Temas em Saúde
Volume 20, Número 1
ISSN 2447-2131
João Pessoa, 2020

Artigo

METANO INTESTINAL COMO BIOMARCADOR RESPIRATÓRIO PARA OBESIDADE, PRÉ-DIABETES E DIABETES MELLITUS TIPO 2

INTESTINAL METHANE AS BREATH BIOMARKER FOR OBESITY, PRE-DIABETES AND TYPE 2 DIABETES MELLITUS

Liana Genuncio Silva[1]
Leonardo Mota[2]
Marcelo Silva Sthel[3]
Valesca Mansur Kuba[4]
Marcelo Gomes da Silva[5]
Maria Priscila Pessanha de Castro[6]

RESUMO: Biomarcadores são definidos como variáveis bioquímicas que se relacionam com a expressão de uma determinada doença. Neste sentido, alguns gases podem atuar como biomarcadores conforme sua concentração detectável na respiração humana. O

[1] Mestre. Doutoranda do programa de pós-graduação em Ciências Naturais (PPGCN). Laboratório de Ciências Físicas (LCFIS). Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF). Campos dos Goytacazes. Rio de Janeiro. Brasil. E-mail: lianagsilva@gmail.com
[2] Doutor. Professor do programa de pós-graduação em Ciências Naturais (PPGCN). Laboratório de Ciências Físicas (LCFIS). Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF). Campos dos Goytacazes. Rio de Janeiro. Brasil.
[3] Doutor. Professor do programa de pós-graduação em Ciências Naturais (PPGCN). Laboratório de Ciências Físicas (LCFIS). Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF). Campos dos Goytacazes. Rio de Janeiro. Brasil.
[4] Doutora. Médica endocrinologista do Hospital Escola Álvaro Alvim (HEAA) e professora da Faculdade de Medicina de Campos (FMC). Campos dos Goytacazes. Rio de Janeiro. Brasil.
[5] Doutor. Professor do programa de pós-graduação em Ciências Naturais (PPGCN). Laboratório de Ciências Físicas (LCFIS). Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF). Campos dos Goytacazes. Rio de Janeiro. Brasil.
[6] Doutora. Professora do programa de pós-graduação em Ciências Naturais (PPGCN). Laboratório de Ciências Físicas (LCFIS). Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF). Campos dos Goytacazes. Rio de Janeiro. Brasil.

DOI: 10.29327/213319.20.1-17
Páginas 258 a 287

Temas em Saúde
Volume 20, Número 1
ISSN 2447-2131
João Pessoa, 2020

Artigo

metano (CH_4) produzido no intestino por arqueas metanogênicas hidrogenotróficas da espécie *Methanobrevibacter smithii* (*M smithii*) tem sido recentemente relatado como um biomarcador para distúrbios metabólicos como obesidade, pré-diabetes e diabetes mellitus. Na respiração de indivíduos saudáveis metano-positivos, a concentração de CH_4 é detectável na faixa de 3 – 8 partes por milhão em volume (ppmV), enquanto os metano-negativos produzem CH_4 abaixo de 3 ppmV. Contudo, indivíduos obesos, pré-diabéticos e diabéticos metano-positivos tendem a apresentar excesso deste gás no organismo (~12 ppmV) associado ao descontrole de seus quadros clínicos. Em tese, a literatura corrobora que indivíduos metano-positivos obesos, pré-diabéticos e diabéticos apresentam maiores índices de massa corporal (IMC) e pior controle glicêmico, baseado no nível de glicose ($C_6H_{12}O_6$) e percentual de hemoglobina-glicada (%HbA1c), quando comparados com indivíduos metano-negativos. Hipóteses envolvendo a produção de CH_4 associada a colheita energética e ao trânsito intestinal propõem elucidar o papel dos metanógenos no desenvolvimento da obesidade. Não obstante, maiores esclarecimentos são necessários para compreensão da relação de causa e efeito entre o CH_4 respiratório e a pré-diabetes ou diabetes mellitus. O objetivo deste artigo é apresentar uma discussão sobre o CH_4 intestinal detectável de maneira não-invasiva na respiração humana e seu potencial como biomarcador para obesidade, pré-diabetes e diabetes mellitus tipo 2.

Palavras-chave: Metano, Biomarcador, *Methanobrevibacter smithii*, Obesidade, Pré-diabetes, Diabetes mellitus.

ABSTRACT: Biomarkers are defined as chemical compounds present in the body, related to the expression of diseases. Some gases can act as biomarkers according to the concentration in human breath. Methane (CH_4) produced in the intestine by hydrogenotrophic methanogenic archaeans of the species *Methanobrevibacter smithii* (M smithii) has been reported recently as a biomarker for metabolic disorders such as obesity, pre-diabetes and diabetes mellitus. In breath of healthy methane-positive subjects, CH_4 concentration is detectable in the range of 3-8 parts per million by volume (ppmV), while methane-negative subjects produce CH_4 below 3 ppmV. However, methano-positive obese, pre-diabetic, and diabetic individuals tend to have an excess of this gas in the breath (~12 ppmV) associated with the lack of control of their clinical conditions. The literature corroborates that methano-positive obese, pre-diabetic and diabetic individuals

DOI: 10.29327/213319.20.1-17
Páginas 258 a 287

Temas em Saúde
Volume 20, Número 1
ISSN 2447-2131
João Pessoa, 2020

Artigo

present higher body mass indexes (BMI) and worse glycemic control, based on the glucose level ($C_6H_{12}O_6$) and hemoglobin-glycated percentage (%HbA1c), when compared with methane-negative subjects. Hypotheses involving the production of CH_4 associated with energetic harvesting and intestinal transit propose to elucidate the role of methanogens in the development of obesity. However, further explanations is needed to understand the cause and effect relationship between respiratory CH_4 and pre-diabetes or diabetes mellitus. The aim of this article is to present a discussion of noninvasively detectable intestinal CH_4 in human breath and its potential as a biomarker for obesity, pre-diabetes and type 2 diabetes mellitus.

Keywords: Methane, Biomarker, *Methanobrevibacter smithii*, Obesity, Pre-diabetes, Diabetes mellitus.

INTRODUÇÃO

A obesidade e a diabetes mellitus tipo 2 são doenças crônicas que estão intimamente relacionadas, e que podem compartilhar a condição intermediária de pré-diabetes. De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), em 2016 havia cerca de 650 milhões de adultos obesos no mundo, dos quais 45 milhões residiam no Brasil, quarto país no *rank* dos dez mais afetados pela obesidade, permanecendo atrás somente dos Estados Unidos (109 milhões), China (97 milhões) e Índia (66 milhões) (OMS, 2016; RENEWBARIATRICS, 2017).

Com relação a diabetes mellitus, a oitava edição do relatório anual (Diabetes Atlas) da Federação Internacional de Diabetes (FID), comunicou que em 2017 existiam 425 milhões de adultos diabéticos no mundo, e que o Brasil era o quarto país com maior número de diabéticos abarcando cerca de 12,5 milhões de indivíduos. No referido *rank*, o Brasil permanece atrás da China (114 milões), Índia (73 milhões) e Estados Unidos (12,5 milhões) (FID, 2017).

Sobre a pré-diabetes, a FID (2017) aponta que aproximadamente 352,1 milhões de pessoas no mundo apresentam esta condição, e que o Brasil é o quinto país do mundo com maior número de pré-diabéticos (14,6 milhões), permanecendo atrás somente da China (48,6 milhões), Estados Unidos (34,8 milhões), Indonésia (27,7 milhões) e Índia (24 milhões) (FID, 2017).

DOI: 10.29327/213319.20.1-17
Páginas 258 a 287

Temas em Saúde
Volume 20, Número 1
ISSN 2447-2131
João Pessoa, 2020

Artigo

A Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica (ABESO) esclarece que atualmente, tanto a obesidade quanto a diabetes mellitus tipo 2 são consideradas epidemias mundiais, e que ambas as enfermidades movimentam a economia global (ABESO, 2016; APOVIAN, 2016; BRAY et al., 2017; FID, 2017; SCHWIERTZ et al., 2009; UZOGARA, 2017; WITHROW; ALTER, 2011). Gastos com tratamentos exclusivos para obesidade podem chegar a 1,2 trilhões de dólares por ano até 2025. Ademais, o custo mundial com terapias para a diabetes mellitus foi de pelo menos 673 bilhões de dólares em 2015 (CHAN, 2017; FID, 2017).

Tendo em vista estes elevados números, justifica-se a importância de se realizar pesquisas que abordam alternativas de diagnósticos, monitoramentos do estado de saúde e avaliação da eficiência de tratamentos médicos empregados de maneira não-invasiva para os pacientes (LI et al., 2015; LOURENÇO; TURNER et al., 2014; MCCURDY et al., 2007; PASCHKE; MASHIR; DWEIK, 2010; REYES-REYES et al., 2015; RISBY; TITTEL et al. 2010; SCHUBERT et al., 2012; TITTEL et al., 2012; WANG; SAHAY, 2009; WANG; WANG, 2013; WOJTAS et al., 2012, 2014, 2015; ZHOU et al., 2014).

