

Alisson Padilha de Lima

Efeitos de um programa de exercícios físicos na microbiota intestinal de mulheres obesas submetidas à cirurgia bariátrica: um estudo clínico e randomizado

(Versão corrigida. Resolução CoPGr nº 6018, de 13 de outubro de 2011, a versão original está disponível na biblioteca da FMUSP)

São Paulo

2023

Alisson Padilha de Lima

Efeitos de um programa de exercícios físicos na microbiota intestinal de mulheres obesas submetidas à cirurgia bariátrica: um estudo clínico e randomizado

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências.

Programa de Ciências do Sistema Musculoesquelético

Orientadora: Profa. Dra. Fabiana Braga Benatti

Coorientadora: Profa. Dra. Carolina Nicoletti Ferreira Fino

(Versão corrigida. Resolução CoPGr nº 6018, de 13 de outubro de 2011, a versão original está disponível na biblioteca da FMUSP)

São Paulo

2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Lima, Alisson Padilha de
Efeitos de um programa de exercícios físicos na
microbiota intestinal de mulheres obesas submetidas
à cirurgia bariátrica : um estudo clínico e
randomizado / Alisson Padilha de Lima. -- São
Paulo, 2023.

Tese (doutorado) -- Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo.

Programa de Ciências do Sistema
Musculoesquelético.

Orientadora: Fabiana Braga Benatti.

Coorientadora: Carolina Nicoletti Ferreira Fino.

Descritores: 1.Cirurgia bariátrica 2.Exercício
físico 3.Microbiota gastrointestinal 4.Obesidade
5.Mulheres

USP/FM/DBD-479/23

Responsável: Erinalva da Conceição Batista, CRB-8 6755

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a Deus, a toda minha família, em especial a minha irmã, mãe e ao meu pai (in memoriam), a minha esposa, a todas as pacientes, professores, pesquisadores e a Ciência Brasileira.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus e a Nossa Senhora Aparecida por ter iluminado a minha caminhada durante todo esse processo de aprendizagem e me guiado durante os momentos de maior dificuldade.

Aos meus pais e maiores mestres, Marli Padilha de Lima e Nilson Fernandes de Lima (*in memoriam*) por sempre ter me inspirado, incentivado e ensinado todos os valores, caminhos e educação ao longo da minha vida.

A minha irmã Nilcéia Padilha de Lima por todo o apoio incondicional, amizade, companheirismo, incentivo e ajuda nesse processo de formação.

A minha esposa Cleusenir de Carvalho por todo o amor, apoio, amizade, companheirismo, compreensão da minha ausência, dedicação, e incentivo ao longo desse tempo.

Aos professores, Dr. Bruno Gualano e Hamilton Roschel pela oportunidade de estar participando do seletivo Grupo de Pesquisa em Fisiologia Aplicada e Nutrição e por todas as contribuições e ensinamentos acadêmicos e científicos ao longo dessa trajetória.

A minha orientadora Dra. Fabiana Braga Benatti por todo apoio, dedicação, incentivo, ensinamentos e persistência ao longo desse projeto tão desafiador, e pela imensurável contribuição na minha formação acadêmica, científica e crescimento pessoal.

A minha Coorientadora Dra. Carolina Nicoletti Ferreira Fino pela amizade, apoio e por todas as contribuições e ensinamentos durante esse processo.

A professora Dra. Adriane Elisabete Antunes de Moraes por todo apoio, contribuição e parceria na construção e execução desse projeto de pesquisa.

Aos professores e chefes do Centro de referência em Cirurgia Bariátrica e Metabólica do HCFMUSP, Dr. Marco Aurélio Santo e Dr. Roberto de Cleva, pelo imenso apoio, contribuição e parceria na realização das cirurgias bariátricas.

Ao Dr. Samuel Katsuyuki Shinjo responsável do Laboratório de Miopatias Inflamatórias da FMUSP pelo apoio incondicional e contribuição na pesquisa científica. A técnica Maria Aurora Gomes da Silva pelo apoio e ajuda em todos os momentos, e aos colegas Alexandre, Rafael e Isabela.

As técnicas do Laboratório de Imunologia Humoral da FMUSP, Margarete Borges Galhardo Vendramini e a Elaine Pires Leon pelo imensurável apoio, suporte e contribuição nas análises laboratoriais, minha gratidão.

As técnicas do Laboratório de Metabolismo Ósseo da FMUSP, Liliam e Elaine pela ajuda e contribuição na realização dos exames de densitometria.

A todos os colegas do Grupo de Pesquisa em Fisiologia Aplicada e Nutrição e em especial ao time bariátricos, pela ajuda e contribuição no decorrer do projeto (Carlos Meregé, Diego Rezende, Igor Murai, Saulo Gil e Wagner Dantas).

As minhas amigas e integrantes do “*Poop Group*”, Marina Romero e Juliana Bueno que compartilharam todos os anseios e dificuldades, além de contribuírem expressivamente na realização desse projeto.

As técnicas Janice Salustiano e Ana Paula, do Laboratório de Condicionamento em Reumatologia (LACRE) por todo o apoio e disponibilidade em me ajudar nas tarefas realizadas no ambiente hospitalar.

As enfermeiras Graça, Patricia e Andréia que contribuíram imensuravelmente para as coletas sanguíneas no decorrer de todo o projeto.

As médicas e pesquisadoras do LACRE, Dra. Ana Lúcia de Sá Pinto e Dra. Fernanda Rodrigues Lima por todo o apoio e trabalho realizado frente ao laboratório.

As funcionárias da secretaria da Reumatologia (Claudia, Lu e Mayra), por sempre estarem dispostas a ajudar e orientar no que fosse necessário no processo de formação.

A Tânia e Rosana, secretárias da pós-graduação do Instituto de Ortopedia e Traumatologia, por sempre estarem dispostas a ajudar e a tirar dúvidas.

À todas as pacientes e voluntárias desse desafiador projeto de pesquisa, que aceitaram participar e contribuir para a ciência e para minha formação profissional.

A Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina e ao Hospital das Clínicas, os quais oferecem infraestrutura e as melhores condições aos pacientes e ao desenvolvimento da pesquisa científica de qualidade.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro (88887.473556/2020-00) e auxílio na realização desse processo de formação profissional.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. A razão para a prescrição de exercícios após a cirurgia bariátrica	26
Figura 2. Desenho Experimental	32
Figura 3. Fluxograma das pacientes	44
Figura 4. Marcadores inflamatórios dos grupos RGYB, RGYB+TF e CTRL	53
Figura 5. Respostas glicêmica e insulinêmica durante o Teste Oral de Tolerância à Glicose (OGTT)	55
Figura 6. Índices de sensibilidade à insulina derivados do Teste Oral de Tolerância à Glicose (OGTT)	56
Figura 7. Índices de sensibilidade à insulina de jejum dos grupos RGYB, RGYB+TF e CTRL	57
Figure 8. Em muitas profundidades de subamostragem, o número de ASVs distintos é calculado e esses valores são plotados em relação à profundidade de sequenciamento correspondente	60
Figura 9. Prevalência vs. abundância de ASVs estratificada por Filo, após filtragem	61
Figure 10. Abundância dos 30 gêneros mais presentes, independente do grupo ou tempo avaliado	61
Figura 11. Visualização da prevalência de amostras através dos limites de abundância por Filo	62
Figura 12. Perfis taxonômicos para todas as amostras	63
Figura 13. Medidas de alfa-diversidade nos grupos RGYB + TF, RGYB e CTRL	64
Figura 14. Diversidade beta nos grupos RGYB + TF e RGYB	65
Figura 15. Diversidade beta nos grupos RGYB + TF, RGYB e CTRL nos tempos PRÉ (A), PÓS 3 (B) E PÓS 9 (C)	66
Figura 16. Diversidade beta nos grupos RGYB e RGYB + TF nos tempos PRÉ (A), PÓS 3 (B) E PÓS 9 (C)	67
Figura 17. Análise de abundância diferencial intra e entre os grupos RGYB e RGYB + TF	68
Figura 18. Análise de abundância diferencial intra e entre os grupos RGYB, CTRL e RGYB + TF	69

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Características das pacientes no período PRÉ (n= 32)	45
Tabela 2. Efeitos de um programa de exercício físico medidas antropométricas e composição corporal em mulheres submetidas a cirurgia bariátrica	46
Tabela 3. Efeitos de um programa de exercício físico na capacidade física e funcional de mulheres submetidas a cirurgia bariátrica (n= 32)	48
Tabela 4. Efeitos de um programa de exercício físico no comportamento sedentário e nível de atividade física de mulheres submetidas a cirurgia bariátrica (n= 32)	49
Tabela 5. Efeitos de um programa de exercício nos marcadores bioquímicos, inflamatórios e índices de sensibilidade à insulina em mulheres submetidas a cirurgia bariátrica (n= 32)...	50
Tabela 6. Efeitos de um programa de exercício físico no consumo alimentar de mulheres submetidas a cirurgia bariátrica (n= 32)	58
Tabela 7. Efeitos de um programa de exercício físico na concentração fecal de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) de mulheres submetidas a cirurgia bariátrica (n= 32)	59

LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E SIGLAS

AGCC	Ácidos Graxos de Cadeia Curta
AUC	<i>Area Under the Curve</i>
CMO	Conteúdo Mineral Ósseo
CT	Colesterol Total
CTX	Colágeno do tipo I C-Telopectídeo
DXA	Absorptiometria por Dupla Fonte de Raio-X
DM2	Diabetes Mellitus tipo 2
DNA	<i>Desoxyribonucleic Acid</i>
DKK1	Dickkopf-1
EUA	Estados Unidos da América
FA	Fosfatase Alcalina
FC	Frequência Cardíaca
FMD	<i>Flow-Mediated Dilation</i>
GGT	Gama Glutamil Transpeptidase
GLP-1	<i>Glucagon-Like Peptide-1</i>
GPR	Receptor Acoplado a Proteína G
GV	Gastrectomia Vertical
HbA1C	Hemoglobina Glicada
HCFMUSP	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
HDL	Lipoproteína de Alta Densidade
IL	Interleucina
IMC	Índice de Massa Corporal
IMM	Índice de Massa Muscular
kg	Quilograma
La	Limiar aeróbio
LACRE	Laboratório de Avaliação e Condicionamento em Reumatologia
LAV	Limiar Anaeróbio Ventilatório
LDL	Lipoproteína de Baixa Densidade
LIM	Laboratório de Investigação Médica

MCP-1	<i>Monocyte Chemoattractant Protein-1</i>
MI	Microbiota Intestinal
OTUs	<i>Operational Taxonomic Units</i>
PA	Pressão Arterial
pH	potencial Hidrogeniônico
PCR	Ponto de Compensação Respiratória
PetO ₂	Pressão Parcial de Oxigênio
PINP	Pró-colágeno tipo I N-pro-peptídeo
QIIME	<i>Quantitative Insights Into Microbial Ecology</i>
RCE	Relação Cintura/Estatura
RCQ	Relação Cintura/Quadril
RNA	<i>Ribonucleic Acid</i>
RYGB	<i>Roux-en-Y Gastric Bypass</i>
TG	Triglicerídes
TGO	Aspartato Aminotransferase
TGP	Alanina Aminotransferase
TMAO	<i>Trimethylamine N-Oxide</i>
TNF- α	Fator de Necrose Tumoral
TOTG	Teste Oral de Tolerância à Glicose
TLR-4	<i>Toll Like Receptor-4</i>
VE	Ventilação Pulmonar
VE/ VO ₂	Equivalente Ventilatório de Oxigênio
VE/ VCO ₂	Equivalente Ventilatório de Dióxido de Carbono
VIGITEL	Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico
VO ₂ pico	Volume de Oxigênio Máximo
VLDL	Lipoproteína de Densidade Muito Baixa
Wnt	<i>Wingless and Int-1</i>

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	14
2. OBJETIVOS	15
2.1 Objetivo Geral	15
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
3.1 Epidemiologia da obesidade	16
3.2 Obesidade, risco cardiometabólico e microbiota intestinal	17
3.2.1 Metabolismo energético e metabólitos da microbiota intestinal na obesidade	20
3.3 Cirurgia bariátrica e microbiota intestinal	22
3.4 Exercício físico e cirurgia bariátrica	25
3.5 Exercício Físico e microbiota intestinal	29
4. MÉTODOS	31
4.1 Delineamento Experimental	31
4.2 Recrutamento e seleção das participantes	32
4.3 Programa de Treinamento Físico	33
4.3.1 Alterações metodológicas do programa de treinamento	34
4.4 Avaliação Antropométrica e da Composição Corporal	35
4.5 Avaliação da aptidão aeróbia	36
4.6 Avaliação da força máxima dinâmica e funcionalidade	36
4.7 Avaliação do nível de atividade física	37
4.8 Avaliação nutricional	38
4.9 Avaliação sanguínea	38
4.10 Avaliação da microbiota intestinal e dos ácidos graxos de cadeia curta	39
4.11 Tratamento estatístico	42
5. RESULTADOS	43
6. DISCUSSÃO	70
7. CONCLUSÕES.....	74
REFERÊNCIAS	75

RESUMO

Lima AP. Efeitos de um programa de exercícios físicos na microbiota intestinal de mulheres obesas submetidas à cirurgia bariátrica: um estudo clínico e randomizado [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2023.

A cirurgia bariátrica é considerada hoje o principal tratamento para a obesidade mórbida. Embora esteja associada à melhora de diversas comorbidades associadas à obesidade em curto prazo, estudos com seguimentos mais longos (>12 meses pós-cirúrgicos) sugerem que diversos efeitos protetores da cirurgia por si só parecem ser transitórios na ausência de mudanças do estilo de vida. Sabe-se que a cirurgia bariátrica parece impactar substancialmente a diversidade da microbiota, tornando-a mais próxima daquela observada em pacientes menos obesos ou eutróficos. Dados recentes sugerem ainda que o exercício físico em intensidade moderada, pode levar ao aumento da diversidade da microbiota intestinal. Dessa forma, o objetivo desse estudo é avaliar os efeitos de um programa de treinamento físico sobre a composição e diversidade da microbiota intestinal, composição corporal e fatores de risco cardiometabólicos em mulheres obesas submetidas à cirurgia bariátrica. Após a triagem, as participantes foram randomizadas em dois grupos: grupo submetido ao programa de treinamento físico após a cirurgia bariátrica (treinamento de força + treinamento aeróbio; RYGB + TF) e o grupo não submetido ao treinamento físico após a cirurgia bariátrica pela técnica de derivação gastrointestinal e reconstrução em Y de Roux (RYGB). Todas as participantes foram submetidas à cirurgia bariátrica RYGB, que combina procedimentos restritivos e mal absorptivos. Três meses após a cirurgia, as participantes do grupo RYGB + TF deram início ao programa de treinamento físico com seis meses de duração. No período basal (PRÉ), três meses após a cirurgia bariátrica (3 MESES) e seis meses após o treinamento físico (9 MESES), as pacientes realizaram avaliações da composição e diversidade da microbiota intestinal, composição corporal, avaliações sanguíneas, avaliação da capacidade física e funcional, nível de atividade física, inflamação sistêmica, e avaliação nutricional. Um grupo controle saudável (CTRL) composto por voluntárias pareadas por sexo e idade foram avaliadas unicamente no período PRÉ para fins de referência. Participaram dessa pesquisa 32 mulheres que realizaram a cirurgia bariátrica e 16 mulheres com hábitos saudáveis e que não realizaram cirurgia bariátrica. Dessa forma, foram alocadas (16) no grupo RYGB + TF, (16) no grupo RYGB e (16) no grupo controle saudável. A cirurgia bariátrica foi efetiva na melhora do perfil lipídico e de todos os índices de sensibilidade à insulina, tendo o treinamento físico exercido efeito benéfico aditivo, embora modesto, apenas nas concentrações de HDL-colesterol, triglicérides, peptídeo C de jejum, glicemia de jejum e nas concentrações de proteína C-reativa, IL-1ra e IL-1β. Em relação à microbiota intestinal, a cirurgia bariátrica levou ao aumento da riqueza, enquanto o treinamento físico também levou ao aumento da uniformidade e do índice de diversidade Shannon da microbiota intestinal das pacientes. Embora não tenhamos observado diferenças na beta diversidade da microbiota intestinal entre os grupos bariátricos ao longo da intervenção, foram observadas diferenças na abundância diferencial de alguns gêneros do PRÉ para o PÓS 9, com expressivo aumento do gênero *Granulicatella* e *Rothia* no grupo treinado, e relevante aumento nos gêneros *Escherichia/Shigella* e *Streptococcus*, e uma diminuição acentuada nos gêneros *Flavonifractor*, *Turicibacter* e *Mesosutterella* e diminuição no gênero *Anaerostipes* no grupo não treinado apenas, sugerindo que o treinamento físico modulou de forma diferente, mesmo que modestamente, a composição da microbiota intestinal das pacientes bariátricas. Nossos achados indicam que cirurgia bariátrica levou a mudanças positivas na composição e diversidade da microbiota intestinal, enquanto o treinamento físico parece ter exercido efeitos benéficos aditivos, ainda que modestos, nestes parâmetros, os quais podem estar associados às melhorias, também modestas, de alguns parâmetros metabólicos, inflamatórios e de capacidade física dessas pacientes. Esses dados corroboram dados anteriores do nosso e de outros grupos, que mostraram efeitos benéficos importantes do treinamento físico após a cirurgia bariátrica em mulheres, sugerindo um mecanismo de ação que possa explicar, mesmo que parcialmente, esses achados.

Palavras-chave: Cirurgia bariátrica. Exercício físico. Microbiota gastrointestinal. Obesidade. Mulheres.

ABSTRACT

Lima AP. Effects of a physical exercise program on the intestinal microbiota of obese women undergoing bariatric surgery: a randomized clinical study [thesis]. São Paulo: “Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo”; 2023.

Bariatric surgery is today considered the main treatment for morbid obesity. Although it is associated with improvement in several comorbidities associated with obesity in the short term, studies with longer follow-ups (>12 months' post-surgery) suggest that several protective effects of surgery alone appear to be transient in the absence of lifestyle changes. It is known that bariatric surgery appears to substantially impact the diversity of the microbiota, making it closer to that observed in less obese or eutrophic patients. Recent data also suggest that moderate-intensity physical exercise can lead to an increase in the diversity of the intestinal microbiota. Therefore, the objective of this study is evaluate the effects of a physical training program on the composition and diversity of the intestinal microbiota, body composition, and cardiometabolic risk factors in obese women undergoing bariatric surgery. After screening, the participants were randomized into two groups: the group submitted to the physical training program after bariatric surgery (strength training + aerobic training; RYGB + TF) and the group not undergoing physical training after bariatric surgery using the technique of gastrointestinal bypass and Roux-en-Y reconstruction (RYGB). All participants underwent RYGB bariatric surgery, which combines restrictive and malabsorptive procedures. Three months after surgery participants in the RYGB + TF group began a six-month physical training program. In the baseline period (PRE), three months after bariatric surgery (3 MONTHS) and six months after physical training (9 MONTHS), patients underwent assessments of the composition and diversity of the intestinal microbiota, body composition, blood assessments, assessment of physical capacity physical and functional status, level of physical activity, systemic inflammation, and nutritional assessment. A healthy control group (CTRL) composed of volunteers matched by sex and age were evaluated solely in the PRE period for reference purposes. Thirty-two women who underwent bariatric surgery and sixteen women with healthy habits who did not undergo bariatric surgery participated in this research. Thus, (16) were allocated to the RYGB + TF group, (16) to the RYGB group and (16) to the healthy control group. Bariatric surgery was effective in improving the lipid profile and all indices of insulin sensitivity, with physical training having an additive beneficial effect, although modest, only on the concentrations of HDL-chol, triglycerides, fasting C-peptide, fasting blood glucose and in the concentrations of C-reactive protein, IL-1 α and IL-1 β . Regarding the intestinal microbiota, bariatric surgery led to increased richness, while physical training also led to increased uniformity and the Shannon diversity index of patients' intestinal microbiota. Although we did not observe differences in the beta diversity of the intestinal microbiota between the bariatric groups throughout the intervention, differences observed in the differential abundance of some genera from PRE to POST 9, with a significant increase in the genera *Granulicatella* and *Rothia* in the trained group, and relevant increase in the genera *Escherichia/Shigella* and *Streptococcus*, and a marked decrease in the genera *Flavonifractor*, *Turicibacter* and *Mesosutterella* and a decrease in the genus *Anaerostipes* in the untrained group alone, suggesting that physical training modulated differently, even if modestly, the composition of the intestinal microbiota of bariatric patients. Our findings indicate that bariatric surgery led to positive changes in the composition and diversity of the intestinal microbiota, while physical training appears to have exerted additive, albeit modest, beneficial effects on these parameters, which may be associated with improvements, also modest, in some metabolic, inflammatory and physical capacity parameters of these patients. These data corroborate previous data from ours and other groups, which showed important beneficial effects of physical training after bariatric surgery in women, suggesting a mechanism of action that could explain, even partially, these findings.

Keywords: Bariatric surgery, Exercise, Gastrointestinal microbiome, Obesity, Women.

1 INTRODUÇÃO

A cirurgia bariátrica é atualmente considerada uma opção terapêutica eficaz por induzir a perda de peso a longo prazo e reduzir a carga de comorbidades e mortalidade em pacientes com obesidade grave^{1,2}. Estimativas globais de 2014 apontaram que mais de 579.517 cirurgias bariátricas foram realizadas, com maior número de operações nos Estados Unidos (191.920), seguidos pelo Brasil (97.480), França (46.960) e Argentina (36.668)³.

Nesse contexto, a cirurgia bariátrica é uma evidente estratégia para o tratamento da obesidade grave, não só pelos seus efeitos substanciais na perda de peso corporal (até 40% do peso corporal inicial)⁴, mas também pela melhora de várias comorbidades, como síndrome metabólica, resistência à insulina, diabetes mellitus tipo 2 (DM2)^{5,6}, hipertensão arterial, inflamação^{7,8}, função endotelial⁹, dislipidemias e disfunção autonômica¹⁰, em até 12 meses após a cirurgia. Um estudo clínico atual com seguimento de 5 anos, mostrou que os efeitos benéficos da CB no controle glicêmico foram duráveis, mesmo entre pacientes com sobrepeso e obesidade (Índice de Massa Corporal - IMC de 27 a 34 kg/m²), o que levou a uma redução sustentada no uso de medicamentos para doenças cardiovasculares e diabetes¹¹. No entanto, estudos com seguimento mais longos demonstram efeitos benéficos menos consistentes^{12,13,14}, nos quais o reganho de peso e a recidiva do diabetes foram apontados como possíveis problemas para alguns pacientes^{15,16,17}.

A combinação de cirurgia bariátrica e exercício físico tem sido sugerida como uma estratégia promissora para influenciar positivamente a obesidade, não apenas pela manutenção da perda de peso em longo prazo, mas também por melhorias nos parâmetros cardiometabólicos¹⁹ e comorbidades associadas¹⁸. Os potenciais mecanismos pelos quais o exercício físico pode promover benefícios na saúde metabólica de pacientes que realizaram cirurgia bariátrica incluem aumento no gasto energético da atividade², preservação da massa muscular e funcionalidade²⁰, atenuação da perda de massa óssea²¹, melhora da sensibilidade à insulina^{22,23}, melhora da capacidade cardiorrespiratória e função autonômica^{19,24}.

Da mesma forma, está bem estabelecido que os procedimentos de cirurgia bariátrica modificam estrategicamente a anatomia intestinal, reduzindo o estômago e/ou o tamanho da área de absorção, promovendo mudanças na absorção de nutrientes²⁵, secreção de hormônios gastrointestinais²⁶ e, ainda, exercendo efeitos na microbiota intestinal (MI)²⁷.

Diversos estudos sugerem que a composição e a diversidade da microbiota intestinal estão diretamente relacionadas à obesidade e comorbidades associadas, como a DM2²⁸. Em

consonância com isso, a MI de indivíduos obesos parece favorecer, por exemplo, o armazenamento de gordura como tecido adiposo e a inflamação sistêmica²⁹. De fato, há evidências de mudanças funcionais e taxonômicas observadas nas comunidades microbianas intestinais após a cirurgia bariátrica^{30,31}. Curiosamente, diferentes tipos de cirurgia bariátrica podem beneficiar de forma diferentes a diversidade da MI, de modo que a derivação gástrica em Y de Roux do “inglês” *Roux-en-Y Gastric Bypass* (RYGB) parece resultar no aumento dos filos Firmicutes e Actinobacteria, mas diminuir o filo Bacteroidetes, enquanto a gastrectomia vertical (GV) parece aumentar o filo Bacteroidetes³².

Além disso, dados recentes sugerem que o exercício físico de intensidade moderada pode levar ao aumento na diversidade da MI de forma semelhante ao da GV, por aumentar o filo de Bacteroidetes, e diferente na RYGB diminuindo a relação de Firmicutes/Bacteroidetes³³. Segundo Allen et al.³⁴ o treinamento físico induz mudanças na composição e na função da MI humana que são dependentes do estado de obesidade, mas independentes da dieta e contingentes à manutenção do exercício. Por outro lado, um ensaio clínico recente, indica que o exercício estruturado pode induzir pequenas mudanças na MI de adultos com excesso de peso e obesidade, e que o efeito depende do regime de exercícios e pode ser secundário a mudanças na dieta³⁵. Contudo, não há estudos clínicos, randomizados e controlados que possam atestar os benefícios do exercício físico sobre a diversidade da microbiota intestinal em pacientes submetidos à cirurgia bariátrica.

2 OBJETIVO

2.1 Objetivo geral

Avaliar os efeitos de um programa de treinamento físico sobre a composição e a diversidade da microbiota intestinal, composição corporal e fatores de risco cardiometabólicos em mulheres obesas submetidas à cirurgia bariátrica.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Epidemiologia da obesidade

A obesidade já é considerada uma pandemia e um dos maiores problemas de saúde pública global^{36,37}. Impulsionados pelo crescimento econômico, industrialização, transporte mecanizado, urbanização, estilo de vida cada vez mais sedentário e transição nutricional para alimentos processados e dietas altamente calóricas nos últimos 30 anos, muitos países testemunham aumento expressivo da prevalência da obesidade³⁷. De fato, a obesidade mundial quase triplicou desde 1975. Em 2016, mais de 1,9 bilhão de adultos apresentavam excesso de peso, correspondendo a 39% da população. Destes, mais de 650 milhões eram obesos (IMC \geq 30 Kg/m²) equivalentes a 16% dos adultos³⁸. De forma ainda mais alarmante, estima-se que a quantidade de pessoas com obesidade grave (IMC \geq 40 Kg/m²) tenha aumentado em até cinco vezes nos últimos 15 anos^{39,40}.

No Brasil, a última pesquisa de Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico (VIGITEL - 2023), aponta que a frequência de excesso de peso (IMC \geq 25 kg/m²) foi de 61,4% na população acima dos 18 anos, sendo maior entre os homens (63,4%) do que entre as mulheres (59,6%)⁴¹. Enquanto que, a frequência de adultos obesos (IMC \geq 30 kg/m²) foi de 24,3%, semelhante entre as mulheres (24,8%) e os homens (23,8%), dados estes alarmantes para a saúde pública do país⁴¹. Além disso, a frequência de obesidade teve uma maior tendência nas faixas etárias com a idade até os 54 anos na população total e para os homens, e até 64 anos para mulheres. Contudo, na população total e para as mulheres, a frequência de obesidade diminuiu com o aumento da escolaridade⁴¹.

O aumento da prevalência de sobrepeso e obesidade na população Brasileira fica mais evidente na análise temporal do VIGITEL, realizada entre os anos de 2006 a 2019 com 730.309 adultos⁴². Esse estudo demonstrou que a prevalência de excesso de peso aumentou de 42,6% em 2006 para 55,4% em 2019 (2,05% - Ano) e a de obesidade cresceu de 11,8% em 2006 para 20,3% em 2019 (3,8% - Ano)⁴².

Já em São Paulo, a maior capital Brasileira, a prevalência de excesso de peso já afeta mais da metade da população adulta com 63,0%, tendo as maiores prevalências entre os homens (66,8%) comparado com as mulheres (59,8%). Entretanto, os níveis de obesidade também aumentam expressivamente e afetam 23,4% dos adultos, com maior prevalência entre os homens (25,6%) do que as mulheres (25,6%)⁴¹.

3.2 Obesidade, risco cardiometabólico e microbiota intestinal

A obesidade é caracterizada pelo acúmulo excessivo de gordura corporal ($\text{IMC} \geq 30 \text{ Kg/m}^2$)³⁸. É uma doença complexa em sua patogênese e multifatorial⁴³, relacionada aos aspectos biológicos⁴⁴, psicossociais⁴⁵, socioeconômicos⁴⁶, fatores ambientais e heterogeneidade nas vias e mecanismos que podem levar a efeitos prejudiciais à saúde^{47,48}. Também é associada ao aumento de riscos cardiometabólicos e contribui diretamente para aumento de riscos cardiovasculares, incluindo dislipidemias, DM2, hipertensão e desordens do sono (apneia obstrutiva do sono)⁴⁹.

Estudos sugerem que a obesidade está associada ao desequilíbrio energético, o qual pode decorrer de desregulações de sinalização de apetite central e recompensa alimentar em interação direta com alterações biológicas, histológicas, imunológicas e metabólicas nos tecidos adiposo, hepático, muscular, cerebral e intestinal (especialmente na microbiota)^{36,37}. Ademais, a obesidade pode ser caracterizada por inflamação sistêmica de baixo grau, potencializando os riscos para resistência à insulina e podendo desencadear diabetes⁵⁰. Esta inflamação de baixo grau parece decorrer do aumento e hipóxia do tecido adiposo, que consequentemente ativa o sistema imune inato e libera substâncias pró-inflamatórias como os ácidos graxos livres⁵¹, por meio de receptores conhecidos como *Toll Like Receptor-4* (TLR-4), influenciando a produção da citocina pró-inflamatória nomeada de fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) secretada dos macrófagos que retroalimentam a liberação de estímulos pró-inflamatórios em um ciclo vicioso⁵¹.

Nesse contexto, a compreensão da interação entre a obesidade e a MI é pivotal para a saúde humana, e pode desempenhar um importante papel na fisiopatologia dessa doença⁵², haja vista que o organismo obeso ($\text{IMC} \geq 30 \text{ Kg/m}^2$) possui uma menor riqueza e diversidade microbiana, bem como uma menor contagem de genes microbianos comparados a indivíduos com peso normal⁵².

O organismo humano possui uma ampla diversidade de bactérias na MI, com aproximadamente 100 trilhões (entre 10^{11-13}), cerca de 1.200 espécies bacterianas importantes⁵³. Conforme o relevante mapeamento das células humanas e bactérias, realizado por Sender et al.⁵³, estima-se que o número total de bactérias em um “homem de referência” de 70 Kg seja de $3,8 \cdot 10^{13}$. Curiosamente, o número de células humanas é de aproximadamente $3,0 \cdot 10^{13}$, mostrando que o número de bactérias no corpo é na verdade da mesma ordem que o número de

células humanas e sua massa total é de cerca de 0,2 kg⁵³. Mais importante do que o número de células, é a quantidade de genes que nós apresentamos no genoma da microbiota: aproximadamente 3 milhões de genes, contra 28 mil do genoma humano, ou seja, 100 vezes mais genes apresentados pelo microbioma bacteriano⁵⁴.

