



Universidade de Brasília
Faculdade de Ciências da Saúde
Departamento de Nutrição

**Associação entre consumo de gordura e a composição da microbiota
intestinal em indivíduos com constipação.**

Aluna: Maisa Miranda Araújo
Matrícula: 130123773

Brasília, 2019



Universidade de Brasília
Faculdade de Ciências da Saúde
Departamento de Nutrição

**Associação entre consumo de gordura e a composição da microbiota
intestinal em indivíduos com constipação.**

Trabalho de conclusão de curso da graduação
de Nutrição da Universidade de Brasília.

Aluna: Máisa Miranda Araújo

Matrícula: 13/0123773

Orientadora: Patrícia Borges Botelho

Brasília, 2019

Sumário

Agradecimentos	4
Resumo	5
Abstract	6
1. Introdução	7
2. Revisão da literatura	8
2.1 <i>Constipação intestinal</i>	8
2.2 <i>Constipação Intestinal x Microbiota</i>	10
2.3 <i>Gorduras x Microbiota</i>	11
3. Objetivos	12
3.1 <i>Objetivo geral</i>	12
3.2 <i>Objetivos específicos</i>	12
4. Metodologia	13
4.1 <i>Ingestão dietética</i>	14
4.2 <i>Microbiota intestinal</i>	15
4.3 <i>Análise estatística</i>	16
5. Resultados	16
5.1 <i>Caracterização da população</i>	16
5.2 <i>Efeito dos nutrientes sobre a microbiota intestinal</i>	19
6. Discussão	21
6.1 <i>Perspectivas futuras</i>	24
7. Conclusão	24
8. Referências bibliográficas	25

Agradecimentos

Agradeço a Deus por me dar saúde e determinação para cumprir os meus deveres e superar todos os obstáculos durante a graduação. Agradeço também a Ele por guiar e iluminar o meu caminho e me permitir conhecer pessoas maravilhosas durante esse percurso.

Agradeço aos meus familiares por estarem sempre presentes nos momentos em que precisei, especialmente a minha mãe pelo apoio e esforço para me dar uma formação digna e contribuir para ser a pessoa que sou hoje. Obrigada aos meus irmãos por entenderem minhas ausências dedicadas a graduação. Obrigada ao meu companheiro Adonai Alves por ser um grande parceiro, ouvir todos os meus ensaios de apresentações com muita paciência e por compreender quando eu não podia estar presente.

Agradeço as minhas amigas de curso, Natália dos Anjos, Roberta Carvalho, Joana Daniel e Raquel Silva pela companhia durante o curso, pelas risadas, noites viradas e amizade.

Agradeço aos professores que contribuíram para a minha formação como nutricionista, que se dedicam todos os dias para formar profissionais com excelência, a professora Teresa Helena pela atenção e instruções durante este trabalho, e principalmente a professora Patrícia Borges Botelho pela orientação, correções, confiança em mim e por todos os seus ensinamentos.

Agradeço ainda a Universidade de Brasília por possibilitar a tantos estudantes a oportunidade de realizar um curso superior, e apesar das adversidades ter um corpo docente muito bem qualificado e estruturas físicas que supriram as minhas necessidades durante a graduação.

Agradeço a Lorena Morais a Marcela Mendes pelo auxílio durante a realização deste trabalho. E a todos que direta e indiretamente fizeram parte da minha formação, o meu muito obrigada.

Resumo

Introdução: A constipação intestinal é uma desordem gastrointestinal acompanhada pelo quadro de disbiose intestinal. A composição da microbiota intestinal é influenciada pelo padrão alimentar, principalmente o consumo de gorduras. Entretanto artigos que avaliem os efeitos dos lipídios dietéticos na composição da microbiota intestinal ainda são contraditórios, bem como não há artigos que avaliem essa associação em indivíduos com constipação. Assim, o objetivo desse estudo é avaliar a associação entre o consumo de gordura e a composição da microbiota em indivíduos com constipação.

Metodologia: Foram recrutados indivíduos de 19 a 60 anos com diagnóstico de constipação pelos critérios ROMA IV. O consumo alimentar foi avaliado pela aplicação de 1 recordatório de 24 horas e 3 registros alimentares. Para a análise do consumo foi realizado o cálculo da ingestão habitual de energia, gorduras totais, colesterol, ácidos graxos saturados, monoinsaturados (MUFA), poliinsaturado (PUFA) e trans e em seguida, o cálculo de densidade energética de cada nutriente (g/1000kcal). A microbiota intestinal foi avaliada pela amostra fecal de cada participante, a identificação de bactérias foi feita pelo sequenciamento das regiões V3/V4 do gene 16s rRNA. O valor de significância estabelecido foi de $P < 0,05$.

Resultados: Participaram da análise final 68 participantes. O maior consumo de gorduras totais, ácidos graxos saturados e colesterol aumentaram o % de abundância do filo *Proteobacteria* ($P=0,002$; $P=0,019$; $P=0,010$, respectivamente) e o maior consumo de PUFA aumentou o % de abundância do filo *Syrnegistetes* ($P=0,025$). Não foram encontradas associações significativas entre o consumo de MUFA e ácidos graxos trans e a composição da microbiota intestinal.

Conclusão: Os achados desse estudo sugerem que a qualidade e a quantidade de lipídios dietéticos, em especial, gorduras totais, ácidos graxos saturados, colesterol e PUFA possuem associação significativa com composição da microbiota intestinal em indivíduos com constipação.

Palavras-chaves: Constipação intestinal, dietas ricas em gorduras, disbiose intestinal, microbiota intestinal.

Abstract

Introduction: Intestinal constipation is a gastrointestinal disorder accompanied by intestinal dysbiosis. The gut microbiota composition is influenced by the food pattern, mainly the lipids consumption. However, articles that evaluate the effects of dietary lipids on the gut microbiota composition are still contradictory, as well as articles that evaluate this association in individuals with constipation. Thus, the aim of this study is to evaluate the association between lipids consumption and gut microbiota composition in individuals with constipation.

Method: Individuals between 19-60 years with diagnosis of constipation according to the ROME IV criteria were recruited. Food consumption was assessed by the application of one 24-hour recall and three food records. For the consumption analysis was calculated the consumption of energy, total fat, cholesterol, saturated, monounsaturated (MUFA), polyunsaturated (PUFA) and trans fatty acids and then the energy density calculation of each nutrient (g / 1000kcal). The gut microbiota composition was evaluated by fecal sample of each participant, the identification of bacteria was done by sequencing the V3 / V4 regions of 16s rRNA gene. The established significance level was $P < 0.05$.

Results: Total of 68 participants were included in the final analysis. The higher consumption of total fats, saturated fatty acids and cholesterol increased the % of *Proteobacteria* phylum ($P = 0.002$, $P = 0.019$, $P = 0.010$, respectively) and the higher consumption of PUFA increased the % of abundance of the *Syrnegistetes* phylum ($P = 0.025$). No significant associations were found between the consumption of MUFA and trans fatty acids and the composition of the intestinal microbiota.

Conclusions: These findings suggest that the quality and quantity of dietary lipids, especially total fat, saturated fatty acids, cholesterol and PUFA are significantly associated with intestinal microbiota composition in individuals with constipation.