Neste contexto, encontra-se a análise de biomarcadores exalados na respiração. Sabe-se que os biomarcadores são definidos como qualquer composto químico presente no organismo que possa ser medido e avaliado como um indicador de processos biológicos saudáveis, patogênicos e também de respostas a tratamentos médicos dependendo de sua concentração. Por este motivo, podem estar presentes no sangue, como é o caso da glicose, cujo nível em jejum ou pós-prandial é avaliado para o diagnóstico convencional da pré-diabetes e diabetes mellitus. Ou podem estar presentes na respiração, como é o caso do metano e outros gases (WANG; SAHAY, 2009; WANG; WANG, 2013; WOJTAS et al., 2014).

Atualmente, sabe-se que a respiração humana é constituída por 78% de N_2, 15 a 18% de O_2, 4 a 6% de CO_2, e 5% de vapor de H_2O. E que além destes gases cerca de outros 3500 compostos químicos podem estar presentes na respiração em concentrações muito baixas da ordem de ppmV e ppbV atuando como biomarcadores, como por exemplo, amônia (NH_3), óxido nítrico (NO), óxido nitroso (N_2O), monóxido de carbono (CO), acetona (C_3H_6O) e metano (CH_4) (BUSZEWSKI et al., 2007; RISBY; TITTEL, 2010).

A acetona é um biomarcador bem estabelecido para diabetes mellitus. Podendo também apresentar relação com a obesidade e ser utilizada para monitorar a perda de peso (ANDERSON, 2015). Contudo tem sido relatado a potencialidade do excesso de metano

DOI: 10.29327/213319.20.1-17
Páginas 258 a 287

Temas em Saúde
Volume 20, Número 1
ISSN 2447-2131
João Pessoa, 2020

(~12 ppmV) atuar como biomarcador de respiração para obesidade, pré-diabetes e diabetes mellitus (BARLOW et al., 2015; MATHUR et al., 2012, 2013a, 2014, 2016a, 2016b). Evidencia-se que os seres humanos podem ser metano-negativos e produzirem metano abaixo de 3 ppmV, ou metano-positivos produzindo metano dentro da faixa considerada normal de 3–8 ppmV (BARLOW et al., 2015; MATHUR et al., 2012, 2013a, 2014, 2016a, 2016b).

As propostas deste artigo são apresentar uma discussão sobre o metano respiratório e seu potencial como biomarcador para obesidade, pré-diabetes e diabetes mellitus tipo 2. Discutir aspectos pertinentes aos quadros clínicos das referidas doenças, pretende-se contextualizar o emprego do metano como indicador de diagnóstico e monitoramento não-invasivos. Além de aprofundar a discussão sobre a influência dos metanógenos (*M smithii*) no desenvolvimento destes distúrbios.

Obesidade, pré-diabetes e diabetes mellitus tipo 2: diagnóstico convencional e fisiopatologia

A obesidade é uma doença crônica, complexa e multifatorial que ocorre principalmente quando há uma desregulação positiva do balanço energético que promove acúmulo de lipídeos, principalmente triglicerídeos por uma dada extensão corporal (APOVIAN, 2016; BARLOW, et. al., 2015; CHAN, 2017; DIAS et al., 2017; SANZ; SANTACRUZ; GAUFFIN, 2010; UZOGARA, 2017; ZHANG et al., 2009; ZOBEL et al., 2016).

De acordo com a OMS, o diagnóstico convencional da obesidade é realizado com base no Índice de Massa Corporal (IMC). O IMC entre 18,50 – 24,99 kg/m^2 indica normalidade, já o IMC $\geq$ 25 kg/m^2 assinala sobrepeso, enquanto o IMC $\geq$ 30 kg/m^2 caracteriza obesidade. Uma vez diagnosticada, a obesidade pode ser classificada em três categorias: obesidade de grau 1 com IMC entre 30 – 34,99 kg/m^2; obesidade de grau 2 com IMC entre 35 – 39,99 kg/m^2; e obesidade de grau 3 com IMC $\geq$ 40 kg/m^2. Também podem ser empregadas outras medidas antropométricas auxiliares em conjunto com o IMC, como por exemplo, a medida da circunferência da cintura, cujo valor de corte é 102 cm para homens e 88 cm para mulheres. Além disso, também pode ser empregado o percentual de gordura corporal, de modo que os valores de corte para obesidade são: > 25% para homens e > 35% para mulheres (ABESO, 2016; EZZATI, 2016; ARAÚJO, 2015; LIMA et al., 2011; MATERKO et al., 2017; OMS, 1995, 2008).

DOI: 10.29327/213319.20.1-17
Páginas 258 a 287

Temas em Saúde
Volume 20, Número 1
ISSN 2447-2131
João Pessoa, 2020

Artigo

A obesidade pode ser causada por fatores genéticos (a taxa de herdabilidade do IMC pode variar de 40% a 70%), fatores ambientais (maus hábitos alimentares associados ao sedentarismo), e atualmente tem sido discutido a influência da microbiota intestinal no seu desenvolvimento, em especial o papel das arqueas metanogênicas (HEYMSFIELD; WADDEN, 2017).

Sabe-se que a obesidade é precursora de outras patogenias graves como doenças cardiovasculares, hepáticas, doença renal crônica, hipertensão, depressão e principalmente diabetes mellitus tipo 2 (GREGG; SHAW, 2017; HILL et al., 2003; MARQUES-LOPES et al., 2004; OLIVEROS; VILLAMOR, 2008; SMITH et al., 2018; TSAI; COYLE, 2009; YE, 2013).

A obesidade pode se relacionar com a pré-diabetes e diabetes mellitus tipo 2 principalmente por meio da resistência à insulina. Indivíduos obesos apresentam maior massa de células β pancreáticas, o que proporciona maior secreção de insulina no estado de jejum e após ingestão de carboidratos, de modo que esta secreção aumenta linearmente com o IMC, o que relaciona-se com algum grau de resistência à insulina. Além disso, a resistência à insulina em obesos pode ocorrer devido a hipertrofia dos adipócitos e consequente alteração na secreção de adipocinas (proteínas pró-inflamatórias) pelo tecido adiposo, o que gera uma resposta imunológica local. Algumas dessas adipocinas, como o fator de necrose tumoral alfa (TNF-α) atuam prejudicando a função de proteínas tirosina kinase (PTKs), que são as receptoras de insulina localizadas na membrana plasmática das células. Isso diminui a sensibilidade à insulina e consequentemente danifica a expressão da proteína transportadora de glicose (GLUT-4), a qual faz a captação da glicose sanguínea para o meio intracelular, a fim de que esta seja utilizada no processo de respiração celular. Em obesos são encontrados elevados níveis de ácidos graxos livres (AGL), o que leva ao uso preferencial de lipídeos como substrato energético e consequente a diminuição crônica da oxidação muscular de glicose, estimulando também o processo de gliconeogênese hepática, isto é, a produção de glicose a partir de precursores não glicídicos. Todos os fatores anteriormente discutidos podem ocasionar a longo prazo um descontrole glicêmico crônico, isto é, diabetes mellitus (CARVALHO; COLAÇO; FORTES, 2006; FRANCISQUETI; NASCIMENTO; CORRÊA, 2015; GOLAY; YBARRA, 2005; HEYMSFIELD; WADDEN, 2017).

A insulina deve estar abaixo de 25 $\mu U/mL$ em jejum para ser considerada aceitável. Contudo, o nível ideal de insulina basal no sangue situa-se abaixo de 3 μU/mL. O grau de resistência à insulina pode ser determinado pelo Modelo Homeostático de

DOI: 10.29327/213319.20.1-17
Páginas 258 a 287

Temas em Saúde
Volume 20, Número 1
ISSN 2447-2131
João Pessoa, 2020

Artigo

Avaliação da Resistência à Insulina (HOMA-IR). Conforme observado na Equação 1, para o cálculo do HOMA-IR, também deve ser levado em consideração o nível de glicose em jejum. Valores de HOMA-IR < 2 são aceitáveis, mas o HOMA-IR ideal é próximo de 1. Já o HOMA-IR próximo a 2,7 ou superior confirma a resistência à insulina. (GOLAY; YBARRA, 2005; HEYMSFIELD; WADDEN, 2017; KOUIDHI et al., 2013; MATHUR et al., 2014; OLIVEIRA et al., 2005, 2007; VASQUES et al., 2008).

$$\text{HOMA-IR} = \text{glicose (mg/dL)} \times \text{insulina (}\mu\text{U/mL)} / 405 \quad (1)$$

Reduzir a ingestão de alimentos altamente calóricos e aumentar a frequência de atividades físicas pode conduzir à perda de peso, o que constitui o principal tratamento para obesidade, pré-diabetes e diabetes. Também pode ser empregada a farmacoterapia com administração de medicamentos sensibilizadores de insulina como aqueles à base de metformina (APOVIAN, 2016; HEYMSFIELD; WADDEN, 2017; UZOGARA, 2017).

