempt being made to contact the corresponding author ($n = 5$). Therefore, 08 articles were included in the review. The flow diagram of the screening process is presented in Figure S1.

3.2. Studies and Population Characteristics

The characteristics of the included studies are presented in Table 1. The prevalent study design was the case-control (75%), and all the studies were published in English. Sample sizes varied from 24 [44] to 123 [45], and the majority were conducted in Europe, followed by South America. The age of participants ranged from 18 [44] to 75 [46], and female was the gender most prevalent.

Table 1. Characteristics of the studies included in this systematic review.

Study Design	Authors (Year)	Country	Sample Size	Gender Groups
Case-control	Brignardello et al. [44]	Chile	24	Male and female
	Moreno-Navarrete et al. [45]	Italy	123	Male
	Teixeira et al. [47]	Brazil	40	Female
	Verdam et al. [48]	The Netherlands	28	Male and female
	Zak-Golab et al. [49]	Poland	80	Male and female
	Di Palo et al. [46]	Italy	120	Male and female
Cross-sectional	Mokkala et al. [50]	Finland	100	Female
	Morkl et al. [51]	Austria	102	Female

3.3. Assessment of Intestinal Barrier Permeability

Regarding the evaluation of IBP in the studies, Table 2 presents the IBP markers used in each study, the results of the studies, and the scores (quality categories). Zonulin was the most frequently used marker, followed by lactulose/mannitol, sucralose, sucrose, lactulose/L-rhamnose, and sucralose/erythritol.

Table 2. Results of intestinal barrier permeability (IBP) evaluation and critical appraisal.

First Author (Year)	Studied Groups	IBP Markers	Samples	Results	Scores (Quality Categories)
Brignardello et al. [44]	11 lean and 13 obese	Lactulose/Mannitol Sucralose	Urine collected over a period of 5 h	There was no difference to both markers between the groups	8 (High)
Moreno-Navarrete et al. [45]	90 lean and 33 obese	Zonulin	Serum	Zonulin increased significantly in obese	6 (Moderate)
Teixeira et al. [47]	20 lean and 20 obese	Lactulose/Mannitol	Urine collected over a period of 5 h	Lactulose/mannitol was no significantly different between the groups, only lactulose individual excretion was significantly higher in the obese groups.	8 (High)
Verdam et al. [48]	13 lean and 15 obese	Sucrose Sucralose/Erythritol Lactulose/L-rhamnose	Urine collected over a period of 1 and 5 h	There was no difference between the groups	7 (Moderate)
Zak-Golab et al. [49]	30 lean and 50 obese	Zonulin	Plasma	Zonulin was significantly higher in obese	6 (Moderate)
Di Palo et al. [46]	45 lean, 30 overweight and 45 obese	Lactulose/Mannitol Sucralose Sucrose	Urine collected over a period of 6 h	Lactulose/mannitol and sucrose showed no difference between the groups. Sucralose increased significantly in obese	8 (High)
Mokkala et al. [50]	52 overweight and 48 obese	Zonulin	Serum	Higher serum zonulin were associated with subjects with obesity and MetS	8 (High)
Morkl et al. [51]	45 lean, 17 individuals with anorexia nervosa, 21 overweight and 19 obese	Zonulin	Serum	Higher serum zonulin were correlated with obesities with higher BMI	9 (High)

Lactulose/mannitol (L/M) was measured in urine samples after a collection period of 5 h using a gas chromatograph [44,47] and 6 h using urinary plasma chromatography/mass

spectrometry [46]. In this last study, the participants fasted during the collecting period, but in the other studies the participants were allowed to eat after the solution ingestion. In all three studies, this marker showed no alterations between the groups. In only one study [47], the individual excretion of mannitol tended to be higher ($p = 0.06$). Individual excretion of lactulose was significantly higher in subjects with obesity ($p = 0.04$), and the lactulose/mannitol ratio was higher in subjects with obesity, but not statistically significant (0.0180 ± 0.008 vs. 0.0144 ± 0.006 , $p = 0.13$). Also, in this study, subjects that showed L/M values above the median had lower HDL-cholesterol levels ($p = 0.03$), higher values of TC/HDL ratio ($p = 0.02$) and LDL/HDL ratio ($p = 0.02$), higher fasting insulin ($p = 0.02$), and a higher HOMA index ($p = 0.01$). This indicated an association between L/M ratio and variables related to metabolic risk factors.