Keywords: High fat diet, intestinal dysbiosis, intestinal constipation and gut microbiota.

1. Introdução

A constipação intestinal crônica é definida como uma desordem de motilidade gastrointestinal (SHIN et al., 2019). Essa condição afeta cerca de 16% da população adulta e 33% dos idosos no mundo, sendo mais frequente no sexo feminino (COSTILLA; FOXX-ORENSTEIN, 2014). Os sintomas mais comuns são sensação de evacuação incompleta, fezes endurecidas, desconforto abdominal e evacuações infrequentes (BHARUCHA; PEMBERTON; LOCKE, 2013).

O diagnóstico de constipação pode ser realizado pela aplicação dos critérios ROMA, desenvolvido pela Fundação Roma, que estabelece parâmetros para determinar a presença dessa disfunção, excluindo o diagnóstico de Síndrome do Intestino Irritável (SII) (SCHMULSON; DROSSMAN, 2017). Os critérios contemplam o esforço ao evacuar, a consistência das fezes, sensação de evacuação incompleta, sensação de obstrução anorretal, utilização de manobras manuais para facilitar a evacuação, número de evacuações por semana, o número de critérios para o diagnóstico e fator cronológico dos sintomas (SOBRADO et al., 2018).

As causas da constipação intestinal podem ser intrínsecas ou extrínsecas ao indivíduo. Os fatores intrínsecos correspondem a velocidade diminuída do trânsito intestinal e disfunções do assoalho pélvico. Já entre os fatores extrínsecos destacam-se o uso de medicamento, a presença de condições médicas específicas e a disbiose intestinal (LEUNG et al., 2011).

A disbiose é uma condição de desequilíbrio da microbiota residente do intestino humano. Esse ecossistema é composto por vírus, fungos e bactérias. A microbiota de indivíduos adultos é composta por cerca de 90% de bactérias do filo *Firmicutes* e *Bacteroidetes*. No estado de disbiose essa composição se altera, favorecendo o crescimento de bactérias patogênicas como *Enterobacteriaceae* e *Clostridium ssp* (BIBBÒ, et al. 2016).

A dieta é um dos fatores que pode contribuir para alterações na composição da microbiota intestinal. Estudos sugerem que dietas ricas em gorduras contribuem para o aumento dos níveis de lipopolissacarídeo (LPS) plasmáticos, toxina presente na membrana celular externa de bactérias gram-negativas. Além disso, o tipo de ácido graxo consumido pode também influenciar na modulação da microbiota pelo crescimento de bactérias específicas (SIMÕES, et al. 2013).

Dietas ricas em ácidos graxos monoinsaturados (MUFA) foram associadas ao baixo número de *Bifidobactéria ssp*, e aumento de *Bacteroidetes spp*, enquanto que o consumo de ácidos graxos poliinsaturados (PUFA) se relacionou a inibição do crescimento de bactérias do gênero de *Lactobacillus* (BIBBÒ et al., 2016) em indivíduos saudáveis. Por outro lado, estudos mais recentes não verificaram associação entre dietas ricas em MUFA e PUFA com alterações na riqueza e diversidade da microbiota intestinal (RAJKUMAR et al., 2014; SINGH et al., 2017; WOLTERS et al., 2018).

Dessa forma, verifica-se que não há um consenso na literatura sobre a associação da quantidade e qualidade de gordura dietética e a composição da microbiota intestinal. Assim como ainda não há artigos que tratem desta relação em indivíduos com constipação. Considerando que o consumo de gordura aumenta as concentrações de LPS e níveis elevados desta toxina no organismo promovem alteração na motilidade intestinal e disbiose intestinal, então, o objetivo desse estudo é avaliar a associação entre o consumo de gordura e a composição da microbiota em indivíduos com constipação.

2. Revisão da literatura

2.1 Constipação intestinal

A constipação intestinal pode ser dividida em duas categorias primária ou idiopática e secundária. A constipação idiopática ou funcional é aquela desencadeada por fatores intrínsecos, e caracteriza-se pelo trânsito intestinal normal; trânsito intestinal lento ou inércia colônica; obstrução de saída ou disfunção do assoalho pélvico e causas combinadas (LEUNG et al., 2011; SOBRADO et al., 2018)

A constipação por trânsito intestinal lento ou inércia colônica pode ser compreendida pelo trânsito prolongado das fezes no cólon por > 3 dias consecutivos. Os pacientes geralmente apresentam sinais de distensão abdominal e ausência de vontade de evacuar. Diferentemente da constipação por trânsito intestinal normal, em que o trânsito colônico encontra-se preservado, porém a passagem das fezes pelo reto é inadequada ou difícil. Já a constipação causada pela disfunção do assoalho pélvico ou obstrução de saída leva à sensações de evacuações difíceis e incompletas causadas pela contração paradoxal do músculo puborretal ou esfíncter anal externo (SUARES, FORD, 2011; SOBRADO et al., 2018).

A constipação secundária é causada por anormalidades intestinais ou extra intestinais, como uso de medicamentos (antidepressivos, anticolinérgicos, bloqueadores de canais de cálcio, analgésicos opióides e antiinflamatórios), algumas condições neurológicas como lesão medular, neoplasia, esclerose múltipla, Parkinson e Alzheimer, doenças metabólicas como hipotireoidismo, hipoparatiroidismo e outras condições como doença de chagas, responsáveis por causar distúrbios na defecação (COSTILLA; FOXX-ORENSTEIN, 2014, SOBRADO et al., 2018).

Para identificar a presença da constipação intestinal nos indivíduos é necessária a avaliação dos sintomas por meio dos critérios ROMA. A aplicação desses critérios pode ser feita pelo instrumento ROMA III, criado em 2006, que diagnostica tanto a SII quanto a constipação funcional, ou por meio da sua versão atualizada conhecida como critérios ROMA IV. Essa versão conta com a adição de um novo diagnóstico, a constipação induzida pelo uso crônico de opióides (DROSSMAN, 2016).

A constipação induzida por opióides é classificada pela mudança nos padrões de evacuações acompanhada pela terapia com opióides. As alterações do hábito intestinal podem ser frequência reduzida, esforço ou evacuações incompletas. Esse diagnóstico é mais frequente em pacientes em tratamento para dor relacionada ao câncer, sendo a prevalência de 74% a 87%, enquanto que para o tratamento de dor não oncológica a prevalência é cerca de 50% (FARMER et al., 2018).

A prevalência de constipação intestinal está associada ao sexo e idade dos indivíduos. O sexo feminino tem três vezes mais chance de ter constipação intestinal. Esse dado, pode ser explicado pelo maior risco a lesão do assoalho pélvico nas mulheres durante o parto, e por reportarem seus sintomas com maior frequência que os homens. O avanço da idade também contribui para o desencadeamento de constipação intestinal. Idosos estão sujeitos a uso frequente de medicamentos e a imobilização, favorecendo um trânsito intestinal mais lento (LEUNG et al., 2011).

O quadro de constipação pode ser agravado por fatores de risco como sedentarismo, dietas deficientes em fibras e a ingestão insuficiente de líquidos (COSTILLA; FOXX-ORENSTEIN, 2014; MAKKI et al., 2018; SOBRADO et al., 2018). Outro fator que contribui para o risco aumentado de constipação é o desequilíbrio da microbiota intestinal, entendido como disbiose. A predominância de bactérias patogênicas no intestino humano

pode levar a alterações na dinâmica gastrointestinal, diminuindo a motilidade intestinal e favorecendo a constipação intestinal (HUANG et al., 2018).