Com relação a pré-diabetes, esta é uma condição reversível de glicemia de jejum alterada (GJA) ou tolerância a glicose diminuída (TGD), sendo considerada o principal fator de risco para o desenvolvimento da diabetes mellitus.Por ano, 10% das pessoas com pré-diabetes podem desenvolver diabetes mellitus. Indivíduos apenas com GJA diferem daqueles que apresentam apenas TDG principalmente com relação ao local de elevada resistência à insulina. A resistência à insulina em indivíduos com GJA ocorre no fígado, enquanto indivíduos com TDG apresentam elevada resistência no músculo esquelético. Isto sugere que o controle glicêmico pode piorar progressivamente de uma tolerância normal à glicose, para GJA passando pela TDG e em seguida desencadeando diabetes mellitus tipo 2. Uma vez que as proteínas transportadoras de glicose insulino-dependentes (GLUT-4) encontram-se principalmente nos músculos (TABK et al., 2012; YIP et al., 2017; YUEN et al., 2010).

O diagnóstico é realizado por meio de exames de sangue, nos quais são analisados o nível de glicose (mg/dL) em jejum ou pós-prandial, e percentual de hemoglobina-glicada (%HbA1c). No teste oral de tolerância à glicose (TOTG) é medido o nível de glicose plasmática 2h após a ingestão oral de 75g de glicose (condição pós-prandial). Se esta concentração estiver entre 140 e 199 mg/dL, o indivíduo apresenta pré-diabetes. Na condição de jejum, a glicose plasmática é medida após 8h de jejum, confirmando a pré-diabetes caso a concentração esteja entre 100 e 125 mg/dL. Finalmente, com relação ao %HbA1c, se $5,7 \leq \text{HbA1c} \geq 6,4\%$ o indivíduo encontra-se na condição de pré-diabetes

DOI: 10.29327/213319.20.1-17
Páginas 258 a 287

Temas em Saúde
Volume 20, Número 1
ISSN 2447-2131
João Pessoa, 2020

(GROSS et al., 2002; IDF, 2017; MARASCHIN et al., 2010; PIMAZONI, 2014; TABK et al., 2012; YIP et al., 2017).

Por fim, a diabetes mellitus caracteriza-se como uma doença crônica determinada pelos altos níveis de glicose no sangue. A doença pode ocorrer devido à ausência de insulina no organismo, ou problemas relacionados a ação deste hormônio, uma vez que a insulina permite a entrada de glicose nas células para geração de energia por meio da oxidação (AAD, 2014; GROSS et al., 2002; KOUIDHI et al., 2013; OLOKOBA et al., 2012).

Esta doença pode ser autoimune, onde o sistema imunológico destrói as células β do pâncreas (diabetes mellitus tipo 1), ou pode ocorrer devido à resistência ocasionada principalmente devido a disfunção das PTKs localizadas na membrana plasmática das células (diabetes mellitus tipo 2). A diabetes mellitus tipo 2 representa 90 a 95% dos casos de incidência (AAD, 2014; GROSS et al., 2002; KOUIDHI et al., 2013; OLOKOBA et al., 2012).

A interação da insulina com as PTKs, presentes na membrana plasmática, estimula uma série de reações químicas no interior do citoplasma que levam a translocação da GLUT4 para a membrana plasmática, garantindo assim o transporte de glicose para o interior das células musculares e adiposas. Na ausência de insulina ou em casos de resistência à insulina, a glicose não passa da corrente sanguínea para o interior das células na quantidade ideal para suprir o metabolismo, como consequência, o indivíduo desenvolve hiperglicemia (CARVALHEIRA et al., 2002; GROSS et al., 2002; GUERRA et al., 2011; HUANG; CZECH, 2007; NAVALE; PARANJAPE, 2016; THORENS; MUECKLER, 2010, 2013; SAVIO, 2016; SEIDELL, 2000).

O diagnóstico convencional da diabetes mellitus também é realizado com base no nível de glicose sanguínea e no %HbA1c. Se a concentração de glicose em jejum for ≥ 126 mg/dL o diagnóstico é confirmado. O mesmo ocorre na condição pós-prandial, caso a concentração de glicose seja ≥ 200 mg/dL, e se o %HbA1c ≥ 6,5 (GROSS et al., 2002; MARASCHIN et al., 2010; PIMAZONI, 2014).

Arqueas metanogênicas e a produção de metano intestinal

Dentre os microrganismos do intestino humano estão presentes arqueas metanogênicas, as quais produzem metano e são seres anaeróbios obrigatórios pertencentes ao reino Archaea. Estes compreendem cerca de 10% de toda microbiota

DOI: 10.29327/213319.20.1-17
Páginas 258 a 287

Temas em Saúde
Volume 20, Número 1
ISSN 2447-2131
João Pessoa, 2020

intestinal. A diversidade de metanógenos nos seres humanos é limitada. Miller et al. (1982) foram os primeiros a relatarem a presença de metanógenos em humanos ao isolarem *Methanobrevibacter smithii* (*M smithii*) do conteúdo intestinal (MILLER et al., 1982 apud CHAUDHARY; CONWAY; SCHLUNDT, 2018). No intestino são encontradas as espécies *Methanospaera stadmagnae* e *M smithii*, sendo esta última a espécie predominante (ARAUJO et al., 2014; DELZENNE et al., 2015; LYNCH; PEDERSEN, 2016; MIHAJLOVSKI et al., 2010; MUNRO, 2016; SAMUEL et al., 2007; TRIANTAFYLLOU; CHANG; PIMENTEL, 2014; WOLEVER et al., 1995).

O *M smithii* coloniza principalmente o cólon, porção final do intestino grosso, onde representa 80% dos metanógenos presentes no local. Contudo, também está presente no intestino delgado em uma porcentagem de 20%, que pode aumentar em casos de supercrescimento bacteriano (BACKHED et al., 2005; PIMENTEL et al., 2006; TRIANTAFYLLOU; CHANG; PIMENTEL, 2014; VEGA et al., 2015).

É importante destacar que *M smithii* encontra-se presente no intestino de aproximadamente 95% dos seres humanos, e que esta porção da microbiota permanece estável ao longo do tempo, sendo pouco influenciada por mudanças na dieta (LEVITT et al. 2006). Sua presença no intestino se deve a fatores ambientais, mas a literatura esclarece que a pré-disposição genética também pode influenciar devido à presença deste micróbio em gêmeos monozigóticos em contraste com gêmeos dizigóticos. Pode ser detectada por meio de exame de fezes, por biópsia da mucosa do cólon (CHAUDHARY; CONWAY; SCHLUNDT, 2018; COSTELLO; LEDOCHOWSKI; RATCLIFFE, 2013; KIM et al., 2012; MORENO-INDIAS et al., 2014; ZHANG et al., 2009).

Esta espécie produz metano por meio de uma relação mutualística com bactérias fermentadoras dos filos Bacteroidetes e Firmicutes. Para isso, utiliza como substrato os gases H_2 e CO_2 liberados no intestino grosso por estas bactérias durante a fermentação anaeróbia de carboidratos não absorvidos no intestino delgado, e também de polissacarídeos não digeríveis como as fibras (SAMUEL et al., 2007; TRIANTAFYLLOU; CHANG; PIMENTEL, 2014; WOLEVER et al., 1995).

Sendo assim, *M smithii* é considerado hidrogenotrófico, uma vez que utiliza o H_2 como doador de elétrons para reduzir CO_2 à CH_4. Diferentemente do *Methanospaera stadmagnae* que é metilotrófico porque utiliza como substratos o metanol e metilaminas para converter o grupo metila a metano. Isso esclarece o fato do *M smithii* ser o metanógeno mais especializado no intestino, uma vez que os principais gases presentes nesta região são H_2 e CO_2, o que revela uma abundância de substratos (BARLOW, et. al.,

DOI: 10.29327/213319.20.1-17
Páginas 258 a 287

Temas em Saúde
Volume 20, Número 1
ISSN 2447-2131
João Pessoa, 2020

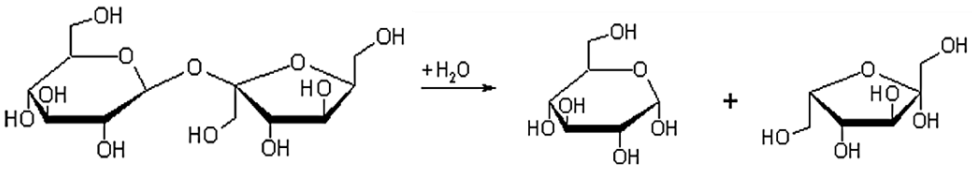
Artigo

2015; CHAUDHARY; CONWAY; SCHLUNDT, 2018; GACI et al., 2014; GIBSON et al., 1990; LEE et al., 2011).

O metano produzido por *M smithii* tem sido relatado como um biomarcador bem estabelecido para doenças intestinais como constipação crônica, síndrome do intestino irritável, doença inflamatória intestinal e câncer colorretal. Embora pouco discutido na literatura, atualmente sabe-se que o *M smithii* contribui para aumentar a colheita energética do hospedeiro e atrasar o trânsito intestinal, fatores que apresentam forte relação com a obesidade, além de estar relacionado com o controle glicêmico alterado (FERNANDES; VOGT; WOLEVER, 2011; FLINT et al., 2012; GACI et al., 2014; GHAVAMI et al., 2018; JAHNG et al., 2012; SMITH et al., 2018; TRIANTAFYLLOU; CHANG; PIMENTEL, 2014).