Zonulin was measured in serum [45,50,51] and in plasma [49] using a competitive ELISA kit (Immundiagnostik AG, Bensheim, Germany), and the assay sensitivity was <0.01 ng/mL in these studies. In the study by Zak-Golab et al. [49], plasma zonulin level was correlated positively with body mass ($R = 0.30$, $p < 0.01$), BMI ($R = 0.33$, $p < 0.01$) and fat mass and percentage ($R = 0.31$, $p < 0.01$ and $R = 0.23$, $p < 0.05$, respectively). Also, the zonulin level was proportional to the daily energy intake (which was associated with obesity) and inversely proportional to the protein percentage dietary intake (which was associated with normal weight). Morkl et al. [51] observed a positive correlation between higher zonulin serum concentrations and BMI ($R = 0.235$, $p = 0.017$), total fat mass (%) measured with BIA ($R = 0.205$, $p = 0.039$), and waist and hip circumference ($R = 0.263$, $p = 0.007$ and $R = 0.231$, $p = 0.202$, respectively). In the study by Moreno-Navarrete et al. [45], circulating zonulin significantly increased in obese versus nonobese subjects ($p = 0.007$) and in subjects with glucose intolerance ($p = 0.03$). Circulating zonulin increased with BMI ($p = 0.002$), waist-to-hip ratio (WHR) ($p = 0.025$), fasting insulin ($p < 0.001$), fasting triglycerides ($p = 0.02$), and uric acid ($p = 0.025$), and was negatively associated with HDL-cholesterol ($p = 0.02$) and insulin sensitivity ($p = 0.002$). Finally, in the study by Morkala et al. [50], a linear positive relationship was observed between higher zonulin concentration serum detected in women with obesity and elevated concentration of inflammatory markers (hs-CRP and GlycA), fasting insulin, HOMA2-IR, fasting triglycerides, and total and LDL-cholesterol; moreover, a negative correlation with insulin sensitivity was observed.

All other saccharides were measured in urine samples. In two studies [44,46], sucralose was administered and analyzed simultaneously with other saccharides. In one these studies [46], its recovery showed differences between the groups, which tended to increase in overweight subjects and increased significantly in obese as compared to nonobese subjects ($p = 0.014$). Sucrose was also administered simultaneously with other saccharides and analyzed in urine after a collection period of 1 h [48] and after a collection period of 6 h [46]. Neither study showed any difference in sucrose recovery between the groups. Lactulose/L-rhamnose and sucralose/erythritol recovery also did not show any difference between the groups from the single study that evaluated these IBP markers [48].

3.4. Quality Assessment and Risk of Bias

Regarding the criteria for the classification of methodological quality, the studies included in this systematic review were classified as moderate to high quality, with the majority (62.5%) representing high methodological quality (Table 2).

3.5. Association between Intestinal Barrier Permeability and Obesity

The summary of the association between obesity and intestinal barrier permeability for each IBP marker is presented in Table 3. The summary of the evidence demonstrated very low quality based on the GRADE framework for almost all of the outcomes with the exception of zonulin.

Table 3. Summary of evidence of the associations between obesity with or without MetS and intestinal barrier permeability (IBP) evaluated for each IBP marker.

Exposure	Outcomes	Number of Studies (Participants)	Quality of Evidence	Evidence Summary
Obesity with or without MetS	Alteration of IBP—lactulose/mannitol	3 (184)	⊕●●● Very low due to inconsistency of results and bias	No association
	Alteration of IBP—lactulose/L-rhamnose	1 (28)	⊕●●● Very low due to number of studies, sparse evidence and bias	No association
	Alteration of IBP—sucralose	2 (144)	⊕●●● Very low due to number of studies, inconsistency of result and bias	No association
	Alteration of IBP—sucrose	2 (148)	⊕●●● Very low due to number of studies, different design and bias	No association
	Alteration of IBP—zonulin	4 (405)	⊕⊕●● Low due to reporting bias	Positive association
	Alteration of IBP—sucralose/erythritol	1 (28)	⊕●●● Very low due to number of studies, and related limitations	No association

⊕●●●: very low grade; ⊕⊕●●: low grade; ⊕⊕⊕●: moderate grade; ⊕⊕⊕⊕: high grade.