2.2 Constipação Intestinal x Microbiota

A microbiota intestinal humana é constituída por fungos, vírus e bactérias. A população mais predominante são as bactérias do filo *Bacteroidetes* e Firmicutes, seguidas pelas *Actinobacteria* e *Proteobacteria* (LOZUPONE et al., 2013).

As comunidades microbianas habitantes no intestino humano encontram-se em relação de simbiose com o seu hospedeiro. Na simbiose, a microbiota intestinal fornece ao indivíduo nutrientes, proteção imunológica contra patógenos, e novas vias metabólicas para a síntese de compostos orgânicos, como a fermentação de polissacarídeos em ácido graxos de cadeia curta (ALONSO; GARNER, 2013; BUTTÓ; HALLER, 2016). No entanto, quando há um desequilíbrio da estrutura e/ou função da microbiota intestinal, por alterações qualitativas ou quantitativas, a homeostase desse ecossistema é interrompida, e então, tem-se a relação de disbiose. Neste estado, há a redução de bactérias gram-positivas e prevalência de bactérias patogênicas do gênero *Clostridium* e da família das *Enterobacteriaceae* (BIBBÒ et al., 2016).

No estado de disbiose, a resistência à colonização de patógenos no trato intestinal é diminuída e bactérias protobiontes, como *Enterobacteriaceae* e *Helicobacter typhlonius* se beneficiam desse ambiente. A proliferação desses microrganismos no intestino humano causa dano ao epitélio e desencadeia uma resposta inflamatória local levando à diminuição da motilidade intestinal (BUTTÓ; HALLER, 2016).

Pacientes com diagnóstico de constipação são acompanhados por disbiose intestinal. Essa relação ainda não está claramente definida, ou seja, não se sabe se a constipação é a consequência ou o fator de estímulo para a disbiose intestinal (CAO et al., 2017).

A composição da microbiota intestinal em indivíduos com constipação também não está bem estabelecida. Segundo Kim et al., (2015) a redução dos gêneros de *Bifidobactérias* e *Lactobacillus*, *Bacteroides* e aumento de *Enterobacteriaceae* é observada em indivíduos eutróficos entre 20 a 59 anos, com constipação. Enquanto, Zhu et al. 2014 observou diminuição de *Bacteroidetes*, aumento de algumas espécies do filo *Firmicutes*, e nenhuma redução nos níveis *Bifidobactérias* e *Lactobacillus* em crianças obesas.

Sabe-se que essa homeostase da microbiota intestinal pode ser interrompida por condições patológicas, tratamentos farmacológicos, como o uso de antibióticos, consumo de bebidas alcóolicas e o padrão alimentar do indivíduo (KHAN et al., 2019). Os nutrientes, em especial as gorduras, podem exercer grande influência sobre a composição da microbiota, e consequentemente, promoverem ou prevenir a disbiose, bem como a constipação.

2.3 Gorduras x Microbiota

O efeito da dieta rica em gorduras sob a microbiota intestinal tem sido cada vez mais estudado. Dietas ricas em lipídios reduziram o percentual de abundância do filo *Bacteroidetes*, aumentaram o percentual do filo *Firmicutes* e favoreceram a proliferação das bactérias gram-negativas, como a *Enterobacteriaceae* (DUAN et al., 2018). O aumento de bactérias gram-negativas na microbiota intestinal tem associação positiva com o aumento de lipopolissacarídeo (LPS) no organismo, podendo levar o hospedeiro ao quadro de endotoxemia, (MOREIRA et al. 2012; MURPHY et al., 2015).

O aumento da concentração de LPS no intestino pode afetar também a fisiologia do cólon intestinal. Essa toxina compromete a integridade do epitélio, contribuindo para o aumento da permeabilidade da barreira intestinal, diminuição da camada de muco presente, bem como para o aumento da concentração de citocinas pró-inflamatórias. Essas alterações tornam o epitélio intestinal mais suscetível a danos teciduais, e favorece a absorção não fisiológica de LPS pelo organismo (ARAÚJO et al., 2017).

Fisiologicamente, o LPS por conter uma fração insolúvel em sua estrutura é incorporado na micela de ácido graxo, e então é absorvido e armazenado nos quilomícrons. Entretanto, o consumo excessivo de gorduras pela dieta aumenta a produção de quilomícrons e sua exposição às moléculas de LPS. Os quilomícrons em excesso elevam a pressão local e podem afrouxar as junções celulares dos enterócitos, aumentando a permeabilidade intestinal, fato que contribui para a endotoxemia (MOREIRA et al., 2012).

Além do aumento de LPS pelas dietas ricas em gorduras, estudos investigam o efeito de ácidos graxos específicos no crescimento microbiano intestinal. Os ácidos graxos podem ser classificados quanto ao número de carbono e ao número e posição das duplas ligações. Em relação ao número de duplas ligações podem ser divididos em: ácidos graxos saturados, monoinsaturados e poliinsaturados (HUANG et al., 2013). Sabe-se que diferentes tipos de

ácidos graxos podem ter efeitos diversos sobre a modulação da microbiota intestinal (SIMÕES, et al. 2018).

Estudos em indivíduos submetidos a dietas ricas em ácidos graxos específicos observaram diferentes alterações na composição da microbiota intestinal. Segundo Simões (2013) e colaboradores, dietas ricas em PUFA estimulam o crescimento de bactérias do gênero *Lactobacillus*. Em contrapartida, Bibbò et al., (2018) verificou a associação entre o consumo elevado de PUFA e a inibição do crescimento de várias cepas de bactérias do gênero *Lactobacillus*, como *L. rhamnosus*, *L. casei Shirota* e *L. delbrueckii ssp bulgaricus*. Enquanto que Rajkumar et al., (2014) não observou efeito desse ácido graxo na microbiota intestinal.

Dietas ricas em MUFA mostraram associação com baixos níveis de *Bifidobacteria spp*, e um leve aumento de *Bacteroides spp*. (BIBBÒ et al., 2016). Por outro lado, estudos mais recentes com MUFA não demonstraram alterações da abundância de nenhum gênero bacteriano (SINGH et al., 2017 e WOLTERS Et al., 2018).

Os mecanismos de ação dos ácidos graxos na modulação da microbiota intestinal ainda não estão bem esclarecidos, nem a relação de outros ácidos graxos como os saturados e trans. Considerando que a constipação é acompanhada pela disbiose intestinal e que o padrão dietético possui forte influência sobre a composição da microbiota, faz-se necessário a condução de novos estudos que avaliem a associação entre dietas ricas em gorduras e composição da microbiota intestinal em pacientes com constipação. Assim, a hipótese do presente estudo é que dietas ricas em gorduras podem modular a microbiota intestinal e, conseqüentemente, alterar o quadro de constipação, sendo essa modulação dependente do tipo de ácido graxo.

3. Objetivos

3.1 Objetivo Geral

Avaliar a associação entre o consumo de gordura e a composição da microbiota em indivíduos com constipação.