O metano é produzido na etapa final da digestão anaeróbia de carboidratos que ocorre no intestino (metanogênese). Os metanógenos atuam principalmente em conjunto com bactérias anaeróbias hidrolíticas, fermentadoras acidogênicas e acetanogênicas (BARLOW et al., 2015; CUMMINGS; MACFARLANE, 1997; GACI et al., 2014; MACFARLANE; MACFARLANE, 2011; MASPOLIM et al., 2015; MORENO-INDIAS et al., 2014).

No intestino delgado, as bactérias hidrolíticas secretam enzimas que em presença de água degradam polissacarídeos e oligossacarídeos levando a formação de carboidratos menores. Como por exemplo, a hidrólise da sacarose em seus monômeros glicose e frutose, catalisada pela enzima sacarase, conforme a Equação 2:



(2)

Então, no intestino grosso bactérias fermentadoras acidogênicas utilizam carboidratos menores, que eventualmente não foram absorvidos no intestino delgado, assim como polissacarídeos não digeríveis como as fibras para geração de energia por meio do processo anaeróbico de fermentação, levando a formação dos gases H_2 e CO_2 e também ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) como ácido butírico, ácido propiônico, e

DOI: 10.29327/213319.20.1-17
Páginas 258 a 287

Temas em Saúde
Volume 20, Número 1
ISSN 2447-2131
João Pessoa, 2020

ácido acético. Onde o ácido acético é o principal AGCC formado neste processo. Na Equação 3, é possível observar a reação de Cummings, que demonstra a fermentação bacteriana geral de carboidratos no intestino humano e produção de AGCC:

$$59\ C_6H_{12}O_6 + 38\ H_2O \rightarrow 60\ CH_3COOH + 22\ CH_3CH_2COOH + 18\ CH_3(CH_2)_2COOH + 96\ CO_2 + 268\ H^+ \quad (3)$$

Continuando no processo, os AGCC, como ácido butírico e ácido propiônico podem ser fermentados por bactérias acetogênicas, levando a formação de mais H_2, CO_2 e ácido acético. Este processo pode ser observado nas Equações 4 e 5:

$$CH_3CH_2CH_2COOH + 4\ H_2O \rightarrow CH_3COOH + 2\ CO_2 + 6\ H_2 \quad (4)$$

$$CH_3CH_2COOH + 2\ H_2O \rightarrow CH_3COOH + CO_2 + 3\ H_2 \quad (5)$$

Finalmente entram em ação as arqueas metanogênicas que produzem metano. Como a maioria dos metanógenos do intestino humano é hidrogenotrófico, sendo a espécie predominante o *M smithii*, estes utilizam como substrato essencialmente H_2 e CO_2 produzidos nas etapas anteriores de fermentação. A metanogênese pode ser observada na Equação 6:

$$4\ H_2 + CO_2 \rightarrow CH_4 + 2\ H_2O \quad (6)$$

O metano produzido não é utilizado pelos seres humanos, por isso é liberado na flatulência, e também pode ingressar no sistema circulatório, sendo transportado até os pulmões para ser exalado na respiração por meio de trocas gasosas (LEVITT et al., 2006). Como resultado da exalação de metano no hálito humano, este gás pode ser utilizado para monitorar a flora metanogênica, além de ser empregado como biomarcador para doenças (BARLOW et al., 2015; CUMMINGS; KIM et al., 2012; MACFARLANE, 1997; GACI et al., 2014; MACFARLANE; MACFARLANE, 2011; MASPOLIM et al., 2015; MORENO-INDIAS et al., 2014).

De maneira mais específica, 20% do metano produzido no intestino pode ser detectado na respiração. Apesar dos metanógenos estarem presentes no intestino de aproximadamente 95% dos seres humanos, o metano só é detectado na respiração de 30 a 50% da população adulta mundial, podendo ser aplicado como uma medida indireta de sua produção. A literatura sugere que o metano não é detectado na respiração até que os

DOI: 10.29327/213319.20.1-17
Páginas 258 a 287

Temas em Saúde
Volume 20, Número 1
ISSN 2447-2131
João Pessoa, 2020

Artigo

metanógenos atinjam uma densidade de aproximadamente 10^8 metanógenos/g de fezes (~ 3 ppmV de metano respiratório). Por este motivo, apesar de alguns indivíduos serem considerados metano-negativos nos testes respiratórios, não necessariamente são isentos de metano intestinal (COSTELLO; LEDOCHOWSKI; RATCLIFFE, 2013; GACI et al., 2014; KIM et al., 2012; TRIANTAFYLLOU; CHANG; PIMENTEL, 2014).

O procedimento padrão para medir metano na respiração é por meio do teste de lactulose. Neste procedimento, após uma coleta inicial da respiração, os indivíduos ingerem 10 g de xarope de lactulose diluído em 250 mL de água, e a cada 15 minutos são coletadas amostras de respiração com sacolas coletoras. Em seguida, as amostras são analisadas em um cromatógrafo a gás (Quintron Instrument Co) (BOROS et al., 2005; COSTELLO; LEDOCHOWSKI; RATCLIFFE, 2013; MATHUR et al., 2012, 2013a, 2014, 2016a, 2016b; PIMENTEL et al., 2006; TRIANTAFYLLOU; CHANG; PIMENTEL, 2014; WOLEVER et al., 1995).

Conforme o teste respiratório, os seres humanos saudáveis podem ser classificados como metano-positivos exalando metano em torno da faixa de 3 a 8 ppmV, ou como metano-negativos, quando a concentração de metano for menor que 3 ppmV. Doenças metabólicas como obesidade, pré-diabetes e diabetes mellitus têm sido relacionadas ao excesso deste gás na respiração (~ 12 ppmV) (CESARIO et al., 2014; MATHUR et al., 2012, 2013a, 2014, 2016a, 2016b; WANG; SAHAY, 2009).

Contudo, 3 ppmV costuma ser o limite de detecção empregando técnicas cromatográficas, o que dificulta estabelecer com precisão a concentração de metano exalada por indivíduos metano-negativos (MATHUR et al., 2012, 2013a, 2014, 2016a, 2016b). Por este motivo, a literatura sugere que, embora a nível de bancada, a Espectroscopia Fotoacústica Gasosa baseada em LASER de Cascata Quântica (EFG-QCL) emitindo no infravermelho (IV) pode se tornar uma alternativa vantajosa para detecção de biomarcadores exalados. Isto porque apresenta limites de detecção inferiores, da ordem de ppbV, além de ser uma técnica seletiva que possibilita medidas em tempo real, de maneira não-destrutiva e não-invasiva, não é afetada por condições ambientes como temperatura e humidade, além de possuir sensores compactos (DUMITRAS; GIUBILEO; PUIU, 2005; ELIA et al., 2009; KOSTEREV et al., 2008; LE; U-THAINUAL; KIM, 2015; TITTEL et al., 2012; WANG; SAHAY, 2009).

DOI: 10.29327/213319.20.1-17
Páginas 258 a 287

Temas em Saúde
Volume 20, Número 1
ISSN 2447-2131
João Pessoa, 2020

Artigo

O metano como biomarcador para distúrbios metabólicos

Estudos recentes realizados por Mathur et al. (2012, 2013, 2014, 2016a, 2016b) e Cesario et al. (2014), têm demonstrado pela primeira vez a relação do excesso de metano (~ 12 ppmV) na respiração humana com distúrbios metabólicos como obesidade, pré-diabetes e diabetes mellitus.

A primeira evidência de que *M smithii* contribui para o ganho de peso foi observada em camundongos. Foi encontrada uma elevada população de metanógenos na microbiota pertencente ao ceco de camundongos geneticamente obesos. Em camundongos estéreis (sem germes), a colonização induzida com bactérias fermantadoras Bacteroides da espécie *B tetaiotaomicron* em conjunto com *M smithii* resultou em maior ganho de peso do que a colonização apenas com *B tetaiotaomicron*. Confirmando que o aumento na produção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) estimulado pelos metanógenos leva a obesidade (BARLOW et al., 2015; MATHUR et al., 2013b). Em humanos, Zhang et al. (2009) mostraram que indivíduos obesos apresentam elevados níveis de metanógenos nas fezes, os quais não foram encontrados em indivíduos com peso normal.

O primeiro estudo em humanos a confirmar que uma maior concentração de metano na respiração é um preditor de obesidade foi realizado por Mathur et al. (2012). O objetivo deste trabalho foi demonstrar uma associação entre a obesidade e a presença ou ausência de metano em amostras de hálito humano. Para isso, 58 voluntários obesos (43 mulheres e 15 homens) com índice de massa corporal (IMC) entre 30 e 60 kg/m^2 e idade entre 18 e 65 anos foram recrutados para pesquisa. Foram registrados a altura e peso dos pacientes para o cálculo do IMC. Em seguida, os voluntários forneceram uma amostra da respiração com eliminação do volume de espaço morto, a qual foi coletada empregando uma sacola específica do tipo *Quintron* (*Quintron Instrument Company*). A amostra do ar exalado foi analisada com um cromatógrafo a gás *Quintron* (*Quintron Instrument Company*). Os indivíduos foram considerados metano-positivos com concentração de metano $\geq$ 3 ppmV. Constatou-se que dos 58 voluntários, 12 foram metano-positivos com uma concentração média de metano no ar exalado de 12 ± 3 ppmV. Enquanto 46 foram metano-negativos com uma concentração de metano < 3 ppmV. Além disso, o IMC foi significativamente maior em indivíduos obesos metano-positivos (45 ± 2 kg/m^2) do que em indivíduos obesos metano-negativos (38,5 ± 0,8 kg/m^2) com

DOI: 10.29327/213319.20.1-17
Páginas 258 a 287

Temas em Saúde
Volume 20, Número 1
ISSN 2447-2131
João Pessoa, 2020

significância (P) de 0,001. Para todas as análises, P < 0,05 é considerado estatisticamente significativo (MATHUR et al., 2012).