Obesity was positively associated with alteration of IBP assessed by zonulin in four studies [45,49–51] with low quality of evidence due to reporting bias. Higher concentrations of zonulin were observed in subjects with obesity, which increased with body mass index (BMI), fat mass, and serum glucose in all the studies. Two studies [45,50] observed that subjects with an elevated zonulin concentration were positively associated with a higher concentration of many metabolic risk markers (triglycerides, fasting insulin, CRP, and LDL- and total cholesterol). Therefore, a positive association between alteration in IBP and obesity with MetS in the last two studies was observed, due to the correlation between zonulin and the raised metabolic and inflammatory markers concentration detected.

The alteration of the IBP assessed by the other markers was not associated with obesity. Three studies evaluated the alteration of the IBP using lactulose/mannitol (L/M) [44,46,47], and none observed any significant association or correlation with obesity. Nevertheless, in the study of Teixeira et al. [47], a higher L/M ratio was associated with elevated concentrations of metabolic markers in subjects with obesity. Thus, the L/M ratio could be associated with obesity with MetS.

IBP evaluated by sucralose was assessed in two studies [44,46], and only one [46] observed that abnormal colonic permeability was significantly associated with individuals with obesity. Sucrose, lactulose/L-rhamnose, and sucrose/erythritol excretion were analyzed, and there was no difference between individuals with or without obesity.

4. Discussion

Increased IBP was described in animal models of obesity in association with elevated endotoxemia and alterations in the glucose metabolism [11,12]. However, it remains unknown whether this also takes place in subjects with obesity, because studies measuring IBP in humans are scarce and their results inconsistent [52]. In the present systematic review, we investigated if obesity with or without MeS is associated with intestinal barrier function impairment. Moreover, the methodologies and markers measuring IBP were evidenced.

This review identified eight observational studies that matched the eligibility criteria. In three of these, the authors did not find alteration in IBP in obese subjects compared with nonobese subjects, and, in the others, there was an association between increased IBP markers and obesity. None of the studies evaluated obese subjects with MetS as a separate group. Nevertheless, three studies [45,47,50] reported increased IBP associated with elevated MetS variables such as HOMA index, waist circumference, and fasting triglycerides. Further studies evaluating the alteration of IBP in subjects with MetS as a separate group are necessary to establish if these previous results are consistent and if the IBP markers used are valid to evaluate this population.

Zonulin was analyzed in four studies [45,49–51], and a positive association between increased IBP, obesity, endotoxemia [49], immunoinflammatory markers [45,50,51], and lipid and glucose metabolism [45,50] was found. These studies used the same methodology with moderate-to-high quality assessment, differing only in the source of samples. However, the quality of the association evidence was low due to differences in the study design, to the results, to the low number of studies included, and to reporting bias. Moreno-Navarrete et al. [45] observed higher zonulin concentrations in the serum of individuals with impaired glucose tolerance. Therefore, they suggested that zonulin might help as a small intestine permeability marker for glucose intolerance and insulin resistance. These findings were not observed by Zak-Golab et al. [49], and this difference may be the result of the reported limitations of their study, namely, beyond sample size, the lower percentage of insulin-resistant individuals in the population of the study. Therefore, further studies are crucial to investigate the potential contribution of zonulin-associated loss of intestinal barrier function to obesity and associated glucose metabolism disturbance.

In the other four studies, the saccharides were detected simultaneously in urine samples collected for 5 h after solution ingestion, except for one study which took 6 h [46]. However, this collection time did not interfere with the results, and the methodologic quality assessment of the studies received a moderate [48] to high [46,47] rating. Lactulose/mannitol was analyzed in three studies [44,46,47]. A higher individual lactulose excretion in subjects with obesity was observed in only one study [47], indicating damage in the paracellular route, allowing a higher flux of molecules through the space between the enterocytes [22]. However, due to the low number of studies in the present systematic review and the inconsistency of the results, the summary of evidence is very low, and the IBP alteration measured by lactulose/mannitol needs additional studies with fewer limitations.