3.2 Objetivos Específicos

- Avaliar a ingestão total de lipídios e dos tipos de ácidos graxos em indivíduos com constipação;

- Analisar a composição da microbiota intestinal de indivíduos com constipação;
- Avaliar se o efeito dos lipídios na composição da microbiota é dependente do tipo de ácido graxo.

4. Metodologia

Trata-se de um estudo transversal, realizado a partir do projeto matriz, denominado “Efeito dos probióticos sobre a saúde intestinal em adultos e idosos saudáveis: influência do tipo de cepa, dose e forma de administração.”

O projeto foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Goiás (UFG) e aprovado com nº do parecer 2.281.977, CAAE 69990717.5.0000.5078 e pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília (UnB) e aprovado com o nº do parecer 2.550.573, CAAE nº 69990717.5.3001.0030.

Após o esclarecimento da pesquisa, todos os participantes assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), em conformidade com a resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde.

O recrutamento dos participantes foi realizado por meio das mídias sociais, nas universidades e clínicas, na cidade de Goiânia, Goiás. Os indivíduos interessados em participar da pesquisa foram instruídos sobre a pesquisa e compareceram para a triagem, onde os critérios de inclusão e exclusão foram aplicados, selecionando os voluntários elegíveis.

Os critérios de inclusão dos indivíduos no estudo foram idade entre 19 e 60 anos de ambos os sexos e diagnóstico de constipação intestinal segundo os critérios do ROMA IV. Foram excluídos os indivíduos que fizeram uso de alimentos ou produtos contendo probióticos e/ou prebióticos, até 3 meses antes da coleta, suplementos de vitaminas e minerais, chá verde, branco ou de hibisco, laxantes, fitoterápicos para melhora do funcionamento intestinal, antibióticos nas 4 semanas anteriores à coleta e medicamentos com ação antiinflamatória. Aqueles que apresentavam disfunções hepáticas, renais, doenças metabólicas, gastrointestinais, doenças crônicas não-transmissíveis, que estavam gestantes também foram excluídos.

4.1 Ingestão Dietética

O consumo alimentar foi avaliado por meio de um 1 Recordatório de 24 horas (R24H) e 3 Registros Alimentares por voluntário. O Recordatório de 24 horas foi aplicado durante a primeira consulta por nutricionistas devidamente treinadas. Neste momento, também foi realizada a instrução para cada participante sobre o preenchimento correto dos Registros. Os Registros Alimentares foram preenchidos pelos próprios voluntários durante a semana seguinte à aplicação do R24H em dias não consecutivos, sendo dois em dias da semana e um no fim de semana. Ao final da primeira semana, os Registros Alimentares foram entregues e conferidos por nutricionistas treinadas.

A conversão das medidas caseiras em gramas/mililitros foi feita utilizando a Tabela para Avaliação de Consumo Alimentar em Medidas Caseiras (PINHEIRO et al., 2000). Naqueles casos em que o alimento não era descrito nessa tabela, utilizou-se o Manual para estudos populacionais de alimentação, nutrição e saúde (Fisberg; Marchioni 2012) e a Tabela de Medidas Referidas para os Alimentos Consumidos no Brasil (IBGE, 2011). Os alimentos ausentes em ambas as tabelas foram pesados em uma balança digital SF-400 da marca Casita, com capacidade de 1g a 7kg.

Após a conversão as medidas foram compiladas no software *Nutrition Data System for Research* (NDSR), versão 2018, onde foi calculado o consumo calórico e de nutrientes de cada voluntário. Os alimentos brasileiros não encontrados no NDSR tiveram seus valores nutricionais inseridos no banco de dados do programa. Os valores de energia, gordura total, colesterol, ácidos graxos saturados, monossaturados e poliinsaturados e trans foram obtidos pelo *output* do NDSR.

Para estimar a ingestão habitual de energia, gorduras totais, colesterol, ácidos graxos saturados, monossaturados, polissaturados e trans de cada participante, foi realizada a análise de consumo alimentar com correção dos valores de variância intrapessoal e interpessoal para cada nutriente. Essa análise foi realizada utilizando o programa PC-SIDE, *Software for intake distribution estimation*, versão 2.0 de 2017, (*Department of Statistics, Iowa State University, Ames, IA, EAU*) com ajuste dos dados para o dia da semana e para a ordem dos inquéritos alimentares coletados. Em seguida, foi calculada a densidade energética de cada nutriente (g nutriente/1000Kcal), dividindo os valores de cada nutriente em gramas pelo total de energia e multiplicando por 1000.

4.2 Microbiota intestinal

A análise da microbiota intestinal foi realizada por meio das fezes coletadas pelos próprios participantes. Os voluntários foram instruídos a evacuar em plástico limpo e seco, evitando o contato com urina e água. As amostras de fezes foram então coletadas por meio de swab de algodão umedecido com solução estabilizante.

As amostras foram enviadas para o laboratório da empresa terceirizada contratada, onde foi realizada a lise celular e extração do DNA da microbiota fecal, utilizando a técnica de *beads* magnética a partir do protocolo desenvolvido pela empresa.

Para o preparo da biblioteca de DNA, as amostras dos isolados bacterianos foram submetidas ao mesmo processamento de *beads* magnética. As amostras foram: *Salmonella enterica* (ATCC 14028), *Listeria monocytogenes* (ATCC 19111), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Bacillus cereus* (ATCC 10876), *Escherichia coli* (ATCC 8739), *Bacillus spizizenii* (ATCC 6633), *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC27853), *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 12228), *Acinetobacter baumannii* e *Klebsiella pneumoniae* (isoladas e identificadas por VITEK®2). Foram realizadas diluições em escala de 10x para DNA, e em escala de 1log de UFC (Unidades Formadoras de Colônias) para os microrganismos isolados.

A identificação de bactérias foi realizada utilizando-se o sequenciamento de alto desempenho das regiões V3/V4 do gene 16S rRNA. Para avaliar o perfil de recuperação do DNA após a etapa de sequenciamento, uma molécula de DNA sintético foi adicionada, anteriormente a extração do DNA, em algumas amostras em diferentes concentrações (6×10^2 , 6×10^3 , 6×10^4). O sequenciamento do DNA foi realizado no equipamento MiSeq (Illumina Inc., USA), utilizando-se o Kit V2 de 300 ciclos, single-end. As sequências de DNA dos microrganismos foram analisadas por meio de um pipeline da empresa contratadas, considerando no máximo 1% de erro acumulado no sequenciamento.

A identificação das espécies de microrganismos presentes nas amostras foi feita pela comparação das sequências de DNA obtidas com o banco de dados contendo outras sequências de DNA caracterizadas para as sequências de interesse. Após as análises de bioinformática, os resultados foram carregados para o software Neobiome, desenvolvido pela empresa contratada para melhor visualização.

4.3 Análise estatística

Os valores foram avaliados quanto à sua normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk.

A amostra foi dividida em quartis de acordo com o consumo dos participantes. A qualidade de lipídios ingerida foi avaliada pelo consumo de gorduras monoinsaturadas, saturadas, poli-insaturadas e trans. Diferenças na composição da microbiota entre o primeiro e quarto quartil foram avaliadas pelo teste de Mann-Whitney para as variáveis que não apresentaram distribuição normal como %Euryarchaeota, %Fusobacteria, %Proteobacteria, %Synergistetes, %Verrucomicrobia, %Fimicutes/Bacteroidetes, e test-T de Student para as variáveis com distribuição normal, como %Bacteroidetes e %Firmicutes.