Mathur et al. (2013a) realizou o primeiro estudo que relacionou o metano respiratório, como substituto da colonização intestinal por *M smithii*, com o IMC em larga escala nos seres humanos. O objetivo foi caracterizar a relação entre o teste do metano e do hidrogênio intestinais com o IMC e porcentagem de gordura corporal. Com essa finalidade, 792 indivíduos aptos ao teste respiratório de lactulose foram recrutados. O IMC foi calculado por meio de medidas antropométricas empregando um estadiômetro, e o percentual de gordura foi medido empregando uma balança de bioimpedância por condutância elétrica. Após um jejum de 12 horas, foi realizada a coleta de uma amostra inicial da respiração empregando sacola *Quintron* (*Quintron Instrument*). Os indivíduos ingeriram 10 g de xarope de lactulose em 250 mL de água. Em seguida, amostras da respiração foram coletadas a cada 15 minutos por 2 horas e analisadas no cromatógrafo a gás (*Quintron Instrument*). Indivíduos metano-positivos apresentaram uma concentração de metano exalado ≥ 3 ppmV, enquanto indivíduos hidrogeno-positivos apresentaram uma concentração de hidrogênio exalado ≥ 20 ppmV. Os indivíduos foram organizados em 4 grupos: normal (N) com concentração de metano < 3 ppmV e concentração de hidrogênio < 20 ppmV; apenas hidrogeno-positivo (HP) com concentração de metano < 3 ppmV e de hidrogênio ≥ 20 ppmV; somente metano-positivo (MP) com concentração de metano ≥ 3 ppmV e de hidrogênio < 20 ppmV; e metano/hidrogeno-positivos (MP/HP) com concentração de metano ≥ 3 ppmV e de hidrogênio ≥ 20. Indivíduos MP/HP apresentaram um IMC maior do que qualquer um dos outros 3 grupos. Igualmente, a porcentagem de gordura corporal foi maior no grupo MP/HP. De modo que, os dados de IMC registrados por grupo foram: N = 24,1 ± 5,2 kg/m^2; HP = 24,2 ± 4,5 kg/m^2; MP: 24,0 ± 3,75 kg/m^2; MP/HP = 26,5 ± 7,1 kg/m^2 (P < 0,02 para cada comparação). Já os dados de porcentagem de gordura corporal foram: N = 28,3 ± 10,0%; HP = 27,5 ± 9,0%; MP = 28,0 ± 8,9%; MP/HP = 34,1 ± 10,9% (P < 0,001 para cada comparação) (MATHUR et al., 2013a).

Mathur et. al (2014) descreveu pela primeira vez a relação entre o metano respiratório e o controle glicêmico alterado em humanos. O objetivo foi testar se o metano detectado no hálito humano estava associado aos maiores níveis de glicose no teste oral de tolerância à glicose (TOTG). Para isso, 20 indivíduos participaram da pesquisa e o IMC não foi um critério para recrutamento. Os sujeitos foram administrados com 10 g de

DOI: 10.29327/213319.20.1-17
Páginas 258 a 287

Temas em Saúde
Volume 20, Número 1
ISSN 2447-2131
João Pessoa, 2020

lactulose após uma coleta inicial da respiração para testar o metano. Repetidas amostras de ar exalado foram coletadas 15 minutos após a ingestão da lactulose e analisadas por cromatografia gasosa (*Quintron Instrument*). A positividade para o metano foi definida com a concentração ≥ 3 ppmV. Com o resultado do teste respiratório, foram obtidos 15 indivíduos metano-negativos e 5 metano-positivos, os quais foram submetidos ao TOTG com ingestão de 75 g de glicose, com amostragem sanguínea coletada no início do teste e a cada 30 minutos por 3 horas após a ingestão. Neste caso, o TOTG foi analisado por meio da área abaixo da curva de glicose sérica (AUC) fornecida em mg/dL. O resultado demonstrou que durante os 180 minutos após a carga de glicose inicial, os indivíduos metano-positivos apresentaram maior AUC (774,2 ± 140,3 mg/dL) do que os indivíduos metano-negativos (585,5 ± 128,3 mg/dL) (P = 0,03). Isso demonstra que indivíduos metano-positivos podem ter intolerância à glicose ao ingerirem uma alta carga de carboidratos, apresentando maior suscetibilidade à hiperglicemia (MATHUR et al., 2014).

Mathur et al. (2016a) relatou pela primeira vez que a redução do metanógeno *M smithii* no intestino por meio do uso de antibióticos, verificada por teste respiratório de metano, pode ter efeito benéfico no metabolismo de indivíduos obesos com pré-diabetes. O objetivo foi determinar se o uso de antibiótico para erradicar *M smithii* resultava em melhoria no nível de glicose sanguínea. Com essa finalidade, 11 indivíduos metano-positivos obesos com pré-diabetes participaram da pesquisa, o IMC médio foi de 35,17 ± 7,71 kg/m^2 e a idade de 47 47± 9 anos. Os indivíduos foram eleitos para pesquisa conforme os seguintes critérios de inclusão: (1) idade entre 18 e 65 anos; (2) sobrepeso (IMC > kg/m^2) ou obesidade (IMC > 30,0 kg/m^2); (3) pré-diabetes confirmada por exame prévio de hemoglobina-glicada (%HbA1c entre 5,7 e 6,4 %); e (4) positividade para o metano por meio do teste respiratório de lactulose (≥ 3 ppmV). Foi realizado o teste respiratório de lactulose para determinar a concentração de metano por meio de cromatografia gasosa, conforme descrito em outros trabalhos da autora. Em seguida, os indivíduos foram submetidos ao TOTG, onde foi analisado o nível de glicose sanguínea em mg/dL, aos 60, 90 e 120 minutos pós dosagem. Finalmente, foi empregada a terapia com antibióticos. Os indivíduos ingeriram durante 10 dias 500 mg de neomicina e 550 mg de rifaximina. Após a antibioticoterapia, os testes de metano na respiração e glicose sanguínea foram repetidos. Dos 11 indivíduos metano-positivos obesos com pré-diabetes, 8 indivíduos (73%) erradicaram o metano do ar exalado com o uso dos antibióticos. Esses

Temas em Saúde
Volume 20, Número 1
ISSN 2447-2131
João Pessoa, 2020

achados sugerem uma possível aplicação do metano como biomarcador para pré-diabetes, além de indicar que reduzir uma população microbiana específica do intestino pode ter benefícios clínicos neste grupo de risco para prevenir o desenvolvimento de diabetes mellitus tipo 2 (MATHUR et al., 2016a).

Por fim, Mathur et al. (2016b) comparou, pela primeira vez na literatura, indivíduos metano-positivos e metano-negativos após a cirurgia bariátrica por bypass gástrico em Y de Roux (BGYR). O objetivo foi determinar se o metano e o hidrogênio no teste respiratório afetavam a perda de peso após a cirurgia bariátrica. Um total de 156 indivíduos participaram da pesquisa (112 mulheres e 44 homens). Estes apresentavam idade média de 47,9 ± 0,9 anos e IMC médio pré-cirúrgico de 42,6 ± 0,3 kg/m^2. Os critérios de inclusão foram: (1) idade entre 18 e 75 anos; (2) IMC pré-cirurgico; e (3) quatro meses de recuperação do BGYR. A metodologia consistiu no registro de peso e altura pré- e pós-operatórios para cálculo do IMC. O percentual da perda de peso e o percentual da redução do IMC foram monitorados por um período de 6 meses após a cirurgia. Além disso, foi empregada a detecção de metano e hidrogênio por cromatografia gasosa (*Quintron Instrument*). Apenas 13 indivíduos (11 mulheres e 2 homens) foram metano/hidrogeno-positivos (MP/HP). Já os 143 indivíduos restantes (101 mulheres e 42 adultos) foram metano-positivos (MP), ou positivo apenas para o hidrogênio (HP) ou metano/hidrogeno-negativos (MN/HN). Após a cirurgia bariátrica, os indivíduos MP/HP (n = 13) exibiram uma menor variação percentual do IMC (20,6 ± 1,9 %) do que todos os demais indivíduos (23,5 ± 0,6 %) (n = 144; P = 0,13). Ademais, este grupo exibiu uma significativa porcentagem de perda de peso menor (20,05 ± 1,8%) do que todos os outros grupos (23,9 ± 0,5%) (P = 0,036) (MATHUR et al., 2016b).