One study [46] observed that obesity was associated with colonic permeability measured by sucralose but without evidence of altered stomach and small-intestine permeability, and this was inconsistent with the results of the other two studies [44,48], which also analyzed sucralose excretion but did not observe any difference between the groups. Therefore, the quality of alteration of IBP measured by sucralose is also very low. Urinary recovery of the other saccharides was not associated with obesity or MetS (lactulose/L-rhamnose, sucrose, sucralose/erythritol).

Limitations of the present study include the fact that the review consisted of a heterogeneous mix of studies and thus no meta-analysis was conducted. This is because the statistical procedure for association studies requires the reporting of different items controlled for multivariable analysis, and the original studies' poor reporting lacked adequate data details [53]. Therefore, as a limitation, there was no assessment of quantitative data. The strengths of this systematic review are the methodological quality classification of the studies and the overall evaluation of the exposure evidence with each IBP marker measurement. To our knowledge, this systematic review is a pioneering study on this subject. Thus, based on the summary of evidence in this systematic review, there is not enough evidence to affirm that obesity with or without MetS in humans is associated with intestinal barrier impairment.

5. Conclusions

There is no definitive evidence on the association between obesity with or without MetS and increased IBP in humans, due to the small number of articles found and the low quality of the data. However, there was a positive association between alteration of IBP in individuals with obesity compared to those without obesity in studies using zonulin as an IBP marker. Moreover, an association between higher zonulin concentration and L/M ratio values with MetS variables was found in some studies. These results might indicate that subjects with obesity and MetS present impaired intestinal barrier function compared to subjects with obesity but without MetS. Therefore, further research with adequate design and minimum risk of bias must be performed for consistency of results and evidence.

Supplementary Materials: The following supporting information can be downloaded at: <https://www.mdpi.com/article/10.3390/nu14173649/s1>, Figure S1: Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses (PRISMA) flow diagram of the search strategy and screening of results; Table S1: PRISMA Checklist; File S1: Search strategy.

Author Contributions: Conceptualization, M.D.B. and B.L.L.M.; methodology, M.D.B., S.C.V.C.L. and B.L.L.M.; formal analysis, M.D.B., C.H.d.M.T., S.C.V.C.L., A.H.d.A.M., A.Â.M.L. and B.L.L.M.; data curation, M.D.B. and C.H.d.M.T.; writing—original draft preparation, M.D.B. and B.L.L.M.; writing—review and editing, M.D.B., C.H.d.M.T., S.C.V.C.L., A.H.d.A.M., A.Â.M.L. and B.L.L.M.; supervision, M.D.B. and B.L.L.M. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior—Brasil (CAPES)—Finance Code 001; and by Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico grant 26/2018 (406353/2018-2).

Institutional Review Board Statement: Not applicable.

Informed Consent Statement: Patient consent was not sought, as the data was derived from pre-published material.

Data Availability Statement: All the data from this study are available in the manuscript and in Supplementary Materials.

Acknowledgments: The authors thank the Postgraduate Program in Medical Science of the Federal University of Ceara and the Postgraduate Program in Nutrition of the Federal University of Rio Grande do Norte.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