O valor de significância estatística estabelecido foi de $P > 0,05$. As análises foram realizadas no software estatístico SPSS, *Statistical Package for the Social Sciences*, versão 25.0.

5. Resultados

5.1 Caracterização da população

Um total de 141 indivíduos com constipação foram recrutados para o estudo, 67 foram excluídos pois não preenchiam os critérios de inclusão. De 74 participantes, apenas 68 foram incluídos na análise final, pois a coleta da amostra fecal não foi realizada de forma adequada, não sendo possível a realização da análise de composição da microbiota.

A média de idade da população foi de 26.60 anos, sendo 86.77% (N=59) dos indivíduos do sexo feminino. A média de ingestão calórica foi de 1513 kcal (DP±324,57) e de lipídios de 57,42g correspondendo à 34,1% do Valor Energético Total (VET) (Tabela 1).

Tabela 1. Caracterização da população de acordo com as variáveis demográfica, consumo alimentar e composição da microbiota intestinal.

<i>Característica</i>	<i>n</i>	<i>%</i>
Idade (anos)	26.60±10,25	
Sexo		
Feminino	59	86.77
Masculino	9	13.23
Nutrientes	Média±DP	%VET

Energia (kcal)	1513±324.57	100,00
Gorduras Totais (g)	57.42 ±10.95	34,15
Colesterol (mg)	270.73±74.74	0,16
Ác.graxo saturado (g)	20.02±3.80	11,91
MUFA (g)	20.10±4.40	11,96
PUFA (g)	12.18±3.26	7,24
Ác. graxo <i>trans</i> (g)	1.53±0.43	0,91
Abundância dos filos de bactérias		Média±DP
Actinobacteria (%)		1,59±1,91
Bacteroidetes (%)		54,49±15,38
Firmicutes (%)		36,00±13,81
Euryarchaeota		0,05±0,11
Fusobacteria (%)		0,16±0,58
Proteobacteria (%)		4,58±5,15
Synergistetes (%)		0,02±0,10
Verrucomicrobia (%)		1,47±2,66
Fimicutes/Bacteroidetes (%)		0,77±0,56

Ác., ácido, DP, desvio-padrão, MUFA, ácido graxo monoinsaturado, PUFA ácido graxo poliinsaturado.

Ao analisar a ingestão de acordo com o quartil observou-se que o primeiro quartil apresentou uma ingestão de energia de 1163kcal, gordura total de 45g (33,40g/1000kcal), colesterol de 185,81mg (131,75mg/1000kcal), ácidos graxos saturados de 15,79g (15,92g/1000kcal) ácidos graxos monoinsaturados de 14,94g (11,50g/1000kcal), ácidos graxos poliinsaturados 8,88g (6,60g/1000kcal), ácidos graxos trans 1,02g (0,79g/1000kcal). Já o quartil de maior ingestão dietética apresentou um consumo energia de 1964kcal, gordura total de 71,21g (43,68g/1000kcal), colesterol de 377,72mg (252,98mg/1000kcal), ácidos graxos saturados de 24,78g (15,92g/1000kcal) ácidos graxos monoinsaturados de 25,91g (15,38g/1000kcal), ácidos graxos poliinsaturados 16,42g (9,58g/1000kcal), ácidos graxos trans 2,12g (1,27g/1000kcal).

Tabela 2. Média e desvio-padrão da ingestão habitual de energia, gorduras totais, colesterol, ácidos graxos saturados, moniinsaturados e poli-insaturados e trans para cada quartil.

Quartil	N	Média±DP	g/1000kcal
Energia (kcal)			
1	17	1163±94.27	-
2	17	1373±41.50	-
3	17	1551±70.23	-
4	17	1964±237.80	-
Gorduras Totais (g)			
1	17	45,00±3.33	33,40±2,72
2	17	53,36±2.33	37,21±0,50
3	17	60,12±1.64	39,09±0,88
4	17	71,21±9.58	43,68±3,56
Colesterol (mg)			
1	17	185,81±22.00	131,75±12,38
2	17	239,84±14.68	158,42±5,52
3	17	279,57±17.44	185,80±9,64
4	17	377,72±38.29	252,98±43,51
Ácido graxo saturado (g)			
1	17	15,79±1.09	11,57±1,21
2	17	18,59±0.89	12,70±0,28
3	17	20,91±0.61	13,60±0,39
4	17	24,78±3.49	15,92±1,63
Ácido graxo moniinsaturado (g)			
1	17	14,94±1.42	11,50±0,80
2	17	18,63±0.67	12,76±0,23
3	17	20,91±0.62	13,75±0,40
4	17	25,91±3.35	15,38±1,05
Ácido graxo poliinsaturado (g)			
1	17	8,88±0.68	6,60±0,35

2	17	10,69±0.60	7,50±0,27
3	17	12,73±0.72	8,36±0,17
4	17	16,42±3.13	9,58±0,73
Ácido graxo trans (g)			
1	17	1,02±0.13	0,79±0,07
2	17	1,36±0.07	0,93±0,03
3	17	1,63±0.11	1,04±0,03
4	17	2,12±0.28	1,27±0,16

DP, desvio Padrão.

5.2 Efeito dos nutrientes sobre a microbiota intestinal

Ao comparar o primeiro e o último quartil de ingestão de gordura total, ácidos graxos saturados e colesterol, observou-se que o maior consumo desses nutrientes aumentou significativamente o percentual de abundância das bactérias pertencentes ao filo *Proteobacteria* (P=0,002; P=0,019; P=0,010, respectivamente). Além disso, o maior consumo de PUFA também foi associado ao aumento do percentual de bactérias do filo *Synergistetes* (P=0,025) (Tabela 3).

Não foram encontradas associações significativas entre o consumo de MUFA e ácidos graxos trans com nenhum dos filios analisados.

Tabela 3. Percentual de abundância dos filios de bactérias de acordo com a ingestão de energia, gorduras totais, colesterol, ácidos graxos saturados, moniinsaturados e poli-insaturados e trans.

%Bacteria	GT/1000 Kcal				P ¹
	Quartil 1	Quartil 2	Quartil 3	Quartil 4	
%Actinobacteria	1.14±1.53	1.85±2.41	2.27±2.24	1.10±1.03	0.593
%Bacteroidetes	56.54±10.19	48.91±19.70	57.34±14.11	55.17±15.90	0.143
%Firmicutes	38.03±9.29	36.19±17.72	34.94±13.97	34.83±14.02	0.071
%Euryarchaeota	0.08±0.13	0.05±0.11	0.04±0.08	0.04±0.10	0.310
%Fusobacteria	0.18±0.41	0.04±0.08	0.31±1.09	0.08±0.18	0.732
%Proteobacteria	2.96±3.65	5.26±5.34	3.75±3.74	6.35±6.94	0.002
%Synergistetes	0.01±0.02	0.05±0.16	0.01±0.02	0.04±0.10	0.351
%Verrucomicrobia	1.02±1.40	1.71±2.70	1.30±1.88	1.87±4.05	0.312
%Fimicutes/Bacteroidetes	0.71±0.28	0.86±0.73	0.72±0.54	0.78±0.65	0.490