A microbiota humana é extremamente diferente em cada área e em cada órgão em que se encontra presente. A pele, por exemplo, tem uma diversidade de espécies bacterianas completamente diferente da do intestino⁵⁵. Interessantemente, é no trato gastrointestinal, mais especificamente no cólon, que temos 70% da microbiota humana (10^{13} organismos), divididos quase que por igual, em dois filos: Firmicutes e os Bacteroidetes⁵⁵. Também habitam a MI outros filos de bactérias que incluem Proteobacteria, Verrucomicrobia, Actinobacteria, Fusobacteria e Cyanobacteria⁵⁶. Ainda no que diz respeito a colonização da MI, além dos filos, nós podemos seguir uma taxonomia de classe, ordem, família, gênero e espécie⁵⁷. A microbiota humana é adquirida e consolidada de diversas formas: como o tipo de parto realizado (maior diversidade para parto normal ou natural), prática de aleitamento materno, tipo de dieta introduzida (variada com alimentos naturais de preferência), faixa etária, estado nutricional que se encontra e utilização de antibióticos^{58,59,60}. Ademais, outras características que incluem adiposidade corporal, dislipidemia, dietas, resistência à ação da insulina e doenças crônicas serão discutidos a seguir.

A composição da MI mesmo que seja relativamente diversa em indivíduos saudáveis, é impactada pela alta adiposidade, resistência à insulina e dislipidemia (características da obesidade), características essas associadas a uma baixa contagem de genes bacterianos, representando uma MI pobre em diversidade⁶¹. Nesse sentido, o grupo de ciências do genoma, liderados pelo professor Jeffrey Gordon da Universidade de Washington foi um dos precursores a tentar elucidar cientificamente a relação entre os efeitos da obesidade na diversidade da MI⁶².

Esse primeiro estudo identificou através do sequenciamento do gene “*Ribonucleic Acid* - RNA” ribossomal 16S, uma menor abundância do filo Bacteroidetes e um aumento significativo dos níveis de Firmicutes em um modelo de camundongo obeso com deficiência de leptina (gene ob/ob)⁶². Posteriormente, ainda em modelo animal, o mesmo grupo demonstrou o aumento da razão Firmicutes *versus* Bacteroidetes da sigla em inglês “*Desoxyribonucleic Acid* - DNA” bacteriano fecal de murinos (roedores da família Muridae) obesos em comparação com indivíduos magros, utilizando uma nova técnica de sequenciamento metagenômico denominado de *Shotgun* (método usado para sequenciamento de fitas longas de DNA)⁶³.

Conforme Ley et al.²⁸ dois grupos de filos de bactérias benéficas são dominantes no intestino humano, as Bacteroidetes (composto por bactérias gram-negativas) e as Firmicutes (composto por bactérias gram-positivas), ambas associadas à saúde intestinal e prevenção de doenças. Além disso, os autores mostraram que a relação/proporção de Bacteroidetes é diminuída em pessoas obesas quando comparadas a indivíduos magros, e que essa proporção pode aumentar com a perda de peso em dois tipos de dieta de baixa caloria (restrição de gordura e carboidrato)²⁸. Essas descobertas apontam que a obesidade tem um componente microbial específico e que pode ter uma potencial implicação terapêutica²⁸.

Le Chatelier et al.⁶¹ testaram a variação da MI em nível de gênero e espécie que poderia prever quais indivíduos adultos estariam sob maior risco de desenvolver distúrbios metabólicos relacionados à obesidade. Os autores avaliaram o número de genes bacterianos intestinais de indivíduos eutróficos e obesos e encontraram uma distribuição bimodal de genes bacterianos, separados em dois grupos: um com baixa contagem de genes e outro com alta contagem de genes bacterianos⁶¹. Os resultados desse estudo demonstraram que nos casos com alta contagem de genes predominavam espécies bacterianas consideradas anti-inflamatórias, como *Faecalibacterium prausnitzii*, e gêneros como *Akkermansia* e *Bifidobacterium*. Já nos casos com baixa contagem de genes eram mais abundantes as bactérias pró-inflamatórias, como *Bacteroides* e *Ruminococcus gnavus*, relacionadas a doença inflamatória intestinal⁶¹.

Diferentes gêneros de bactérias, como *Clostridium* e *Lactobacillus* estão relacionadas com a resistência à insulina⁶⁴. *Clostridium* também foi associada negativamente aos níveis de glicose em jejum e hemoglobina glicada (HbA1c), ao contrário da abundância de *Lactobacillus* que apresentou correlações positivas com esses marcadores⁶⁴. Também nesse contexto, Million et al.⁶⁵ avaliaram a composição das bactérias intestinais de pacientes obesos, demonstrando que as espécies de *Lactobacillus paracasei* eram menos abundantes em obesos quando comparados a pacientes magros. Inversamente, os *Lactobacillus reuteri* e *Lactobacillus gasseri* foram associados positivamente à obesidade⁶⁵. De forma conjunta, esses resultados demonstram um envolvimento específico das bactérias intestinais no início ou na manutenção da obesidade.

Nesse sentido, em pesquisa publicada na renomada revista *Nature Medicine*, demonstrou-se conexões do microbioma com o metabolismo do hospedeiro e dieta habitual de 1.098 indivíduos, sendo os biomarcadores microbianos de obesidade reprodutíveis em coortes e os marcadores sanguíneos de doença cardiovascular e de tolerância a glicose fortemente associados à estrutura do microbioma⁶⁶. Os autores ainda evidenciaram que algumas bactérias, como *Prevotella copri* e *Blastocystis spp.*, podem ser indicadores favoráveis de metabolismo de glicose pós-prandial, e que algumas espécies foram mais preditivas de triglicédeos pós-

prandiais e peptídeo-C. As espécies intestinais associadas a hábitos alimentares saudáveis se sobrepuseram às aquelas associadas a marcadores cardiometabólicos e pós-prandiais favoráveis, indicando que pode-se potencialmente estratificar o microbioma intestinal em níveis generalizáveis de saúde entre indivíduos sem doença manifestada clinicamente⁶⁶. Contudo, nenhum perfil específico e reprodutível das espécies bacterianas tem sido identificado em associação com a obesidade, e os seus mecanismos permanecem a ser elucidados. Portanto, a MI pode ser considerada um forte preditor na patogenia da obesidade por meio do detrimento das ações metabólicas bacterianas^{64,65}.

3.2.1 Metabolismo energético e metabólitos da microbiota intestinal na obesidade

No que diz respeito ao metabolismo energético, as fontes principais de carbono e energia são representadas por carboidratos e proteínas de componentes alimentares não digeridos na parte superior do intestino⁶⁷. A metabolização desses diferentes substratos pela MI envolve a utilização de uma série de atividades bacterianas metabólicas que resultaram no suprimento de energia e produção de diferentes metabólitos (Ácidos Graxos de Cadeia Curta - AGCC)⁶⁸.

Sabe-se que os carboidratos que chegam ao cólon estão representados por polissacarídeos de cereais, frutas e vegetais. Dessa forma, as bactérias intestinais têm a função de quebrar os polissacarídeos não digeríveis, advindo das fibras, e os micróbios que em grande parte são anaeróbios no trato gastrointestinal é que são responsáveis pela fermentação, juntamente com um conjunto de enzimas hidrolíticas, que finalizam a conversão de carboidratos pela produção de metabólitos como os AGCC^{69,70}. As espécies bacterianas de maior prevalência no cólon são caracterizadas pela atividade fermentativa e conseqüentemente pela produção de AGCC como o acetato (produzido pelos gêneros bacterianos: *Bacteroides*, *Roseburia*, *Ruminococcus* e *Eubacterium*), butirato (produzido apenas por algumas espécies pertencentes ao filo Firmicutes, ou seja, *Faecalibacterium prausnitzii*, *Roseburia spp.*, *Eubacterium rectale*) e propionato (produzido especialmente por Bacteroidetes [*Bacteroides*, *Prevotella*] e *Veillonella*)⁶⁸.

Compreende-se que a MI obesogênica possui um maior número de genes catabólicos e possivelmente uma maior capacidade de extrair energia da dieta (e de produção de AGCC) comparativamente a microbiota de indivíduos eutróficos^{71,72}. Experimentos em humanos e animais obesos demonstraram aumento na produção de AGCC, o que fornece calorias a mais ao

hospedeiro, favorecendo assim o ganho de peso^{72,73}. Embora os AGCC cecais de camundongos (gene *ob/ob*) tenham aumentado significativamente apenas após as sete semanas de idade em comparação com os AGCC de uma amostra de humanos magros, o nível de acetato fecal diminuiu consideravelmente⁷⁴. Os autores afirmam que esses resultados ocorreram por uma possível falta de estabilidade dos AGCC ao longo do tempo e uma interação entre a composição da MI e os níveis de AGCC, mostrando que essa interação é altamente complexa para a saúde do hospedeiro⁷⁴.

Vale ressaltar que a produção dos AGCC e os seus subprodutos (metabólitos) influenciam a saciedade e tem uma importante função na MI e na fisiopatologia da obesidade. Eles são rapidamente absorvidos pelos colonócitos, enquanto uma pequena quantidade desses metabólitos é excretada nas fezes⁷⁰. Além disso, diminuem o potencial Hidrogeniônico (pH) luminal e alteram a microbiota no cólon, favorecendo o aumento de bactérias produtoras do metabólito butirato. O butirato, por sua vez, é responsável por estimular a apoptose por meio da inibição de enzimas e melhorar a função da barreira intestinal⁷⁰. Dessa forma, o butirato assim como o propionato, podem estimular a gliconeogênese intestinal e regular a homeostase da glicose e energia. O propionato mostra ter um papel importante mediado por receptores específicos no metabolismo dos ácidos graxos^{70,75}.

Nesse contexto, o propionato e o acetato estimulam a secreção de leptina em adipócitos mesentéricos do tipo selvagem. Além da leptina, os AGCC podem induzir à saciedade por meio da liberação de outros hormônios anorexígenos como o *Glucagon-Like Peptide-1* (GLP-1), uma incretina anorética produzida pelas células L enteroendócrinas⁷⁶. Além disso, a secreção de GLP-1 é estimulada pelo butirato, bem como, a concentração de GLP-1 demonstra ser menor em pessoas obesas em comparação com indivíduos saudáveis^{76,77}. Por outro lado, a secreção de insulina modulada pelos níveis de GLP-1, parece ser alterada em relação ao perfil da MI⁷⁸. Da mesma maneira que o GLP-1, o peptídeo YY (PYY), que também é produzido pelas células L intestinais por meio da ativação dos AGCC no receptor acoplado a proteína G (GPR) dos tipos 41 e 43, é liberado principalmente na fase pós-prandial, ajudando no processo de saciedade, e tendo menores níveis em pacientes obesos quando comparados a pacientes saudáveis⁷⁹.

Adicionalmente, os AGCC previnem a inflamação ao inibir a expressão do Fator Nuclear Kappa B (NF- κ B) mediada pela expressão de TNF- α , e das interleucinas IL-6 e IL-12, entre outros biomarcadores, e aumenta a expressão de IL-10⁸⁰. Os AGCC fazem isso por meio da ação anti-inflamatória por ligação da GPR41 e GPR43, expressos nas células epiteliais do intestino. O acetato mostra preferência por GPR43, onde sua ação anti-inflamatória é alcançada⁸⁰. Também, atua como precursor da síntese de colesterol do fígado, podendo atingir

o cérebro, e atua nos circuitos hipotalâmicos, modulando mecanismos de regulação do apetite⁸¹. Já a liberação do hormônio grelina foi negativamente correlacionado com a abundância de *Bifidobacterium spp.* e *Lactobacillus spp.*, e positivamente relacionado com os níveis de *Bacteroides* e *Prevotella*, gêneros aumentados na MI de indivíduos obesos, levando os AGCC produzidos pela microbiota a atuarem em vários níveis para modular a ingestão de alimentos^{82,83}. Finalmente, são necessárias mais pesquisas para melhor definir o papel dos AGCC e delinear parâmetros clínicos e biológicos no tratamento da obesidade.

3.3 Cirurgia bariátrica e microbiota intestinal

A cirurgia bariátrica teve seu início segundo relatos da literatura, na Suécia em 1952, pelo cirurgião Viktor Henrikson, que removeu uma área de 105 centímetros do intestino delgado de uma mulher. Esse procedimento não ajudou a mulher a perder peso, mas tratou sua constipação e impulsionou seu metabolismo⁸⁴. Nesse relato de caso de Henrikson⁸⁴, a mulher afirmou estar "satisfeita, subjetivamente se sentia mais saudável e com mais energia". Nas duas décadas seguintes, cirurgiões nos EUA aprimoraram o procedimento, eles cortavam o intestino delgado perto de cada extremidade e depois juntaram-no novamente para contornar quase 40 centímetros. Conhecido como desvio jejunoileal, tinha como consequências notável perda de peso, e uma série de efeitos colaterais desagradáveis, incluindo inchaço, diarreia, queimação anal e desidratação²⁵.

Atualmente, o “padrão ouro” da cirurgia bariátrica é a do tipo RYGB, por ser um dos tratamentos mais efetivos para a obesidade grave² e por apresentar inúmeros benefícios, incluindo a perda substancial de peso e a melhora ou remissão da DM2¹¹, além de outras comorbidades associadas a obesidade^{85,86}. A RYGB demonstra ser um tratamento eficiente no tratamento da DM2 por ser uma técnica mista, e por apresentar mecanismos de redução do volume e/ou tamanho do estômago, através da realização de uma bolsa gástrica proximal com aproximadamente 30 mililitro (ml) de capacidade, excluindo o restante do estômago e mecanismos de desabsorção com a realização de uma alça biliopancreática medindo entre 50-60 centímetros (cm) e alça de alimentação entre 100-120 cm. E os índices de remissão de DM2 é de cerca de 72,3% após dois anos^{85,87} e de 30,4% após 5 anos¹¹. A GV é a segunda técnica de cirurgia bariátrica mais utilizada e tem como característica a restrição do volume, realizando uma redução do estômago com um corte vertical na bolsa estomacal, sem acometer o intestino e, portanto, sem desabsorção⁸⁸.

Essas modificações fisiológicas e morfológicas decorrentes do procedimento de cirurgia bariátrica contribuem para mudanças na MI⁸³. Essas mudanças incluem o metabolismo dos ácidos biliares, pH colônico, modulação vagal, hormônios entéricos e do tecido adiposo, fluxo de nutrientes e quantidade de alimentos que chega ao cólon⁸⁹. Uma maior diversidade microbiana após RYGB, em relação ao pré-operatório é constatada quando comparada com indivíduos eutróficos⁹⁰. Contudo, a diminuição da razão Firmicutes/Bacteroidetes e aumento do filo de Proteobacterias em humanos, são características que acontecem com a MI após a cirurgia bariátrica^{83,91,92}. A MI após RYGB é específica e distinta de indivíduos obesos, e em relação a indivíduos eutróficos, podendo estar associada a melhoras metabólicas advindas do pós-operatório^{83,91}.

Alterações no perfil da MI dos pacientes submetidos a cirurgia bariátrica levam a uma mudança na produção de metabólitos bacterianos. Dentre esses metabólitos, dois estudos^{93,94} identificaram um aumento dos níveis de *Trimethylamine N-Oxide* (TMAO), substância formada no fígado a partir de trimetilamina, que é produzida na MI como resultado da fermentação de carnitina e colina (presentes em alimentos como a carne vermelha e ovos). Além disso, alimentos que tem níveis elevados de TMAO foram relacionados com aumento de risco cardiovascular e encontrados em pacientes que completaram de um a nove anos de cirurgia bariátrica. Esses resultados são contraditórios aos efeitos da cirurgia bariátrica em reduzir os riscos cardiovasculares, mas pode ter ocorrido devido ao elevado índice de gêneros de bactérias como *Escherichia coli*, que contribui para a formação do TMAO^{93,94}.

A cirurgia bariátrica e a MI também possuem uma forte relação com os ácidos biliares (AB) que são substâncias produzidas no fígado, estocadas na vesícula biliar e são liberadas no duodeno para contribuir na ingestão alimentar, com papel importante na absorção de lipídeos⁹³. Contudo, a cirurgia bariátrica (tanto a RYGB como a GV) induzem modificações nos níveis de AB sérico e na sua composição tanto em jejum quanto pós-prandial. Nesse contexto, Tremaroli et al.⁹³ demonstraram que após a cirurgia bariátrica ocorre um aumento em algumas bactérias envolvidas no metabolismo da modificação de AB primários em secundários, o mesmo resultado foi apresentado pós-prandial, um aumento da secreção de AB conjugados (ácidos biliares secundários) após a RYGB quando comparados a pacientes obesos que não realizaram a cirurgia bariátrica⁹³.

Por outro lado, a composição de AB é dependente da MI, devido ao envolvimento e atividade de hidrólises biliares, enzimas responsáveis pela disjunção dos ácidos biliares, que são encontradas na maior parte da MI⁹⁵. Conforme os AB são transformados em ácidos biliares secundários por meio da enzima bacteriana 7-alfa-desidroxilase, estudo⁹⁵ aponta que a atividade

dessa enzima está presente nas bactérias, como a *Clostridium spp.*, bem como, os AB podem inibir diretamente a proliferação bacteriana e assim, regular ou modificar a composição da MI⁹⁵.

Mudanças notórias na MI são identificadas após a cirurgia bariátrica e estão sendo consistentemente descritas na literatura a curto e a longo prazo, haja vista que essas modificações têm influência da anatomia intestinal, diminuição da ingestão alimentar, mudanças hormonais e ácidos biliares ⁹⁶. Em recente revisão sistemática com metanálise, Guo et al.⁹⁷ mostraram que os estudos incluídos nessa revisão apontaram o aumento de dois gêneros de bactérias após RYGB (*Escherichia* e *Akkermansia*). É conhecido que *Akkermansia* possui um papel anti-inflamatório e controla a glicemia, porém não aumentou no tipo de cirurgia de banda gástrica, somente na RYGB, demonstrando a eficácia desse método de cirurgia bariátrica no metabolismo do hospedeiro⁹⁷.

Em relação ao perfil cardiometabólico e a MI, destaca-se a remissão da diabetes. Pesquisas já demonstram diferença na microbiota de pacientes que tiveram a remissão após um ano de CB³². De acordo com Murph et al.³² os pacientes com remissão de diabetes possuem maiores índices dos gêneros *Fecalibacterium* (somente na RYGB) e *Roseburia* (RYGB e GV). Esses gêneros estão associados a diminuição da inflamação e melhora da homeostase da glicose, tanto em animais (camundongos) como em humanos³².

Outros parâmetros cardiometabólicos como menores índices de glicemia e triglicérides, melhor resposta à dieta e menor índice de doenças inflamatórias também estão associados a diversidade da MI⁹¹. Aron-Wisnewsky et al.⁹¹ mostraram que indivíduos com obesidade severa apresentam uma menor diversidade da MI, a qual está associada a uma menor riqueza de genes microbianos e vias de genes funcionais associadas a deterioração metabólica. Já após a RYGB, esses pacientes aumentaram a diversidade da microbiota quando comparado aos obesos, mas ainda mantiveram uma baixa diversidade de microbiota⁹¹. É comum o aumento do filo de Proteobacterias nos pacientes pós cirurgia bariátrica em curto e longo prazo. Esse filo se destaca pela ação na melhora metabólica e por modular a inflamação. Entretanto, o aumento expressivo do filo de Proteobacterias, também pode ser considerado um indicador de instabilidade e disbiose, devido a resultados encontrados em pacientes com doença inflamatória intestinal e câncer⁹².

Curiosamente, a pesquisa de Kong et al.⁹² identificou uma relação inversa entre *Escherichia coli* e níveis de leptina. Dessa forma, outro aspecto que pode levar ao aumento de Proteobacterias e a modificação do pH intestinal no fluxo dos ácidos biliares, o que demonstra contribuir para as modificações na MI e nesse filo especificamente⁹².

Claramente, a literatura tem indicado uma modificação da diversidade da MI após a realização de procedimento de cirurgia bariátrica, porém, ainda não se tem um “padrão clínico” a ser considerado sobre a diversidade de bactérias encontradas na MI de pacientes obesos que realizaram cirurgia bariátrica. Diferentes resultados apresentados na literatura remetem essa heterogeneidade da diversidade da MI, como a pesquisa longitudinal de Pajeccki et al.⁹⁸ ao demonstrar redução significativa do filo de Proteobacterias após cirurgia bariátrica e não apresentou mudanças significantes nos filios de Firmicutes e Bacteroidetes. Em contraste a esses resultados, a revisão de Rizzatti et al.⁹⁹ confirma que as Proteobacterias estão associadas à redução da inflamação, disbiose e doenças extra intestinais, como as pulmonares¹⁰⁰. Portanto, há necessidade de estudos clínicos controlados e randomizados para suprir esses “gaps” que a literatura ainda apresenta na desmistificação da diversidade da MI relacionada com aspectos que influenciam a obesidade e cirurgia bariátrica.

3.4 Exercício físico e a cirurgia bariátrica

O exercício físico claramente provoca inúmeros benefícios a saúde de pacientes que foram submetidos à cirurgia bariátrica². Anteriormente, a literatura apresentava algumas lacunas, como a falta de ensaios clínicos controlados e randomizados que demonstrassem os efeitos do exercício antes e após a cirurgia bariátrica na perda de peso e nos marcadores metabólicos de saúde².

Atualmente, a literatura já apresenta uma série de estudos clínicos que podem responder e evidenciar os efeitos do exercício físico e os mecanismos subjacentes antes e após a realização de cirurgia bariátrica¹⁹. Nesse sentido, em recente revisão na conceituada revista *Exercise and Sport Sciences Reviews*, mostra que o exercício é o principal fator chave para sustentar os ganhos metabólicos após a cirurgia bariátrica¹⁹. Esses ganhos metabólicos advindos do exercício físico incluem: composição corporal (atenuação da perda de massa óssea e muscular e de funcionalidade; melhoras da função endotelial; sensibilidade à insulina e de marcadores inflamatórios (Figura 1)¹⁹.

Observamos que as melhoras de diversos parâmetros cardiometabólicos, a saber, função endotelial (avaliada por meio da dilatação mediada por fluxo, do inglês *Flow-Mediated Dilatation* [FMD]), sensibilidade à insulina (avaliada por meio do teste de tolerância oral à glicose, que permitiu a avaliação da resposta insulínica - *Area Under the Curve* [AUC] da insulina - em resposta a uma carga de glicose), e inflamação sistêmica (avaliada por meio das concentrações sanguíneas de citocinas anti- [e.g., IL-10] e pró-inflamatórias [e.g., TNF- α]), observadas 3 meses após a cirurgia bariátrica, tenderam a retornar aos níveis basais em até nove meses, a despeito da perda substancial de peso e gordura corporais. Além disso e de forma importante, um programa de exercícios físicos preveniu contra esse efeito¹⁰¹.

O exercício também pode modular positivamente a função autonômica cardíaca após o procedimento de cirurgia bariátrica. Recentemente a pesquisa de Gil et al.²⁴ demonstrou que a resposta cronotrópica, ou seja, a capacidade de aumentar a FC em resposta a uma alta demanda metabólica e a recuperação da FC pós exercício (dois marcadores para função autonômica) mostraram melhoras acentuadas com os exercícios em pacientes que fizeram cirurgia bariátrica²⁴.

Não obstante, os efeitos plausíveis da cirurgia bariátrica na reversão da resistência à insulina a denominarem de cirurgia metabólica (especialmente no tratamento e remissão da DM2)¹², na ausência de exercícios essa melhora da sensibilidade à insulina pode ser transitória. Essas afirmações podem ser constatadas na pesquisa de Dantas et al.²³ no qual vários substitutos do inglês “*Surrogates*” da resistência à insulina (especialmente influenciados pelos níveis de insulina) foram prejudicados de 3 a 9 meses após a cirurgia bariátrica. Notoriamente, o treinamento com exercícios eliminou tal efeito, sustentando os benefícios da cirurgia bariátrica durante o período de seguimento de 9 meses. Esses resultados vão ao encontro a uma das primeiras pesquisas com esse desfecho realizada anteriormente²², mostrando que o exercício pode potencializar a sensibilidade à insulina em pacientes submetidos ao RYGB²².

Posteriormente, Coen et al.¹⁰² publicou seu segundo estudo que providenciava ideias derivadas dos mecanismos pelo qual o exercício melhorava a sensibilidade à insulina pós cirurgia bariátrica. Brilhantemente, os autores demonstraram que as melhoras da sensibilidade à insulina, advindas do exercício, estavam associadas com o aumento da capacidade oxidativa mitocondrial e diminuição de espécies específicas de lipídios que são conhecidas pelo seu efeito detrimental na sinalização da insulina¹⁰². Recentemente, alguns experimentos forneceram evidências suficientes de que o exercício também pode atuar na remodelação da matriz extracelular do músculo esquelético para melhorar a resistência à insulina em pacientes submetidos a cirurgia bariátrica²³. Também demonstrou que a cirurgia bariátrica foi parcialmente

capaz de remodelar essa matriz extracelular, enquanto as pacientes que se exercitaram passaram por um processo mais acentuado de remodelação, demonstrando evidências mais consistentes (da ultraestrutura do músculo ao gene)²³.

Embora, a literatura aponte os efeitos benéficos da cirurgia bariátrica em especial da RYGB, sobre a perda de peso e no metabolismo, ela parece inequívoca ao relatar as consequências a nível fisiológico e metabólico que estão ligadas a composição corporal, que incluem a diminuição acentuada da massa muscular e óssea¹⁰³. Contribuindo com essas alterações morfológicas dos efeitos adversos da RYGB, um elegante ensaio clínico randomizado publicado na excelente revista *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*²¹, mostrou aumentos induzidos pela CB em vários biomarcadores de remodelação óssea, incluindo colágeno do tipo I C-telopeptídeo (CTX), pró-colágeno tipo I N-pro-peptídeo (PINP), esclerostina, Dickkopf-1 (DKK1) e osteopontina. Essas respostas foram acompanhadas por atenuação na perda de densidade mineral óssea (DMO) nas regiões do colo do fêmur, quadril total e rádio distal, bem como, prejuízos em marcadores da microarquitetura óssea²¹. Contudo, esse estudo demonstrou que o treinamento com exercícios quando comparado com os cuidados padrão (grupo controle sem exercício), foi efetivo na mitigação da perda de massa óssea que é induzida pela cirurgia bariátrica²¹. Além disso, o exercício induziu a diminuição dos níveis de esclerostina²¹ (conhecido por ser um desregulador da formação e da via de sinalização óssea, do inglês *Wingless and Int-1 - Wnt*)¹⁰⁴.

Assim como observado no sistema ósseo, pacientes obesos submetidos a cirurgia bariátrica podem apresentar um impacto negativo no sistema muscular, ou seja, uma diminuição acentuada da massa muscular, força e funcionalidade¹⁰³. Esses efeitos adversos podem limitar as atividades básicas da vida diária e aumentar possíveis riscos de morbidade mesmo com a perda de peso, além de ser o principal sítio de eliminação de glicose, possivelmente prejudicar na regulação do seu metabolismo e aumentar a resistência insulina, e por fim afetar a massa óssea¹⁰⁵.

Dessa forma, adotar um estilo de vida saudável pode evitar o comprometimento dos efeitos proporcionados pela cirurgia bariátrica na perda de peso e remissão da DM2. Contudo, o exercício (uma forma simples, segura e econômica) deve ser a ferramenta primordial para se manter e aumentar os efeitos cardiometabólicos da cirurgia bariátrica¹⁹.

3.5 Exercício físico e microbiota intestinal

O exercício físico de intensidade moderada pode aumentar a diversidade da MI por meio de vários mecanismos, incluindo a promoção de um estado anti-inflamatório. Neste sentido, a aptidão cardiorrespiratória se correlaciona com parâmetros intestinais associados à saúde, como diversidade e riqueza taxonômica. Um dos primeiros experimentos nessa temática foram realizados com adultos saudáveis, demonstrando que a capacidade aeróbia se correlacionou positivamente com a maior diversidade da MI¹⁰⁶. Além disso, os autores identificaram um papel significativo na variação das funções metagenômicas previstas no microbioma, alinhando-se positivamente com genes relacionados as bactérias, motilidade e biossíntese de AGCC. Essas funções ocorreram por aumentos na abundância dos táxons listados (*Clostridiales*, *Roseburia*, *Lachnospiraceae* e *Erysipelotrichaceae*) e da produção de butirato fecal, um AGCC associado à melhoria da saúde intestinal, entre participantes fisicamente ativos¹⁰⁶.

Posteriormente, o estudo de Allen et al.³⁴ foi um dos primeiros estudos a investigar a microbiota de indivíduos magros e obesos, mostrando que seis semanas de exercício aeróbio levaram a alterações na diversidade da MI que eram dependentes do status da obesidade, bem como, no aumento da produção de AGCC nos participantes magros, mas não em obesos. Os autores também enfatizaram que as mudanças induzidas pelo exercício na microbiota foram amplamente revertidas assim que o treinamento físico cessou³⁴. Nesse contexto, é possível especular que tal efeito poderia explicar, ainda que parcialmente, o efeito cardiometabólico protetor do treinamento físico em pacientes obesos.

Corroborando essa ideia, o elegante ensaio clínico randomizado, publicado na renomada revista *International Journal of Obesity*³⁵ identificou que o exercício estruturado é capaz de alterar a MI de adultos com excesso de peso e obesidade. Os resultados ainda sugerem que o exercício realizado no tempo de lazer pode induzir pequenas alterações na diversidade alfa e uma regulação positiva no metabolismo da microbiota. Essas alterações foram mais robustas no grupo que se exercitou em intensidade moderada após 3 meses de intervenção e com uma dieta mais rica em carboidratos³⁵. Por fim e em contraste aos resultados do estudo de Estaki et al.¹⁰⁵, a aptidão aeróbia não foi associada a diversidade alfa da microbiota³⁵.

Outro amplo estudo prospectivo com intervenção de exercício combinado (aeróbio e força) de intensidade moderada, em adultos com excesso de peso e sedentários, mostrou mudanças sutis na alfa diversidade bacteriana¹⁰⁷. Além disso, os autores afirmam que os exercícios combinados de curto e médio prazo não induzem efeitos drásticos na diversidade das

populações bacterianas, virais e de archaea (micro-organismos procariontes) no intestino humano¹⁰⁷. Contrastando esses achados, a pesquisa de Munukka et al.¹⁰⁸ afirmou que seis semanas de exercício de força não afetou a alfa diversidade em uma amostra de mulheres com sobrepeso e obesidade. Contudo, os autores descobriram que o exercício induziu mudanças no metagênomas e a abundância de *Akkermansia* e Proteobacteria, e aumento da beta diversidade (composição e espécies em diferentes sítios) em nível de gênero.

Nesse contexto, o exercício demonstra seu papel cardioprotetor ao modular o perfil da MI e na melhora da endotoxemia de indivíduos com sobrepeso e resistência à insulina com DM2. De acordo com Motiani et al.³³ ambos os métodos de treinamento aeróbio (Contínuo de intensidade moderada e *Sprint* intervalado) em cicloergômetro, reduziram os marcadores inflamatórios sistêmico e intestinal (TNF- α e as proteínas de ligação aos lipossacarídeos) e alterou o perfil da MI ao aumentar o filo de Bacteroidetes e diminuir a taxa de Firmicutes/Bacteroidetes. Além disso, houve uma diminuição nos gêneros *Clostridium* e *Blautia*. E por fim, a captação intestinal de glicose estimulada por insulina foi associada positivamente com Bacteroidetes e inversamente com o filo Firmicutes, taxa de Firmicutes/Bacteroidetes e gênero *Blautia*.

Dessa forma, implementar um estilo de vida saudável e personalizado com exercício físico pode determinar a fermentação do microbioma intestinal e atuar diretamente na prevenção e no tratamento da DM2. Essas descobertas são mostradas em estudo recente publicado na excelente revista *Cell Metabolism*¹⁰⁹, ao identificar que alterações induzidas pelo exercício na MI está intimamente correlacionada com melhoras do metabolismo de glicose e sensibilidade à insulina. Os autores ainda identificaram que o transplante de microbiota fecal de participantes respondentes mimetizou os efeitos do exercício na redução da resistência à insulina em ratos obesos¹⁰⁹.