1. Meldrum, D.R.; Morris, M.A.; Gambone, J.C. Obesity pandemic: Causes, consequences, and solutions—But do we have the will? *Fertil. Steril.* **2017**, *107*, 833–839. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
2. Winer, D.A.; Luck, H.; Tsai, S.; Winer, S. The intestinal immune system in obesity and insulin resistance. *Cell Metab.* **2016**, *23*, 413–426. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
3. Fahed, G.; Aoun, L.; Zerdan, M.B.; Allam, S.; Zerdan, M.B.; Bouferraa, Y.; Assi, H.I. Metabolic Syndrome: Updates on Pathophysiology and Management in 2021. *Int. J. Mol. Sci.* **2022**, *23*, 786. [[CrossRef](#)]
4. National Cholesterol Education Program (NCEP). Executive summary of the Third Report of the National Cholesterol Education Programme. *JAMA* **2001**, *285*, 2486–2497.
5. Martinez-Medina, M.; Denizot, J.; Dreux, N.; Robin, F.; Billard, E.; Bonnet, R.; Darfeuille-Michaud, A.; Barnich, N. Western diet induces dysbiosis with increased e coli in CEABAC10 mice, alters host barrier function favouring AIEC colonisation. *Gut* **2014**, *63*, 116–124. [[CrossRef](#)]
6. Morales, P.; Fujio, S.; Navarrete, P.; Ugalde, J.A.; Magne, F.; Carrasco-Pozo, C.; Tralma, K.; Quezada, M.; Hurtado, C.; Covarrubias, N.; et al. Impact of Dietary Lipids on Colonic Function and Microbiota: An Experimental Approach Involving Orlistat-Induced Fat Malabsorption in Human Volunteers. *Clin. Transl. Gastroenterol.* **2016**, *7*, e161. [[CrossRef](#)]
7. Ahmad, R.; Rah, B.; Bastola, D.; Dhawan, P.; Singh, A.B. Obesity-induces Organ and Tissue Specific Tight Junction Restructuring and Barrier Deregulation by Claudin Switching. *Sci. Rep.* **2017**, *7*, 5125. [[CrossRef](#)]
8. Shi, C.; Li, H.; Qu, X.; Huang, L.; Kong, C.; Qin, H.; Sun, Z.; Yan, X. High fat diet exacerbates intestinal barrier dysfunction and changes gut microbiota in intestinal-specific ACF7 knockout mice. *Biomed. Pharmacother.* **2019**, *110*, 537–545. [[CrossRef](#)]