COL/1000 Kcal					
%Actinobacteria	1.97±2.45	1.27±1.35	1.89±2.07	1.24±1.63	0.617
%Bacteroidetes	51.88±19.84	55.22±14.03	55.83±13.55	55.04±14.36	0.274
%Firmicutes	36.33±16.52	33.93±14.02	36.16±13.43	37.57±11.91	0.208
%Euryarchaeota	0.08±0.13	0.03±0.06	0.03±0.08	0.05±0.13	0.211
%Fusobacteria	0.16±0.40	0.37±1.09	0.04±0.10	0.05±0.11	0.669
%Proteobacteria	3.03±3.67	7.26±8.45	3.51±2.98	4.52±2.46	0.010
%Synergistetes	0.01±0.02	0.04±0.10	0.002±0.006	0.05±0.16	0.557
%Verrucomicrobia	0.62±0.98	1.83±3.56	2.49±3.37	0.95±1.52	0.563
%Fimicutes/Bacteroidetes	0.80±0.70	0.71±0.49	0.74±0.46	0.82±0.62	0.918
SAT/1000 Kcal					
%Actinobacteria	1.13±1.36	2.30±2.53	1.58±1.91	1.40±1.63	0.817
%Bacteroidetes	54.97±12.93	53.70±18.76	53.39±14.96	55.82±15.71	0.467
%Firmicutes	38.81±11.73	31.86±14.61	36.96±14.46	33.42±13.92	0.359
%Euryarchaeota	0.08±0.15	0.02±0.04	0.05±0.10	0.05±0.10	0.424
%Fusobacteria	0.18±0.39	0.03±0.07	0.29±1.12	0.12±0.21	0.784
%Proteobacteria	3.58±4.05	4.63±5.28	3.79±3.68	6.33±6.95	0.019
%Synergistetes	0.04±0.16	0.01±0.05	0.001±0.006	0.04±0.10	0.394
%Verrucomicrobia	1.17±1.63	1.52±2.84	0.90±1.21	2.30±4.02	0.828
%Fimicutes/Bacteroidetes	0.82±0.63	0.63±0.43	0.87±0.54	0.74±0.64	0.290
MUFA/1000 Kcal					
%Actinobacteria	1.07±1.33	2.09±2.51	1.98±2.14	1.23±1.33	0.547
%Bacteroidetes	54.78±14.54	50.46±10.63	54.99±19.14	57.72±16.46	0.786
%Firmicutes	39.20±13.38	42.12±11.63	28.00±12.26	34.68±14.64	0.609
%Euryarchaeota	0.06±0.13	0.07±0.12	0.04±0.09	0.03±0.10	0.473
%Fusobacteria	0.15±0.38	0.04±0.16	0.39±1.08	0.04±0.11	0.369
%Proteobacteria	3.70±4.57	4.07±3.38	5.92±8.26	4.63±2.78	0.056
%Synergistetes	0.004±0.02	0.05±0.16	0.04±0.10	0.004±0.02	0.966
%Verrucomicrobia	1.00±2.09	1.04±1.31	2.71±3.91	1.15±2.47	0.503
%Fimicutes/Bacteroidetes	0.86±0.67	0.92±0.51	0.52±0.27	0.76±0.66	0.361
PUFA/1000 Kcal					
%Actinobacteria	1.08±1.35	1.66±2.08	1.79±2.33	1.77±1.72	0.227
%Bacteroidetes	56.44±15.82	58.53±11.21	53.86±16.91	49.16±16.78	0.608
%Firmicutes	34.49±16.37	34.79±11.74	32.56±11.52	42.24±14.79	0.649
%Euryarchaeota	0.04±0.09	0.06±0.12	0.06±0.12	0.04±0.09	0.876
%Fusobacteria	0.12±0.39	0.11±0.19	0.32±1.06	0.06±0.16	0.905
%Proteobacteria	6.02±8.30	3.70±4.07	4.19±4.21	4.65±3.39	0.485
%Synergistetes	0.0±0.0	0.01±0.03	0.04±0.16	0.04±0.10	0.025
%Verrucomicrobia	1.79±2.95	1.10±1.48	1.54±2.51	1.52±3.57	0.830
%Fimicutes/Bacteroidetes	0.73±0.56	0.65±0.34	0.61±0.29	1.10±0.83	0.180
TRANS/1000 Kcal					
%Actinobacteria	1.29±1.44	0.91±1.23	3.00±2.61	1.30±1.57	0.783
%Bacteroidetes	53.48±15.42	58.06±13.02	55.58±10.74	50.85±20.52	0.361

%Firmicutes	40.04±14.96	33.39±11.33	35.67±10.15	35.30±17.67	0.471
%Euryarchaeota	0.04±0.10	0.05±0.11	0.08±0.12	0.04±0.09	0.424
%Fusobacteria	0.18±0.40	0.30±1.06	0.07±0.19	0.06±0.15	0.253
%Proteobacteria	0.38±4.30	5.61±7.50	3.29±3.43	5.36±4.24	0.112
%Synergistetes	0.01±0.04	0.05±0.16	0.02±0.10	0.01±0.04	0.210
%Verrucomicrobia	1.10±2.34	1.58±1.78	2.23±3.97	1.04±2.26	0.888
%Fimicutes/Bacteroidetes	0.93±0.76	0.63±0.30	0.69±0.30	0.83±0.72	0.512

GT, gordura total, SAT, ácido graxo saturado MUFA, ácido graxo monoinsaturado, PUFA ácido graxo poliinsaturado, TRANS ácido graxo saturado. DP, desvio padrão, P, significância.

¹, Valores de significância correspondentes às diferenças entre os quartis 1 e 4.

6. Discussão

Neste trabalho, observou-se que o consumo de gorduras totais, ácidos graxos saturados e colesterol foi positivamente associado ao percentual de abundância de bactérias do filo *Proteobacteria* em indivíduos com constipação. Além disso, o maior consumo de PUFA, contribuiu para um pequeno aumento do percentual de abundância de bactérias do filo *Synergistetes*.

Segundo Agans e colaboradores (2018) dietas ricas em gorduras aumentam o número de bactérias do filo *Proteobacteria* em adultos saudáveis, promovendo também uma redução do gênero *Bacteroides*, do filo *Bacteroidetes*; e do gênero *Clostridium* e *Eubacterium*, do filo *Firmicutes*. No presente estudo esta associação foi verificada apenas para o filo de *Proteobacteria*. No entanto, uma redução marginalmente significativa foi observada no filo *Firmicutes* de acordo com a ingestão de gordura total. De forma semelhante, o consumo de ácidos graxos saturados também tem sido associado ao aumento de *Proteobacteria* (BIBBIÓ et al., 2016)

O filo *Proteobacteria* é composto por seis classes de bactérias: *Alphaproteobacteria*, *Betaproteobacteria*, *Gammaproteobacteria*, *Deltaproteobacteria*, *Epsilonproteobacteria*, e *Zetaproteobacteria*. Muitas bactérias patogênicas fazem parte desse filo como a *Neisseria*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *Salmonella*, *Helicobacter* e outras (RIZZATTI et al., 2017). A abundância do filo *Proteobacteria* na microbiota fecal em humanos pode estar relacionada à disbiose, à instabilidade da comunidade microbiana intestinal e ao trânsito intestinal lento (PARTHASARATHY et al., 2016; SHIN et al. 2015). Parthasarathy et al., (2016) observaram que indivíduos com constipação apresentam um % de abundância de bactérias do filo *Proteobacteria* maior que indivíduos sem constipação. Logo, a maior

ingestão de gordura total, colesterol e de ácidos graxos saturados pode contribuir para potencializar essa disbiose, aumentando o percentual de abundância de bactérias deste filo e, conseqüentemente, podendo agravar a constipação.