Por fim, o exercício físico apresenta uma boa associação entre a função intestinal e a saúde humana, por meio da modulação da MI, atuando por diversos mecanismos, dentre eles a promoção de um estado anti-inflamatório^{110,111}. Embora, um crescente corpo de evidências científicas esteja apontando para o efeito do exercício na promoção da saúde e na modulação da MI, a busca por um padrão e/ou assinatura específica, está longe de ser claramente elucidado¹¹¹. Portanto, demais pesquisas, com delineamentos robustos como os ensaios clínicos randomizados e controlados, são necessárias para identificar demais mecanismos pelo qual o exercício físico altera e melhora a diversidade da MI em pacientes obesos e que foram submetidos a cirurgia bariátrica.

4 MÉTODOS

4.1 Delineamento experimental

Este estudo fez parte de uma série de ensaios clínicos, randomizados e controlados, destinados a reunir conhecimentos sobre os potenciais benefícios do exercício físico em pacientes submetidos à cirurgia bariátrica. Para tal, foi conduzido um estudo clínico e randomizado, registrado no portal ClinicalTrials.gov (número NCT02441361) e aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo sob o certificado de apresentação para apreciação ética (CAAE) 21056813.3.0000.0068 e número do parecer 470085.

Após as avaliações iniciais (período basal antes da cirurgia bariátrica), as mulheres que aceitaram participar da pesquisa foram randomizadas (1:1) com o auxílio do *software* online (<http://www.randomization.com>) e aleatoriamente alocadas em um dos dois grupos experimentais: grupo submetido ao programa de treinamento físico após a CB (RYGB + TF) e grupo tratamento padrão que não realiza o treinamento físico após a CB (RYGB). Após as avaliações iniciais no período basal, todas as mulheres foram submetidas à cirurgia bariátrica pela técnica de derivação gastrointestinal e reconstrução em Y de Roux, que combina procedimentos restritivos e mal absorptivos. Três meses após a cirurgia, as mulheres do grupo RYGB + TF iniciaram o programa de treinamento físico com seis meses de duração. As pacientes realizaram um programa de treinamento físico (treinamento de força e treinamento aeróbio), três vezes por semana, sob a supervisão de profissionais de Educação Física no Laboratório de Avaliação e Condicionamento em Reumatologia (LACRE) do Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo (HCFMUSP). Nos demais dias da semana, as pacientes dos dois grupos foram igualmente encorajadas pelos pesquisadores a se manterem fisicamente ativas.

Considerando todos os ensaios, no período basal (PRÉ), três meses após a cirurgia bariátrica (3 MESES) e seis meses após o treinamento físico (9 MESES), as pacientes realizaram avaliações da composição corporal (peso, estatura, circunferências: pescoço, cintura, abdômen e quadril), densitometria óssea (DEXA), avaliação sanguínea, avaliação da capacidade física (condicionamento aeróbio, força muscular e funcionalidade), nível de atividade física (por meio de inclinômetro), avaliação nutricional (recordatório 24 horas) e análise da composição e diversidade da microbiota intestinal, e por fim análise fecal dos AGCC.

Um grupo controle saudável (CTRL) composto por voluntárias pareadas por gênero foram selecionadas e avaliadas, unicamente, no período PRÉ, para que as variáveis coletadas (todas aquelas anteriormente descritas) sirvam de referência para as respostas apresentadas pelos grupos experimentais (RYGB e RGYB + TF).

Nesta pesquisa, apenas as avaliações potencialmente associadas à composição e diversidade da microbiota intestinal foram descritas abaixo, a saber, composição corporal, capacidade física, avaliações sanguíneas, avaliação nutricional, nível de atividade física e avaliação da diversidade da microbiota intestinal. O desenho experimental está ilustrado abaixo na Figura 2.

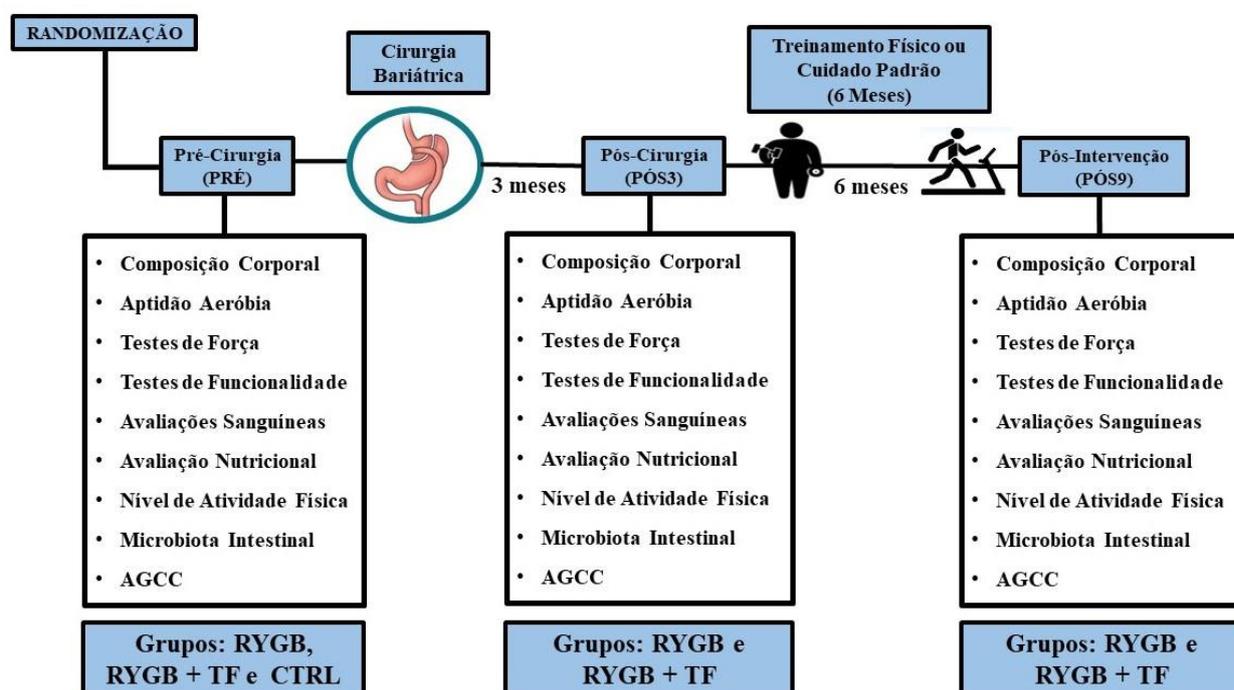


Figura 2. Desenho experimental. AGCC: Ácidos Graxos de Cadeia Curta.

4.2 Recrutamento e seleção das participantes

O recrutamento foi realizado no Centro de referência em cirurgia bariátrica e Metabólica do HCFMUSP, sob chefia do Prof. Dr. Marco Aurélio Santo e Prof. Dr. Roberto de Cleve. As candidatas elegíveis para participação no estudo obedeceram aos seguintes critérios de inclusão:

- Mulheres com obesidade grau II ($IMC \geq 35 \text{ kg/m}^2$) com comorbidades associadas ou obesidade grau III ($IMC \geq 40 \text{ kg/m}^2$);
- Não engajadas em programas de treinamento físico por ao menos um ano antes do início do desenho experimental;

- Idade entre 20 e 55 anos;
- Ausências de acometimentos que comprometam a participação no estudo, tais como comprometimento articular, neurológico ou cardiovascular que limitem a prática de exercício físico, doença gastrointestinal, uso de medicamentos que alterem a função do trato gastrointestinal, e uso de antibióticos por pelo menos três meses antes do início do estudo.

Também foi recrutado um grupo controle de mulheres “saudáveis” e que não realizaram cirurgia bariátrica, por mídia eletrônica e/ou impressa, com as seguintes características: Mulheres com IMC entre 18,5 e 24,9 kg/m², ausência de doenças crônicas e consideradas fisicamente ativas¹¹².

4.3 Programa de Treinamento Físico

As sessões de treinamento físico ocorreram três vezes por semana, durante o período de seis meses, totalizando 72 sessões de treinamento, diretamente supervisionadas pelos integrantes da equipe de pesquisadores (profissionais de Educação Física) afim de assegurar a intensidade e duração do exercício físico. O treinamento físico foi realizado no LACRE, localizado no 4º andar do Prédio dos Ambulatórios do HCFMUSP.

O protocolo metodológico do treinamento físico foi recentemente publicado em renomadas revistas científicas, demonstrando os efeitos cardiometabólicos do treinamento físico em mulheres após RYGB^{21,101}. A sessão teve início com cinco minutos de aquecimento em esteira, seguidos por treinamento de força, envolvendo exercícios que contemplam os grandes grupos musculares, com três séries de 8-12 repetições por exercício e intervalo de 60 segundos entre as séries. A sessão de treinamento de força é composta por seis exercícios em máquina (*Leg Press* a 45°, supino, puxada frontal, remada sentada, cadeira extensora e agachamento) e um exercício utilizando o peso corporal como carga de treinamento (flexão plantar). A progressão da carga de cada exercício foi controlada por meio de repetições máximas, sendo que, a partir do momento em que a voluntária estivesse apta a realizar um número de repetições maior que 12 repetições, a carga é incrementada. A duração do treinamento de força foi de aproximadamente 30 a 40 minutos. O volume total de treinamento de força (em kg) foi determinado, conforme cálculo a seguir: \sum número de séries x \sum número de repetições x \sum cargas de trabalho, considerando-se os valores de cada sessão de treinamento para todas as variáveis.

O treinamento aeróbio teve a intensidade determinada por teste ergoespirometria e correspondeu ao intervalo de frequência cardíaca entre o limiar aeróbio (La) e o ponto de compensação respiratório (PCR). À medida que houve adaptação à carga de treinamento, as pacientes foram incentivadas a aumentar a intensidade, aproximando-a do PCR. O controle de intensidade foi realizado pela frequência cardíaca, com auxílio de frequencímetros da marca Polar® e pela escala BORG de percepção subjetiva de esforço¹¹³. A duração do treinamento aeróbio foi de 30 minutos até completar a quarta semana do protocolo de treino, a partir da qual houve incremento para 40 minutos por sessão. A partir da oitava semana do protocolo houve incremento para 50 minutos, a partir da décima semana até o fim do protocolo a duração do treinamento aeróbio foi de 60 minutos.

Quaisquer eventos adversos, sinais ou sintomas tais como sensação de fadiga geral, dor nos tecidos moles ou lesões eram relatadas pelas pacientes. De maneira a verificar a aderência presencial das voluntárias nas sessões de treinamento físico, foi realizado o preenchimento de lista de presença através de uma ficha de registo de cada sessão de treinamento.

4.3.1 Alterações metodológicas do programa de treinamento

Nos primeiros meses de pandemia (março, abril, maio e junho) em 2020, em função da pandemia de COVID-19, o local de treinamento físico das pacientes (LACRE) no HCFMUSP foi fechado. Dessa forma, elaboramos um programa de treinamento físico para as pacientes do grupo treinado fazerem em casa. Das onze pacientes finalizadas (naquele momento da pandemia em 2020), três fizeram este tipo de treinamento. Todas elas estavam no último mês de seguimento e, portanto, finalizaram o treinamento físico nessa modalidade, totalizando 12 sessões. Para esta tese e o artigo científico, fizemos as análises de dados com e sem essas pacientes para avaliar se os resultados foram impactados.

Os exercícios propostos para o treinamento físico em casa tiveram como objetivo reproduzir os mesmos exercícios realizados no treinamento físico presencial, embora algumas adaptações tenham sido necessárias. As pacientes treinaram três vezes por semana e todas as sessões de treino foram supervisionadas ao vivo via chamada de vídeo pelo WhatsApp®. Materiais como garrafas pet com água foram utilizadas como pesos para o treinamento de força. Os pesos utilizados em casa foram o mais equivalente possível dos pesos dos exercícios realizados presencialmente. Segue a descrição dos exercícios de força:

- Agachamento livre com a garrafa pet de 500 ml (com água) segurada na região do tórax;

- Supino reto (em decúbito dorsal, com uma garrafa pet de 500 ml (com água) em cada mão para realização do movimento);
- Remada unilateral (apoiadas na cadeira e com uma garrafa pet de 500 ml com água);
- Cadeira extensora (sentada em cadeira comum, as participantes prendiam uma garrafa pet de 2 litros com água sobre o dorso do pé e realizavam o movimento);
- Puxada frontal (as participantes utilizavam uma garrafa pet de 500 ml com água em cada mão e sentadas na cadeira elas simulavam o movimento);
- *Leg Press* 45° (em decúbito dorsal, elas amarraram a garrafa pet de 2 litros, com água no dorso do pé com fita crepe e tentavam reproduzir o movimento que ficava em um ângulo de 90°);
- Flexão plantar (realizado apenas com o peso corporal e de forma unilateral).

Além desses exercícios que compõem o protocolo realizado no treinamento físico presencial, prescrevemos alguns exercícios adicionais como: afundo, glúteo com quatro apoios e abdominais (todos realizados com a carga do próprio corpo). As cargas foram aumentadas progressivamente acrescentando mais água (500 ml por progressão) e aumentando o tamanho das garrafas, quando, necessário o tamanho da garrafa era aumentado.

O treinamento aeróbio foi realizado por meio de caminhada com duração de 60 minutos. A intensidade do treinamento de força e aeróbio foi monitorada por meio da escala de percepção subjetiva de esforço¹¹³, a qual deveria estar em nível moderado (6 a 8 pontos na escala de Borg)¹¹³. A adesão a este treinamento foi de 90%.

4.4 Avaliação Antropométrica e da Composição Corporal

As pacientes foram pesadas em balança digital e a estatura foi determinada na posição ortostática, com auxílio de estadiômetro. Além disso, foram realizadas avaliações das circunferências: pescoço, cintura, abdômen e quadril, com auxílio da fita métrica científica da marca (Cescorf®). Essas medidas foram utilizadas para o cálculo do índice de massa corporal (IMC); Relação Cintura/Estatura (RCE) e Relação Cintura/Quadril (RCQ). A composição corporal, incluindo massa magra, massa gorda, porcentagem de gordura e CMO será avaliada por meio de absorptiometria por dupla fonte de raio-x (DXA), no Laboratório de Metabolismo Ósseo da FMUSP (Laboratório de Investigação Médica - LIM-17), usando o equipamento iDXA (GE Lunar Sistemas Médicos, Madison, WI), específico para mensurações em pacientes com diferentes tamanhos corporais.

4.5 Avaliação da aptidão aeróbia

A aptidão aeróbia foi determinada através do teste ergoespirométrico em esteira rolante (Centurion 200, Micromed), seguindo protocolo de rampa com aumento a cada minuto na carga de trabalho (velocidade e/ou inclinação) até a exaustão. Durante o teste de esforço, o comportamento cardiovascular foi continuamente avaliado através de um eletrocardiógrafo, com as 12 derivações simultâneas. A frequência cardíaca (FC) e pressão arterial (PA) foram aferidas e registradas continuamente ao longo de todo o teste de esforço e nos 2 primeiros minutos de recuperação.

A potência aeróbia máxima e os limiares metabólicos foram avaliados pela medida direta do consumo de oxigênio por um sistema de sensor que permite a mensuração da ventilação pulmonar (VE) a cada expiração (Metalyzer modelo III b/ breath-by-breath). A potência aeróbia máxima ($VO_{2\text{pico}}$) foi considerada como o consumo de oxigênio registrado no exato momento em que o exercício é interrompido. Já o limiar anaeróbio ventilatório (LAV) foi considerado como o ponto de aumento do equivalente ventilatório de oxigênio (VE/ VO_2) e da pressão parcial de oxigênio ($P_{et}O_2$). Por fim, o aumento concomitante no VE/ VO_2 e no equivalente ventilatório de dióxido de carbono (VE/ VCO_2) associado com uma redução na pressão parcial de dióxido de carbono ($P_{et}CO_2$) foi considerado como o ponto de compensação respiratório (PCR).

Todos os testes foram determinados por dois avaliadores experientes e, em caso de divergência, foi solicitada a determinação de um terceiro avaliador. Todos os testes foram conduzidos sob a supervisão de um médico e por um avaliador membro da equipe de trabalho.

4.6 Avaliação da força máxima dinâmica e funcionalidade

Os testes de 1RM foram conduzidos dentro do laboratório (LACRE) seguindo os procedimentos propostos pela Sociedade Americana de Fisiologistas do Exercício¹¹⁴. Em síntese, os pacientes realizaram um aquecimento geral em esteira rolante a 9 Km/h durante 5 minutos seguido por leves exercícios de alongamento. Em seguida, foi realizado um aquecimento específico composto por uma série de 8 repetições com aproximadamente 50% de 1RM (estimado na sessão de familiarização) e uma série de 3 repetições com aproximadamente 70% de 1RM, com dois minutos de intervalo entre as séries. Três minutos após o término do

aquecimento, foi iniciado o teste de 1RM. A força dinâmica máxima foi determinada no máximo em cinco tentativas com três minutos de intervalo entre elas.

A força máxima dinâmica dos membros inferiores e superiores foram avaliadas no exercício *Leg-Press 45°* e supino horizontal (Nakagym, modelo NK5970, SP, Brasil), respectivamente. O exercício *Leg-Press 45°* foi iniciado com a extensão total dos joelhos. A partir dessa posição, os participantes flexionaram os joelhos e o quadril até atingirem um ângulo de 90° entre os eixos. O ângulo foi determinado com auxílio de um goniômetro. Para que os pacientes identificassem a amplitude correta do movimento durante o teste, uma marcação foi colocada ao longo do trilho onde a plataforma de apoio dos pés desliza. Ao atingirem essa marcação, os pacientes deveriam estender os joelhos até a posição inicial, finalizando o ciclo do movimento. O exercício supino horizontal foi realizado em um equipamento denominado “*Smith machine*”. Com ajuda de uma fita métrica, a distância entre as mãos na pegada da barra pela voluntária foi determinada e reproduzida nas avaliações posteriores. A amplitude do movimento na fase excêntrica foi determinada quando ocorre o toque da barra de supino sobre o peitoral da paciente que, em seguida, levantou verticalmente até a extensão completa dos cotovelos. Durante a realização de todas as tentativas, as voluntárias foram encorajadas verbalmente pelo avaliador.

A funcionalidade das pacientes foi avaliada pelo teste de “sentar e levantar” (*Timed-Stands Test*)¹¹⁵ e “levantar e ir” (*Timed Up and Go Test*)¹¹⁶. Para o teste de “sentar e levantar”, a paciente iniciou a avaliação na posição sentada em uma cadeira e com os braços cruzados à frente do tronco. Em seguida, no disparo do cronômetro, a paciente deveria levantar e sentar na cadeira o maior número de vezes que conseguisse por 30 segundos. Duas tentativas foram realizadas com 60 segundos de intervalo entre elas. Assim, o maior número de repetições entre as tentativas foi utilizado para análise. Já para a realização do teste de “levantar e ir”, a voluntária deveria levantar-se da cadeira ao sinal do avaliador, sem o auxílio das mãos, caminhar 3 metros, dar uma volta de 180° e voltar ao ponto de partida sentando na cadeira novamente. A paciente foi orientada a realizar o percurso no menor tempo possível. Duas tentativas são realizadas com 60 segundos de intervalo entre elas. Assim, o menor tempo obtido foi utilizado para análise. Semelhante aos testes de força muscular, as pacientes foram encorajadas verbalmente durante a realização de todas as tentativas.

4.7 Avaliação do nível de atividade física

A avaliação do nível de atividade física foi realizada por meio do acelerômetro uniaxial ActivPAL® (PAL Technology). A vantagem deste acelerômetro sobre o acelerômetro triaxial Actigraph GT3x® (Actigraph®) é o fato do ActivPAL® ser, além de um acelerômetro, também um inclinômetro. Os dados coletados pelo acelerômetro ActivPAL® foram descarregados no computador através do software ActivPAL® software e forneceu dados sobre: 1) tempo gasto sentado; 2) tempo gasto em pé, parado; 3) tempo gasto em atividades dinâmicas (de acordo com a intensidade); 4) número de passos; 5) Atividade física de intensidade leve; e 6) Atividade física de intensidade moderada a vigorosa. Assim, podemos avaliar tanto o tempo sedentário, como o nível de atividade física das pacientes.

4.8 Avaliação nutricional

Foram conduzidas avaliações nutricionais por meio de Recordatório Alimentar de 24 horas, realizados (três dias) dois dias na semana, não consecutivos e um dia no final de semana, antes da coleta de fezes. Os recordatórios alimentares foram realizados por uma profissional da Nutrição e realizados por ligação telefônica. Para o auxílio na quantificação das porções alimentares, foram utilizados e enviados por email uma cartilha desenvolvida e validada por nosso grupo¹¹⁷. Os dados das três avaliações foram tabulados por um único avaliador experiente, com o auxílio do programa *Nutritionist Pro*. Foram analisadas as ingestões de energia (em Kcal) e macronutrientes (em gramas e porcentagem total).

4.9 Avaliação sanguínea

As pacientes compareceram ao LACRE em jejum noturno de 12 horas. Foram coletados 15 mL de sangue da veia basílica mediana ou cefálica para as análises das concentrações de marcadores lipídicos (colesterol total - CT; lipoproteína de alta densidade - HDL; lipoproteína de baixa densidade - LDL; lipoproteína de densidade muito baixa - VLDL e triglicérides - TG), marcadores inflamatórios (proteína C reativa - PCR), marcadores hepáticos (fosfatase alcalina - FA; gama glutamiltranspeptidase - GGT, aspartato aminotransferase - TGO; alanina aminotransferase - TGP), marcadores renais e pancreáticos (Creatinina; Peptídeo C e Insulina), metabolismo da glicose (Glicose em jejum e hemoglobina glicada (HbA1C); Vitaminas (25-hidroxivitamina D; vitamina B12; ácido fólico); eletrólitos (cálcio total, cálcio iônico, cloro, fósforo, potássio, sódio e magnésio).

Para avaliação da resistência a ação da insulina, foi realizado o teste oral de tolerância à glicose (TOTG). Foi administrado por via oral 75 g de solução de dextrose em 300 ml de água aos pacientes, seguidos de coletas de sangue para determinação da glicose e da insulina a serem realizadas antes, 30, 60, 90 e 120 minutos após a administração da solução de dextrose.

As áreas totais abaixo da curva de insulina e glicose foram calculadas por meio do modelo trapezoidal. A partir dos valores de glicemia e insulinemia de jejum, foi calculado o índice *Homeostase Model Assessment* (HOMA - IR), que estimam a sensibilidade à insulina e a função das células beta, respectivamente¹¹⁸. Além disso, foi estimada a sensibilidade à insulina no corpo inteiro (Índice Matsuda)¹¹⁹.

Para a realização do hemograma foram coletados 5 mL de sangue, analisados pelo Laboratório Central do HCFMUSP.

Para análise das concentrações de citocinas plasmáticas foram coletados 4 ml de sangue da veia ante cubital. Os níveis séricos das citocinas IL-1 β , IL1-ra, PCR, TNF- α , IL-6 e IL-10 foram determinados utilizando-se imunoensaio com microesferas magnéticas do tipo multiplex. Cerca de 25 μ L das amostras foram analisadas por kit disponível comercialmente (Lincoplex, Millipore, Missouri, EUA) e quantificado no analisador Luminex® (MiraBio, Alameda, CA) de acordo com as instruções do fabricante. Todas as avaliações sanguíneas foram controladas e realizadas dentro do período de 48 a 72 horas após a última sessão de treinamento para ambos os grupos.

4.10 Avaliação da microbiota intestinal e dos ácidos graxos de cadeia curta

Coleta de fezes

As pacientes fizeram a coleta de fezes em suas residências no dia anterior à coleta de sangue para posterior análise de diversidade e perfil bacteriano da microbiota intestinal. Elas foram instruídas a não consumirem nenhum tipo de alimento contendo probióticos, como iogurtes, 7 dias antes da coleta. No tempo 9 MESES, as pacientes realizaram a coleta no período de 48 a 72 horas após a última sessão de treinamento. Para a coleta, elas receberam um kit que contém um microtubo contendo solução estabilizante estéril, um *swab* estéril, e um acessório para coleta de fezes (OMR-200 OMNIgene Gut, DNA Genotek, Canada), esse kit foi utilizado somente para as 8 primeiras pacientes nos três tempos de avaliação (BASAL, 3 MESES e 9 MESES) devido à dificuldade de importação e o aumento exacerbado dos valores do kit. Dessa forma, optou-se pela utilização do frasco para fezes estéril, com colher acoplada na tampa de

rosca, da marca Sarstedt, sendo um frasco contendo 5 ml de solução de guanidina a 6M para a coleta de microbiota e um frasco sem a solução de guanidina para posterior análise de Ácidos Graxos de Cadeia Curta - AGCC, fornecidos pelo Laboratório de Parasitologia da Faculdade de Medicina tropical da Universidade de São Paulo.

As pacientes foram instruídas a coletarem as primeiras fezes do dia (8º dia) em local seco e, com utilização da pá, coletar uma amostra (~5 g) e coloca-la dentro do tubo (*swab* para as primeiras oito pacientes) e no frasco para fezes estéril Sarstedt (para as demais pacientes e para os AGCC) as fezes recém-emitidas, fechando-o na sequência e armazenando em uma caixa de isopor pequena dentro do seu freezer. No dia seguinte, a paciente foi instruída a levar a amostra de fezes congelada na caixa de isopor, à qual a mesma foi armazenada em freezer -80° C para posterior análise.

Análise de AGCC

Para análise de AGCC foram realizadas alíquotas de 200-300 mg de amostra (fezes sem solução de guanidina), foram homogeneizadas com 1ml de ácido sulfúrico 0,15mM e centrifugado (9.000 g) a 4°C por 20 minutos. Coletou-se uma alíquota de 1 ml do sobrenadante, adicionando-se 1ml de água Milli-Q e filtrou-se em membrana de nylon 0,45 µm (Millex®). Após o preparo das amostras, foram armazenadas em freezer com temperatura de -20° até as análises finais de cromatografia. Posteriormente, a concentração dos AGCC fecais (acetato, propionato e butirato) foram avaliados por meio da cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa de um laboratório particular.

Sequenciamento automático da microbiota

A identificação de bactérias foi realizada utilizando-se o sequenciamento de alto desempenho das regiões V3/V4 do gene 16S rRNA. O preparo das bibliotecas seguiu um protocolo proprietário (Neoprosecta Microbiome Technologies, Brasil). Foi realizada à amplificação com primers para região V3-V4 do gene rRNA 16S, 341F com sequência (CCTACGGGRSGCAGCAG), e 806R com sequência (GGACTACHVGGGTWTCTAAT)^{120,121}. As bibliotecas foram sequenciadas utilizando-se o equipamento MiSeq Sequencing System (Illumina Inc., USA). As sequências foram analisadas por meio do pipeline Sentinel.

No pipeline Sentinel os arquivos fastq são avaliados quanto à qualidade *Phred* (QP) usando o programa FastQC v.0.11.8¹²². A seguir, os arquivos fastq foram submetidos à trimagem de primers e sequências com baixa qualidade (*Phred* < 20). O software proprietário

(Empresa Neopropecta) utilizado para tal finalidade, foi construído em Python v.3.6, sendo este inspirado nas funcionalidades do projeto BioPython¹²³. Para dados *paired-end*, antes da etapa de trimagem, dois pares de arquivos (R1 e R2) foram unidos em um só arquivo usando pandaseq v.2.11¹²⁴. Clusters com abundância menor do que 5, foram removidos das análises, pois tais estruturas normalmente são relacionadas a sequências quimeras¹²⁵. As identificações taxonômicas foram realizadas com *blastn* v.2.6.0+¹²⁶, usando como referência um banco de dados proprietário ou público. Quanto à definição de uma espécie, dentre os 20 hits retornados para cada cluster, uma instrução em Python avalia se um dos três quesitos seriam atendidos pelos hits: 1) maior bit-score; 2) menor e-value; e 3) taxonomias com maior representação. As espécies são definidas utilizando 99% de identidade.

Análise dos resultados do sequenciamento

Após o sequenciamento, as sequências geradas pelo *Ion PGM Torrent* foram filtradas utilizando o software *Torrent Browser*, para a remoção de sequências policlonais e de baixa qualidade. Os arquivos gerados pelo *Torrent Browser* foram analisados utilizando o software *Quantitative Insights Into Microbial Ecology* (QIIME) versão 1.9.1. Leituras menores de 50pb foram descartadas. As sequências remanescentes foram agrupadas em Unidades Operacionais Taxonômicas (do inglês *Operational Taxonomic Unit* - OTUs), baseando-se em similaridade de 97%, utilizando o algoritmo UCLUST. As OTUs foram classificadas taxonomicamente, com o software QIIME, utilizando como referência o banco de dados *Ribosomal Database Project*. Esse processo resultou na formação de árvores filogenéticas com formato padrão *Newick*, obtidas utilizando o pacote contido no software QIIME. Para avaliar a diversidade da microbiota em cada amostra, foram calculados os índices α de diversidade, como o índice de diversidade de Shannon¹²⁷ e as espécies observadas (i.e., OTUs observados). Para avaliar a comunidades microbiais ao nível OTU, índices β de diversidade foram calculados com base na matriz de distância UniFrac¹²⁸ e nas matrizes de dissimilaridade Bray-Curtis¹²⁹. Também realizamos a análise de coordenadas principais (PCoA) baseada na matriz de distância UniFrac, para demonstrar similaridades ou dissimilaridades entre as amostras analisadas.

Além disso, utilizamos uma abordagem de modelo de regressão de efeitos mistos para analisar o experimento como um todo. As pacientes foram usadas como efeito aleatório, enquanto os momentos de avaliação (PRÉ, PÓS 3 e PÓS 9), grupos (RYGB + TF; RYGB e CTRL) e as interações entre grupos e momentos de avaliação foram usados como efeitos fixos.

Também, foram realizadas comparações relevantes (entre momentos de avaliação ou entre grupos) que foram avaliadas individualmente por uma coleção de métodos de análise de

abundância diferencial: Maaslin2¹³⁰, linDA¹³¹, ANCOMBC¹³², edgeR¹³³, DESeq2¹³⁴, limma¹³⁵ e ALDEx2¹³⁶. Cada método tem seus pontos fortes e fracos, ou seja, alguns deles não são capazes de controlar o número de falsas descobertas. Para sermos mais robustos a esse respeito, estamos mostrando as descobertas de 3 ou mais métodos simultaneamente usando o pacote *benchdamic*¹³⁷. Portanto, foram reportadas as seguintes métricas: riqueza absoluta dos gêneros, diversidade filogenética, diversidade de Shannon, uniformidade de Pielou e Simpson e dominância relativa.

4.11 Tratamento estatístico

Seguindo princípios de viabilidade para estimativas amostrais¹³⁸, optamos por determinar a amostra total ($n = 32$) para este ensaio clínico, sendo este o número máximo viável de acordo com os seguintes fatores: (a) número de pacientes potencialmente elegíveis oriundos de nossos serviços ambulatoriais, (b) capacidade de trabalho da nossa equipe de pesquisa, (c) disponibilidade de equipamentos dos laboratórios colaboradores, (d) orçamento proposto para o presente projeto, e (e) amostra similar a estudos anteriores que se propuseram a avaliar os efeitos do treinamento físico na diversidade da microbiota intestinal³⁴.

Antes da análise inferencial, foi verificada a presença de *outliers* e testadas a esferecidade, homocedasticidade e normalidade dos dados. Tendo garantido os pressupostos fundamentais para a análise da variância, o *Mixed Model* (SAS[®]) para análises de medidas repetidas se empregou e, quando pertinente, *post hoc* de Tukey para comparações múltiplas. Os grupos e os períodos foram considerados fatores fixos e os sujeitos, definidos como fatores aleatórios. Para a avaliação de mudanças na diversidade da microbiota intestinal entre os grupos, a análise de variância multivariada permutacional (PERMANOVA) foi realizada no software QIIME (versão 1.9.1). Todas as análises foram conduzidas de acordo com o princípio da intenção de tratamento. Todos os dados foram expressos em média \pm desvio ou erro padrão. Intervalos de confiança de 95% também foram calculados para as principais variáveis dependentes. O nível de significância adotado para rejeitar a hipótese nula foi de $p \leq 0,050$.