9. Bahlouli, W.; Breton, J.; Lelouard, M.; L'Huillier, C.; Tirelle, P.; Salameh, E.; Amamou, A.; Atmani, K.; Goichon, A.; Bôle-Feysot, C.; et al. Stress-induced intestinal barrier dysfunction is exacerbated during diet-induced obesity. *J. Nutr. Biochem.* **2020**, *81*, 108382. [[CrossRef](#)]
10. Rescigno, M. The intestinal epithelial barrier in the control of homeostasis and immunity. *Trends Immunol.* **2011**, *32*, 256–264. [[CrossRef](#)]
11. Cani, P.D.; Amar, J.; Iglesias, M.A.; Poggi, M.; Knauf, C.; Bastelica, D.; Neyrinck, A.M.; Fava, F.; Tuohy, K.M.; Chabo, C.; et al. Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance. *Diabetes* **2007**, *56*, 1761–1772. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
12. Cani, P.D.; Bibiloni, R.; Knauf, C.; Neyrinck, A.M.; Delzenne, N.M. Changes in gut microbiota control metabolic diet-induced obesity and diabetes in mice. *Diabetes* **2008**, *57*, 1470–1481. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
13. Moreira, A.P.B.; Teixeira, T.F.S.; Ferreira, A.B.; Peluzio, M.C.G.; Alfenas, R.C.G. Influence of a high-fat diet on gut microbiota, intestinal permeability and metabolic endotoxaemia. *Br. J. Nutr.* **2012**, *108*, 801–809. [[CrossRef](#)]
14. Bellenger, J.; Bellenger, S.; Escoula, Q.; Bidu, C.; Narce, M. N-3 polyunsaturated fatty acids: An innovative strategy against obesity and related metabolic disorders, intestinal alteration and gut microbiota dysbiosis. *Biochimie* **2019**, *159*, 66–71. [[CrossRef](#)]
15. Laugerette, F.; Furet, J.P.; Debar, C.; Daira, P.; Loizon, E.; Gélouën, A.; Soulage, C.O.; Simonet, C.; Lefils-Lacourtablaise, J.; Bernoud-Hubac, N.; et al. Oil composition of high-fat diet affects metabolic inflammation differently in connection with endotoxin receptors in mice. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* **2012**, *302*, 374–386. [[CrossRef](#)]
16. Guo, S.; Al-Sadi, R.; Said, H.M.; Ma, T.Y. Lipopolysaccharide causes an increase in intestinal tight junction permeability in vitro and in vivo by inducing enterocyte membrane expression and localization of TLR-4 and CD14. *Am. J. Pathol.* **2013**, *182*, 375–387. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
17. Damms-Machado, A.; Louis, S.; Schnitzer, A.; Volynets, V.; Rings, A.; Basrai, M.; Bischoff, S.C. Gut permeability is related to body weight, fatty liver disease, and insulin resistance in obese individuals undergoing weight reduction. *Am. J. Clin. Nutr.* **2017**, *105*, 127–135. [[CrossRef](#)]
18. Xiao, S.; Fei, N.; Pang, X.; Shen, J.; Wang, L.; Zhang, B.; Zhang, M.; Zhang, X.; Zhang, C.; Li, M.; et al. A gut microbiota-targeted dietary intervention for amelioration of chronic inflammation underlying metabolic syndrome. *FEMS Microbiol. Ecol.* **2013**, *87*, 357–367. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
19. Ott, B.; Skurk, T.; Hastreiter, L.; Lagkouvardos, I.; Fischer, S.; Buttner, J.; Kellerer, T.; Clavel, T.; Rychlik, M.; Haller, D.; et al. Effect of caloric restriction on gut permeability, inflammation markers, and fecal microbiota in obese women. *Sci. Rep.* **2017**, *7*, 11955. [[CrossRef](#)]
20. Cox, A.J.; Zhang, P.; Bowden, D.W.; Devereaux, B.; Davoren, P.M.; Cripps, A.W.; West, N.P. Increased intestinal permeability as a risk factor for type 2 diabetes. *Diabetes Metab.* **2017**, *43*, 163–166. [[CrossRef](#)]
21. Galipeau, H.J.; Verdu, E.F. The complex task of measuring intestinal permeability in basic and clinical science. *Neurogastroenterol. Motil.* **2016**, *28*, 957–965. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
22. Schoultz, I.; Keita, Å.V. The Intestinal Barrier and Current Techniques for the Assessment of Gut Permeability. *Cells* **2020**, *9*, 1909. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
23. Wang, L.; Llorente, C.; Hartmann, P.; Yang, A.M.; Chen, P.; Schnabl, B. Methods to determine intestinal permeability and bacterial translocation during liver disease. *J. Immunol. Methods* **2015**, *421*, 44–53. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
24. Dastyk, M.; Dastyk, M.; Novotná, H.; Číhalová, J. Lactulose/mannitol test and specificity, sensitivity, and area under curve of intestinal permeability parameters in patients with liver cirrhosis and Crohn's disease. *Dig. Dis. Sci.* **2008**, *53*, 2789–2792. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
25. Leech, B.; McIntyre, E.; Steel, A.; Sibbritt, D. Risk factors associated with intestinal permeability in an adult population: A systematic review. *Int. J. Clin. Pract.* **2019**, *73*, e13385. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
26. Camilleri, M.; Lyle, B.J.; Madsen, K.L.; Sonnenburg, J.; Verbeke, K.; Wu, G.D. Role for diet in normal gut barrier function: Developing guidance within the framework of food-labeling regulations. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* **2019**, *317*, G17–G39. [[CrossRef](#)]
27. del Valle-Pinero, A.Y.; van Deventer, H.E.; Fourie, N.H.; Martino, A.C.; Patel, N.S.; Remaley, A.T.; Henderson, W.A. Gastrointestinal permeability in patients with irritable bowel syndrome assessed using a four probe permeability solution. *Clin. Chim. Acta* **2014**, *418*, 97–101. [[CrossRef](#)]
28. Khoshbin, K.; Camilleri, M. Effects of dietary components on intestinal permeability in health and disease. *Am. J. Physiol. Liver Physiol.* **2020**, *319*, G589–G608. [[CrossRef](#)]
29. Vanuytsel, T.; Vermeire, S.; Cleynen, I. The role of haptoglobin and its related protein, Zonulin, in Inflammatory Bowel Disease. *Tissue Barriers* **2013**, *1*, e27321. [[CrossRef](#)]
30. Sapone, A.; De Magistris, L.; Pietzak, M.; Clemente, M.G.; Tripathi, A.; Cucca, F.; Lampis, R.; Kryszak, D.; Carteni, M.; Gen-eroso, M.; et al. Zonulin upregulation is associated with increased gut permeability in subjects with type 1 diabetes and their relatives. *Diabetes* **2006**, *55*, 1443–1449. [[CrossRef](#)]
31. Bischoff, S.C.; Barbara, G.; Buurman, W.; Ockhuizen, T.; Schulzke, J.-D.; Serino, M.; Tilg, H.; Watson, A.; Wells, J.M. Intestinal permeability—A new target for disease prevention and therapy. *BMC Gastroenterol.* **2014**, *14*, 189. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