Já Cesário et al. (2014) foi a primeira a demonstrar a relação do metano com o controle metabólico em pacientes com diabetes mellitus tipo 1. O objetivo foi avaliar a correlação da produção de metano intestinal e o controle glicêmico. Para isso 30 voluntários com diabetes mellitus tipo 1 foram recrutados. A detecção de metano foi realizada conforme o teste respiratório de lactulose. E a glicemia avaliada através do %HbA1c no sangue. Em seguida, os voluntários metano-positivos foram convidados a realizar uma terapia com 500 mg do antibiótico metronidazol por 10 dias e o teste de metano respiratório foi repetido após 8 semanas. Dos 30 voluntários com diabetes mellitus tipo 1, apenas onze foram metano-positivos (36%) com uma concentração de metano exalada de 26,62 ± 11,41 ppmV. Este subconjunto de diabéticos apresentou pior controle glicêmico (8,16 ± 0,9 %HbA1c) do que o conjunto de indivíduos diabéticos

DOI: 10.29327/213319.20.1-17
Páginas 258 a 287

Temas em Saúde
Volume 20, Número 1
ISSN 2447-2131
João Pessoa, 2020

metano-negativos (7,49 ± 0,8 %HbA1c) (P <0,05). Após a terapia com o antibiótico, 7 dos 11 metano-positivos (63,3%) reduziram a produção de metano e apresentaram um %HbA1c significativamente menor (antes = 8,25 ± 0,8%; depois = 7,63 ± 0,7%) (CESARIO et al., 2014).

As principais hipóteses que relacionam o metano respiratório a obesidade foram relatadas pelas autoras acima citadas. Elas se referem a maior capacidade de colheita energética e atraso do trânsito intestinal em função da colonização por *M smithii* (CESARIO et al., 2014; MATHUR et al., 2012, 2013, 2014, 2016a, 2016b).

Sobre a maior colheita energética no intestino, sabe-se que as principais arqueas metanogênicas do intestino são hidrogenotróficas (*M smithii*), e que o H_2 utilizado na metanogênese é produzido por micróbios fermentadores de carboidratos que também produzem AGCC neste processo. O acúmulo de H_2 produzido pelos micróbios fermentadores no trato intestinal tem um efeito inibitório sobre estes micróbios, minimizando a ocorrência da fermentação (MATHUR et al., 2012; MATHUR et al., 2014; MATHUR et al., 2016a).

Contudo, conforme pode ser observado na Equação 6 (metanogênese), o *M smithii* utiliza 4 mols de H_2 e 1 mol de CO_2 para produzir cada mol de CH_4. Isso evita o acúmulo de H_2, permitindo o aumento da fermentação de polissacarídeos pelos micróbios vizinhos e consequentemente o aumento de AGCC. Os AGCCs, por sua vez, podem ser absorvidos no intestino sendo utilizados como fonte de energia extra para o hospedeiro. Sendo assim, ocorre um aumento na disponibilidade de calorias para o hospedeiro, o que pode levar ao aumento de peso e desenvolvimento de obesidade. Portanto, a utilização do H_2 para a produção de CH_4 pode ser uma das explicações para indivíduos metano-positivos apresentarem maiores IMCs (MATHUR et al., 2012; MATHUR et al., 2014; MATHUR et al., 2016a).

Outra explicação refere-se a maior absorção de nutriente no intestino, a qual está relacionada ao trânsito intestinal lento. O metano pode desacelerar o trânsito intestinal em até 59%, alterando a sua contratilidade (BARLOW et al., 2015; MACFARLANE; MACFARLANE, 2011; TRIANTAFYLLOU; CHANG; PIMENTEL, 2014). Este atraso no trânsito intestinal pode resultar no aumento do tempo disponível para absorção de nutrientes, o que também contribui para o ganho de peso. Além disso, é importante mencionar que o transito intestinal lento pode estimular a proliferação bacteriana, em virtude do alimento permanecer mais tempo no intestino, promovendo um desequilíbrio

DOI: 10.29327/213319.20.1-17
Páginas 258 a 287

Temas em Saúde
Volume 20, Número 1
ISSN 2447-2131
João Pessoa, 2020

da microbiota intestinal, o que agrava ainda mais os problemas metabólicos (BARLOW et al., 2015; MATHUR et al., 2012; MATHUR et al., 2014; MATHUR et al., 2016a).

Portanto, os efeitos dos metanógenos na obesidade podem ser devido a sua influência sobre a fermentação por outros micróbios, influência no trânsito intesinal ou uma combinação destes dois fatores (BARLOW et al., 2015; MATHUR et al., 2012, 2014, 2016a).

Sobre o metano atuar como biomarcador para pré-diabetes e diabetes mellitus, os autores esclarecem que mais investigações são necessárias para propor hipóteses que possam definir o papel dos metanógenos no desenvolvimento da hiperglicemia. Devido à potencialidade dos resultados apresentados por Mathur et al. (2014, 2016a) e Cesario et al. (2014) outros estudos em larga escala são necessários para confirmar a relação do metano exalado e o controle glicêmico e para elucidar os mecanismos subjacentes. A literatura também não esclarece se o controle glicêmico prejudicado é a causa ou a consequência dos elevados níveis de metano respiratório.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

No presente artigo foi apresentada uma discussão atual na comunidade científica sobre a potencialidade do metano intestinal, detectável de maneira não-invasiva na respiração, atuar como biomarcador para obesidade, pré-diabetes e diabetes mellitus tipo 2. Foram apresentados resultados recentes que têm demonstrado pela primeira vez na literatura uma relação do excesso de metano (~ 12 ppmV) no hálito humano com distúrbios metabólicos por meio das seguintes constatações: (1) indivíduos metano-positivos apresentam altos níveis de glicose no sangue quando confrontados com indivíduos metano-negativos, possuindo maior susceptibilidade a hiperglicemia ao serem desafiados com alta carga de carboidratos; (2) após tratamento com antibióticos específicos para reduzir a população de *M smithii* do intestino, indivíduos metano-positivos com pré-diabetes ou diabetes apresentam uma diminuição significativa de metano na respiração e uma melhoria do controle glicêmico caracterizada pela redução do nível de glicose e %HbA1c sanguíneos; (3) indivíduos metano/hidrogeno-positivos de uma população geral apresentam maiores IMCs quando comparados com indivíduos metano/hidrogeno-negativos; e mais especificamente (4) indivíduos metano-positivos obesos apresentam maiores IMCs quando comparados com obesos metano-negativos.

DOI: 10.29327/213319.20.1-17
Páginas 258 a 287

Temas em Saúde
Volume 20, Número 1
ISSN 2447-2131
João Pessoa, 2020

Portanto, em conjunto, essas observações sugerem que a colonização intestinal por arqueas metanogênicas pode contribuir para a alteração do metabolismo da glicose no hospedeiro e o desenvolvimento da obesidade.

REFERÊNCIAS

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. **Diabetes Care**, v. 37, 2014.

AMERICAN THORACIC SOCIETY. Recommendations for standardized procedures for the online and offline measurement of exhaled lower respiratory nitric oxide and nasal nitric oxide in adults and children. **Am J Respir Crit Care Med**, v. 160, 1999.

ANDERSON, J. C. Measuring Breath Acetone for Monitoring Fat Loss: Review. **Obesity**, v. 23, n. 12, 2015.

APOVIAN, C. M. The Obesity Epidemic — Understanding the Disease and the Treatment. **The New England Journal of Medicine**, v. 374, n.2, 2016.

ARAÚJO, G. T. Antropometria. **C N Nutro**, 2015.

ARAUJO, H. B. F. et al. Children living near a sanitary landfill have increased breath methane and methanobrevibacter smithii in their intestinal microbiota. **Archaea**, 2014.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA PARA O ESTUDO DA OBESIDADE E DA SINDROME METABÓLICA. **Diretrizes brasileiras de obesidade**. 4. ed. São Paulo, 2016.

BACKHED, F. et al. Host-bacterial mutualism in the human intestine. **Science**, v. 307, 2005.

BARLOW, G. M. et al. Role of the gut microbiome in obesity and diabetes mellitus. **Nutrition in Clinical Practice**, 2015.

Temas em Saúde
Volume 20, Número 1
ISSN 2447-2131
João Pessoa, 2020

Artigo

BASSERI, R. J. et al. Intestinal methane production in obese individuals is associated with a higher body mass index. **Gastroenterology & hepatology**, v. 8, n. 1, 2012.

BAYRAKLI, Ismail; AKMAN, Hatice. Ultrasensitive, real-time analysis of biomarkers in breath using tunable external cavity laser and off-axis cavity-enhanced absorption spectroscopy. **Journal of Biomedical Optics**, v. 3, 2015.

BOROS, M. et al. The role of methane in mammalian physiology—is it a gasotransmitter? **J. Breath Res.**, v. 9, 2015.

BRAY, G. et al. Obesity: a chronic relapsing progressive disease process. A position statement of the World Obesity Federation. **Obesity Reviews**, v. 8, 2017.

BUSZEWSKI, B. et al. Human exhaled air analytics: biomarkers of diseases. Biomedical Chromatography, v. 21, abr. 2007.

CARVALHEIRA, J. B. C. et al. Vias de sinalização da insulina. **Arq Bras Endocrinol Metab**, v. 46, n. 4, 2002.