5. RESULTADOS

O recrutamento e seleção das pacientes foi realizado no Centro de referência em Cirurgia Bariátrica e Metabólica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HCFMUSP). Duzentos e setenta e oito (278) pacientes foram avaliadas quanto aos critérios de elegibilidade. Destas, duzentos e quarenta e seis (246) foram excluídas. Cento e quarenta e uma (141) pacientes não atenderam os critérios de elegibilidade e cento e cinco (105) se recusaram a participar do estudo. Trinta e duas (32) pacientes aceitaram participar do estudo e foram randomizadas (16 pacientes no grupo RYGB + TF e 16 pacientes no grupo RYGB). Todas as 16 pacientes alocadas no grupo RYGB + TF finalizaram o protocolo. Contudo, três (3) pacientes não conseguiram realizar todas as avaliações no último tempo (PÓS 9), devido às restrições de mobilidade impostas pela pandemia de COVID-19. Das dezesseis (16) pacientes alocadas no grupo RYGB, catorze (14) finalizaram o protocolo, porém somente 11 completaram todas as avaliações nos três tempos: três (3) pacientes não fizeram a avaliação no tempo PÓS 3, mas fizeram as avaliações no tempo PÓS 9, e duas (2) não compareceram para as avaliações finais (PÓS 9). As participantes do grupo controle saudável (n=16) foram recrutadas ao final do recrutamento das pacientes bariátricas, uma vez que foram pareadas por gênero e idade, para fins de referência. Não foram realizadas análises estatísticas levando em consideração o grupo controle saudável, com exceção da análise de composição e diversidade da microbiota intestinal, desfecho principal do estudo. O fluxograma de pacientes pode ser encontrado abaixo (Figura 3).

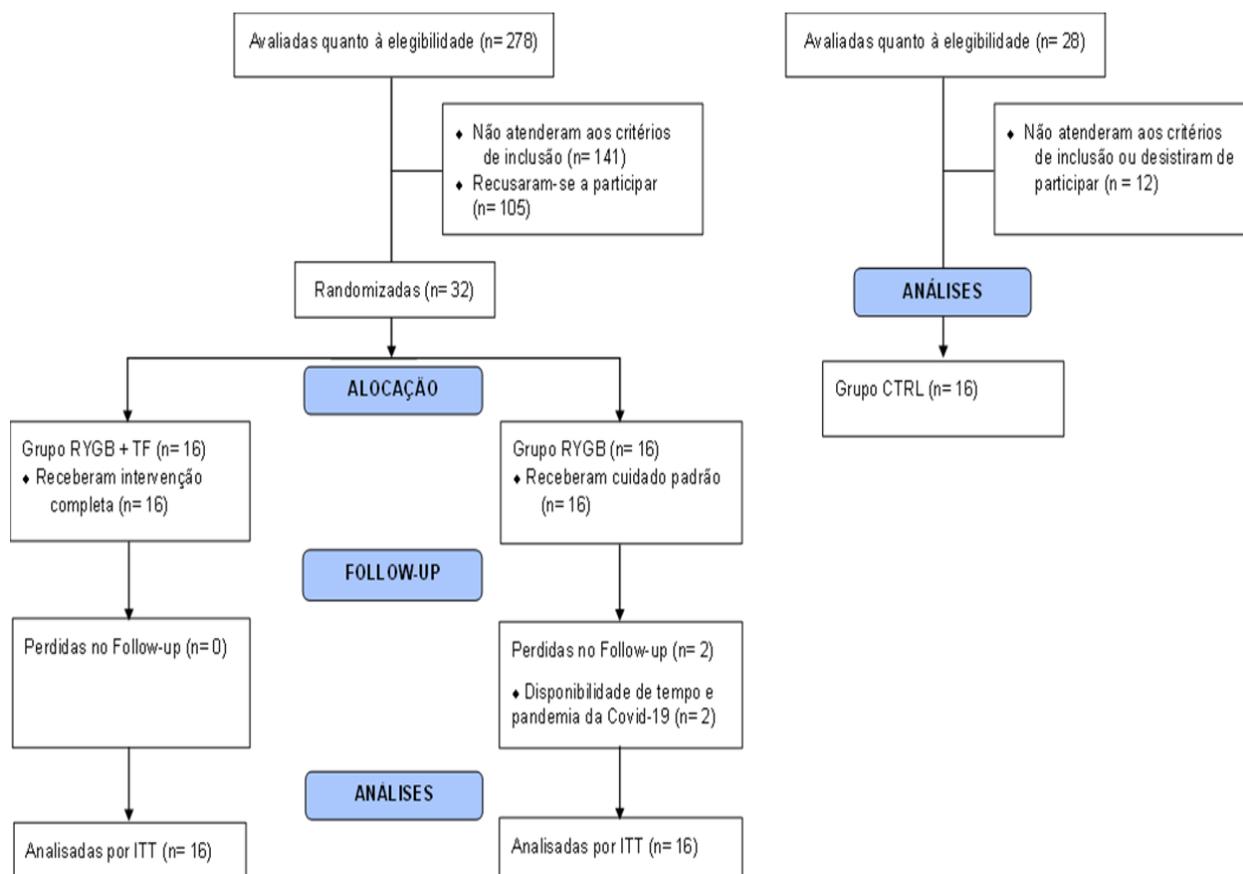


Figura 3. Fluxograma de pacientes.

Na tabela 1, são apresentadas as características da amostra quando do ingresso das participantes no estudo. Os grupos RGYB+TF e RYGB eram similares para a grande maioria das variáveis, exceto o diagnóstico de Diabetes Mellitus tipo 2, uso de ansiolíticos, mais prevalente no grupo RGYB+TF e as concentrações sanguíneas de VLDL e Triglicérides, maiores no grupo RGYB+TF.

Tabela 1. Características das pacientes no período PRÉ (n= 32)

Variáveis	RYGB + TF (n= 16)	RYGB (n= 16)	Valor p	CTRL (n= 16)
Idade (anos)	44,28±7,24	39,25±7,13	0,06	38,06±2,17
Doença arterial coronariana	0 (0,0)	0 (0,0)	1	0 (0,0)
Hipertensão Arterial	11 (68,8)	8 (50,0)	0,47	0 (0,0)
Diabetes Mellitus tipo 2	11 (68,8)	7 (43,8)	0,28	0 (0,0)
Etilismo	4 (25,0)	6 (37,5)	0,70	0 (0,0)
Hipotireoidismo	4 (25,0)	3 (18,7)	0,69	0 (0,0)
Tabagismo	0 (0,0)	0 (0,0)	1	0 (0,0)
Etnia				
Negra	3 (18,8)	3 (18,8)	1	0 (0,0)
Branca	6 (37,5)	10 (62,5)	0,29	11 (68,8)
Parda	6 (37,5)	3 (18,8)	0,43	5 (31,2)
Indígena	1 (6,3)	0 (0,0)	1	0 (0,0)
Escolaridade				
Fundamental	1 (6,3)	1 (6,3)	1	0 (0,0)
Médio	11 (68,8)	13 (81,3)	0,68	4 (25,0)
Superior	4 (25,0)	2 (12,5)	0,65	12 (75,0)
Socioeconômica (ABEP)				
Alta	1 (6,3)	0 (0,0)	1	1 (6,3)
Média	5 (31,3)	6 (37,5)	1	9 (56,3)
Baixa	10 (62,5)	10 (62,5)	1	6 (37,5)
Medicamentos				
Antibióticos	0 (0,0)	0 (0,0)	1	0 (0,0)
Ansiolíticos	4 (25,0)	0 (0,0)	0,05	0 (0,0)
Antiepilético	0 (0,0)	2 (12,5)	0,24	0 (0,0)
Agonista Alfa-2 Adrenérgico	0 (0,0)	2 (12,5)	0,24	0 (0,0)
Antagonista do Receptor A-II	2 (12,5)	1 (6,3)	1	0 (0,0)
Bloqueador de Cálcio	2 (12,5)	0 (0,0)	0,24	0 (0,0)
Diurético	7 (43,8)	4 (25,0)	0,46	0 (0,0)
Inibidores da ECA	1 (6,3)	0 (0,0)	1	0 (0,0)
Insulina	0 (0,0)	0 (0,0)	1	0 (0,0)
Metformina	11 (68,8)	7 (43,8)	0,28	0 (0,0)
Composição Corporal				
Peso Corporal (kg)	117,48±20,17	123,18±21,44	0,430	61,59±5,94
IMC (kg/m ²)	37,43±6,46	38,61±6,45	0,609	19,02±2,41
CA (cm)	130,30±15,28	128,80±12,00	0,760	80,09±6,30
Percentual de Gordura (%)	52,73±3,82	51,36±4,40	0,355	30,86±1,59
Massa Gorda (g)	61,24±11,82	62,47±14,35	0,793	19,27±0,54
Marcadores Bioquímicos				
HDL (mg/dL)	45,44±7,79	51,19±9,63	0,073	64,92±22,28
LDL (mg/dL)	120,69±29,46	114,56±32,63	0,581	105,60±40,68
VLDL (mg/L)	26,75±7,18	21,88±6,07	0,047	18,31±5,58
Triglicérides (mg/dL)	152,00±62,57	113,44±40,41	0,048	111,35±29,21
Colesterol total (mg/dL)	196,56±35,06	183,00±32,17	0,263	105,00±27,98
Proteína C-Reativa (mg/dL)	14,33±10,18	11,38±9,48	0,403	1,63±0,98
Ácido úrico (mg/dL)	6,89±5,86	5,38±1,62	0,334	6,60±0,91
Ácido fólico (ng/mL)	12,33±3,22	10,53±4,22	0,185	9,31±2,77
Vitamina D (ng/mL)	22,70±6,40	22,23±6,47	0,837	27,73±8,90
Vitamina B12 (pg/mL)	526,75±125,34	626,31±283,32	0,212	545,50±252,11

Dados expressos média±desvio padrão ou n±%. Legenda: ABEP: Associação Brasileira de Empresas de Pesquisa; A-II: Angiotensina-II; ECA: Enzima Conversora de Angiotensina; IMC: Índice de Massa Corporal; CA: Circunferência abdominal.

Na tabela 2, encontram-se os dados referentes às medidas antropométricas, composição corporal e conteúdo mineral ósseo nos períodos PRÉ, PÓS 3 E PÓS 9 dos grupos RGYB, RGYB+TF e CTRL.

Tabela 2. Efeitos de um programa de exercício físico medidas antropométricas e composição corporal em mulheres submetidas a cirurgia bariátrica (n= 32).

Variáveis	RYGB + TF (n= 16)	RYGB (n= 16)	Diferença (IC - 95%)	Valor P Ajustado	Valor P Grupo*Tempo	CTRL (n=16)
Medidas antropométricas						
Peso Corporal					0,321	
PRÉ	117,48±19,53 ^a	123,18±20,76 ^a	5,71 (-13,64-25,06)	0,952		61,59±5,94
PÓS 3	93,29±16,33 ^b	94,93±18,72 ^b	0,12 (-19,63-19,88)	1,000		
PÓS 9	79,88±16,56 ^c	81,88±15,88 ^c	1,08 (-18,44-20,63)	1,000		
Circunferência cintura (cm)					0,687	
PRÉ	122,83±11,96 ^a	119,23±11,45 ^a	-3,60 (-16,67-9,47)	0,963		73,34±7,54
PÓS 3	106,97±11,72 ^b	99,32±9,61 ^b	-6,19 (-19,73-7,36)	0,754		
PÓS 9	94,93±13,36 ^c	89,96±8,92 ^c	-3,47 (-16,64-9,71)	0,970		
Circunferência abdominal (cm)					0,629	
PRÉ	130,30±15,28 ^a	128,80±12,00 ^a	-1,50 (-15,41-12,41)	0,999		80,09±6,30
PÓS 3	115,13±11,90 ^b	111,45±8,22 ^b	-2,58 (-17,10-11,94)	0,995		
PÓS 9	102,30±13,92 ^c	102,18±9,69 ^c	1,18 (-12,86-15,23)	0,999		
Circunferência do quadril (cm)					0,073	
PRÉ	137,13±11,90 ^a	143,53±16,88 ^a	6,40 (-9,05-21,85)	0,822		96,88±7,87
PÓS 3	123,83±11,39 ^b	122,64±35,94 ^b	0,97 (-14,79-16,72)	1,000		
PÓS 9	111,13±13,26 ^c	109,18±11,58 ^c	0,41 (-15,11-15,94)	1,000		
IMC (kg/m ²)					0,559	
PRÉ	37,43±6,46 ^a	38,61±6,45 ^a	1,19 (-4,58-6,95)	0,990		19,02±2,41
PÓS 3	29,02±4,45 ^b	28,83±5,12 ^b	-0,58 (-6,59-5,42)	0,999		
PÓS 9	24,86±4,61 ^c	24,94±4,37 ^c	-0,15 (-6,02-5,72)	1,000		
RCE (cm)					0,435	
PRÉ	0,77±0,07 ^a	0,73±0,08 ^a	-0,04 (-0,12-0,05)	0,825		0,45±0,06
PÓS 3	0,66±0,07 ^b	0,60±0,05 ^b	-0,04 (-0,13-0,05)	0,764		
PÓS 9	0,59±0,08 ^c	0,57±0,08 ^c	-0,01 (-0,10-0,07)	0,997		
RCQ (cm)					0,116	
PRÉ	0,90±0,06 ^a	0,85±0,44 ^a	-0,06 (-0,13-0,00)	0,064		0,76±0,01
PÓS 3	0,86±0,04 ^b	0,81±0,37 ^b	-0,05 (-0,12-0,01)	0,187		
PÓS 9	0,85±0,05 ^b	0,83±0,07 ^b	-0,03 (-0,09-0,04)	0,808		
Composição corporal (DXA)						
Percentual de Gordura (%)					0,482	
PRÉ	52,73±3,82 ^a	51,36±4,40 ^a	-1,33 (-7,41-4,75)	0,987		30,86±1,59
PÓS 3	47,03±4,68 ^b	46,32±4,72 ^b	-1,23 (-7,93-5,48)	0,994		
PÓS 9	36,50±9,09 ^c	38,17±5,40 ^c	0,96 (-5,41-7,34)	0,998		
Massa Gorda (g)					0,819	
PRÉ	61,24±11,82 ^a	62,47±14,35 ^a	1,23 (-12,31-14,77)	0,999		19,27±0,54
PÓS 3	43,65±9,56 ^b	45,67±12,57 ^b	-0,77 (-14,97-13,43)	1,000		
PÓS 9	30,31±13,18 ^c	33,78±10,27 ^c	0,15 (-13,71-14,01)	1,000		
Massa Magra (g)					0,019	
PRÉ	52,18±7,04 ^a	55,11±6,65 ^a	2,93 (-4,34-10,20)	0,837		39,45±1,02
PÓS 3	45,36±5,32 ^b	48,45±7,46 ^b	1,03 (-6,43-8,49)	0,998		
PÓS 9	47,17±7,87 ^b	47,76±5,15 ^b	-0,48 (-7,84-6,88)	1,000		
Tecido Adiposo Visceral (cm ³)					0,341	
PRÉ	2,42±0,82 ^a	2,05±0,65 ^a	-0,37 (-1,09-0,35)	0,651		0,303±0,04
PÓS 3	1,48±0,54 ^b	1,52±0,57 ^b	-0,22 (-0,98-0,53)	0,948		
PÓS 9	0,96±0,73 ^c	0,94±0,29 ^c	-0,15 (-0,89-0,59)	0,990		
Tecido Adiposo Visceral (g)					0,363	
PRÉ	2,28±0,77 ^a	1,93±0,62 ^a	-0,35 (-1,03-0,33)	0,651		0,28±0,04
PÓS 3	1,41±0,51 ^b	1,43±0,53 ^b	-0,24 (-0,95-0,48)	0,922		
PÓS 9	0,91±0,69 ^c	0,88±0,27 ^c	-0,14 (-0,84-0,55)	0,990		
Conteúdo mineral ósseo (g)					0,129	
PRÉ	2,60±0,35 ^a	2,72±0,30 ^a	0,12 (-0,25-0,48)	0,936		2,39±0,01
PÓS 3	2,53±0,35 ^a	2,72±0,35 ^a	0,10 (-0,27-0,48)	0,961		
PÓS 9	2,52±0,39 ^b	2,58±0,34 ^b	0,03 (-0,34-0,40)	0,999		

Dados como média±desvio padrão, diferença média estimada entre os grupos (intervalo de confiança 95%), valor de P entre os grupos, e valor de P para interação grupo x tempo (calculado por meio da análise de modelo mistos)

de medidas repetidas). Dados com letras sobrescritas diferentes são significativamente diferentes ($p < 0,05$). Legenda: IMC: Índice de Massa Corporal; RCE: Relação Cintura/Estatura; RCQ: Relação Cintura/Quadril; DXA: *Dual-Energy X-Ray Absorptiometry*.

Para todas as variáveis, exceto a variável massa magra, não foi observado efeito de interação grupo x tempo ($p > 0,05$). Em contrapartida, foi observado efeito principal de tempo para todas as variáveis antropométricas, com diminuição significativa de peso corporal, IMC, circunferência da cintura, circunferência abdominal, circunferência do quadril e índice RCE tanto do PRÉ para o PÓS 3 (comparação intragrupo, $p < 0,05$), como do PÓS 3 para o PÓS 9 ($p < 0,05$) em ambos os grupos. Para a variável RCQ, houve diminuição significativa apenas do PRÉ para o PÓS 3 (comparação intragrupo, $p < 0,05$), permanecendo diminuída no PÓS 9 em ambos os grupos. De forma similar, foi observado efeito principal de tempo para todas as variáveis de composição corporal, com diminuição significativa de massa gorda, percentual de gordura e tecido adiposo visceral tanto do PRÉ para o PÓS 3 (comparação intragrupo, $p < 0,05$), como do PÓS 3 para o PÓS 9 (comparação intragrupo, $p < 0,05$) em ambos os grupos. Para a variável conteúdo mineral ósseo, houve diminuição significativa apenas do PÓS 3 para o PÓS 9 (comparação intragrupo, $p < 0,05$) em ambos os grupos. Já para a variável massa magra, houve diminuição significativa apenas do PRÉ para o PÓS 3 em ambos os grupos (comparação intragrupo, $p < 0,05$). Embora tenha sido observado efeito de interação grupo x tempo para essa variável ($p = 0,09$), não houve diferença significativa entre os grupos em cada tempo. Contudo, vale ressaltar que apenas o grupo RYGB + TF apresentou aumento médio da massa magra em média do PÓS 3 para o PÓS 9, embora esse aumento não tenha atingido significância estatística (comparação intragrupo, $p > 0,05$). De forma geral, os dados da Tabela 2 demonstram efeito importante da cirurgia bariátrica, mas não do treinamento físico, na antropometria e composição corporal das pacientes.

Na tabela 3, encontram-se os dados referentes à capacidade física e funcional nos períodos PRÉ, PÓS 3 E PÓS 9 dos grupos RGYB, RGYB+TF e CTRL.

Tabela 3. Efeitos de um programa de exercício físico na capacidade física e funcional de mulheres submetidas a cirurgia bariátrica (n= 32).

Variáveis	RYGB + TF (n= 16)	RYGB (n= 16)	Diferença (IC - 95%)	Valor P Ajustado	Valor P Grupo*Tempo	CTRL (n=16)
Capacidade Funcional-Física						
TUG (s)					0,076	
PRÉ	7,72±0,97 ^a	7,79±1,05 ^a	0,06 (-0,93-1,05)	1,000		4,85±0,54
PÓS 3	7,34±0,90 ^b	7,12±0,87 ^b	-0,15 (-1,22-0,91)	0,998		
PÓS 9	6,38±0,74 ^c	7,00±0,95 ^{bc}	0,66 (-0,35-1,67)	0,399		
TSL (repetições)					0,083	
PRÉ	12,06±2,22 ^a	11,63±1,62 ^a	-0,44 (-2,63-1,75)	0,991		17,00±1,84
PÓS 3	12,44±1,87 ^a	11,45±2,35 ^a	-1,10 (-3,40-1,21)	0,726		
PÓS 9	14,31±2,11 ^{ab}	12,57±2,13 ^a	-1,85 (-4,08-0,38)	0,159		
Leg press 45° - 1RM (kg)					<0,0001	
PRÉ	191,25±53,81 ^a	210,00±56,24 ^a	18,75 (-37,46-74,96)	0,920		180,6±60,7
PÓS 3	141,56±42,19 ^b	136,36±54,98 ^b	-6,85 (-65,31-51,61)	0,999		
PÓS 9	176,25±58,62 ^a	125,71±48,80 ^b	-55,25 (-112,23-1,73)	0,062		
Supino reto - 1RM (kg)					0,006	
PRÉ	37,60±9,88 ^a	38,56±8,60 ^a	0,95 (-7,64-9,54)	0,999		27,7±6,7
PÓS 3	26,75±6,48 ^b	26,91±7,35 ^b	0,09 (-9,06-8,88)	1,000		
PÓS 9	30,75±7,24 ^{ab}	25,14±7,47 ^b	-6,56 (-15,24-2,12)	0,240		
VO ² - LAV (ml/kg/min)					0,003	
PRÉ	9,31±2,59 ^a	9,76±2,05 ^a	0,45 (-2,49-3,40)	0,997		20,76±1,92
PÓS 3	9,59±2,08 ^a	11,63±2,54 ^a	2,64 (-0,78-6,06)	0,216		
PÓS 9	12,52±3,73 ^b	10,77±1,73 ^{ab}	-1,83 (-5,21-1,55)	0,596		
VO ² - Pico (ml/kg/min)					0,033	
PRÉ	14,04±2,85 ^a	15,52±3,38 ^a	1,48 (-2,75-5,71)	0,902		35,05±0,06
PÓS 3	17,50±3,56 ^b	20,20±4,90 ^b	2,22 (-2,74-7,18)	0,767		
PÓS 9	22,13±4,89 ^c	20,39±2,66 ^{bc}	-2,11 (-6,84-2,62)	0,769		
FC pico (bat/min)					0,127	
PRÉ	154,7±16,4 ^a	164,7±13,5 ^a	9,95 (-4,2-24,1)	0,309		171,5±6,7
PÓS 3	161,7±12,8 ^a	162,9±12,2 ^a	0,85 (-15,6-17,4)	1,000		
PÓS 9	164,0±12,3 ^a	165,2±10,0 ^a	0,10 (-15,8-16,0)	1,000		

Dados como média±desvio padrão, diferença média estimada entre os grupos (intervalo de confiança 95%), valor de P entre os grupos, e valor de P para interação grupo x tempo (calculado por meio da análise de modelo mistos de medidas repetidas). Dados com letras sobrescritas diferentes são significativamente diferentes (p<0,05). Legenda: TUG: Timed Up and Go Test; TSL: Teste de sentar e levantar; VO₂: Volume de Oxigênio; LAV: Limiar Anaeróbico Ventilatório; FC: frequência cardíaca.

Foi observado efeito de interação grupo x tempo (p<0,05) para todas as variáveis exceto para os testes funcionais TUG e TSL, que apresentaram p de tendência (p<0,09), e para FC pico (p>0,05). Foi observada melhora nas variáveis TUG e VO² pico do PRÉ para o PÓS 3 (p<0,05) em ambos os grupos, e do PÓS 3 para o PÓS 9 (p<0,05) apenas no grupo RYGB + TF. Não houve mudanças nas variáveis TSL e VO₂ - LAV ao longo da intervenção no grupo RYGB, mas foi observada melhora do PÓS 3 para o PÓS 9 no grupo RYGB + TF apenas (p<0,05). Em relação às variáveis de força, foi observada diminuição do PRÉ para o PÓS 3 em ambos os grupos (p<0,05) e apenas o grupo RYGB+TF apresentou aumento do PÓS 3 para o PÓS 9 (P<0,05) nessas variáveis, as quais deixaram de ser significativamente diferentes do PRÉ. Por fim, a variável FC pico permaneceu inalterada ao longo da intervenção nos dois grupos. Assim, de forma geral, os dados da Tabela 3 demonstram que o treinamento físico foi efetivo na melhora da capacidade funcional e física das pacientes submetidas à cirurgia bariátrica.

Na tabela 4, encontram-se os dados referentes ao comportamento sedentário e nível de atividade física (acelerômetro e inclinômetro) nos períodos PRÉ, PÓS 3 E PÓS 9 dos grupos RGYB, RGYB+TF e CTRL.

Tabela 4. Efeitos de um programa de exercício físico no comportamento sedentário e nível de atividade física de mulheres submetidas a cirurgia bariátrica (n= 32).

Variáveis	RYGB + TF (n= 16)	RYGB (n= 16)	Diferença (IC - 95%)	Valor P Ajustado	Valor P Grupo*Tempo	CTRL (n=16)
Acelerômetro e Inclinômetro						
Número de passos (dia)					<0,0001	
PRÉ	6,524±2,37 ^a	6,138±3,15 ^a	-0,40 (-1630,0-1629,2)	1,000		12,34±2,54
PÓS 3	7,976±2,67 ^a	5,750±3,31 ^a	-2,23 (-1700,9-1696,5)	1,000		
PÓS 9	10,833±3,09 ^b	5,768±2,88 ^a	-10,827 (-12,398-9256,6)	<0,0001		
AFL (minutos/dia)					0,024	
PRÉ	78,09±23,32 ^a	79,72±33,10 ^a	2,60 (-49,48-54,68)	1,000		88,71±24,32
PÓS 3	89,61±31,21 ^a	77,00±38,69 ^a	-11,91 (-66,19-42,36)	0,986		
PÓS 9	149,10±61,65 ^b	88,33±53,70 ^a	-60,59 (-110,81-10,36)	0,009		
AFMV (minutos/dia)					0,016	
PRÉ	9,80±10,08 ^a	6,82±9,61 ^a	-2,89 (-19,59-13,80)	0,995		42,48±21,67
PÓS 3	16,90±9,44 ^a	6,82±6,88 ^a	-9,76 (-27,16-7,63)	0,563		
PÓS 9	35,27±24,49 ^b	10,40±11,43 ^a	-24,91 (-41,01-8,81)	0,0004		
AFMV (minutos/semana)					0,016	
PRÉ	68,56±70,51 ^a	47,78±67,27 ^a	-20,19 (-137,01-96,64)	0,996		297,41±151,65
PÓS 3	118,29±66,15 ^a	47,73±48,13 ^a	-68,36 (-190,09-53,37)	0,562		
PÓS 9	246,81±171,34 ^b	72,78±79,94 ^a	-174,27 (-286,95-61,60)	0,0004		
Tempo em pé (minutos/dia)					0,575	
PRÉ	360,31±117,46 ^a	392,31±196,74 ^a	45,84 (-138,88-230,56)	0,976		453,09±132,64
PÓS 3	404,70±113,51 ^a	411,16±151,82 ^a	26,55 (-163,87-216,97)	0,998		
PÓS 9	459,07±171,65 ^a	426,08±149,60 ^a	-18,49 (-199,16-162,17)	0,999		
Tempo sedentário (horas/dia)					0,002	
PRÉ	9,88±1,36 ^a	8,35±2,02 ^a	-1,58 (-3,95-0,79)	0,368		7,58±2,53
PÓS 3	9,01±1,67 ^a	9,13±2,99 ^a	0,11 (-2,35-2,58)	1,000		
PÓS 9	7,23±1,76 ^b	9,52±1,91 ^a	2,25 (-0,04-4,55)	0,056		

Dados como média±desvio padrão, diferença média estimada entre os grupos (intervalo de confiança 95%), valor de P entre os grupos, e valor de P para interação grupo x tempo (calculado por meio da análise de modelo mistos de medidas repetidas). Dados com letras sobrescritas diferentes são significativamente diferentes ($p<0,05$). Legenda: AFL: Atividade Física Leve; AFMV: Atividade Física Moderada a Vigorosa.

Foi observado efeito de interação grupo x tempo ($p<0,05$) para todas as variáveis exceto para a variável tempo em pé. Para todas as variáveis, exceto tempo em pé, não foi observada mudança do tempo PRÉ para o tempo PÓS 3 em ambos os grupos, e apenas no grupo RYGB + TF foram observadas melhoras do tempo PÓS 3 para o tempo PÓS 9 (comparação intragrupo, $p<0,05$), enquanto permaneceram inalteradas no grupo RYGB, fazendo com que os grupos fossem diferentes no tempo PÓS 9 (comparação entre grupos, $p<0,05$). A variável tempo em pé permaneceu inalterada em ambos os grupos ao longo da intervenção. De forma geral, os dados da Tabela 4 demonstram que o treinamento físico levou ao aumento do nível de atividade física e diminuição do tempo sedentário nas pacientes submetidas à cirurgia bariátrica.

Na Tabela 5 e nas Figuras 3 a 6, são apresentados os valores dos marcadores bioquímicos, marcadores inflamatórios e índices de sensibilidade à insulina derivados dos valores de jejum e do Teste Oral de Tolerância à Glicose (OGTT) nos períodos PRÉ, PÓS 3 E PÓS 9 dos grupos RGYB, RGYB+TF e CTRL.

Tabela 5. Efeitos de um programa de exercício nos marcadores bioquímicos, inflamatórios e índices de sensibilidade à insulina em mulheres submetidas a cirurgia bariátrica (n= 32).