32. Lee, G.O.; McCormick, B.J.J.; Seidman, J.C.; Kosek, M.N.; Haque, R.; Olortegui, M.P.; Lima, A.A.M.; Bhutta, Z.A.; Kang, G.; Samie, A.; et al. Infant nutritional status, feeding practices, enteropathogen exposure, socioeconomic status, and illness are associated with gut barrier function as assessed by the lactulose mannitol test in the MAL-ED birth cohort. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **2017**, *97*, 281–290. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
33. Quigley, E.M.M. Leaky gut—concept or clinical entity? *Curr. Opin. Gastroenterol.* **2016**, *32*, 74–79. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
34. Sequeira, I.R.; Lentle, R.G.; Kruger, M.C.; Hurst, R.D. Standardising the lactulose mannitol test of gut permeability to minimise error and promote comparability. *PLoS ONE* **2014**, *9*, e99256. [[CrossRef](#)]
35. Sequeira, I.R.; Lentle, R.G.; Kruger, M.C.; Hurst, R.D. Differential trafficking of saccharidic probes following aspirin in clinical tests of intestinal permeability in young healthy women. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* **2014**, *41*, 107–117. [[CrossRef](#)]
36. Grover, M.; Camilleri, M.; Hines, J.; Burton, D.; Ryks, M.; Wadhwa, A.; Sundt, W.; Dyer, R.; Singh, R.J. C mannitol as novel biomarker for measurement of intestinal permeability. *Neurogastroenterol. Motil.* **2016**, *28*, 1114–1119. [[CrossRef](#)]
37. Lewis, C.V.; Robert Taylor, W. Intestinal barrier dysfunction as a therapeutic target for cardiovascular disease. *Am. J. Physiol.-Heart Circ. Physiol.* **2020**, *319*, H1227–H1233. [[CrossRef](#)]
38. Luo, Z.; Xu, W.; Zhang, Y.; Di, L.; Shan, J. A review of saponin intervention in metabolic syndrome suggests further study on intestinal microbiota. *Pharmacol. Res.* **2020**, *160*, 105088. [[CrossRef](#)]
39. Page, M.J.; McKenzie, J.E.; Bossuyt, P.M.; Boutron, I.; Hoffmann, T.C.; Mulrow, C.D.; Shamseer, L.; Tetzlaff, J.M.; Akl, E.A.; Brennan, S.E.; et al. The PRISMA 2020 statement: An updated guideline for reporting systematic reviews. *BMJ* **2021**, *372*, n71. [[CrossRef](#)]
40. Bona, M.D.; Torres, C.H.d.M.; Lima, S.C.V.C.; Lima, A.A.M.; Maciel, B.L.L. Intestinal barrier function in obesity with or without metabolic syndrome: A systematic review protocol. *BMJ Open* **2021**, *11*, e043959. [[CrossRef](#)]
41. Ma, L.L.; Wang, Y.Y.; Yang, Z.H.; Huang, D.; Weng, H.; Zeng, X.T. Methodological quality (risk of bias) assessment tools for primary and secondary medical studies: What are they and which is better? *Mil. Med. Res.* **2020**, *7*, 1–11. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
42. de Araújo Cabral, N.L.; Pequeno, N.P.; de Oliveira Silva, D.F.; Crispim, S.P.; Marchioni, D.M.; Lima, S.C.; de Oliveira Lyra, C. Anthropometric and dietary indicators applied in population-based surveys: A systematic review. *Res. Soc. Dev.* **2022**, *11*, 1–27.
43. Guyatt, G.H.; Oxman, A.D.; Vist, G.E.; Kunz, R.; Falck-Ytter, Y.; Alonso-Coello, P.; Schünemann, H.J. GRADE: An emerging consensus on rating quality of evidence and strength of recommendations. *Chin. J. Evid.-Based Med.* **2009**, *9*, 8–11. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