CARVALHO, M. H. C.; COLAÇO, A. L.; FORTES, Z. B. Citocinas, disfunção endotelial e resistência à insulina. **Arq Bras Endocrinol Metab**, v. 50, n. 2, 2006.

CESARIO, V. et al. Methane intestinal production and poor metabolic control in type I diabetes complicated by autonomic neuropathy. **Minerva Endocrinol.**, v. 3, 2014.

CHAN, M. Obesity and diabetes: the slow-motion disaster. **The Milbank Quarterly**, v. 95, n. 1, 2017.

CHAUDHARY, P. P.; CONWAY, P. L.; SCHLUNDT, J. Methanogens in humans: potentially beneficial or harmful for health. **Applied Microbiology and Biotechnology**, 2018.

Temas em Saúde
Volume 20, Número 1
ISSN 2447-2131
João Pessoa, 2020

Artigo

COSTELLO, B. P. J. L.; LEDOCHOWSKI, M.; RATCLIFFE, N. M. The importance of methane breath testing: a review. **J. Breath Res.**, v. 7, 2013.

CUMMINS, J. H.; MACFARLANE, G. T. Role of intestinal bacteria in nutrient metabolism. **Clinical Nutrition**, v. 16, 1997.

DELZENNE, N. M. et al. Gut microorganisms as promising targets for the management of type 2 diabetes. **Diabetologia**, v. 58, 2015.

DIAS, P. C. et al. Obesity and public policies : the Brazilian government's definitions and strategies. **Cad. Saúde Pública**, v. 33, n. 7, 2017.

DUMITRAS, D. C.; GIUBILEO, G.; PUIU, A. Investigation of human biomarkers in exhaled breath by laser photoacoustic spectroscopy. **Advanced Laser Technologies**, v. 5850, 2005.

ELIA, Angela et al. Quantum Cascade Laser-Based Photoacoustic Sensor for Trace Detection of Formaldehyde Gas. **Sensors**, v. 9, 2009.

EZZATI, M. et al. Trends in adult body-mass index in 200 countries from 1975 to 2014: a pooled analysis of 1698 population-based measurement studies with 19·2 million participants. **Lancet**, v. 387, 2016.

FERNANDES, J.; VOGT, J.; WOLEVER, T. M. S. Inulin increases short-term markers for colonic fermentation similarly in healthy and hyperinsulinaemic humans. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 65, 2011.

FLINT, H. J. et al. The role of the gut microbiota in nutrition and health. **Gastroenterology & Hepatology**, v. 9, 2012.

FRANCISQUETI, F. V.; NASCIMENTO, A. F.; CORRÊA, C. R. Obesity, inflammation and metabolic complications. **Nutrire**.,v. 40, n. 1, 2015.

Temas em Saúde
Volume 20, Número 1
ISSN 2447-2131
João Pessoa, 2020

Artigo

GACI, N. et al. Archaea and the human gut: New beginning of an old story. **World J Gastroenterol**, v. 20, nov. 2014.

GHAVAMI, S. B. et al. Alterations of the human gut Methanobrevibacter smithii as a biomarker for inflammatory bowel diseases. **Microbial Pathogenesis**, v. 117, 2018.

GIBSON, G. R. et al. Alternative pathways for hydrogen disposal during fermentation in the human colon. **Gut**, v. 31, 1990.

GOLAY, A.; YBARRA, J. Link between obesity and type 2 diabetes. **Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 19, n. 4, 2005.

GREEG, E. W.; SHAW, J. E. Global health effects of overweight and obesity. **The new england journal of medicine**, 2017.

GROSS, Jorge L. et al. Diabetes Melito: Diagnóstico, Classificação e Avaliação do Controle Glicêmico. **Arq Bras Endocrinol Metab**, v. 46, n. 1, fev. 2002.

GUERRA et al. **Ciências Biológicas**. 1 ed. João Pessoa: Editora universitária, 2011.

GURLEY, J. M. et al. Increased skeletal muscle glut4 expression in obese mice after voluntary wheel running exercise is posttranscriptional. **Diabetes**, v. 65, 2016.

HAMMARSTEDT, A. et al. Adipose tissue dysregulation and reduced insulin sensitivity in non-obese individuals with enlarged abdominal adipose cells. **Diabetology & Metabolic Syndrome**, v. 42, n. 2, 2012.

HANNEMANN, M. et al. Influence of age and sex in exhaled breath samples investigated by means of infrared laser absorption spectroscopy. **J. Breath Res.**, v. 5, 2011.

HEYMSFIELD, S. B; WADDEN, T. A. Mechanisms, pathophysiology, and management of obesity. **The new england journal of medicine**, v. 376, n. 3, 2017.

Temas em Saúde
Volume 20, Número 1
ISSN 2447-2131
João Pessoa, 2020

Artigo

HILL, J. O. et al. Obesity and the environment: where do we go from here? **Science**, v. 299, n. 5608, 2003.

HORVÁTH, I; HUNT, J.; BARNES, P. J. Exhaled breath condensate: methodological recommendations and unresolved questions. **Eur Respir J**, v. 26, 2005.

HUANG; S.; CZECH, M. P. The GLUT4 Glucose Transporter in obesity and type 2 diabetes. **Cell Metabolism**, 2007.

INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION. **Diabetes Atlas**. 8. ed. 2017.

JAHNG, J. et al. The effects of methane and hydrogen gases produced by enteric bacteria on ileal motility and colonic transit time. **Neurogastroenterol Motil**, v. 24, 2012.

KHARITONOV, S. A.; BARNES, P. J. Biomarkers of some pulmonary diseases in exhaled breath. **Biomarkers**, v. 7, n. 1, 2002.

KHARITONOV, S. A.; BARNES, P. J. Exhaled Markers of Pulmonary Disease. American. **Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 163, jan. 2001.

KIM, G. et al. Methanobrevibacter smithii is the predominant methanogen in patients with constipation-predominant ibs and methane on breath. **Dig Dis Sci**, v. 57, 2012.

KOSTEREV, A. et al. Application of quantum cascade lasers to trace gas analysis. **Appl. Phys. B**, v. 90, 2008.

KOUIDHI, S. et al. Human subcutaneous adipose tissue Glut 4 mRNA expression in obesity and type 2 diabetes. **Acta Diabetol**, v. 50 2013.

LE, H.; U-THAINUAL, P.; KIM, D. Photoacoustic spectroscopy of gaseous biomarker in simulated breath. **Optical Fibers and Sensors for Medical Diagnostics and Treatment Applications**, v. 9317, 2015.

Temas em Saúde
Volume 20, Número 1
ISSN 2447-2131
João Pessoa, 2020

Artigo

LEE, H. et al. Associations among organochlorine pesticides, methanobacteriales, and obesity in korean women. **Pesticides, Methanogens, and Obesity**, v. 6, 2011.

LEVITT, M. D. et al. Stability of human methanogenic flora over 35 years and a review of insights obtained from breath methane measurements. **Clinical gastroenterology and hepatology**, v. 4, 2006.

LI, W. et al. A cross-sectional study of breath acetone based on diabetic metabolic disorders. **J. Breath Res.**, v. 9, 2015.

LIMA, C. G. Circunferência da cintura ou abdominal? uma revisão crítica dos referenciais metodológicos. **Rev. Simbio-Logias**, v. 4, n. 6, 2011.

LOURENÇO, C.; TURNER, C. Breath Analysis in Disease Diagnosis: Methodological Considerations and Applications. **Metabolites**, v. 4, 2014.

LYNCH, S. V.; PEDERSEN, O. P. The human intestinal microbiome in health and disease. **The new england journal of medicine**, v. 375, n. 24, 2016.

MACFARLANE, G. T.; MACFARLANE, S. Fermentation in the Human Large Intestine. **J Clin Gastroenterol**, v. 45, 2011.

MARASCHIN, J. F. et al. Classificação do Diabete Melito. **Arq. Bras. Cardiol.**, v. 95, n. 2, 2010.

MARQUES-LOPES, I. et al. Aspectos genéticos da obesidade. **Rev. Nutr.**, v. 17, n. 3, 2004.

MASPOLIM, Y. et al. Determination of the archaeal and bacterial communities in two-phase and single-stage anaerobic systems by 454 pyrosequencing. **Journal of enviromental sciences**, v. 36, 2015.

Temas em Saúde
Volume 20, Número 1
ISSN 2447-2131
João Pessoa, 2020

Artigo

MATERKO, W. et al. Accuracy of the WHO's body mass index cut-off points to measure gender and age specific obesity in middle-aged adults living in the city of Rio de Janeiro, Brazil. **Journal of Public Health Research**, v. 6, 2017.

MATHUR, R. et al. Intestinal methane production in obese individuals is associated with a higher body mass index. **Gastroenterology & Hepatology**, v. 8, 2012.

MATHUR, R. et al. Intestinal methane production isassociated with decreased weight loss following bariatric surgery. **Obesity Research & Clinical Practice**, jun. 2016b.

MATHUR, R. et al. Intestinal methanobrevibacter smithii but not total bacteria is related to diet-induced weight gain in rats. **Obesity**, v. 21, n. 4, abr. 2013b.

MATHUR, R. et al. Metabolic effects of eradicating breath methane using antibiotics in prediabetic subjects with obesity. **Obesity**, v. 24, mar. 2016a.