Há alguns mecanismos pelos quais dietas ricas em gorduras podem modular a composição da microbiota intestinal que ainda estão sendo investigados. Segundo Fawley e Gourlay et al. (2016) a enzima fosfatase alcalina intestinal (FAI) regula a manutenção da homeostase microbiana, por meio da desfosforilação da adenosina trifosfato (ATP) no lúmen intestinal, inativando esse nucleotídeo e assim promovendo o crescimento de bactérias comensais gram-positivas. O consumo de dietas ricas em gorduras foi associado a diminuição da expressão e atividade da FAI, dessa forma, a ATP fica disponível no lúmen intestinal, levando a inibição do crescimento e sobrevivência de bactérias gram-positivas, o que contribui para menor diversidade bacteriana intestinal e aumento da proliferação de bactérias gram-negativas (MOKKALA et al. 2019).

Além da atividade da fosfatase alcalina, a produção de ácido biliar também está relacionada com alterações na composição da microbiota intestinal. Essa substância está presente nos sais biliares que participam da digestão e absorção de lipídios no intestino e em seguida são reabsorvidos no ílio distal, entretanto cerca de 5 a 10% dessa substância permanece no intestino. Dietas ricas em gorduras promovem um aumento da secreção de ácidos biliares e parte dessa substância que escapa da circulação entero-hepática é utilizada como substrato por bactérias residentes no intestino humano para produção de ácido biliar secundário (MOKKALA et al. 2019). Os ácidos biliares quando presentes em maior quantidade inibem o crescimento de bactérias que não toleram essa substância, e favorecem o crescimento e sobrevivência de bactérias que metabolizam os ácidos biliares como as do filo *Proteobacteria* (WAHLSTRÖM et al., 2016).

A proliferação de bactérias gram-negativas do filo *Proteobacteria*, estimulado pelo consumo de dietas ricas em gorduras, ácidos graxos saturado e colesterol, pode favorecer o aumento da produção de LPS intestinal, contribuindo para o aumento da permeabilidade intestinal e dos níveis de LPS plasmáticos (BIBBÓ et al. 2016). Níveis elevados dessa endotoxina estão associados à distúrbios de motilidade intestinal como retardo do esvaziamento gástrico e disfunções esfínteriana (CERESOLA, et al., 2018).

Além da associação positiva observada entre gordura total, saturada e colesterol com o % de abundância das bactérias do filo *Proteobacteria*, foi observado também uma

associação positiva entre o consumo de PUFA e o percentual de abundância das bactérias do filo *Synergistete*. Esse filo é composto por bactérias gram-negativas patogênicas oportunistas que estão presentes em pequeno número no intestino humano (RAJILIĆ-STOJANOVIĆ et al., 2014). No entanto, a associação entre a dieta e a abundância de filo *Synergistete* na microbiota intestinal ainda é desconhecida. Como o conjunto de ácidos graxos poliinsaturados são compostos pelos ácidos graxos ômega 3 (n-3) e ômega 6 (n-6), seria necessário uma avaliação entre a associação de cada uma destes a composição da microbiota intestinal, pois estes demonstraram regular de forma distinta a microbiota intestinal segundo a literatura científica (KALIANNAN et al., 2015; SIMÕES et al., 2012)

Em relação aos MUFA, não foram observadas associações significativas com nenhum dos filios analisados, o que corrobora com os achados de Singh et al. (2017) e Wolters et al., (2018). Em contraste, no estudo de Simões et al (2013), foi observado que o consumo de MUFA em adultos saudáveis proporcionou um menor % de abundância de *Bifidobacteria* e um pequeno aumento do número de *Bacteroides spp* (SIMÕES et al., 2013).

Assim como os MUFA, o consumo de ácidos graxos trans não apresentou associação com alterações na composição da microbiota intestinal. Estudos que avaliam essa associação em humanos ainda são escassos, porém, um estudo em ratos observou uma associação positiva significativa entre a ingestão de ácidos graxos trans e a abundância de bactérias patogênicas como as do filo *Proteobacteria* e associação negativa com bactérias benéficas como as pertencentes ao filo *Bacteroidetes*, (GE et al., 2018).

A ausência de associação entre a quantidade e qualidade de lipídios consumidos pelos voluntários e o percentual de abundância de *Bifidobacterias*, *Firmicutes* e razão *Firmicutes/Bacteroidetes* revelou-se um resultado inesperado, tendo em vista os achados da literatura sobre a associação entre dietas ricas em gorduras e a abundância dessas bactérias (KIM et al., 2015; ZHU et al. 2014)

Dentre as fortalezas desse estudo podemos citar o método utilizado para a análise da microbiota fecal considerado de alta qualidade e a precisão do ajuste realizado sobre a estimativa das distribuições usuais de energia e nutrientes para a variação intra e interpessoal, corrigindo qualquer variação indesejável nas distribuições de ingestão.

Apesar dos pontos fortes do estudo, algumas limitações podem ser levantadas. Primeiramente, a microbiota intestinal pode ser influenciada por vários fatores já citados, como a ingestão de fibras, uso de bebida alcoólica, tabagismo, ingestão hídrica e a

composição corporal. Nível de estresse e composição corporal não foram controlados durante a análise, podendo ter interferido nos resultados encontrados. Outra limitação foi a utilização de registros alimentares auto referidos, instrumento sujeito a omissão de refeições ou alimentos pelos voluntários. No entanto, para minimizar essa limitação foram coletados um maior número de registro e estes foram conferidos por nutricionistas, além disso foi utilizado o recordatório de 24 horas, instrumento aplicado por nutricionistas.

6.1 Perspectivas futuras

Pode-se ressaltar algumas perspectivas futura como a utilização do sexo, ingestão de outros macronutrientes não avaliados neste trabalho, fibras, ingestão hídrica, uso de bebidas alcoólicas e tabagismo como co-variáveis, caso haja diferença entre estas variáveis e os quartis de consumo, tendo em vista que esses fatores podem contribuir para alterações na composição da microbiota intestinal.

7. Conclusão

Os achados desse estudo sugerem que a qualidade e a quantidade de lipídios dietéticos, em especial, gorduras totais, ácidos graxos saturados, colesterol e PUFA possuem associação significativa com composição da microbiota intestinal em indivíduos com constipação.

No entanto, a relação entre os lipídios dietéticos e a microbiota intestinal ainda não está completamente estabelecida, principalmente se tratando de indivíduos com constipação, sendo necessária a condução de estudos clínicos que investiguem a ação de refeições-testes sobre a microbiota e o controle de variáveis como nível de estresse e composição corporal.