Variáveis	RYGB + TF (n= 16)	RYGB (n= 16)	Diferença (IC - 95%)	Valor P Ajustado	Valor P Grupo*Tempo	CTRL (n=16)
Colesterol total (mg/dL)					0,241	
PRÉ	196,56±36,20 ^a	183,00±33,22 ^a	-13,56 (-48,81-21,69)	0,865		105,00±27,98
PÓS 3	172,81±39,94 ^b	155,40±33,77 ^b	-16,34 (-51,89-19,21)	0,754		
PÓS 9	162,44±25,21 ^b	162,50±33,30 ^b	0,06 (-35,19-35,31)	1,000		
HDL (mg/dL)					0,048	
PRÉ	45,44±8,04 ^a	51,19±9,95 ^a	5,75 (-5,16-16,66)	0,632		71,44±22,22
PÓS 3	43,75±8,61 ^a	47,87±13,52 ^a	4,24 (-6,77-15,24)	0,865		
PÓS 9	58,94±9,56 ^b	57,13±12,46 ^{ab}	-1,81 (-12,72-9,10)	0,996		
LDL (mg/dL)					0,555	
PRÉ	120,69±30,42 ^a	114,56±33,70 ^a	-6,12 (-38,50-26,25)	0,993		87,75±40,45
PÓS 3	102,94±31,10 ^b	90,13±34,23 ^b	-11,35 (-43,96-21,26)	0,907		
PÓS 9	88,81±23,23 ^b	87,00±32,79 ^b	-1,81 (-34,18-30,56)	1,000		
VLDL (mg/L)					0,079	
PRÉ	26,75±7,42 ^a	21,88±6,27 ^a	-4,87 (-10,07-0,32)	0,077		18,31±5,58
PÓS 3	22,31±4,32 ^b	18,87±3,58 ^b	-3,54 (-8,79-1,72)	0,364		
PÓS 9	18,13±3,48 ^c	17,31±3,32 ^{bc}	-0,81 (-6,01-4,38)	0,997		
Triglicérides (mg/dL)					0,016	
PRÉ	152,00±64,63 ^a	113,44±41,74 ^a	-38,56 (-81,19-4,07)	0,098		157,63±26,97
PÓS 3	121,13±38,31 ^b	99,00±28,98 ^b	-23,23 (-66,30-19,84)	0,609		
PÓS 9	87,25±24,35 ^c	89,19±34,79 ^{bc}	1,94 (-40,69-44,57)	1,000		
Ácido Úrico (mg/dL)					0,493	
PRÉ	6,89±6,05 ^a	5,38±1,68 ^a	-1,49 (-4,45-1,47)	0,677		12,03±2,69
PÓS 3	5,54±2,25 ^a	4,79±0,95 ^a	-0,74 (-3,70-2,22)	0,976		
PÓS 9	4,21±0,86 ^b	4,03±0,79 ^b	-0,18 (-3,10-2,74)	1,000		
25-Vitamina D (ng/mL)					0,533	
PRÉ	22,70±6,61 ^a	22,23±6,68 ^a	-0,47 (-11,98-11,04)	1,000		27,73±8,90
PÓS 3	30,62±10,35 ^b	33,73±12,49 ^b	3,10 (-8,53-14,73)	0,969		
PÓS 9	30,67±14,50 ^b	29,99±13,31 ^b	-0,68 (-12,19-10,83)	1,000		
Fosfatase alcalina (U/L)					0,571	
PRÉ	93,50±29,34 ^a	75,25±21,51 ^a	-18,25 (-45,62-9,12)	0,375		61,56±11,94
PÓS 3	93,00±29,01 ^a	70,60±20,75 ^a	-22,67 (-50,17-4,84)	0,163		
PÓS 9	102,06±33,11 ^a	77,75±21,63 ^a	-24,31 (-51,68-3,05)	0,109		
Creatinina (mg/dL)					0,855	
PRÉ	0,78±0,19 ^a	0,71±0,16 ^a	-0,07 (-0,25-0,10)	0,790		0,78±0,09
PÓS 3	0,70±0,17 ^a	0,64±0,12 ^a	-0,06 (-0,24-0,11)	0,893		
PÓS 9	0,70±0,20 ^a	0,65±0,16 ^a	-0,05 (-0,23-0,12)	0,937		
Gama GT (U/L)					0,062	
PRÉ	35,13±21,73 ^a	27,13±12,36 ^a	-8,00 (-20,76-4,76)	0,444		14,88±5,43
PÓS 3	18,06±8,76 ^b	19,73±10,45 ^b	1,20 (-11,70-14,11)	0,999		
PÓS 9	14,00±6,13 ^b	15,06±7,04 ^b	1,06 (-11,70-13,82)	0,999		
TGP (U/L)					0,806	
PRÉ	23,31±6,72 ^a	20,81±7,39 ^a	-2,50 (-10,62-5,62)	0,943		16,25±8,20
PÓS 3	22,19±7,83 ^a	19,93±9,59 ^a	-2,30 (-10,55-5,95)	0,962		
PÓS 9	20,69±9,19 ^a	16,25±5,45 ^a	-4,44 (-12,56-3,68)	0,595		
TGO (U/L)					0,582	
PRÉ	20,00±4,34 ^a	19,88±8,41 ^a	-0,12 (-7,53-7,23)	1,000		20,38±3,00
PÓS 3	22,50±6,14 ^a	22,20±11,95 ^a	-0,37 (-7,88-7,14)	1,000		

PÓS 9	19,81±5,23 ^a	16,88±3,54 ^a	-2,94 (-10,34-4,46)	0,849	
Hemoglobina glicada (%)					0,981
PRÉ	6,34±1,61 ^a	6,55±2,49 ^a	0,21 (-1,24-1,65)	0,998	5,23±0,32
PÓS 3	5,26±0,36 ^b	5,44±1,09 ^b	0,12 (-1,35-1,60)	0,999	
PÓS 9	5,12±0,29 ^b	5,25±1,18 ^b	0,13 (-1,32-1,58)	0,999	
Marcadores inflamatórios					
Proteína C-reativa (mg/dL)					0,128
PRÉ	14,33±10,51 ^a	11,38±9,79 ^a	-2,96 (-14,49-8,58)	0,973	1,63±0,98
PÓS 3	7,29±6,22 ^a	10,48±11,90 ^a	2,92 (-8,76-14,60)	0,976	
PÓS 9	2,44±2,87 ^b	8,23±18,97 ^{ab}	5,52 (-6,16-17,20)	0,731	
TNF α (pg/mL)					0,628
PRÉ	10,90±6,72 ^a	9,27±2,46 ^a	-1,63 (-8,43-5,17)	0,980	6,55±2,30
PÓS 3	11,22±4,12 ^a	16,12±14,77 ^a	4,98 (-2,65-12,61)	0,397	
PÓS 9	7,77±2,76 ^a	9,63±3,26 ^a	1,84 (-5,43-9,11)	0,975	
IL-6 (pg/mL)					0,255
PRÉ	32,89±44,83 ^a	34,76±55,75 ^a	1,88 (-56,63-60,38)	1,000	7,48±9,00
PÓS 3	28,72±55,23 ^a	81,50±87,68 ^a	48,85 (-15,34-113,05)	0,233	
PÓS 9	20,75±27,76 ^a	38,50±60,53 ^a	19,26 (-43,39-81,91)	0,942	
IL-1 β (pg/mL)					0,229
PRÉ	3,89±3,71 ^a	4,18±3,42 ^a	0,30 (-3,91-4,51)	0,999	3,90±3,48
PÓS 3	3,55±2,83 ^a	3,15±2,23 ^a	2,17 (-2,76-7,10)	0,780	
PÓS 9	2,46±0,74 ^a	5,02±5,05 ^a	2,53 (-1,18-6,10)	0,359	
IL-10 (pg/mL)					0,814
PRÉ	42,16±60,34 ^a	51,75±82,88 ^a	9,59 (-66,79-85,98)	0,999	13,07±14,14
PÓS 3	49,16±81,97 ^a	72,25±113,85 ^a	24,19 (-62,70-111,08)	0,961	
PÓS 9	23,93±32,65 ^a	46,25±76,95 ^a	25,44 (-55,81-106,69)	0,937	
IL-1ra (pg/mL)					0,392
PRÉ	81,32±73,21 ^a	72,20±56,09 ^a	-9,12 (-66,01-47,77)	0,996	8,89±4,45
PÓS 3	70,24±50,14 ^a	87,94±68,03 ^a	20,09 (-44,21-84,40)	0,938	
PÓS 9	12,47±11,06 ^b	38,31±41,94 ^b	19,82 (-41,79-81,45)	0,930	
Índices de sensibilidade à insulina (HOMA-IR e derivados do OGTT)					
HOMA-IR					0,779
PRÉ	6,95±5,56 ^a	7,56±6,46 ^a	-0,61 (-4,50-3,27)	0,997	1,57±1,00
PÓS 3	2,73±1,60 ^b	2,33±1,98 ^b	0,40 (-3,49-4,29)	0,999	
PÓS 9	1,50±0,78 ^b	2,00±1,99 ^b	-0,50 (-4,39-3,39)	0,998	
Glicemia de jejum (mg/dL)					0,668
PRÉ	118,00±49,91 ^a	121,37±60,03 ^a	-3,37 (-41,47-34,72)	0,999	84,63±7,42
PÓS 3	81,81±10,01 ^b	90,43±24,50 ^b	-8,62 (-46,72-29,47)	0,984	
PÓS 9	80,50±6,78 ^b	94,87±34,57 ^b	-14,37 (-52,47-23,72)	0,875	
AUC glicemia (mg/dL/h)					0,939
PRÉ	341,58±179,11 ^a	324,78±165,98 ^a	-16,79(-166,11-132,54)	0,999	205,95±47,44
PÓS 3	251,29±101,55 ^b	260,15±132,29 ^b	-6,87 (-161,01-147,27)	1,000	
PÓS 9	200,43±49,68 ^b	230,66±164,70 ^b	-3,81 (-162,41-154,79)	1,000	
Insulinemia de jejum (μ U/mL)					0,839
PRÉ	22,19±10,39 ^a	25,05±17,36 ^a	-2,86 (-12,36-6,63)	0,948	7,44±4,53
PÓS 3	8,39±4,01 ^b	9,91±6,75 ^b	-1,51 (-11,02-7,98)	0,997	
PÓS 9	7,47±3,56 ^b	7,88±3,99 ^b	-0,41 (-9,91-9,08)	1,000	
AUC insulinemia (μ U/mL/h)					0,161
PRÉ	164,86±72,04 ^a	134,81±60,20 ^a	-30,06 (-90,56-30,44)	0,684	93,46±65,10
PÓS 3	90,89±54,71 ^b	106,90±41,53 ^b	18,00 (-47,16-83,15)	0,963	
PÓS 9	97,83±62,89 ^b	74,24±21,19 ^b	-25,38 (-95,04-44,28)	0,887	
Índice Matsuda					0,948
PRÉ	2,20±1,02 ^a	2,27±1,01 ^a	0,08 (-3,37-3,53)	1,000	8,33±3,99
PÓS 3	5,49±3,62 ^b	6,13±2,95 ^b	0,46 (-3,28-4,21)	0,999	
PÓS 9	8,51±5,34 ^c	8,23±3,78 ^c	-0,00 (-3,94-3,93)	1,000	
Peptídeo C (ng/mL)					0,076
PRÉ	3,74±0,87 ^a	3,37±0,96 ^a	0,37 (-0,43-1,17)	0,744	1,71±0,48
PÓS 3	2,51±0,82 ^b	2,27±0,70 ^b	0,25 (-0,56-1,06)	0,945	
PÓS 9	1,70±0,53 ^c	1,92±0,67 ^{bc}	-0,21 (-1,01-0,59)	0,971	

Dados como média±desvio padrão, diferença média estimada entre os grupos (intervalo de confiança 95%), valor de P entre os grupos, e valor de P para interação grupo x tempo (calculado por meio da análise de modelo mistos de medidas repetidas). Dados com letras sobrescritas diferentes são significativamente diferentes ($p < 0,05$). Legenda: AUC: Área abaixo da curva; Gama GT: Gama Glutamil Transferase; IL: Interleucina; TGO: Transaminase Glutâmico-Oxalacética; TGP: Transaminase Glutâmica Pirúvica.

Em relação aos marcadores bioquímicos, as concentrações de fosfatase alcalina, creatinina, TGP e TGO permaneceram inalteradas ao longo da intervenção em ambos os grupos (comparações inter e intragrupo, $p > 0,05$). As concentrações de colesterol total, LDL e Gama-GT e a hemoglobina glicada diminuíram, enquanto a concentração de Vitamina-D aumentou do PRÉ para o PÓS 3 e PÓS 9, de forma similar nos dois grupos (efeito principal de tempo, $p < 0,05$), enquanto as concentrações de ácido úrico diminuíram do tempo PÓS 3 para o PÓS 9 de forma similar em ambos os grupos (efeito principal de tempo, $p < 0,05$). Foi observada diminuição nas concentrações de VLDL e Triglicérides do PRÉ para o PÓS 3 (comparação intragrupo, $p < 0,05$) em ambos os grupos, e do PÓS 3 para o PÓS 9 apenas no grupo RYGB + TF (comparação intragrupo, $p < 0,05$; efeito de interação grupo x tempo, $p < 0,08$). Por fim, foi observado aumento nas concentrações de HDL apenas no grupo RYGB + TF do PÓS 3 para o PÓS 9 (comparação intragrupo, $p < 0,05$; efeito de interação grupo x tempo, $p < 0,05$). Dessa forma, a cirurgia bariátrica parece ter tido grande efeito na maioria das variáveis bioquímicas, enquanto o treinamento físico exerceu efeitos ainda mais benéficos no perfil lipídico das pacientes bariátricas.

Em relação aos marcadores inflamatórios (Figura 3), as concentrações de TNF, IL-6, IL-1 β e IL-10 permaneceram inalteradas ao longo da intervenção em ambos os grupos (comparações inter e intragrupo, $p > 0,05$), enquanto as concentrações de IL-1ra diminuíram do tempo PÓS 3 para o PÓS 9 de forma similar em ambos os grupos (efeito principal de tempo, $p < 0,05$). Apesar disso, os valores de delta (PÓS 9 – PRÉ) de IL-1ra e IL-1 β indicaram maior diminuição dessas citocinas no grupo RGYB + TF do que no grupo RGYB ($p = 0,03$ e $p = 0,07$, respectivamente). Foi observada, ainda, diminuição nas concentrações de proteína C-reativa do PRÉ para o PÓS 9 apenas no grupo RYGB + TF (comparação intragrupo, $p = 0,002$), embora os valores de delta não tenham sido significativamente diferentes entre os grupos ($p = 0,22$). Assim, a cirurgia bariátrica parece ter levado à diminuição da concentração da maioria das citocinas inflamatórias, embora essa diminuição tenha atingido significância estatística apenas para a interleucina IL-1ra, enquanto o treinamento físico levou à maior diminuição, embora de forma modesta, das concentrações de proteína C-reativa, IL-1ra e IL-1 β .

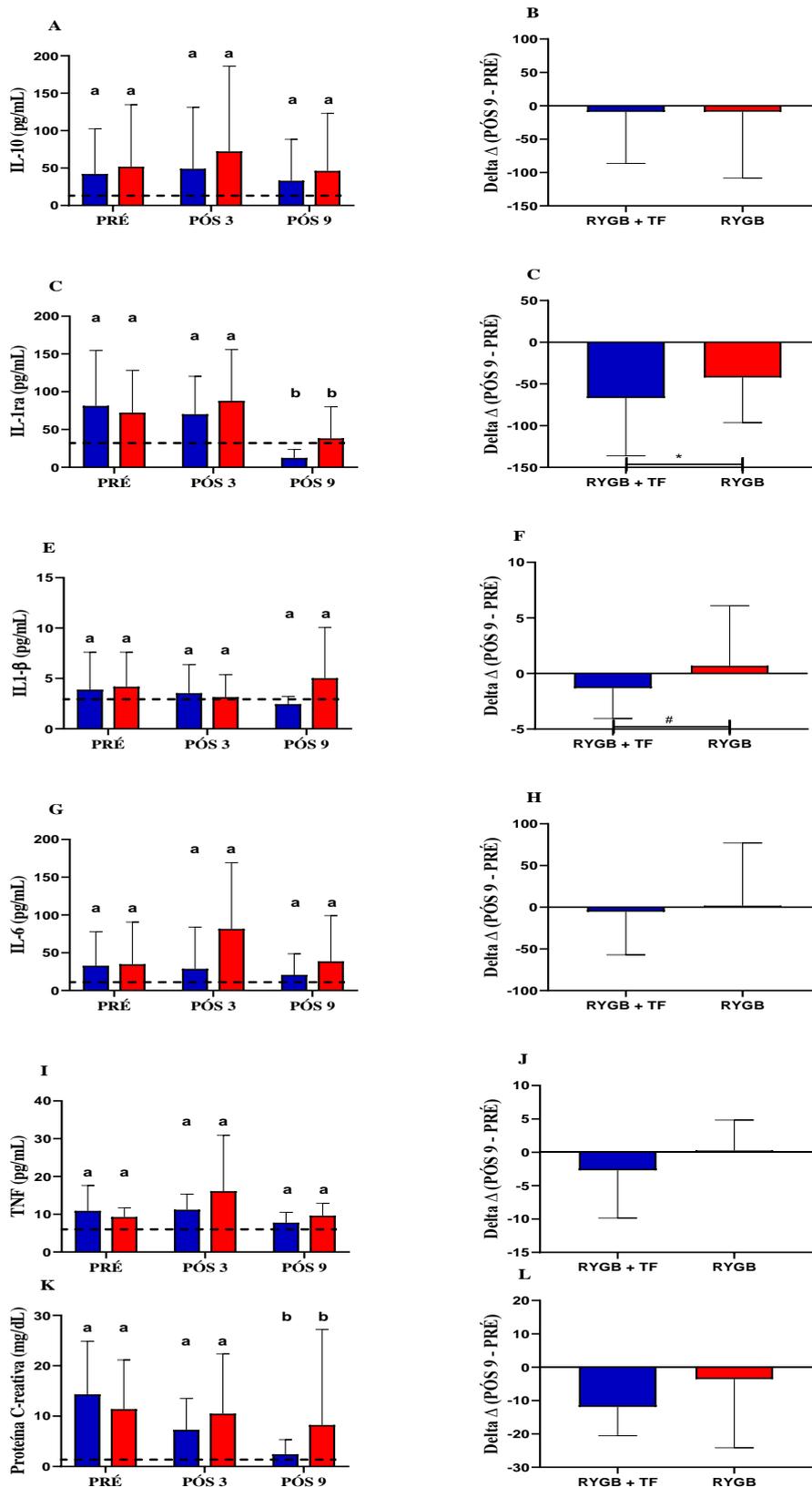


Figura 4. Marcadores inflamatórios dos grupos RGYB, RGYB+TF e CTRL (linha tracejada) nos tempos PRÉ, PÓS 3 e PÓS 9 (A, C, E, G, I e K) e respectivos deltas de mudanças (PÓS 9 – PRÉ) (B, D, F, H, J e L). Dados com letras sobrescritas diferentes são significativamente diferentes ($p < 0,05$). As linhas tracejadas representam os dados do grupo CTRL.

Em relação aos índices de sensibilidade à insulina (Figuras 4 a 6), glicemia e insulinemia de jejum, e AUC glicose e AUC insulina diminuíram, enquanto o Índice HOMA-IR aumentou do PRÉ para PÓS 3 e PÓS 9 de forma similar nos dois grupos (efeito principal de tempo, $p < 0,05$). O Índice de Matsuda, por sua vez, aumentou tanto do PRÉ para o PÓS 3, como do PÓS 3 para o PÓS 9 em ambos os grupos de forma similar (efeito principal de tempo, $p < 0,05$). Por fim, foi observada diminuição nas concentrações de peptídeo C do PRÉ para o PÓS 3 (comparação intragrupo, $p < 0,05$) em ambos os grupos, e do PÓS 3 para o PÓS 9 apenas no grupo RYGB + TF (comparação intragrupo, $p < 0,05$; efeito de interação grupo x tempo, $p = 0,07$). As comparações dos deltas de mudança (PÓS 9 – PRÉ) entre grupos mostraram diferença significativa apenas para a glicemia de jejum ($p = 0,03$) e tendência para significância para o peptídeo C de jejum ($p = 0,07$). Dessa forma, a cirurgia bariátrica foi efetiva na melhora de todos os índices de sensibilidade à insulina, tendo o exercício exercido efeito aditivo modesto apenas nas concentrações de peptídeo C de jejum e glicemia de jejum.

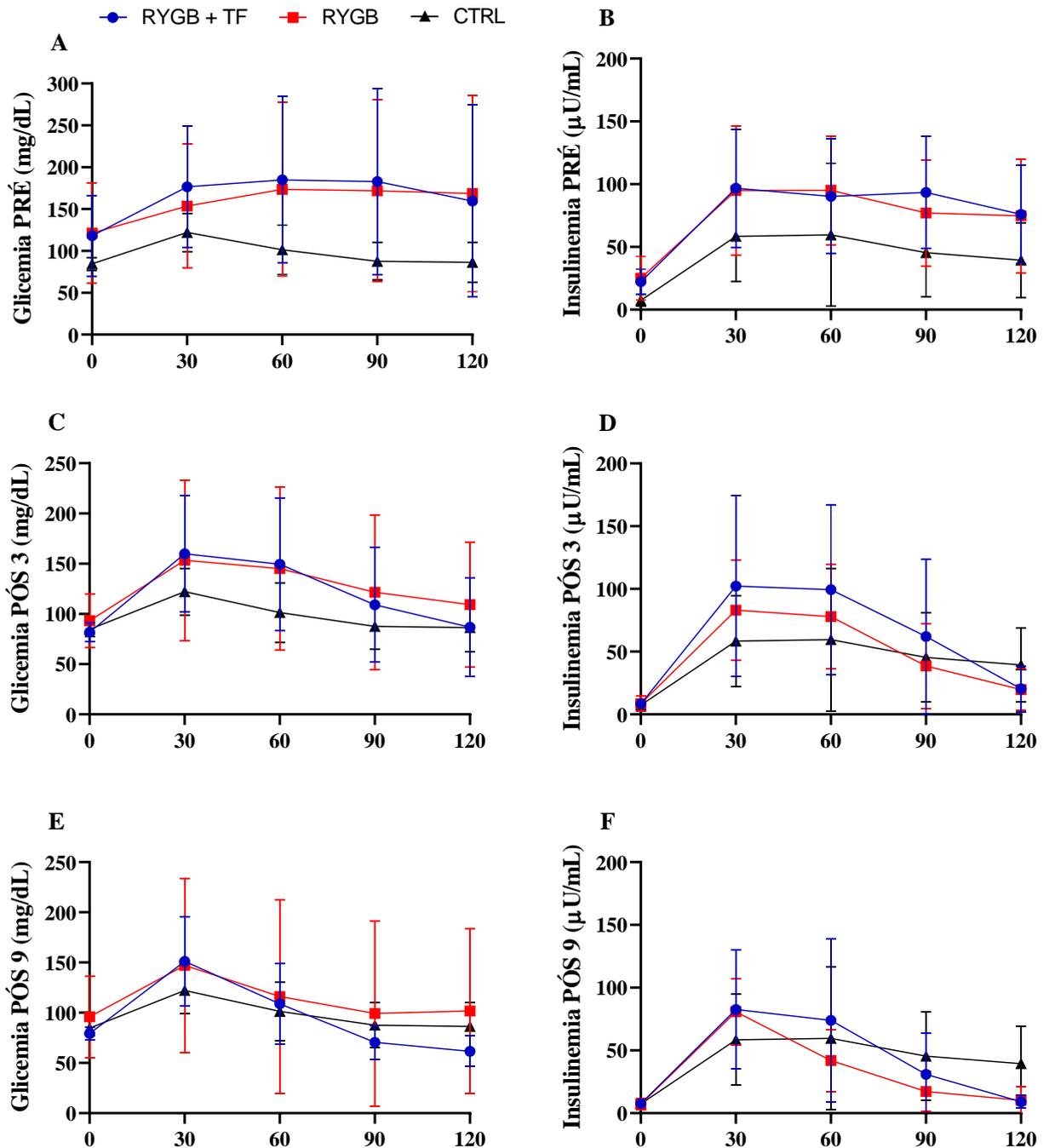


Figura 5. Respostas glicêmica e insulinêmica durante o Teste Oral de Tolerância à Glicose (OGTT) dos grupos RGYB, RGYB+TF e CTRL nos tempos PRÉ (A e B), PÓS 3 (C e D) e PÓS 9 (E e F).

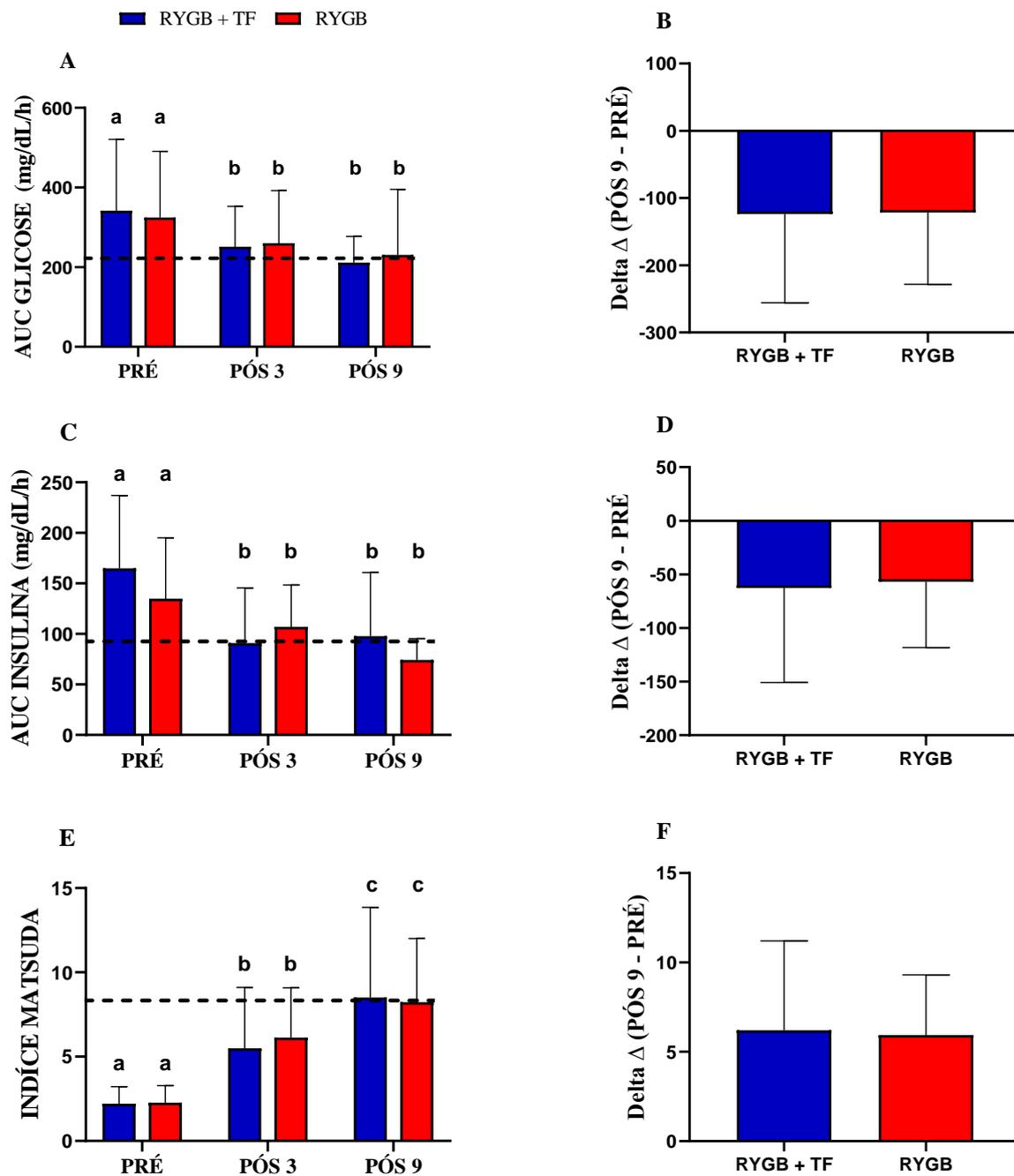


Figura 6. Índices de sensibilidade à insulina derivados do Teste Oral de Tolerância à Glicose (OGTT) dos grupos RYGB, RYGB+TF e CTRL (linha tracejada) nos tempos PRÉ, PÓS 3 e PÓS 9 (A, C e E) e respectivos deltas de mudanças (PÓS 9 – PRÉ) (B, D e F). Legenda: AUC - área sob a curva. Dados com letras sobrescritas diferentes são significativamente diferentes ($p < 0,05$). As linhas tracejadas representam os dados do grupo CTRL.

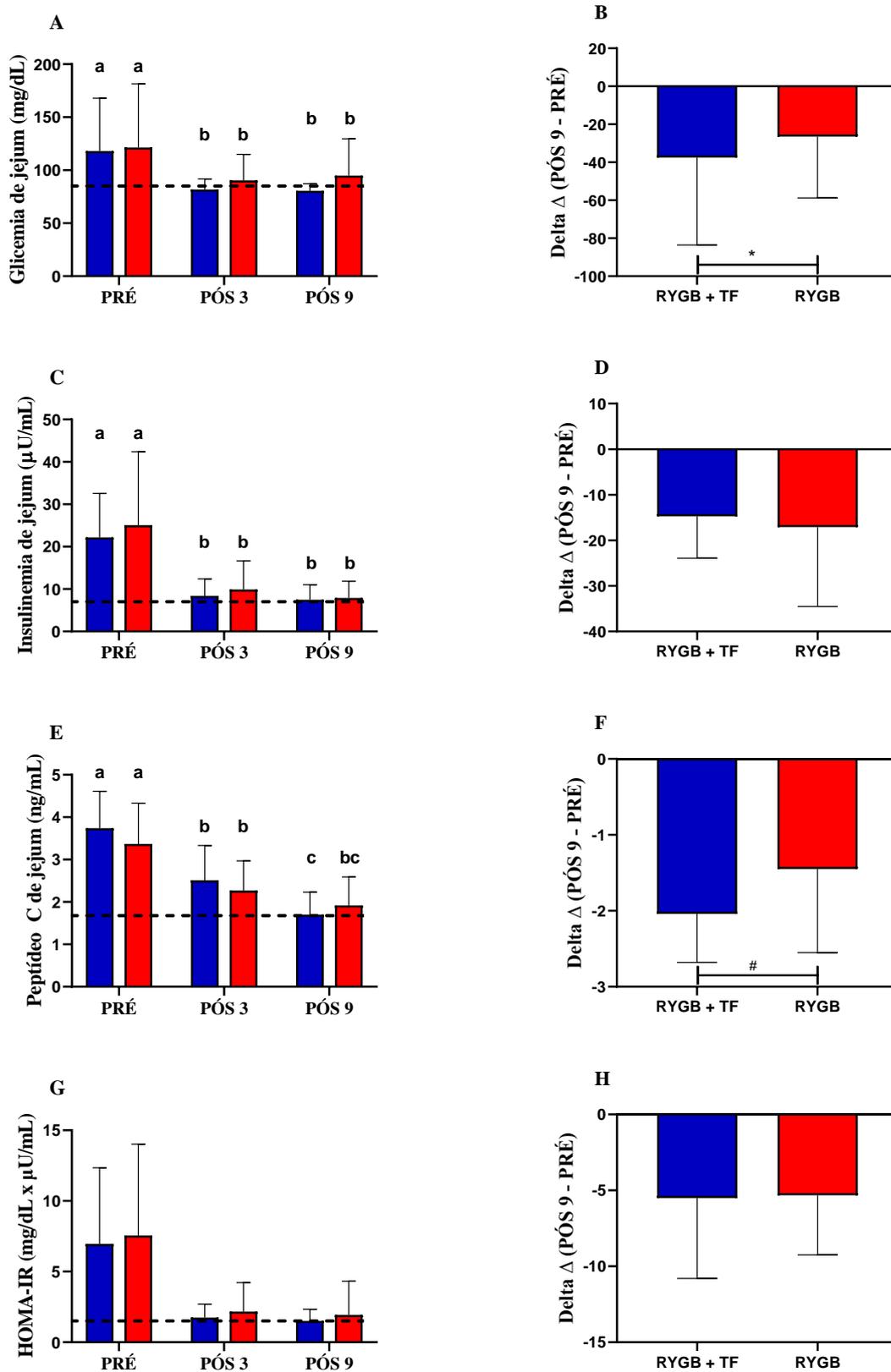


Figura 7. Índices de sensibilidade à insulina de jejum dos grupos RGYB, RGYB+TF e CTRL (linha tracejada) nos tempos PRÉ, PÓS 3 e PÓS 9 (A, C e E) e respectivos deltas de mudanças (PÓS 9 – PRÉ) (B, D e F). Legenda: HOMA-IR - *Homeostasis Model Assessment*. Dados com letras sobscritas diferentes são significativamente diferentes ($p < 0,05$). As linhas tracejadas representam os dados do grupo CTRL.

Na Tabela 6, são apresentados os dados da avaliação de consumo alimentar (por meio de três recordatórios alimentares) nos períodos PRÉ, PÓS 3 E PÓS 9 dos grupos RGYB, RGYB+TF e CTRL.