44. Brignardello, J.; Morales, P.; Diaz, E.; Romero, J.; Brunser, O.; Gotteland, M. Pilot study: Alterations of intestinal microbiota in obese humans are not associated with colonic inflammation or disturbances of barrier function. *Aliment. Pharmacol. Ther.* **2010**, *32*, 1307–1314. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
45. Moreno-Navarrete, J.M.; Sabater, M.; Ortega, F.; Ricart, W.; Fernández-Real, J.M. Circulating zonulin, a marker of intestinal permeability, is increased in association with obesity-associated insulin resistance. *PLoS ONE* **2012**, *7*, e37160.
46. Di Palo, D.M.; Garruti, G.; Di Ciaula, A.; Molina-Molina, E.; Shanmugam, H.; De Angelis, M.; Portincasa, P. Increased colonic permeability and lifestyles as contributing factors to obesity and liver steatosis. *Nutrients* **2020**, *12*, 564. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
47. Teixeira, T.F.S.; Souza, N.C.S.; Chiarello, P.G.; Franceschini, S.C.C.; Bressan, J.; Ferreira, C.L.L.F.; Peluzio, M.d.C.G. Intestinal permeability parameters in obese patients are correlated with metabolic syndrome risk factors. *Clin. Nutr.* **2012**, *31*, 735–740. [[CrossRef](#)]
48. Verdam, F.J.; Fuentes, S.; de Jonge, C.; Zoetendal, E.G.; Erbil, R.; Greve, J.W.; Buurman, W.A.; de Vos, W.M.; Rensen, S.S. Human intestinal microbiota composition is associated with local and systemic inflammation in obesity. *Obesity* **2013**, *21*, E607–E615. [[CrossRef](#)]
49. Żak-Gołab, A.; Kocelak, P.; Aptekorz, M.; Zientara, M.; Juszczak, Ł.; Martirosian, G.; Chudek, J.; Olszanecka-Glinianowicz, M. Gut microbiota, microinflammation, metabolic profile, and zonulin concentration in obese and normal weight subjects. *Int. J. Endocrinol.* **2013**, *2013*, 674106. [[CrossRef](#)]
50. Mokka, K.; Pellonperä, O.; Røytiö, H.; Pussinen, P.; Rönnemaa, T.; Laitinen, K. Increased intestinal permeability, measured by serum zonulin, is associated with metabolic risk markers in overweight pregnant women. *Metabolism* **2017**, *69*, 43–50. [[CrossRef](#)]
51. Mörkl, S.; Lackner, S.; Meinitzer, A.; Mangge, H.; Lehofer, M.; Halwachs, B.; Gorkiewicz, G.; Kashofer, K.; Painold, A.; Holl, A.K.; et al. Gut microbiota, dietary intakes and intestinal permeability reflected by serum zonulin in women. *Eur. J. Nutr.* **2018**, *57*, 2985–2997. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
52. Kellerer, T.; Brandl, B.; Büttner, J.; Lagkouvardos, I.; Hauner, H.; Skurk, T. Impact of Laparoscopic Sleeve Gastrectomy on Gut Permeability in Morbidly Obese Subjects. *Obes. Surg.* **2019**, *29*, 2132–2143. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
53. Moola, S.; Munn, Z.; Sears, K.; Sfetcu, R.; Currie, M.; Lisy, K.; Tufanaru, C.; Qureshi, R.; Mattis, P.; Mu, P. Conducting systematic reviews of association (etiology): The Joanna Briggs Institute’s approach. *Int. J. Evid. Implement.* **2015**, *13*, 163–169. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]