8. Referências Bibliográficas

- AGANS, R. et al. Gut microbes utilize dietary fats for growth. **Appl Environ Microbiol.**, v. 84, n. 21, 2018.
- ALONSO, R.; GUARNER, F. Linking the gut microbiota to human health. **Br. J. Nutr.**, v. 2, p. 21-6, 2013.
- 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.
- BHARUCHA, A. E; PEMBERTON, J. H; LOCKE, G. R. 3rd. American Gastroenterological Association technical review on constipation. **Gastroenterol.**, v. 144, n. 1, p. 218-38, 2013.
- BIBBÒ, S. et al. The role of diet on gut microbiota composition. **Eur Rev Med Pharmacol Sci.**, v. 20, n. 22, p. 4742-49, 2016.
- BUTTÓ, L. F.; HALLER, D. Dysbiosis in intestinal inflammation: Cause or consequence. **Int J Med Microbiol.**, v. 306, n. 5, p. 302-309, 2016.
- CAO, H. Dysbiosis contributes to chronic constipation development via regulation of serotonin transporter in the intestine. **Sci Rep.**, v. 7, n. 1, p. 10322, 2017.
- CERESOLA, E. R. et al. Targeting patients' microbiota with probiotics and natural fibers in adults and children with constipation. **Eur Rev Med Pharmacol Sci**, v. 22, n. 20, p. 7045-57, 2018.
- COSTILLA, V. C.; FOXX-ORENSTEIN, A. E. Constipation Understanding Mechanisms and Management. **Clin Geriatr Med**. v. 30, n. 1, p. 107–15, 2014.
- DROSSMAN, D. A. Functional Gastrointestinal Disorders: History, Pathophysiology, Clinical Features, and Rome IV. **Gastroenterol**. vol. 150, n. 6, 2016.

DUAN, Y. et al. Inflammatory Links Between High Fat Diets and Diseases. **Front Immunol.**, v. 2018, n. 9, p. 2649, 2018.

FARMER, A. D. et al. Pathophysiology, diagnosis, and management of opioid-induced constipation. **Lancet Gastroenterol Hepatol.**, v. 3, n. 3, p. 203–12, 2018.

FAWLEY, J.; GOURLAY, D. M. Intestinal alkaline phosphatase: a summary of its role in clinical disease. **J Surg Res.**, v. 202, n. 1, p. 225–34, 2016.

FISBERG, R. M.; MARCHIONI, D. M. L. Manual para estudos populacionais de alimentação, nutrição e saúde: a experiência do inquérito de saúde em São Paulo (ISA). Grupo de Avaliação de Consumo Alimentar (GAC). São Paulo: FSP/USP; 2012.

GE, Y. et al. Effect of industrial trans-fatty acids-enriched diet on gut microbiota of C57BL/6 mice. **Eur J Nutr.**, p. 1-14., 2018.

HUANG, E. Y. et al. The role of diet in triggering human inflammatory disorders in the modern age. **Microbes Infect.**, v. 15, n. 12, p. 765-74, 2013.

HUANG, L. et al. Microbial treatment in chronic constipation. **Sci China Life Sci.**, v. 61, n. 7, p. 744-52, 2018.

IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão. Pesquisa de Orçamentos Familiares 2008/2009 – Tabelas de Composição Nutricional dos Alimentos Consumidos no Brasil. 1 ed. Rio de Janeiro: IBGE, 2011. 351p.

KALIANNAN, K. et al. A host-microbiome interaction mediates the opposing effects of omega-6 and omega-3 fatty acids on metabolic endotoxemia. **Sci Rep.**, v. 5, 2015.

KHAN, T. J. et al. Association of gut dysbiosis with intestinal metabolites in response to antibiotic treatment. **Human Microbiome Journal.**, v. 11, 2019.

KIM, S. et al. Change of fecal flora and effectiveness of the short-term VSL#3 Probiotic treatment in patients with functional constipation. **J Neurogastroenterol Motil.**, v. 21, n. 1, p. 111-20, 2015.

LEUNG, L. et al. Chronic Constipation: An Evidence-Based Review. **JABFM July-August.**, v. 24 n. 4, p. 436-51, 2011.

LOZUPONE, C.A. et al. Meta-analyses of studies of the human microbiota. **Genome Res.**, v. 23, p. 1704–14, 2013.

MAKKI, K. et al. The Impact of Dietary Fiber on Gut Microbiota in Host Health and Disease. **Cell Host & Microbe.**, v.23, p. 705–15, 2018.

MOKKALA, K. et al. Interactions of dietary fat with the gut microbiota: evaluation of mechanisms and metabolic consequences. **Clin Nutr.**, p. 30214-6, 2019.

MOREIRA, A. P. et al. Influence of high-fat diet on gut microbiota, intestinal permeability and metabolic endotoxaemia. **Br J Nutr.**, v. 108, p. 801-9, 2012.

MURPHY, E. A. et al. Influence of high-fat diet on gut microbiota: a driving force for chronic disease risk. **Curr Opin Clin Nutr Metab Care.**, v. 18, n. 5, p. 515-20, 2015

PARTHASARATHY, G. et al. Relationship Between Microbiota of the Colonic Mucosa vs Feces and Symptoms, Colonic Transit, and Methane Production in Female Patients With Chronic Constipation. **Gastroenterol.**, v. 150, p. 367–79, 2016.

PINHEIRO, A. B. V. et al. Tabela para avaliação do consumo Alimentar em Medidas Caseiras. 4ª Edição. São Paulo, 2000. E. Atheneu.

RAJILIĆ-STOJANOVIĆ, M.; VOS, W. M. The first 1000 cultured species of the human gastrointestinal microbiota. **FEMS Microbiol Rev.**, v. 38, p. 996–1047, 2014.

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

RIZZATTI, G. et al. Proteobacteria: A Common Factor in Human Diseases. **Biomed Res Int.**, v. 2017, p. 1-7, 2017.

SCHMULSON, M. J.; DROSSMAN, D. A. What Is New in Rome IV. **J Neurogastroenterol Motil.**, v. 23, p. 151–163, 2017.

SHIN, A. et al. The Gut Microbiome in Adult and Pediatric Functional Gastrointestinal Disorders. **Clin Gastroenterol Hepatol.**, v. 17, p. 256-74, 2017.

SIMÕES, C. D. et al. Habitual dietary intake is associated with stool microbiota composition in monozygotic twins. **J Nutr.**, v. 143, p. 417-23, 2013.

SINGH, R. K. Influence of diet on the gut microbiome and implications for human health. **J Transl Med.**, v. 15, p. 73, 2017.

SOBRADO, C. W., et al. Diagnosis and treatment of constipation: a clinical update based on the Rome IV criteria. **J Coloproctol.**, v. 38, n. 2, p. 137-44, 2018.

SUARES, N. C.; FORD, A. C. Prevalence of, and Risk Factors for, Chronic Idiopathic Constipation in the Community: Systematic Review and Meta-analysis. **Am J Gastroenterol.**, v. 106, n. 9, p. 1582-91, 2011.

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

WOLTERS, M. et al. Microbiota, and metabolic health – A systematic review conducted within the MyNewGut project. **Clin Nutr.**, v.0, n. 0, 2018.

ZHU, L. et al. Structural changes in the gut microbiome of constipated patients. **Physiol Genomics.**, v. 46, n. 18, p. 679-86, 2014.