Tabela 6. Efeitos de um programa de exercício físico no consumo alimentar de mulheres submetidas a cirurgia bariátrica (n= 32)

Variáveis	RYGB + TF (n= 16)	RYGB (n= 16)	Diferença (IC - 95%)	Valor P Ajustado	Valor P Grupo*Tempo	CTRL (n=16)
Recordatório Alimentar (24h)						
Energia (Kcal)					0,439	
PRÉ	1251,5±348,3 ^a	1162,3±253,5 ^a	-100,69 (-440,64-239,25)	0,947		1483,7±330,0
PÓS 3	725,7±162,4 ^b	774,0±221,2 ^b	51,82 (-288,52-392,15)	0,997		
PÓS 9	863,8±144,1 ^b	710,7±154,8 ^b	-116,26 (-478,27-245,75)	0,926		
Carboidrato (g)					0,226	
PRÉ	149,62±36,45 ^a	139,11±16,50 ^a	-16,03 (-83,07-51,01)	0,979		155,39±40,43
PÓS 3	85,04±27,49 ^b	110,86±47,30 ^b	24,12 (-43,06-91,29)	0,889		
PÓS 9	111,13±37,52 ^{ab}	135,17±109,42 ^{ab}	26,44 (-44,54-97,43)	0,873		
Lipídios (g)					0,770	
PRÉ	47,04±18,75 ^a	42,11±16,08 ^a	-5,02 (-23,92-13,88)	0,967		52,70±12,15
PÓS 3	23,90±8,29 ^b	24,63±10,12 ^b	0,80 (-18,09-19,68)	1,000		
PÓS 9	31,15±8,03 ^b	26,44±11,66 ^b	-4,45 (-24,66-15,76)	0,985		
Proteínas (g)					0,240	
PRÉ	54,20±15,24 ^a	56,45±17,23 ^a	8,50 (-23,31-27,74)	0,999		92,74±38,22
PÓS 3	45,67±12,93 ^b	42,99±22,74 ^b	-3,34 (-28,92-22,25)	0,999		
PÓS 9	54,21±22,16 ^{ab}	34,64±15,83 ^{ab}	-14,80 (-41,77-12,16)	0,573		
Cálcio (mg)					0,295	
PRÉ	423,41±179,86 ^a	330,33±140,20 ^a	-84,89 (-357,23-187,44)	0,927		461,74±178,01
PÓS 3	252,87±139,41 ^a	331,92±308,7 ^a	84,70 (-188,11-357,52)	0,928		
PÓS 9	346,00±159,85 ^a	260,10±87,7 ^a	-39,08 (-329,63-251,46)	0,998		
Ferro (g)					0,837	
PRÉ	8,29±3,14 ^a	7,18±3,01 ^a	-1,07 (-4,82-2,67)	0,954		9,53±2,42
PÓS 3	4,89±1,67 ^b	4,81±1,45 ^b	-0,16 (-3,90-3,59)	1,000		
PÓS 9	5,83±2,49 ^b	5,54±3,22 ^b	-0,23 (-4,23-3,77)	1,000		
Fibra alimentar (g)					0,628	
PRÉ	15,60±8,48 ^a	10,23±2,68 ^a	-5,27 (-12,76-2,21)	0,304		12,82±4,68
PÓS 3	9,10±4,78 ^b	6,25±2,67 ^b	-3,00 (-10,48-4,49)	0,834		
PÓS 9	8,44±2,95 ^b	6,08±2,98 ^b	-2,02 (-10,01-5,98)	0,973		

Dados como média±desvio padrão, diferença média estimada entre os grupos (intervalo de confiança 95%), valor de P entre os grupos, e valor de P para interação grupo x tempo (calculado por meio da análise de modelo mistos de medidas repetidas). Dados com letras sobrescritas diferentes são significativamente diferentes (p<0,05).

Não foi observado efeito de interação grupo x tempo (p>0,05) para nenhuma das variáveis. Em contrapartida, foi observado efeito principal de tempo para todas as variáveis, com diminuição significativa do PRÉ para o PÓS 3 e PÓS 9 (comparações intragrupo, p<0,05) para a ingestão de todos os nutrientes avaliados e energia (Kcal), exceto para cálcio, cuja ingestão permaneceu inalterada ao longo da intervenção em ambos os grupos (comparação intragrupo, p>0,05). Assim, os dados da Tabela 6 demonstram efeito importante da cirurgia bariátrica, mas não do treinamento físico, no consumo alimentar das pacientes.

Na Tabela 7, são apresentados os dados da concentração de ácidos graxos de cadeia curta, avaliados nas fezes das pacientes, nos períodos PRÉ, PÓS 3 E PÓS 9 dos grupos RGYB, RGYB+TF e CTRL.

Tabela 7. Efeitos de um programa de exercício físico na concentração fecal de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) de mulheres submetidas a cirurgia bariátrica (n= 32)

Variáveis	RYGB + TF (n= 16)	RYGB (n= 16)	Diferença (IC - 95%)	Valor P Ajustado	Valor P Grupo*Tempo	CTRL (n=16)
Ácido acético (mmol/L)					0,549	
PRÉ	6,06±3,23 ^a	7,70±2,99 ^a	1,60 (-1,88-5,08)	0,743		5,21±1,99
PÓS 3	4,66±1,88 ^b	4,44±1,37 ^b	-0,22 (-3,79-3,35)	0,999		
PÓS 9	5,14±1,88 ^{ab}	5,55±1,50 ^{ab}	0,40 (-2,24-3,06)	0,997		
Ácido propiônico (mmol/L)					0,8619	
PRÉ	2,35±1,88 ^a	2,91±1,51 ^a	0,61 (-1,41-2,64)	0,943		1,60±0,68
PÓS 3	2,01±0,78 ^a	1,63±0,47 ^a	-0,38 (-2,46-1,69)	0,993		
PÓS 9	2,47±1,23 ^a	2,42±1,30 ^a	-0,05 (-1,60-1,49)	0,999		
Ácido butírico (mmol/L)					0,949	
PRÉ	1,89±1,77 ^a	1,91±1,96 ^a	0,01 (-1,82-1,85)	0,999		1,06±0,73
PÓS 3	1,20±0,60 ^a	1,06±0,38 ^a	-0,14 (-2,02-1,74)	0,999		
PÓS 9	1,64±0,65 ^a	1,75±0,93 ^a	0,11 (-1,28-1,52)	0,999		

Dados como média±desvio padrão, diferença média estimada entre os grupos (intervalo de confiança 95%), valor de P entre os grupos, e valor de P para interação grupo x tempo (calculado por meio da análise de modelo mistos de medidas repetidas). Dados com letras sobrescritas diferentes são significativamente diferentes (p<0,05).

As variáveis ácido propiônico e ácido butírico permaneceram inalteradas ao longo da intervenção (comparações intragrupos, p>0,05). Em contrapartida, foi observado efeito principal de tempo (p<0,05) para a variável ácido acético, com diminuição do tempo PRÉ para o tempo PÓS 3 (comparações intragrupos, p<0,05) e leve aumento do tempo PÓS 3 para o tempo PÓS 9, que, embora não tenha sido significativo (comparações intragrupos, p>0,05), fez com que não houvesse mais diferença significativa entre os valores do tempo PRÉ e PÓS 9 em ambos os grupos de forma similar. Dessa forma, os dados da Tabela 7 demonstram efeito modesto da cirurgia bariátrica, mas não do treinamento físico, sobre as concentrações fecais de ácido acético.

Por fim, nos gráficos e tabela abaixo, apresentamos os dados de composição e diversidade da microbiota intestinal nos períodos PRÉ, PÓS 3 E PÓS 9 dos grupos RGYB, RGYB+TF e CTRL.

Em relação à qualidade das amostras, foi possível detectar mais do que 100 ASVs (*amplicon sequence variants*) em quase todas as amostras, com uma profundidade de sequenciamento mediana de 60 mil *reads* (leituras) e 3 mil *reads* na menor amostra. A Figura 8 mostra as curvas de rarefação, indicando que todas atingiram um platô, o que demonstra que a profundidade de sequência foi suficiente para capturar a riqueza microbiana de todas as amostras.

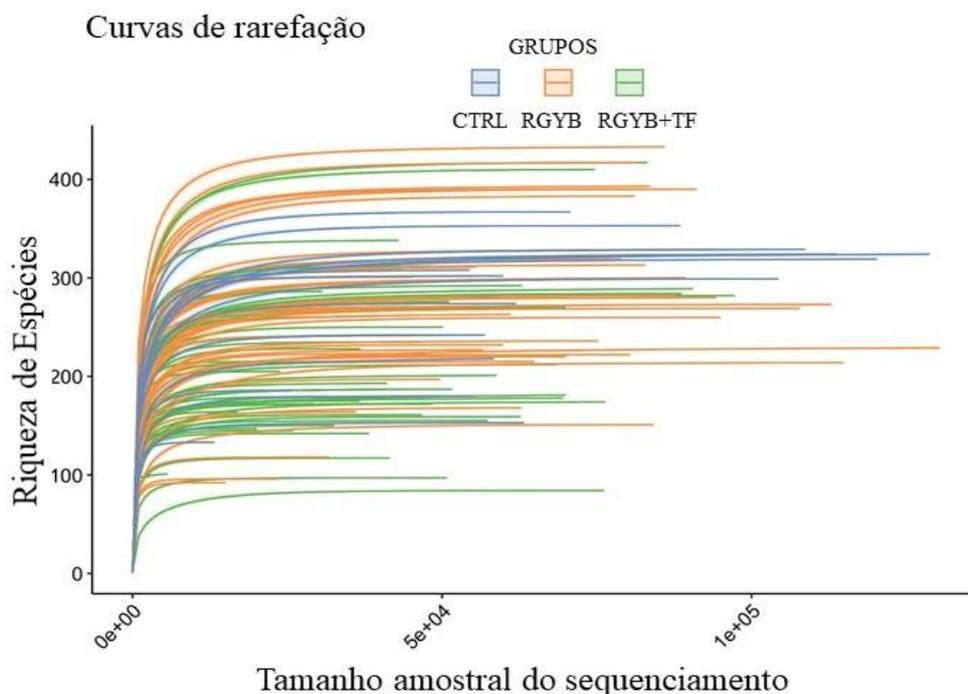


Figure 8. Em muitas profundidades de subamostragem, o número de ASVs distintos é calculado e esses valores são plotados em relação à profundidade de sequenciamento correspondente. A curva resultante mostra como a diversidade da comunidade microbiana muda à medida que a profundidade do sequenciamento aumenta.

ASVs devem estar presentes com contagem em pelo menos uma amostra (por construção este objeto já preenche este filtro essencial). Além disso, filtramos ASVs de filos e reinos Eukaryota não caracterizados.

Começamos com 4.828 ASVs e terminamos com 4.794 ASVs após o filtro. Perdemos 0,7% das sequências que representaram, em média, 0,19% do total das contagens. Na Figura 9 encontra-se a representação gráfica da prevalência e abundância de ASVs após a filtragem.

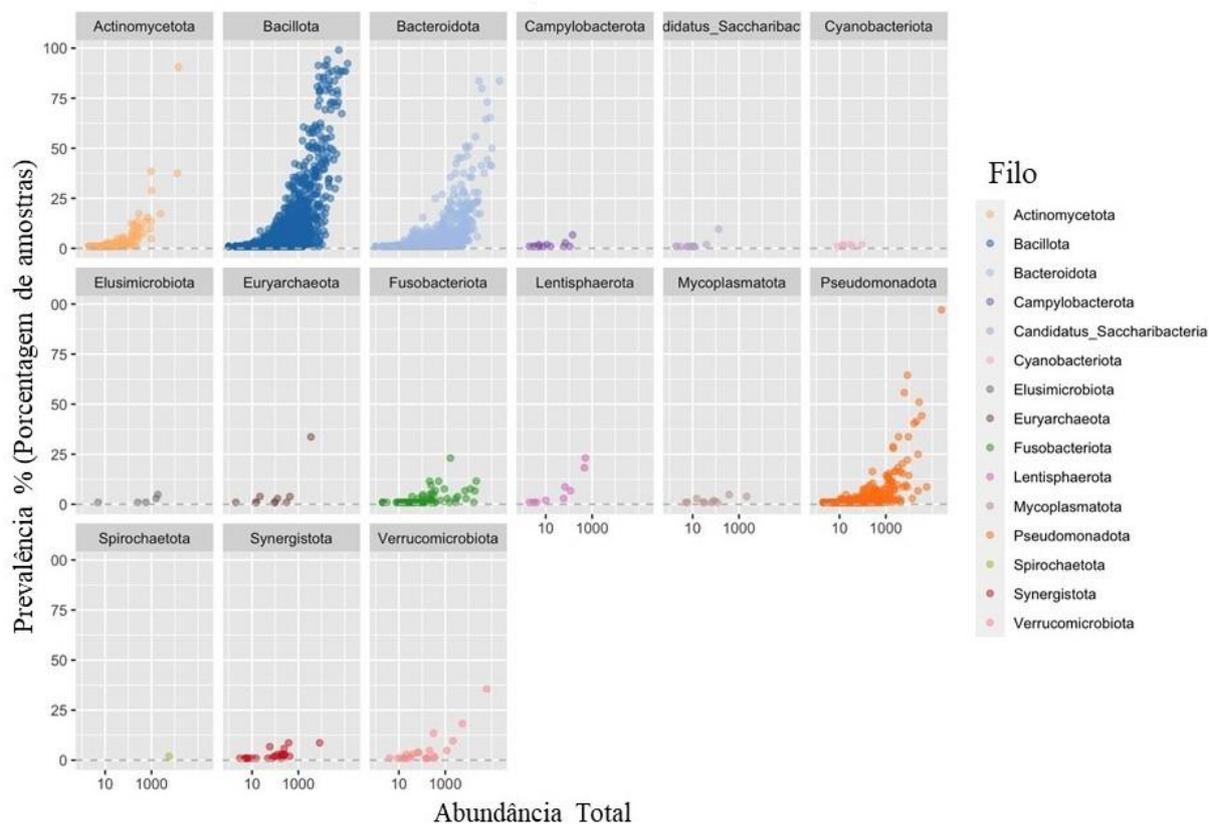


Figura 9. Prevalência vs. abundância de ASVs estratificada por Filo, após filtragem.

Os dados de ASVs foram aglomerados em nível de gênero. Esta escolha se justifica pelo baixo poder de resolução da região V3-V4 do metabarcoding 16S na determinação de espécies. A Figura 10 mostra os 30 gêneros mais abundantes na amostra como um todo.

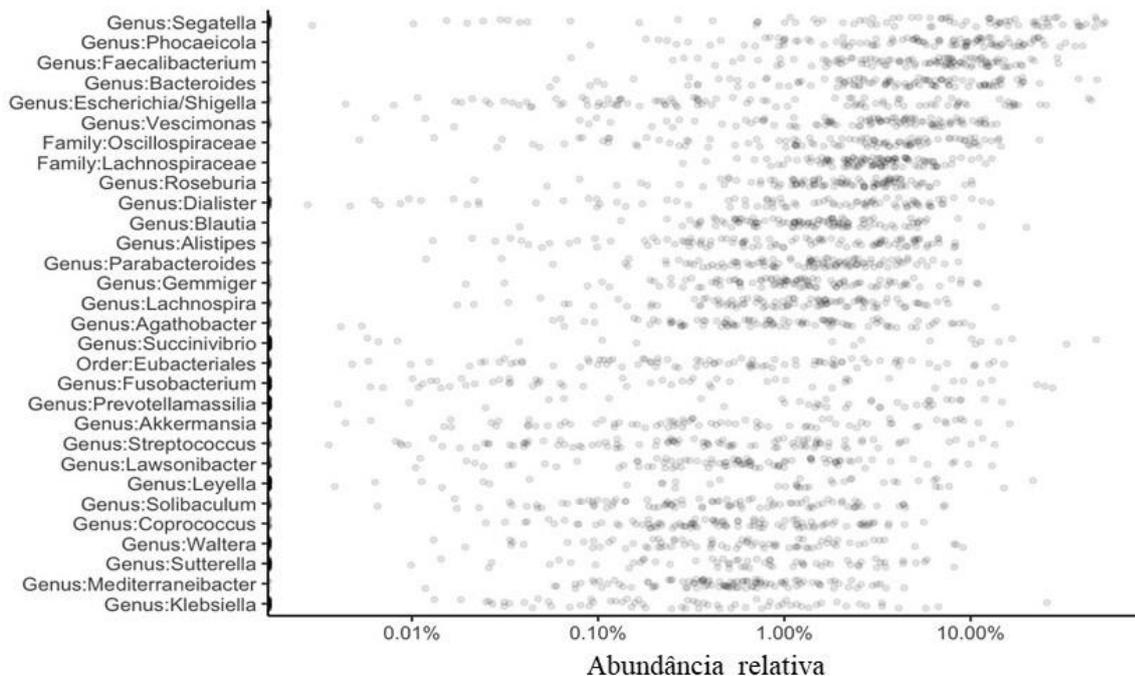


Figure 10. Abundância dos 30 gêneros mais presentes, independente do grupo ou tempo avaliado.

A Figura 11 mostra a prevalência, que quantifica a frequência de amostras onde certos microrganismos foram detectados, acima de um determinado limite de detecção, dos filios na amostra como um todo. Nota-se uma clara dominância dos filios Bacillota (antigamente denominado de Firmicutes) e Bacteroidota (antigamente denominado de Bacteroidetes).

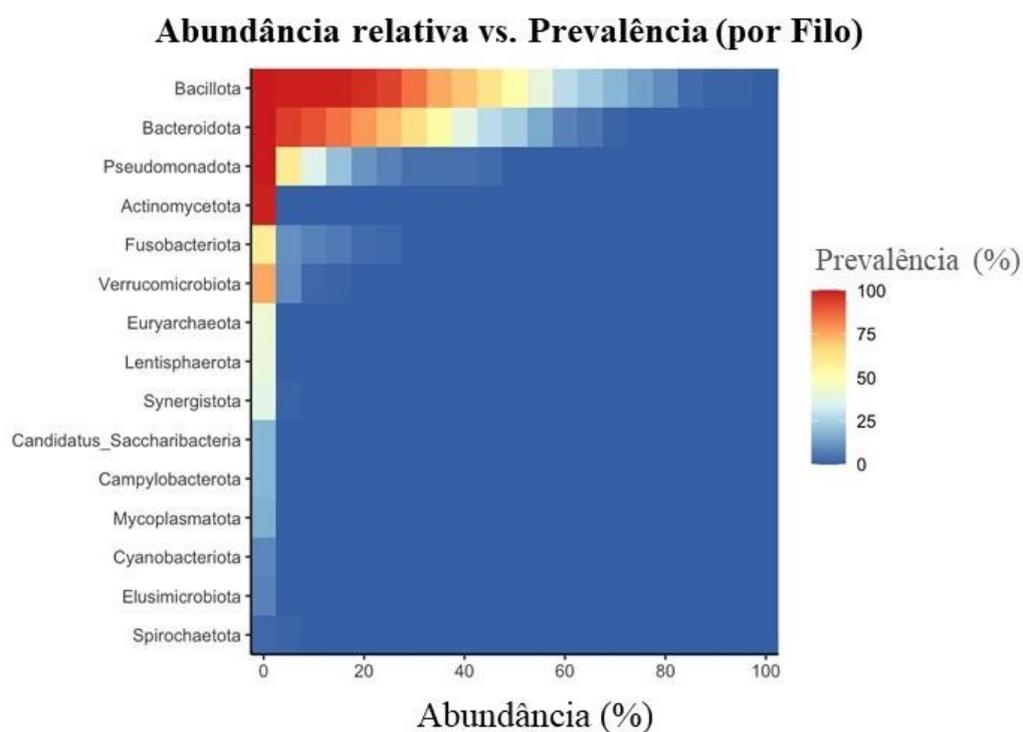


Figura 11. Visualização da prevalência de amostras através dos limites de abundância por Filo.

Na Figura 12 são demonstrados os perfis taxonômicos de todas as amostras. As amostras são ordenadas de acordo com o conteúdo dos filios Bacillota, seguidos de Bacteroidota e Pseudomonadota (antigamente denominado de Proteobacteria).

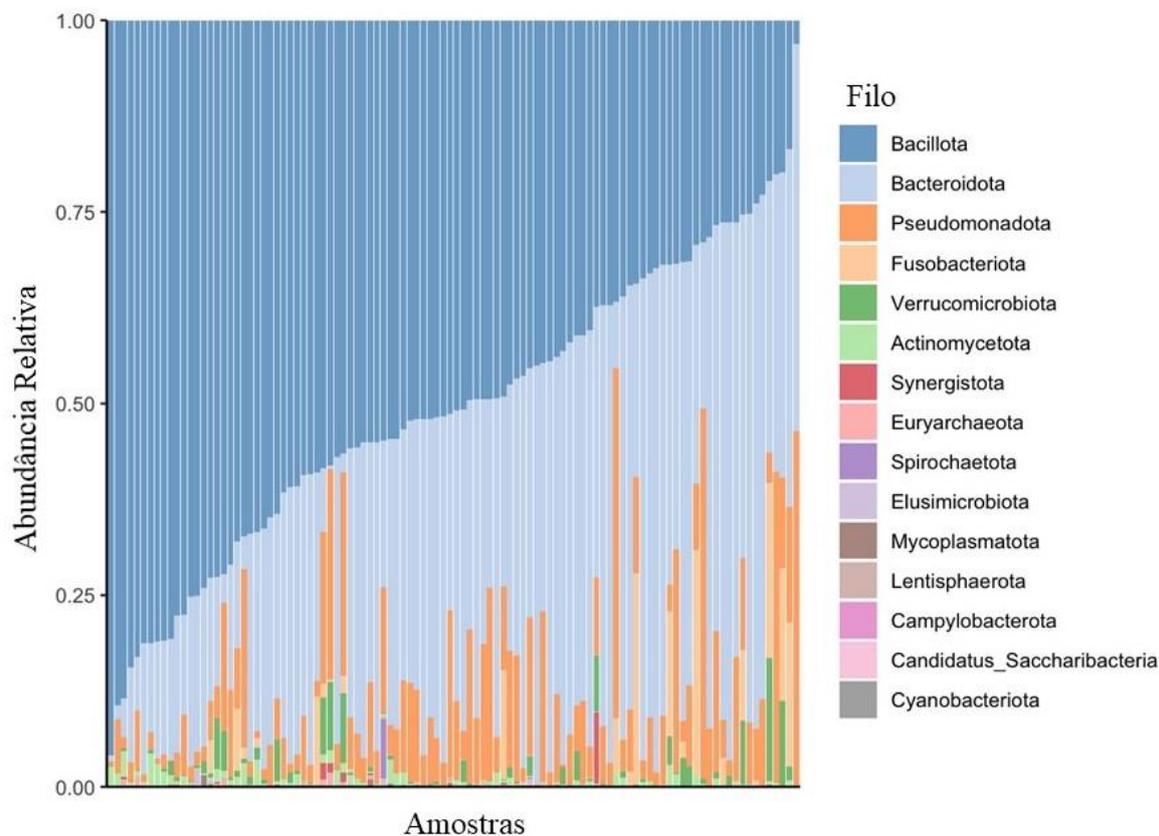


Figura 12. Perfis taxonômicos para todas as amostras.

A diversidade da comunidade microbiana nos grupos ao longo da intervenção foi investigada através das diversidades alfa (α) e beta (β). A diversidade alfa mostra a distribuição da abundância de espécies/características em uma determinada amostra em um único número que depende da riqueza e da uniformidade das espécies. Os índices de diversidade alfa medem a heterogeneidade geral da comunidade. Neste estudo, diversas medidas de diversidade ecológica foram calculadas: riqueza, diversidade filogenética, uniformidade e dominância.

Na Figura 13 são apresentadas as diversas métricas de diversidade alfa, a saber, riqueza absoluta dos gêneros, diversidade filogenética, diversidade de Shannon (ou índice de Shannon), uniformidade de Pielou e Simpson e dominância relativa.

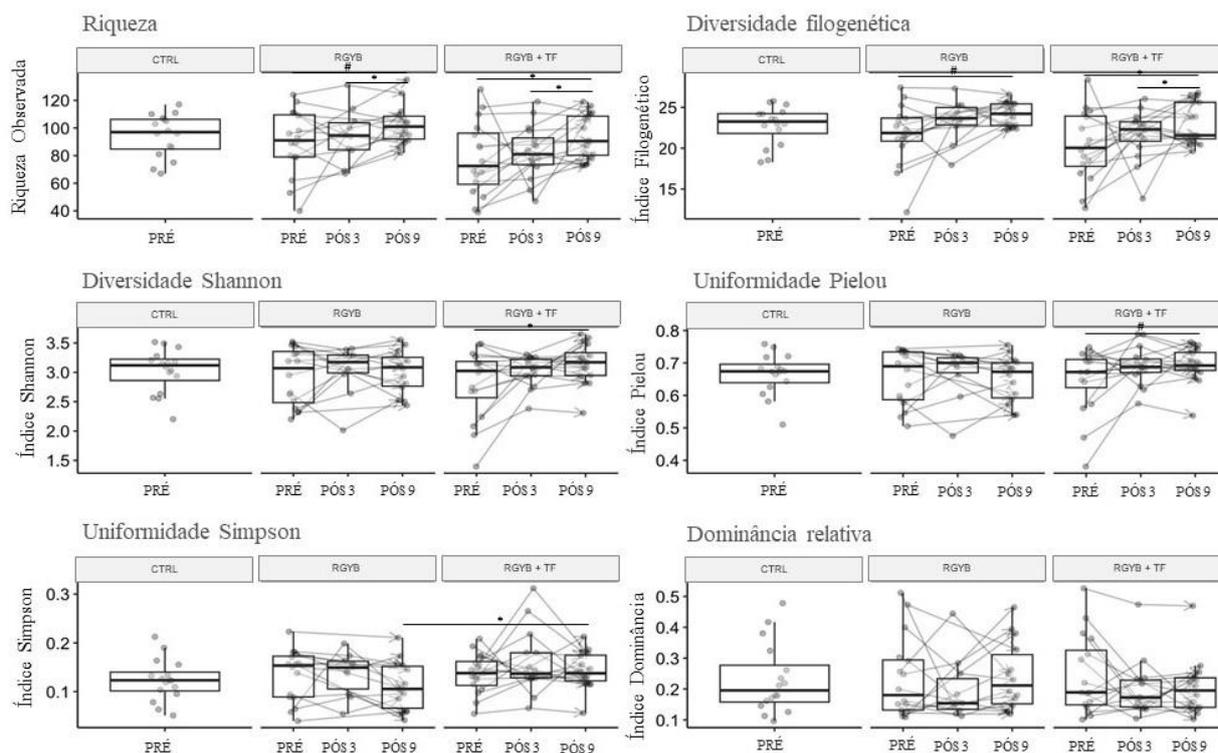


Figura 13. Medidas de alfa-diversidade nos grupos RGYB + TF, RGYB e CTRL. Dados expressos como média e desvio padrão. * significa $p < 0,05$ (comparações intragrupos ou entre grupos, $p < 0,05$; calculadas por meio do teste de Wilcoxon ou Mann-Whitney, respectivamente); # significa $p < 0,09$ (comparações intragrupos ou entre grupos, $p < 0,05$; calculadas por meio do teste de Wilcoxon ou Mann-Whitney, respectivamente).

O grupo RGYB + TF demonstrou aumento significativo na riqueza e na diversidade filogenética do PRÉ para o PÓS 3 e do PÓS 3 para o PÓS 9 (comparações intragrupo, $p < 0,05$), além de aumento significativo na diversidade Shannon e tendência para aumento na uniformidade de Pielou do PRÉ para o PÓS 9 (comparações intragrupo, $p < 0,05$). O grupo RGYB, por sua vez, apresentou aumento significativo do PÓS 3 para o PÓS 9 na riqueza (comparação intragrupo, $p < 0,05$) e tendência para aumento do PRÉ para o PÓS 9 na riqueza (comparações intragrupo, $p < 0,09$). Foi observada, ainda, diferença significativa entre os grupos, com o grupo RGYB + TF apresentando maior uniformidade avaliada pelo índice de Simpson no PÓS 9 (comparação entre grupos, $p < 0,05$). Assim, a cirurgia bariátrica parece ter impactado benéficamente a diversidade da microbiota intestinal das pacientes enquanto o exercício físico parece ter exercido um efeito ainda mais benéfico nesses parâmetros.

Para avaliar a diversidade entre as amostras, calculamos a diversidade beta (β), que mede a dissimilaridade entre amostras, que leva em conta tanto a presença/ausência de espécies como a sua abundância relativa. O método utilizado para este cálculo envolveu a transformação dos dados usando *Centered-Log-Ratio* (CLR) e depois o cálculo da distância euclidiana dos dados

transformados (CLR + distância euclidiana = distância de Aitchison). A suposição subjacente deste procedimento é que os dados de sequenciamento são composicionais (ou seja, as contagens são, na verdade, abundâncias relativas dependentes da profundidade de sequenciamento do sequenciador) e, portanto, precisam ser transformadas antes que as comparações possam ser feitas. Para representar visualmente as diferenças na diversidade β entre as amostras, utilizamos a técnica de redução de dimensionalidade chamada Análise de Coordenadas Principais (PCoA). O PCoA permite a representação gráfica de amostras em um sistema de coordenadas bi ou tridimensional, onde a posição de cada amostra reflete sua semelhança ou diferença na composição de espécies. A Figura 14 mostra a beta diversidade ao longo do tempo nos grupos RGYB + TF e RGYB.

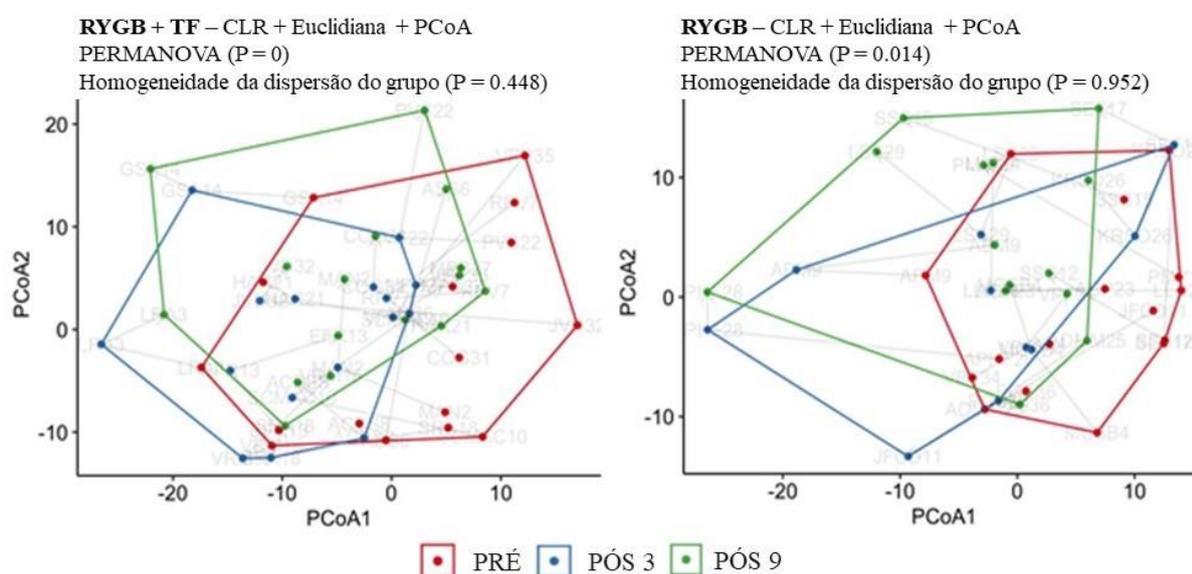


Figura 14. Diversidade beta nos grupos RGYB + TF e RGYB.

O cálculo de homogeneidade sugere dispersões homogêneas nos diferentes tempos nos dois grupos (comparações intragrupos, $p > 0,05$). Já o cálculo da PERMANOVA (Permutational Multivariate Analysis of Variance), que mede as distâncias entre os três pontos de tempo, tendo em conta o efeito individual do paciente, sugere mudanças na diversidade beta ao longo do tempo em ambos os grupos (comparações intragrupos, $p < 0,05$).

A Figura 15 mostra a diversidade beta dos grupos RGYB + TF, RGYB e CTRL nos três tempos.

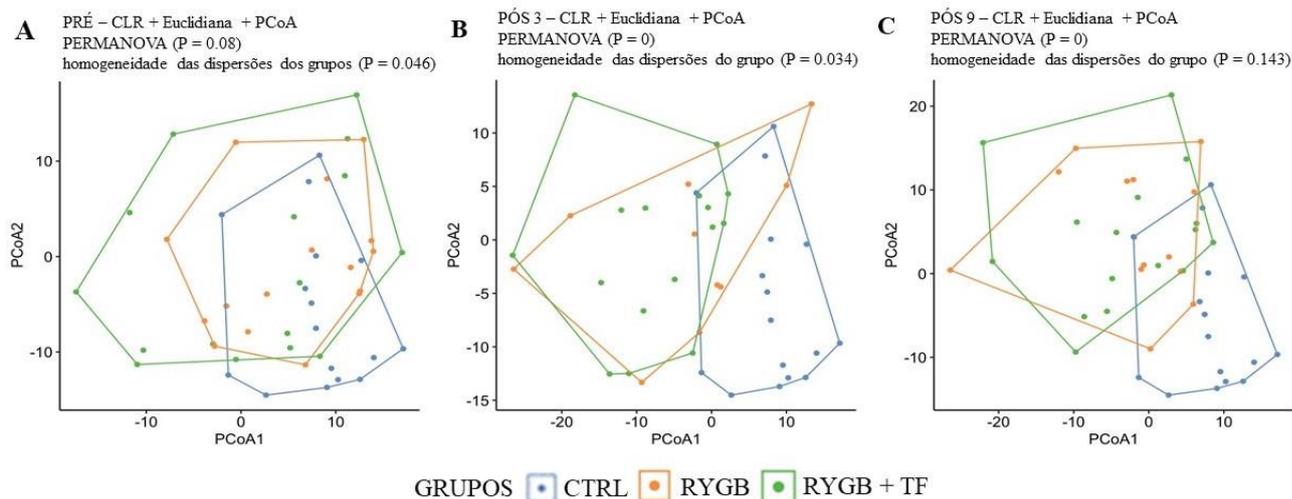
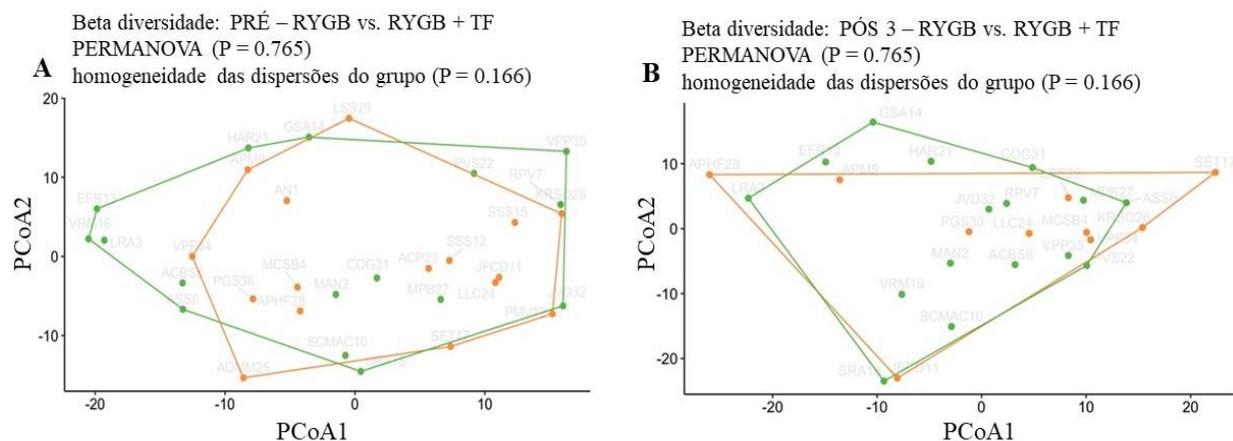


Figura 15. Diversidade beta nos grupos RYGB + TF, RYGB e CTRL nos tempos PRÉ (A), PÓS 3 (B) E PÓS 9 (C).

Enquanto nos painéis A e B podemos ver uma diferença significativa entre as dispersões dos grupos (comparações entre grupos, $p < 0,05$), no painel C essa diferença não é mais significativa. Curiosamente, a PERMANOVA destaca que os três grupos são diferentes em todos os momentos (comparações entre grupos, $p < 0,05$). De modo geral, as Figuras 11 e 12 mostram um efeito da cirurgia bariátrica, alterando a dispersão da microbiota intestinal de modo que ela passa a não ser mais diferente daquela do grupo CTRL no PÓS 9. Contudo, os grupos permaneceram diferentes em todos os tempos.

Na figura 16 é possível observar a comparação da beta diversidade nos três tempos de avaliação, somente nos grupos que realizaram a cirurgia bariátrica (RYGB + TF *versus* RYGB).



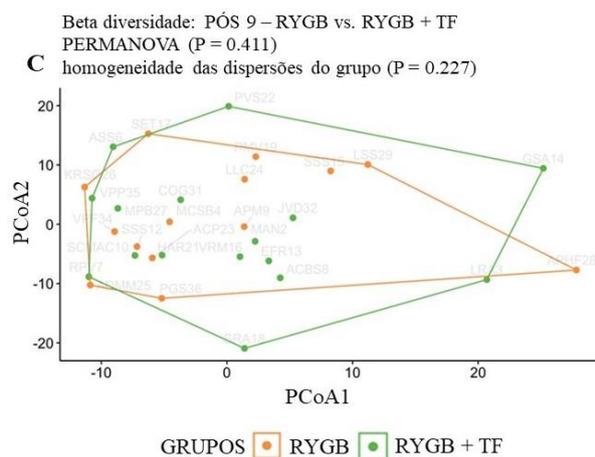


Figura 16. Diversidade beta nos grupos RGYB e RGYB + TF nos tempos PRÉ (A), PÓS 3 (B) E PÓS 9 (C).

Ao analisar somente os grupos que realizaram a cirurgia bariátrica, podemos verificar que não houve diferença na homogeneidade da dispersão em ambos os grupos, entre os momentos PRÉ e PÓS 3 (comparações entre grupos, $p < 0,05$), porém no momento PÓS 9 a dispersão é diferente para o grupo treinado, mas sem significância. Destacadamente, a PERMANOVA mostra que os dois grupos são diferentes no momento PRÉ para o PÓS 9 (comparações entre grupos, $p < 0,05$). De modo geral, a cirurgia bariátrica e o treinamento físico não alteraram a beta diversidade da microbiota intestinal em todos os tempos.

Para determinar as diferenças específicas intra e entre grupos, tendo em conta o efeito específico do paciente, foram utilizados métodos de análise de abundância diferencial (DAA). Para tal, utilizamos uma abordagem de modelo de regressão de efeitos mistos, considerando o sujeito como efeito aleatório e grupo e tempo como efeitos fixos. A Figura 17 mostra as diferenças intra e entre os grupos RGYB e RGYB + TF ao longo da intervenção.

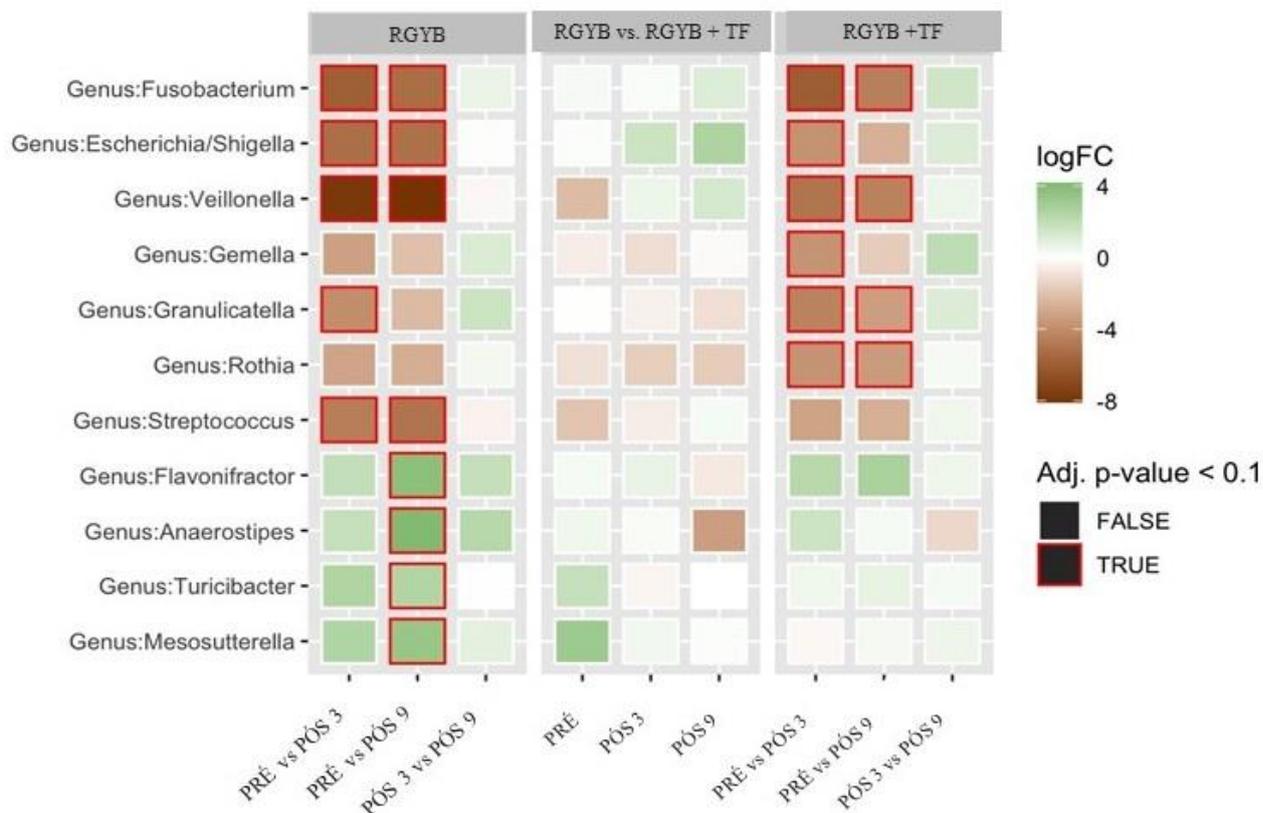


Figura 17. Análise de abundância diferencial intra e entre os grupos RGYB e RGYB + TF. Valores negativos (marrom) indicam que a característica é menos abundante no grupo de comparação (que consta à esquerda na legenda). Valores positivos (verde) indicam que a característica é mais abundante no grupo de comparação (que consta à esquerda na legenda). O quadrado vermelho ao redor de uma célula indica que o valor p ajustado (corrigido por BH) é inferior a 0,1 para aquele recurso, naquela comparação específica.

Por fim, a Figura 18 mostra os gêneros com pelo menos uma diferença significativa intra ou entre grupos como mencionado na Figura 17.

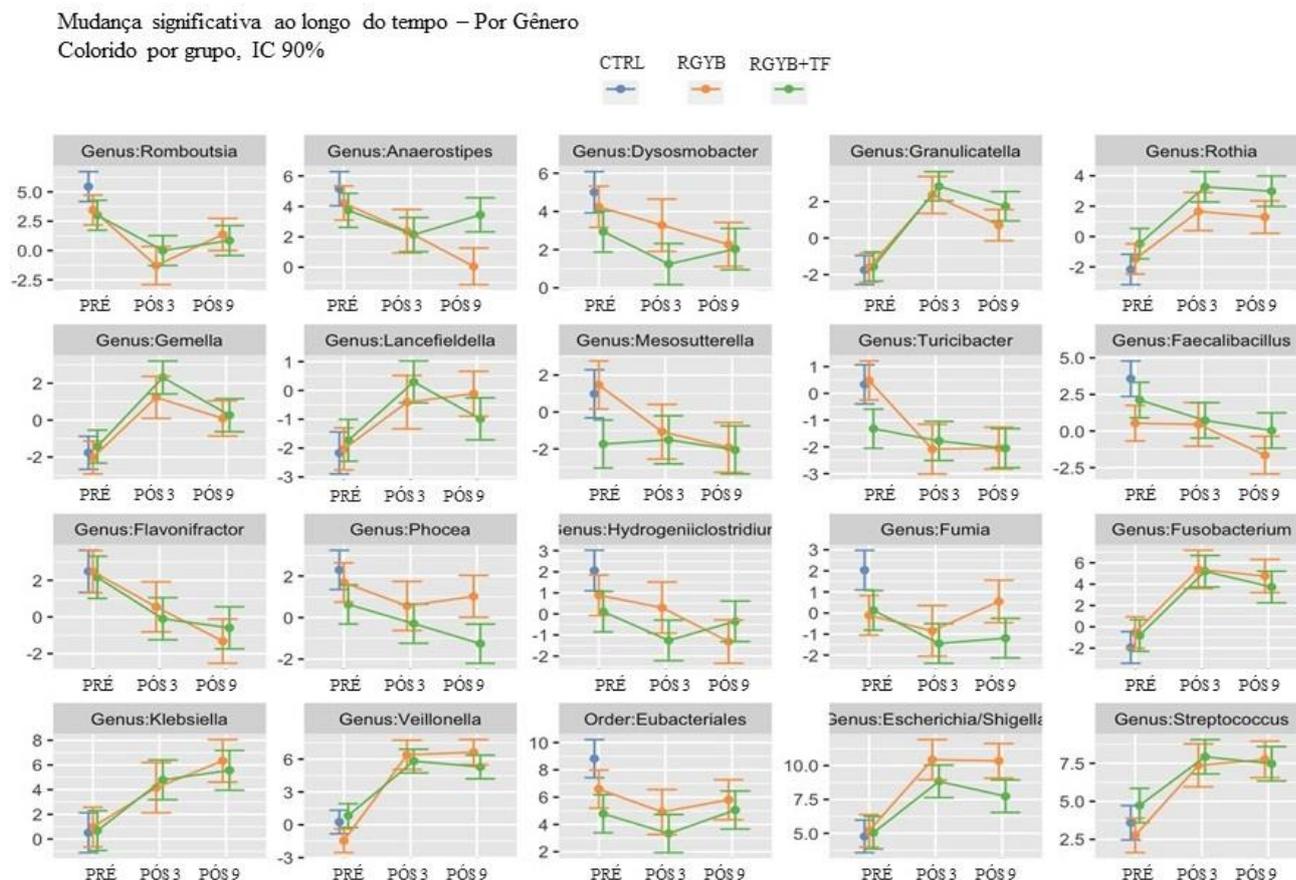


Figura 18. Análise de abundância diferencial intra e entre os grupos RGYB, CTRL e RGYB + TF. Gêneros com pelo menos uma diferença significativa intra ou entre grupos (valor p ajustado de Tukey + BH < 0,1). Dados expressos como média e 90% IC.

Não houve diferença significativa entre os grupos RGYB e RGYB+TF em nenhum dos tempos. Contudo, diversas alterações do PRÉ para o PÓS 3 e do PRÉ para o PÓS 9 foram observadas em ambos os grupos, com diferenças para alguns gêneros. Do PRÉ para o PÓS 3, foi observado aumento da abundância dos gêneros *Fusobacterium*, *Escherichia/Shigella*, *Veillonella* e *Granulicatella* em ambos os grupos, enquanto o aumento dos gêneros *Rothia* e *Gemella* foram observados apenas no grupo RGYB + TF e o aumento do gênero *Streptococcus* foi observado apenas no grupo RGYB (comparações intragrupos, $p < 0,1$). *Fusobacterium* e *Veillonella* permaneceram aumentados no PÓS 9 em ambos os grupos (comparações intragrupos, $p < 0,1$). Em contrapartida, *Escherichia/Shigella* diminuíram no PÓS 9, não sendo mais diferente do PRÉ no grupo RGYB+TF apenas (comparação intragrupo, $p > 0,1$), enquanto permaneceu elevada no grupo RGYB (comparação intragrupo, $p < 0,1$). *Gemella* também diminuiu no PÓS 9, não sendo mais diferente do PRÉ no grupo RGYB+TF (comparação intragrupo, $p > 0,1$), sem alterações no grupo RGYB (comparação intragrupo, $p > 0,1$). O gênero *Rothia* permaneceu elevado no grupo RGYB + TF no PÓS 9 (comparação intragrupo, $p < 0,1$),

sem alterações no grupo RGYB (comparação intragrupo, $p > 0,1$). No grupo RGYB apenas, o gênero *Streptococcus* permaneceu elevado no PÓS 9 (comparação intragrupo, $p < 0,1$), enquanto umas diminuições foram observadas nos gêneros *Flavonifractor*, *Anaerostipes*, *Turicibacter* e *Mesosutterella* em relação ao PRÉ (comparações intragrupo, $p < 0,1$).

6. DISCUSSÃO

Ao nosso conhecimento, esse é o primeiro ensaio clínico controlado e randomizado que avaliou os efeitos do exercício físico na composição e diversidade da microbiota intestinal de mulheres submetidas a cirurgia bariátrica. Nós observamos que a cirurgia bariátrica levou ao aumento da riqueza, enquanto o treinamento físico também levou ao aumento da uniformidade e do índice de diversidade Shannon da microbiota intestinal das pacientes. Embora não tenhamos observado diferenças na diversidade da microbiota intestinal entre os grupos bariátricos ao longo da intervenção, conforme avaliado pela diversidade beta, foram observadas diferenças na abundância diferencial de alguns gêneros do PRÉ para o PÓS 9, com maior aumento do gênero *Granulicatella* e *Rothia* no grupo treinado, e maior aumento nos gêneros *Escherichia/Shigella* e *Streptococcus*, maior diminuição nos gêneros *Flavonifractor*, *Turicibacter* e *Mesosutterella* e diminuição no gênero *Anaerostipes* no grupo não treinado apenas, sugerindo que o treinamento físico modulou de forma diferente, mesmo que modestamente, a composição da microbiota intestinal das pacientes bariátricas.

Estudos anteriores sugerem efeito importante da cirurgia bariátrica na mudança da composição e aumento da diversidade da microbiota intestinal, no sentido de torná-la mais similar àquela de sujeitos eutróficos¹³⁹. No nosso estudo, nós observamos aumento da riqueza da microbiota intestinal, mas não da uniformidade ou da diversidade Shannon, que leva em consideração a riqueza e a uniformidade da amostra, nove meses após a cirurgia bariátrica. Ademais, observamos que a diversidade da microbiota intestinal das pacientes bariátricas, embora tenha se alterado do PRÉ para o PÓS 9, ainda permaneceu diferente daquela das participantes controles saudáveis, conforme avaliado pela diversidade beta. Assim, a cirurgia bariátrica exerceu efeitos positivos, porém modestos, na diversidade da microbiota intestinal das pacientes. Apesar dos nossos resultados diferirem de outros estudos, cabe ressaltar que existem ainda diversas inconsistências na literatura que possivelmente são explicadas por diferenças demográficas das populações estudadas¹⁴⁰, como por exemplo o uso de medicamentos, a alimentação e a prática de atividade física, muitas vezes não avaliada¹⁴⁰.

Nesse sentido, nós observamos que o treinamento físico, embora não tenha sido capaz de tornar a microbiota das pacientes similar à daquela das pacientes controle saudáveis, levou não apenas ao aumento da riqueza, mas também da uniformidade e da diversidade da microbiota intestinal das pacientes. Notavelmente, o exercício estruturado pode ser uma alternativa para beneficiar e alterar a microbiota intestinal através da melhora dos parâmetros bioquímicos e metabólicos de adultos com excesso de peso e obesidade. Na pesquisa de Kern et al.³⁵ o exercício estruturado aumentou em até 5% o índice de diversidade de Shannon no grupo que treinou em intensidade vigorosa aos 3 meses em comparação com o grupo controle. Diferentemente do nosso estudo, contudo, os autores demonstraram que diversidade beta do grupo treinado mudou em comparação com o controle. No nosso estudo, embora não tenhamos observado diferenças na diversidade beta entre os grupos bariátricos, observamos diferenças na abundância de alguns gêneros de bactérias entre os grupos. Enquanto ambos os grupos apresentaram aumento de *Fusobacterium* e *Veillonella* de forma similar, o treinamento levou ao maior aumento dos gêneros *Granulicatella* e *Rothia*, e a redução dos gêneros *Escherichia/Shigella* e *Streptococcus* e à menor diminuição dos gêneros *Flavonifractor*, *Anaerostipes*, *Turicibacter* e *Mesosutterella* em relação ao grupo não treinado. Ao observarmos a Figura 18, nota-se que o treinamento efetivamente reverte uma queda substancial de *Anaerostipes* no PÓS 9, observada do grupo não treinado e atenua o aumento de *Escherichia/Shigella*. De forma importante, é possível que essas alterações estejam associadas a diferenças em alguns dos parâmetros metabólicos observados no presente estudo.

O aumento de *Veillonella*, *Streptococcus* e *Escherichia/Shigella* tem sido consistentemente observado após a cirurgia bariátrica¹⁴⁰. As bactérias que compõem os gêneros *Veillonella* e *Streptococcus* são metabolizadoras de lactato e, portanto, impactam a produção de ácido butírico e a integridade da barreira epitelial, podendo levar à diminuição da inflamação¹⁴¹. Assim, é possível que esse aumento esteja associado à diminuição das concentrações de proteína C-reativa e melhora da sensibilidade à insulina nos dois grupos.

De fato, a cirurgia bariátrica parece ter tido grande efeito na maioria das variáveis bioquímicas e inflamatórias, enquanto o treinamento físico exerceu efeitos ainda mais benéficos com interação significativa nas variáveis de perfil lipídico, como no aumento do colesterol HDL e diminuição dos triglicerídeos, e na diminuição acentuada dos marcadores inflamatórios de proteína C-reativa, IL1-ra e IL-1 β . No que diz respeito aos índices de sensibilidade à insulina, a cirurgia bariátrica foi efetiva, tendo o treinamento físico exercido efeito aditivo, mas modesto, apenas nas concentrações de peptídeo C de jejum e glicemia de jejum.

É possível que os efeitos do treinamento físico, atenuando o aumento de *Escherichia/Shigella* e a queda de *Anaerostipes*, possam estar associados às respostas metabólicas observadas neste estudo. *Escherichia/Shigella* são bactérias Gram-negativas e com alto potencial de correlação com marcadores pró-inflamatórias como o TNF α ¹⁴². Assim, a atenuação do seu aumento no grupo treinado pode estar associada à diminuição mais expressiva das concentrações de proteína C-reativa, da glicemia e das concentrações de peptídeo-C de jejum. Além disso, estudo recente mostrou que o aumento da abundância de *Escherichia/Shigella* estava positivamente correlacionado com as concentrações de triglicérides sanguíneos e negativamente associado com as concentrações de HDL em pacientes bariátricas¹⁴³. Esses dados estão em consonância com os do presente estudo, já que as pacientes treinadas apresentaram aumento de HDL e diminuição de triglicérides em comparação ao grupo não treinado.

Verheggen et al.¹⁴⁴ demonstraram que oito semanas de treinamento aeróbio levaram ao aumento do gênero *Anaerostipes* em pessoas com obesidade, em consonância com nossos achados. Neste estudo, a abundância de *Anaerostipes* estava positivamente correlacionada com o VO_{2max} dos pacientes. Assim, é possível que a atenuação da queda de *Anaerostipes* no grupo treinado esteja associada ao aumento da aptidão cardiorrespiratória, quando comparado ao grupo não treinado. Embora a cirurgia bariátrica por si só apresente efeitos no limiar anaeróbico ventilatório e no VO₂ pico, o exercício físico parece apresentar resultados aditivos e superiores. Esses resultados foram evidenciados em outro estudo do nosso grupo, ao identificar que o treinamento físico se sobrepôs aos benefícios da cirurgia bariátrica na regulação autonômica cardíaca¹⁴⁵. Esses achados foram mais surpreendentes quando o treinamento físico reforçou os efeitos mediados pela cirurgia sob o percentual de frequência cardíaca e na frequência cardíaca de repouso, experimentados pelas pacientes exercitadas em comparação com aquelas que não praticavam exercício¹⁴⁵.

Além do aumento na capacidade aeróbia, observamos no grupo treinado apenas, preservação da força e função muscular, além da atenuação da perda da massa magra, mesmo que modestamente, quando comparado ao grupo não treinado. Nossos achados confirmam os achados anteriores do nosso grupo, onde Gil et al.¹⁴⁶ demonstraram que um programa de treinamento físico de seis meses, supervisionado, atenuou a perda de massa magra e reverteu a perda de força muscular entre as mulheres submetidas à cirurgia bariátrica, além de reverter completamente a atrofia das fibras musculares induzida pela cirurgia bariátrica, em conjunto com aumentos na capilarização e no conteúdo de células satélites¹⁴⁶. Estudos anteriores sugerem que a diversidade da microbiota intestinal também parece estar associada com a

quantidade de massa muscular esquelética. Em estudo Koreano de base populacional¹⁴⁷ com 1.052 adultos de meia idade, ambos os sexos, foi analisado a relação entre a massa muscular esquelética e a diversidade microbiana intestinal, controlado por covariáveis como idade, índice de massa corporal e prática de atividade física regular¹⁴⁷. Apenas no sexo masculino o grupo com maior índice de massa muscular (IMM) apresentou uma alta alfa-diversidade (Diversidade de Shannon), porém não houve diferença estatística para a riqueza de Pielou e diversidade filogenética¹⁴⁷. Esses dados vão ao encontro dos nossos achados, já que observamos aumento da uniformidade e diversidade alfa no grupo treinado, corroborando a possível hipótese do surgimento do eixo músculo-intestino, apesar das poucas evidências encontradas que explicam os mecanismos envolvidos até o presente momento.

O nível de atividade física em intensidade leve e de moderada a vigorosa, e o número de passos por dia também melhorou após seis meses de treinamento físico, quando comparado ao grupo não treinado, bem como, a redução das horas de comportamento sedentário. Nossos resultados indicam que a adoção de um estilo de vida ativo pode favorecer nas mudanças de comportamento de pacientes após a cirurgia bariátrica. Contudo, conforme o estudo observacional e longitudinal de Zabatiero et al.¹⁴⁸ a cirurgia bariátrica apresenta um papel fundamental na perda de peso e na auto-eficácia para a prática de exercício, mas é insuficiente para promover mudanças no nível de atividade física e redução de comportamentos sedentário. Os autores ainda afirmam que adicionalmente a intervenção cirúrgica é necessário a promoção de mudanças comportamentais quanto a adoção de um estilo de vida saudável¹⁴⁸.

Interessantemente, os níveis de atividade física e comportamento sedentário também parecem estar associados à microbiota intestinal. O estudo recente Baldanzi et al.¹⁴⁹ avaliou a microbiota intestinal pelo sofisticado método metagenômico *Shotgun* e os níveis de atividade física em intensidade moderada (AFM) e atividade física em intensidade vigorosa (AFV) e comportamento sedentário (Acelerômetro no quadril) em 8.416 participantes, ambos os sexos, com idade entre 50 e 65 anos. Os autores constataram que o comportamento sedentário e a atividade física estão ligados à abundância de mais de 600 espécies. Contudo, as associações entre o tempo sedentário e a abundância de espécies da microbiota foram em direção oposta às associações da AFM e AFV. AFM foi associada com menor abundância de *Escherichia coli*, enquanto o comportamento sedentário com maior abundância. AFM e AFV foram associados à maior abundância de espécies produtoras de butirato como *Faecalibacterium prausnitzii* e *Roseburia spp*¹⁴⁹. Ademais, foram observadas discrepâncias entre associações específicas de AFM e AFV, como associação positiva entre AFM e *Prevotella copri*, enquanto nenhuma associação foi detectada para AFV. Além disso, o comportamento sedentário, AFM e AFV

foram associados ao potencial funcional do microbioma, a AFM à maior capacidade de síntese de acetato e o comportamento sedentário à menor capacidade de degradação de carboidratos¹⁴⁹.

Este estudo apresenta algumas limitações. Nossos achados devem se limitar às principais características das pacientes, ou seja, mulheres de meia-idade, com obesidade severa, baixo nível de escolaridade e status socioeconômico. Além disso, tivemos o tamanho amostral afetado com algumas perdas de seguimento, especialmente nas últimas avaliações (PÓS 9) em decorrência de estar em meio a pandemia da COVID-19, dificuldades na continuação da pesquisa na retomada pós pandemia e não podemos generalizar nossos achados para homens submetidos à cirurgia bariátrica.

7. CONCLUSÕES

Nossos achados indicam que a cirurgia bariátrica levou a mudanças positivas na composição e diversidade da microbiota intestinal, enquanto o treinamento físico parece ter exercido efeitos benéficos aditivos, ainda que modestos, nestes parâmetros, os quais podem estar associados às maiores melhorias, também modestas, de alguns parâmetros metabólicos, inflamatórios e de capacidade física dessas pacientes. Esses dados corroboram dados anteriores do nosso e de outros grupos, que mostraram efeitos benéficos importantes do treinamento físico após a cirurgia bariátrica em mulheres, sugerindo um mecanismo de ação que possa explicar, mesmo que parcialmente, esses achados.

Portanto, recomenda-se que outros estudos clínicos sejam realizados, avaliando os potenciais efeitos do exercício físico na microbiota intestinal de mulheres e homens submetidos a cirurgia bariátrica, com diferentes faixas etárias, tempo de seguimento maior do que o do presente estudo, com avaliações de diferentes parâmetros bioquímicos e metabólicos.

REFERÊNCIAS

1. Sjöström L. Review of the key results from the Swedish Obese Subjects (SOS) trial - a prospective controlled intervention study of bariatric surgery. *J Intern Med*. 2013; 273:219–34.
2. Coen PM, Carnero EA, Goodpaster BH. Exercise and bariatric surgery: an effective therapeutic strategy. *Exerc Sport Sci Rev*. 2018; 46(4):262-270.
3. Angrisani L, Santonicola A, Iovino P, Vitiello A, Zundel N, Buchwald H, Scopinaro N. Bariatric Surgery and Endoluminal Procedures: IFSO Worldwide Survey 2014. *Obes Surg*. 2017 ;27(9):2279-2289.
4. Buchwald H, Estok R, Fahrbach K, et al. Weight and type 2 diabetes after bariatric surgery: systematic review and meta-analysis. *Am J Med* 2009;122:248-56 e5.
5. Sjöström L, Lindroos AK, Peltonen M, et al. Lifestyle, diabetes, and cardiovascular risk factors 10 years after bariatric surgery. *N Engl J Med* 2004;351:2683-93.
6. Mingrone G, Panunzi S, De Gaetano A, et al. Bariatric surgery versus conventional medical therapy for type 2 diabetes. *N Engl J Med* 2012;366:1577-85.
7. Mallipedhi A, Prior SL, Barry JD, Caplin S, Baxter JN, Stephens JW. Changes in inflammatory markers after sleeve gastrectomy in patients with impaired glucose homeostasis and type 2 diabetes. *Surg Obes Relat Dis* 2014;10:1123-8.
8. Arismendi E, Rivas E, Agusti A, et al. The systemic inflammome of severe obesity before and after bariatric surgery. *PLoS One* 2014;9:e107859.
9. Lupoli R, Di Minno MN, Guidone C, et al. Effects of bariatric surgery on markers of subclinical atherosclerosis and endothelial function: a meta-analysis of literature studies. *Int J Obes (Lond)* 2016;40:395-402.
10. Maser RE, Lenhard MJ, Irgau I, Wynn GM. Impact of surgically induced weight loss on cardiovascular autonomic function: one-year follow-up. *Obesity (Silver Spring)* 2007;15:364-9.
11. Schauer PR. et al. Bariatric surgery versus intensive medical therapy for diabetes-5-year outcomes. *N Engl J Med*. 2017; 376, 641-651.
12. Tschoner A, Sturm W, Gelsinger C, et al. Long-term effects of weight loss after bariatric surgery on functional and structural markers of atherosclerosis. *Obesity (Silver Spring)* 2013; 21:1960-5.
13. Lupoli R, Lembo E, Saldalamacchia G, Avola CK, Angrisani L, Capaldo B. Bariatric surgery and long-term nutritional issues. *World J Diabetes*. 2017; 8(11):464-474.
14. Sudlow AC, Le Roux CW, Pournaras DJ. Long-term outcomes of bariatric surgery in patients with diabetes. *Expert Rev Endocrinol Metab*. 2020; 15(3):141-146.
15. Varma S, Clark JM, Schweitzer M, Magnuson T, Brown TT, Lee CJ. Weight regain in patients with symptoms of post-bariatric surgery hypoglycemia. *Surg Obes Relat Dis*. 2017 Oct;13(10):1728-1734.
16. Capoccia D, Guida A, Coccia F, Guarisco G, Testa M, Leonetti F, Silecchia G. Weight Regain and Diabetes Evolution After Sleeve Gastrectomy: a Cohort Study with over 5 Years of Follow-Up. *Obes Surg*. 2020; 30(3):1046-1051.
17. Aminian A, Vidal J, Salminen P, Still CD, Nor Hanipah Z, Sharma G, Tu C, Wood GC, Ibarzabal A, Jimenez A, Brethauer SA, Schauer PR, Mahawar K. Late Relapse of Diabetes After Bariatric Surgery: Not Rare, but Not a Failure. *Diabetes Care*. 2020 Mar;43(3):534-540.
18. Carretero-Ruiz A. et al. Effects of exercise training on weight loss in patients who have undergone bariatric surgery: a systematic review and meta-analysis of controlled trials. *Obes Surg*. 2019; 29(10):3371-3384.
19. Gualano B, Kirwan JP, Roschel H. Exercise Is Key to Sustaining Metabolic Gains After Bariatric Surgery. *Exerc Sport Sci Rev*. 2021; 49(3):197-204.

20. Gil S, Dantas WS, Murai IH, et al. Exercise mitigates the loss in muscle mass and functionality in obese women undergoing bariatric surgery. American College of Sports Medicine's 66th Annual Meeting; Orlando, USA. *Med. Sci. Sport Exer.* 2019; 418–9.
21. Murai IH, Roschel H, Dantas WS, Gil S, Mereghe-Filho C, Cleva R, et al. Exercise Mitigates Bone Loss in Women With Severe Obesity After Roux-en-Y Gastric Bypass: A Randomized Controlled Trial. *J Clin Endocrinol Metab.* 2019 Oct 1;104(10):4639-4650.
22. Coen PM, Tanner CJ, Helbling NL, Dubis GS, Hames KC, Xie H, et al. Clinical trial demonstrates exercise following bariatric surgery improves insulin sensitivity. *J. Clin. Invest.* 2015; 125(1):248–57.
23. Dantas WS, Roschel H, Murai IH, Gil S, Davuluri G, Axelrod CL, et al. Exercise-induced increases in insulin sensitivity after bariatric surgery are mediated by muscle extracellular matrix remodeling. *Diabetes.* 2020; 69(8):1675–91.
24. Gil S, Peçanha T, Dantas WS, Murai IH, Mereghe-Filho CAA, de Sá-Pinto AL, et al. Exercise Enhances the Effect of Bariatric Surgery in Markers of Cardiac Autonomic Function. *Obes Surg.* 2021 Mar;31(3):1381-1386.
25. Hughes V. Weight-Loss surgery: a gut-wrenching question. *Nature* 2014; 511:282–284.
26. Ionut V, Burch M, Youdim A, Bergman RN. Gastrointestinal hormones and bariatric surgery-induced weight loss. *Obesity.* 2013;21(6),1093-1103.
27. Peck BCE, Seeley RJ. How does 'metabolic surgery' work its magic? New evidence for gut microbiota. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* 2018; 25:81–86.
28. Ley RE, Turnbaugh PJ, Klein S, Gordon JI. Microbial ecology: human gut microbes associated with obesity. *Nature* 2006;444:1022-3.
29. Flint HJ. Obesity and the gut microbiota. *J Clin Gastroenterol.* 2011; 45 Suppl: S128-32.
30. Anhe FF, Varin TV, Schertzer JD, Marette A. The gut microbiota as a mediator of metabolic benefits after bariatric surgery. *Can. J. Diabetes.* 2017:30521–30524.
31. Tremaroli V, Karlsson F, Werling M, Ståhlman M, Kovatcheva-Datchary P, Olbers T, et al. Roux-en-Y gastric bypass and vertical banded gastroplasty induce long-term changes on the human gut microbiome contributing to fat mass regulation. *Cell Metab.* 2015; 22:228–238.
32. Murphy R, Tsai P, Jüllig M, Liu A, Plank L, Booth M. Differential Changes in Gut Microbiota After Gastric Bypass and Sleeve Gastrectomy Bariatric Surgery Vary According to Diabetes Remission. *Obes Surg.* 2017;27(4):917-925.
33. Motiani KK, Collado MC, Eskelinen JJ, Virtanen KA, Löyttyniemi E, Salminen S, et al. Exercise Training Modulates Gut Microbiota Profile and Improves Endotoxemia. *Med Sci Sports Exerc.* 2020; 52(1):94-104.
34. Allen JM, Mailing LJ, Niemiro GM, Moore R, Cook MD, White BA, et al. Exercise Alters Gut Microbiota Composition and Function in Lean and Obese Humans. *Med Sci Sports Exerc.* 2018; 50:747-57.
35. Kern T, Blond MB, Hansen TH, Rosenkilde M, Quist JS, Gram AS, Ekstrøm CT, Hansen T, Stallknecht B. Structured exercise alters the gut microbiota in humans with overweight and obesity-A randomized controlled trial. *Int J Obes (Lond).* 2020; 44(1):125-135.
36. Blüher M. Obesity: global epidemiology and pathogenesis. *Nat Rev Endocrinol.* 2019 May;15(5):288-298.
37. Hruby A, Hu FB. The Epidemiology of Obesity: A Big Picture. *Pharmacoeconomics.* 2015;33(7):673-89.
38. World Health Organization. Obesity and overweight. 9 June 2021. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>. Access: 01 November 2021.
39. Sturm R. Increases in morbid obesity in the USA: 2000-2005. *Public Health* 2007; 121:492-6.

40. Finkelstein EA, Khavjou OA, Thompson H, et al. Obesity and severe obesity forecasts through 2030. *Am J Prev Med.* 2012; 42(6):563–70.
41. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde e Ambiente. Departamento de Análise Epidemiológica e Vigilância de Doenças Não Transmissíveis. *Vigitel Brasil 2023: 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 2023 [recurso eletrônico]* Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde e Ambiente, Departamento de Análise Epidemiológica e Vigilância de Doenças Não Transmissíveis. – Brasília: Ministério da Saúde, 2023.
42. Silva LESD, Oliveira MM, Stopa SR, Gouvea ECDP, Ferreira KRD, Santos RO, Valença Neto PDF, Macário EM, Sardinha LMV. Tendência temporal da prevalência do excesso de peso e obesidade na população adulta brasileira, segundo características sociodemográficas, 2006-2019. *Epidemiol Serv Saude.* 2021; 30(1):e2020294.
43. Chooi YC, Ding C, Magkos F. The epidemiology of obesity. *Metabolism.* 2019;92:6-10.
44. Loos RJ. Genetic determinants of common obesity and their value in prediction. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2012; 26:211–226.
45. Gebreab SZ, Vandeleur CL, Rudaz D, Strippoli MF, Gholam-Rezaee M, Castela E, Lasserre AM, Glaus J, Pistis G, Kuehner C, et al. Psychosocial stress over the lifespan, psychological factors, and cardiometabolic risk in the community. *Psychosom Med.* 2018; 80:628–639.
46. Sommer I, Griebler U, Mahlknecht P, Thaler K, Bouskill K, Gartlehner G, Mendis S. Socioeconomic inequalities in non-communicable diseases and their risk factors: an overview of systematic reviews. *BMC Public Health.* 2015; 15:914.
47. Sallis JF, Glanz K. Physical activity and food environments: solutions to the obesity epidemic. *Milbank Q.* 2009; 87:123–154.
48. Jastreboff AM, Kotz CM, Kahan S, Kelly AS, Heymsfield SB. Obesity as a disease: The Obesity Society 2018 position statement. *Obesity (Silver Spring).* 2019;27:7–9.
49. Powell-Wiley TM, Poirier P, Burke LE, Després JP, Gordon-Larsen P, Lavie CJ, et al. Obesity and Cardiovascular Disease: A Scientific Statement From the American Heart Association. *Circulation.* 2021; 143(21): e984–e1010.
50. Gil-Cardoso K, Ginés I, Pinent M, Ardévol A, Blay M, Terra X. Effects of flavonoids on intestinal inflammation, barrier integrity and changes in gut microbiota during diet-induced obesity. *Nutr Res Rev.* 2016 Dec;29(2):234-248.
51. Cluny NL, Reimer RA, Sharkey KA. Cannabinoid signalling regulates inflammation and energy balance: the importance of the brain-gut axis. *Brain Behav Immun.* 2012 Jul;26(5):691-8.
52. Vallianou N, Stratigou T, Christodoulatos GS, Dalamaga M. Understanding the Role of the Gut Microbiome and Microbial Metabolites in Obesity and Obesity-Associated Metabolic Disorders: Current Evidence and Perspectives. *Curr Obes Rep.* 2019 Sep;8(3):317-332.
53. Sender R, Fuchs S, Milo R. Revised Estimates for the Number of Human and Bacteria Cells in the Body. *PLoS Biol.* 2016 Aug 19;14(8):e1002533.
54. Knight R, Vrbanac A, Taylor BC, Aksenov A, Callewaert C, Debelius J, et al. Best practices for analysing microbiomes. *Nat Rev Microbiol.* 2018 Jul;16(7):410-422.
55. Ho JT, Chan GC, Li JC. Systemic effects of gut microbiota and its relationship with disease and modulation. *BMC Immunol.* 2015 Mar 26;16:21.
56. Sekirov I, Russell SL, Antunes LC, Finlay BB. Gut microbiota in health and disease. *Physiological reviews.* 2010;90(3):859–904.

57. Ranjan R, Rani A, Metwally A, McGee HS, Perkins DL. Analysis of the microbiome: Advantages of whole genome shotgun versus 16S amplicon sequencing. *Biochem Biophys Res Commun*. 2016 Jan 22;469(4):967-77.
58. Nuriel-Ohayon M, Neuman H, Koren O. Microbial Changes during Pregnancy, Birth, and Infancy. *Front Microbiol*. 2016 Jul 14;7:1031.
59. Aagaard K, Ma J, Antony KM, Ganu R, Petrosino J, Versalovic J. The placenta harbors a unique microbiome. *Sci Transl Med*. 2014 May 21;6(237):237ra65.
60. Rautava S, Luoto R, Salminen S, Isolauri E. Microbial contact during pregnancy, intestinal colonization and human disease. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2012 Oct;9(10):565-76.
61. Le Chatelier E, Nielsen T, Qin J, Prifti E, Hildebrand F, Falony G, et al. Richness of human gut microbiome correlates with metabolic markers. *Nature*. 2013; 500(7464):541-6.
62. Ley RE, Bäckhed F, Turnbaugh P, Lozupone CA, Knight RD, Gordon JI. Obesity alters gut microbial ecology. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005;102(31):11070-5.
63. Turnbaugh PJ, Ley RE, Mahowald MA, Magrini V, Mardis ER, Gordon JI. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature*. 2006 Dec 21;444(7122):1027-31.
64. Karlsson FH, Tremaroli V, Nookaew I, Bergström G, Behre CJ, Fagerberg B, et al. Gut metagenome in European women with normal, impaired and diabetic glucose control. *Nature*. 2013 Jun 6;498(7452):99-103.
65. Million M, Maraninchi M, Henry M, Armougom F, Richet H, Carrieri P, et al. Obesity-associated gut microbiota is enriched in *Lactobacillus reuteri* and depleted in *Bifidobacterium animalis* and *Methanobrevibacter smithii*. *Int J Obes (Lond)*. 2012 Jun;36(6):817-25. doi: 10.1038/ijo.2011.153.
66. Asnicar F, Berry SE, Valdes AM, Nguyen LH, Piccinno G, Drew DA, et al. Microbiome connections with host metabolism and habitual diet from 1,098 deeply phenotyped individuals. *Nat Med*. 2021; 27(2):321-332.
67. Heiss CN, Olofsson LE. Gut Microbiota-Dependent Modulation of Energy Metabolism. *J Innate Immun*. 2018;10(3):163-171.
68. Morrison DJ, Preston T. Formation of short chain fatty acids by the gut microbiota and their impact on human metabolism. *Gut Microbes*. 2016; 7(3):189-200.
69. Flint HJ, Bayer EA, Rincon MT, Lamed R, White BA. Polysaccharide utilization by gut bacteria: potential for new insights from genomic analysis. *Nat Rev Microbiol*. 2008; 6(2):121-31.
70. Dalile B, Van Oudenhove L, Vervliet B, Verbeke K. The role of short-chain fatty acids in microbiota-gut-brain communication. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2019 Aug;16(8):461-478.
71. Cho I, Yamanishi S, Cox L, Methé BA, Zavadil J, Li K, et al. Antibiotics in early life alter the murine colonic microbiome and adiposity. *Nature*. 2012 Aug 30;488(7413):621-6.
72. Jumpertz R, Le DS, Turnbaugh PJ, Trinidad C, Bogardus C, Gordon JI, Krakoff J. Energy-balance studies reveal associations between gut microbes, caloric load, and nutrient absorption in humans. *Am J Clin Nutr*. 2011 Jul;94(1):58-65.
73. Krajmalnik-Brown R, Ilhan ZE, Kang DW, DiBaise JK. Effects of gut microbes on nutrient absorption and energy regulation. *Nutr Clin Pract*. 2012 Apr;27(2):201-14.
74. Murphy EF, Cotter PD, Healy S, Marques TM, O'Sullivan O, Fouhy F, et al. Composition and energy harvesting capacity of the gut microbiota: relationship to diet, obesity and time in mouse models. *Gut*. 2010 Dec;59(12):1635-42.
75. Koh A, De Vadder F, Kovatcheva-Datchary P, Bäckhed F. From Dietary Fiber to Host Physiology: Short-Chain Fatty Acids as Key Bacterial Metabolites. *Cell*. 2016 Jun 2;165(6):1332-1345.

76. Vrieze A, Holleman F, Zoetendal EG, de Vos WM, Hoekstra JB, Nieuwdorp M. The environment within: how gut microbiota may influence metabolism and body composition. *Diabetologia*. 2010 Apr;53(4):606-13.
77. Qin J, Li Y, Cai Z, Li S, Zhu J, Zhang F, et al. A metagenome-wide association study of gut microbiota in type 2 diabetes. *Nature*. 2012 Oct 4;490(7418):55-60.
78. Karlsson F, Tremaroli V, Nielsen J, Bäckhed F. Assessing the human gut microbiota in metabolic diseases. *Diabetes*. 2013 Oct;62(10):3341-9.
79. Grandt D, Schimiczek M, Struk K, Shively J, Eysselein VE, Goebell H, Reeve JR Jr. Characterization of two forms of peptide YY, PYY(1-36) and PYY(3-36), in the rabbit. *Peptides*. 1994;15(5):815-20.
80. Carvalho BM, Saad MJ. Influence of gut microbiota on subclinical inflammation and insulin resistance. *Mediators Inflamm*. 2013;2013:986734.
81. Frost G, Sleeth ML, Sahuri-Arisoylu M, Lizarbe B, Cerdan S, Brody L, et al. The short-chain fatty acid acetate reduces appetite via a central homeostatic mechanism. *Nat Commun*. 2014 Apr 29;5:3611.
82. Queipo-Ortuño MI, Seoane LM, Murri M, Pardo M, Gomez-Zumaquero JM, Cardona F, Casanueva F, Tinahones FJ. Gut microbiota composition in male rat models under different nutritional status and physical activity and its association with serum leptin and ghrelin levels. *PLoS One*. 2013 May 28;8(5):e65465.
83. Zhang H, DiBaise JK, Zuccolo A, Kudrna D, Braidotti M, Yu Y, Parameswaran P, Crowell MD, Wing R, Rittmann BE, Krajmalnik-Brown R. Human gut microbiota in obesity and after gastric bypass. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009 Feb 17;106(7):2365-70.
84. Henrikson V. *Kan tunntarmsresektion forsvaras som terapi mot fettsot. *Nordisk Medicin*. 1952; 47(22):744-744.
85. Cho JM, Kim HJ, Lo Menzo E, Park S, Szomstein S, Rosenthal RJ. Effect of sleeve gastrectomy on type 2 diabetes as an alternative treatment modality to Roux-en-Y gastric bypass: systemic review and meta-analysis. *Surg Obes Relat Dis*. 2015 Nov-Dec;11(6):1273-80.
86. Schauer PR, Burguera B, Ikramuddin S, Cottam D, Gourash W, Hamad G, et al. Effect of laparoscopic Roux-en Y gastric bypass on type 2 diabetes mellitus. *Ann Surg*. 2003 Oct;238(4):467-84; discussion 84-5.
87. Lee WJ, Chong K, Ser KH, Lee YC, Chen SC, Chen JC, et al. Gastric bypass vs sleeve gastrectomy for type 2 diabetes mellitus: a randomized controlled trial. *Arch Surg*. 2011 Feb;146(2):143-8.
88. Brajcich BC, Hungness ES. Sleeve Gastrectomy. *JAMA*. 2020; 324(9):908.
89. Furet JP, Kong LC, Tap J, Poitou C, Basdevant A, Bouillot JL, et al. Differential adaptation of human gut microbiota to bariatric surgery-induced weight loss: links with metabolic and low-grade inflammation markers. *Diabetes*. 2010; 59(12):3049-57.
90. Li JV, Ashrafian H, Bueter M, Kinross J, Sands C, le Roux CW, Bloom SR, Darzi A, Athanasiou T, Marchesi JR, Nicholson JK, Holmes E. Metabolic surgery profoundly influences gut microbial-host metabolic cross-talk. *Gut*. 2011; 60(9):1214-23.
91. Aron-Wisnewsky J, Prifti E, Belda E, Ichou F, Kayser BD, Dao MC, et al. Major microbiota dysbiosis in severe obesity: fate after bariatric surgery. *Gut*. 2019; 68(1):70-82.
92. Kong LC, Tap J, Aron-Wisnewsky J, Pelloux V, Basdevant A, Bouillot JL, et al. Gut microbiota after gastric bypass in human obesity: increased richness and associations of bacterial genera with adipose tissue genes. *Am J Clin Nutr*. 2013; 98(1):16-24.
93. Tremaroli V, Karlsson F, Werling M, Ståhlman M, Kovatcheva-Datchary P, Olbers T, et al. Roux-en-Y Gastric Bypass and Vertical Banded Gastroplasty Induce Long-Term Changes on the Human Gut Microbiome Contributing to Fat Mass Regulation. *Cell Metab*. 2015; 22(2):228-38.

94. Trøseid M, Hov JR, Nestvold TK, Thoresen H, Berge RK, Svardal A, Lappegård KT. Major Increase in Microbiota-Dependent Proatherogenic Metabolite TMAO One Year After Bariatric Surgery. *Metab Syndr Relat Disord*. 2016; 14(4):197-201.
95. Liu H, Hu C, Zhang X, Jia W. Role of gut microbiota, bile acids and their cross-talk in the effects of bariatric surgery on obesity and type 2 diabetes. *J Diabetes Investig*. 2018;9(1):13-20.
96. Debédát J, Amouyal C, Aron-Wisniewsky J, Clément K. Impact of bariatric surgery on type 2 diabetes: contribution of inflammation and gut microbiome? *Semin Immunopathol*. 2019; 41(4):461-475.
97. Guo Y, Huang ZP, Liu CQ, Qi L, Sheng Y, Zou DJ. Modulation of the gut microbiome: a systematic review of the effect of bariatric surgery. *Eur J Endocrinol*. 2018;178(1):43-56.
98. Pajeccki D, Oliveira LC, Sabino EC, Souza-Basqueira M, Dantas ACB, Nunes GC, et al. Changes in the intestinal microbiota of superobese patients after bariatric surgery. *Clinics*. 2019;74:e1198.
99. Rizzatti G, Lopetuso LR, Gibiino G, Binda C, Gasbarrini A. Proteobacteria: A Common Factor in Human Diseases. *Biomed Res Int*. 2017; 1-7, 9351507.
100. Guan WJ, Yuan JJ, Li HM, Gao YH, Huang Y, Chen CL, Chen RC, Zhong NS. *Proteobacteria* community compositions correlate with bronchiectasis severity. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2018; 22(9):1095-1105.
101. Dantas WS, Gil S, Murai IH, Costa-Long V, Peçanha T, Merege-Filho CAA, et al. Reversal of improved endothelial after bariatric surgery is mitigated by exercise training. *J Am Coll Cardiol*. 2018;72(18):2278-2279.
102. Coen PM, Menshikova EV, Distefano G, Zheng D, Tanner CJ, Standley RA, et al. Exercise and weight loss improve muscle mitochondrial respiration, lipid partitioning, and insulin sensitivity after gastric bypass surgery. *Diabetes*. 2015; 64(11):3737-50.
103. Pereira AZ, Marchini JS, Carneiro G, Arasaki CH, Zanella MT. Lean and fat mass loss in obese patients before and after Roux-en-Y gastric bypass: a new application for ultrasound technique. *Obes. Surg*. 2012; 22(4):597-601.
104. Piters E, Boudin E, Van Hul W. Wnt signaling: a win for bone. *Arch Biochem Biophys*. 2008; 473(2):112-6.
105. Laurent MR, Dubois V, Claessens F, et al. Muscle-bone interactions: from experimental models to the clinic? A critical update. *Mol. Cell. Endocrinol*. 2016; 432:14-36.
106. Estaki M, Pither J, Baumeister P, Little JP, Gill SK, Ghosh S, et al. Cardiorespiratory fitness as a predictor of intestinal microbial diversity and distinct metagenomic functions. *Microbiome*. 2016;4(1):42.
107. Cronin O, Barton W, Skuse P, Penney NC, Garcia-Perez I, Murphy EF, et al. A prospective metagenomic and metabolomic analysis of the impact of exercise and/or whey protein supplementation on the gut microbiome of sedentary adults. *mSystems*. 2018; 3:1-17.
108. Munukka E, Ahtiainen JP, Puigbó P, Jalkanen S, Pahkala K, Keskitalo A, et al. Six-week endurance exercise alters gut metagenome that is not reflected in systemic metabolism in overweight women. *Front Microbiol*. 2018; 9:2323.
109. Liu Y, Wang Y, Ni Y, Cheung CKY, Lam KSL, Wang Y, et al. Gut Microbiome Fermentation Determines the Efficacy of Exercise for Diabetes Prevention. *Cell Metab*. 2020; 31(1):77-91.e5.
110. Mailing LJ, Allen JM, Buford TW, Fields CJ, Woods JA. Exercise and the Gut Microbiome: A Review of the Evidence, Potential Mechanisms, and Implications for Human Health. *Exerc Sport Sci Rev*. 2019 Apr;47(2):75-85.
111. Codella R, Luzi L, Terruzzi I. Exercise has the guts: How physical activity may positively modulate gut microbiota in chronic and immune-based diseases. *Dig Liver Dis*. 2018 Apr;50(4):331-341.

112. Ladabaum U, Mannalithara A, Myer PA, Singh G. Obesity, abdominal obesity, physical activity, and caloric intake in US adults: 1988 to 2010. *Am J Med* 2014; 127:717-27 e12.
113. Borg G, Ljunggren G, Ceci R. The increase of perceived exertion, aches and pain in the legs, heart rate and blood lactate during exercise on a bicycle ergometer. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol*. 1985;54:343-9.
114. Brown LE, Weir JP. "ASEP procedures recommendation I: accurate assessment of muscular strength and power." *J Exerc Physiol*. 2001;4(3):1-21.
115. Newcomer KL, Krug HE, Mahowald ML. Validity and reliability of the timed-stands test for patients with rheumatoid arthritis and other chronic diseases. *J Rheumatol*. 1993; 20(1):21-27.
116. Podsiadlo D, Richardson S. The timed "Up & Go": a test of basic functional mobility for frail elderly persons. *J Am Geriatr Soc*. 1991; 39(2):142-8.
117. Polacow VO, Scagliusi FB, Lancha Jr. AH. Validation of A Portion-Size Measurement Aid In A Brazilian Sample. 2003. Apresentado ao The Fifth International Conference on 116 Dietary Assessment Methods, em janeiro de 2003, em Chiang Rai (Tailândia) e publicado no Program & Abstracts.
118. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia*. 1985; 28:412-9.
119. Matsuda M, De Fronzo RA. Insulin sensitivity indices obtained from oral glucose tolerance testing: comparison with the euglycemic insulin clamp. *Diabetes Care*. 1999; 22:1462-70.
120. Wang Y, Qian PY. Conservative fragments in bacterial 16S rRNA genes and primer design for 16S ribosomal DNA amplicons in metagenomic studies. *PLoS One*. 2009;4(10):e7401.
121. Caporaso JG, Lauber CL, Walters WA, Berg-Lyons D, Huntley J, Fierer N, Owens SM, Betley J, Fraser L, Bauer M, Gormley N, Gilbert JA, Smith G, Knight R. Ultra-high-throughput microbial community analysis on the Illumina HiSeq and MiSeq platforms. *ISME J*. 2012; 6(8):1621-4.
122. Andrews S. FastQC: a quality control tool for high throughput sequence data. 2010. Available online at: <http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc>.
123. Cock PJ, Antao T, Chang JT, Chapman BA, Cox CJ, Dalke A, Friedberg I, Hamelryck T, Kauff F, Wilczynski B, de Hoon MJ. Biopython: freely available Python tools for computational molecular biology and bioinformatics. *Bioinformatics*. 2009;25(11):1422-3.
124. Masella AP, Bartram AK, Truszkowski JM, Brown DG, Neufeld JD. PANDAseq: paired-end assembler for illumina sequences. *BMC Bioinformatics*. 2012; 13:31.
125. Smyth RP, Schlub TE, Grimm A, Venturi V, Chopra A, Mallal S, Davenport MP, Mak J. Reducing chimera formation during PCR amplification to ensure accurate genotyping. *Gene*. 2010;469(1-2):45-51.
126. Altschul SF, Gish W, Miller W, Myers EW, Lipman DJ. Basic local alignment search tool. *J Mol Biol*. 1990;215(3):403-10.
127. Shannon CE. A mathematical theory of communication. *Bell Labs Tech. J*. 1948; 27:379-423.
128. Lozupone C, Knight R. UniFrac: a new phylogenetic method for comparing microbial communities. *Appl. Environ. Microbiol*. 2005;71(12):8228-8235.
129. Bray JR, Curtis JT. An ordination of the upland forest communities of southern Wisconsin. *Ecol. Monogr*. 1957;27:325-349.
130. Mallick H, Rahnavard A, McIver LJ, Ma S, Zhang Y, Nguyen LH, Tickle TL, Weingart G, Ren B, Schwager EH, Chatterjee S, Thompson KN, Wilkinson JE, Subramanian A, Lu Y,

- Waldron L, Paulson JN, Franzosa EA, Bravo HC, Huttenhower C. Multivariable association discovery in population-scale meta-omics studies. *PLoS Comput Biol.* 2021;17(11):e1009442.
131. Zhou H, He K, Chen J, Zhang X. LinDA: linear models for differential abundance analysis of microbiome compositional data. *Genome Biol.* 2022;23(1):95.
132. Lin H, Peddada SD. Analysis of compositions of microbiomes with bias correction. *Nat Commun.* 2020;11(1):3514.
133. Robinson MD, McCarthy DJ, Smyth GK. edgeR: a Bioconductor package for differential expression analysis of digital gene expression data. *Bioinformatics.* 2010;26(1):139-40.
134. Love MI, Huber W, Anders S. Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2. *Genome Biol.* 2014;15(12):550.
135. Ritchie ME, Phipson B, Wu D, Hu Y, Law CW, Shi W, Smyth GK. limma powers differential expression analyses for RNA-sequencing and microarray studies. *Nucleic Acids Res.* 2015 Apr 20;43(7):e47.
136. Fernandes AD, Macklaim JM, Linn TG, Reid G, Gloor GB. ANOVA-like differential expression (ALDEx) analysis for mixed population RNA-Seq. *PLoS One.* 2013 Jul 2;8(7):e67019.
137. Calgaro M, Romualdi C, Risso D, Vitulo N. benchdamic: benchmarking of differential abundance methods for microbiome data. *Bioinformatics.* 2023;39(1):btac778.
138. Bacchetti P. Current sample size conventions: flaws, harms, and alternatives. *BMC Med.* 2010; 8(17):1-7.
139. Debédat J, Clément K, Aron-Wisnewsky J. Gut Microbiota Dysbiosis in Human Obesity: Impact of Bariatric Surgery. *Curr Obes Rep.* 2019;8(3):229-242.
140. Fouladi F, Carroll IM, Sharpton TJ, Bulik-Sullivan E, Heinberg L, Steffen KJ, Fodor AA. A microbial signature following bariatric surgery is robustly consistent across multiple cohorts. *Gut Microbes.* 2021;13(1):1930872.
141. Chelakkot C, Ghim J, Ryu SH. Mechanisms regulating intestinal barrier integrity and its pathological implications. *Exp Mol Med.* 2018;50(8):1-9.
142. Li S, Guo J, Liu R, Zhang F, Wen S, Liu Y, Ren W, Zhang X, Shang Y, Gao M, Lu J, Pang Y. Predominance of Escherichia-Shigella in Gut Microbiome and Its Potential Correlation with Elevated Level of Plasma Tumor Necrosis Factor Alpha in Patients with Tuberculous Meningitis. *Microbiol Spectr.* 2022 Dec 21;10(6):e0192622.
143. López-Montoya P, Cerqueda-García D, Rodríguez-Flores M, López-Contreras B, Villamil-Ramírez H, Morán-Ramos S, Molina-Cruz S, Rivera-Paredes B, Antuna-Puente B, Velázquez-Cruz R, Villarreal-Molina T, Canizales-Quinteros S. Association of Gut Microbiota with Atherogenic Dyslipidemia, and Its Impact on Serum Lipid Levels after Bariatric Surgery. *Nutrients.* 2022 Aug 28;14(17):3545.
144. Verheggen RJHM, Konstanti P, Smidt H, Hermus ARMM, Thijssen DHJ, Hopman MTE. Eight-week exercise training in humans with obesity: Marked improvements in insulin sensitivity and modest changes in gut microbiome. *Obesity (Silver Spring).* 2021;29(10):1615-1624.
145. Gil S, Peçanha T, Dantas WS, et al. Exercise Enhances the Effect of Bariatric Surgery in Markers of Cardiac Autonomic Function. *Obes Surg.* 2021;31(3):1381-1386.
146. Gil S, Kirwan JP, Murai IH, et al. A randomized clinical trial on the effects of exercise on muscle remodelling following bariatric surgery. *J Cachexia Sarcopenia Muscle.* 2021;12(6):1440-1455.
147. Park CH, Lee EJ, Kim HL, Lee YT, Yoon KJ, Kim HN. Sex-specific associations between gut microbiota and skeletal muscle mass in a population-based study. *J Cachexia Sarcopenia Muscle.* 2022 Dec;13(6):2908-2919.

148. Zabatiero, J., Smith, A., Gucciardi, D. F., Hamdorf Am, J. M., Taylor, S. F., & Hill, K. (2021). Patterns of Change in Device-Based Physical Activity and Sedentary Time Following Bariatric Surgery: A Longitudinal Observational Study. *Obesity surgery*, 31(7), 3015–3025.
149. Baldanzi G, Sayols-Baixeras S, Ekblom-Bak E, Ekblom Ö, Dekkers KF, Hammar U, Nguyen D, Ahmad S, Ericson U, Arvidsson D, Börjesson M, Johanson PJ, Smith JG, Bergström G, Lind L, Engström G, Ärnlov J, Kennedy B, Orho-Melander M, Fall T. Accelerometer-based physical activity is associated with the gut microbiota in 8416 individuals in SCAPIS. *EBioMedicine*. 2024; 100:104989.