MATHUR, R. et al. Methane and hydrogen positivity on breath test is associated with greater body mass index and body fat. **J Clin Endocrin Metab**, v. 4, mar. 2013a.

MATHUR, R. et al. Methane-producing human subjects have higher serum glucose levels during oral glucose challenge than non-methane producers: a pilot study of the effects of enteric methanogens on glycemic regulation. **Research Journal of Endocrinology and Metabolism**, 2014.

MCCURDY, M. R. et al. Recent advances of laser-spectroscopybased techniques for applications in breath analysis. **Journal of breath research**, v. 1, 2007.

MCLELLAN, K. C. P. et al. Diabetes mellitus do tipo 2, síndrome metabólica e modificação no estilo de vida. **Rev. Nutr.**, v. 20, n. 5, 2007.

MIHAJLOVSKI, A. et al. Molecular evaluation of the human gut methanogenic archaeal microbiota reveals an age-associated increase of the diversity. **Environmental Microbiology Reports**, v. 2, n., 2010.

DOI: 10.29327/213319.20.1-17
Páginas 258 a 287

Temas em Saúde
Volume 20, Número 1
ISSN 2447-2131
João Pessoa, 2020

Artigo

MORENO-INDIAS, I. et al. Impact of gut microbiota on the development of obesity and type 2 diabetes mellitus. **Frontiers in microbiology**, v. 5, 2014.

MOZZANEGA, B. et al. Obesity Reduces the Expression of GLUT4 in the Endometrium of Normoinsulinemic Women Affected by the Polycystic Ovary Syndrome. **Ann. N.Y. Acad. Sci.,** v. 1034, 2004.

MUNRO, N. Gut microbiota: Its role in diabetes and obesity. **Diabetes & Primary Care**, v. 18, n. 4, 2016.

NAVALE, A. M.; PARANJAPE, A. N. Glucose transporters: physiological and pathological roles. **Biophys Rev**, v. 8, 2016.

OLIVEIRA, E. P. et al. Índice HOMA (homeostasis model assessment) na prática clínica: uma revisão. **J Bras Patol Med Lab**, v. 41, n. 4, 2005.

OLIVEIRA, E. P. et al. Síndrome Metabólica, Seus Fenótipos e Resistência à Insulina pelo HOMA-RI. **Arq Bras Endocrinol Metab**, v. 51, n. 9, 2007.

OLIVEROS, H.; VILLAMOR, E. Obesity and mortality in critically ill adults: a systematic review and meta-analysis. **Obesity**, v. 16, 2008.

OLOKOBA, A. B. et al. Type 2 diabetes mellitus: a review of current trends. **Oman Medical Journal**, v. 27, n. 4, 2012.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. **Prevalence of obesity among adults**. 2016. Disponível em: <https://www.who.int/gho/ncd/risk_factors/overweight_obesity/obesity_adults/en/>: 21 jan. 2019.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. Physical status: the use and interpretation of anthropometry. **WHO techinical report**, v. 854, 1995.

Temas em Saúde
Volume 20, Número 1
ISSN 2447-2131
João Pessoa, 2020

Artigo

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. Waist circumference and waist-hip ratio: report of a WHO expert consultation. **WHO Library Cataloguing-in-Publication Data**, 2008.

PASCHKE, K. M.; MASHIR, A.; DWEIK, R. A. Clinical applications of breath testing. Medicine Reports, 2010.

PERES, S. H. C. et al. Estilo de vida em pacientes portadores de diabetes mellitus tipo 1: uma revisão sistemática. **Ciência e saúde coletiva**, v. 21, n. 4, 2016.

PIMAZONI, A. N. SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES: **O teste de hemoglobina glicada (A1C), o que é e para que serve**. 2014. Disponível em:< http://www.diabetes.org.br/publico/ultimas/656-o-teste-de-hemoglobina-glicada-a1c-o-que-e-e-para-que-serve>. Acesso em: 15 dez. 2017.

PIMENTEL, M. Methane, a gas produced by enteric bacteria, slows intestinal transit and augments small intestinal contractile activity. **Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol**, v. 290, 2006.

RENEWBARIATRICS. **Top 10 Most Obese Countries**. 2017. Disponível em:< https://renewbariatrics.com/obesity-rank-by-countries/>: 21 jan. 2019.

REYES-REYES, A. et al. Study of the Exhaled Acetone in Type 1 Diabetes Using Quantum Cascade Laser Spectroscopy. **Analytical Chemistry**, v. 87, 2015.

RISBY, T. H.; TITTEL, F. K. Current status of midinfrared quantum and interband cascade lasers for clinical breath analysis. **Optical Engineering**, v. 49, n. 11, 2010.

SANZ, Y.; SANTACRUZ, A.; GAUFFIN, P. Gut microbiota in obesity and metabolic disorders. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 69, 2010.

SAVIO. **Mecanismos de ação da insulina**. 2016. Disponível em:< https://www.ufrgs.br/lacvet/site/wp-content/uploads/2016/07/mecanismo_a%C3%A7ao_insulinaSavio.pdf>. Acesso em: 15 dez. 2017.

DOI: 10.29327/213319.20.1-17
Páginas 258 a 287

Temas em Saúde
Volume 20, Número 1
ISSN 2447-2131
João Pessoa, 2020

Artigo

SCHUBERT, R. et al. Metabolic monitoring and assessment of anaerobic threshold by means of breath biomarkers. **Metabolomics**, v. 8, 2012.

SCHWIERTZ, A. K. et al. Microbiota and scfa in lean and overweight healthy subjects. **Obesity**, v. 18, n. 1, 2009.

SEIDELL, J.C. Obesity, insulin resistance and diabetes – a worldwide epidemic. **British Journal of Nutrition**, v. 83, 2000.

SMITHI, C. H. W. et al. Breath methane concentrations and markers of obesity in patients with functional gastrointestinal disorders. **United European Gastroenterology Journal**, v. 6, n. 4, 2018.

TABAK, A. G. et al. Prediabetes: a high-risk state for diabetes development. **The lancet**, v. 379, 2012.

THORENS, B.; MUECKLER, M. Glucose transporters in the 21st Century. **Am J Physiol Endocrinol Metab.**, v. 298, n.2, 2010.

THORENS, B.; MUECKLER, M. The SLC2 (GLUT) Family of Membrane Transporters. **Mol Aspects Med.**, v. 34, 2013.
TITTEL, F. K. et al. Real time detection of exhaled human breath using quantum cascade laser based sensor technology. **Proc. of SPIE**, v. 8223, 2012.

TRIANTAFYLLOU, K.; CHANG, C.; PIMENTEL, M. Methanogens, Methane and Gastrointestinal Motility. **J Neurogastroenterol Motil**, v. 20, n. 1, 2014.

TSAI, F.; COYLE, W. J. The microbiome and obesity: is obesity linked to our gut flora? **Current Gastroenterology Reports**, v. 11, 2009.

UZOGARA, S. G. Obesity epidemic, medical and quality of life consequences: a review. **International Journal of Public Health Research**, v. 5, n. 1, 2017.

DOI: 10.29327/213319.20.1-17
Páginas 258 a 287

Temas em Saúde
Volume 20, Número 1
ISSN 2447-2131
João Pessoa, 2020

Artigo

VASQUES, A. C. et al. Análise Crítica do Uso dos Índices do Homeostasis Model Assessment (HOMA) na Avaliação da Resistência à Insulina e Capacidade Funcional das Células-beta Pancreáticas. **Arq Bras Endrocrinol Metab**, v. 52, n. 1, 2008.

VEJA, A. B. et al. Breath methane in functional constipation: response to treatment with Ispaghula husk. **Neurogastroenterol Motil**, v. 27, 2015.

WANG, C.; SAHAY, P. Breath Analysis Using Laser Spectroscopic Techniques: Breath Biomarkers, Spectral Fingerprints, and Detection Limits. **Sensors**, v. 9, 2009.

WANG, Z.; WANG, C. Is breath acetone a biomarker of diabetes? A historical review on breath acetone measurements. **Journal of breath research**, v. 7, 2013.

WITHROW, D.; ALTER, D. A. The economic burden of obesity worldwide : a systematic review of the direct costs of obesity. **Obesity Reviews**, v. 12, 2011.

WOJTAS, J. et al. Application of Cavity Enhanced Absorption Spectroscopy to the Detection of Nitric Oxide, Carbonyl Sulphide, and Ethane—Breath Biomarkers of Serious Diseases. **Sensors**, v. 15, 2015.

WOJTAS, J. et al. Cavity-Enhanced Absorption Spectroscopy and Photoacoustic Spectroscopy for Human Breath Analysis. **Int J Thermophys**, n. 35, 2014.

WOJTAS, J. et al. Ultrasensitive laser spectroscopy for breath analysis. **Opto−Electronics Review**, v. 20, n. 1, 2012.

WOLEVER, T. M. S. et al. Positive methane-producing status associated with increased serum cholesterol in subjects with impaired glucose tolerance. **Diabetes Care**, v. 18, n. 7, 1995.

YE, J. Mechanisms of insulin resistance in obesity. **Front. Med.**, v. 7, n.1, 2013.

DOI: 10.29327/213319.20.1-17
Páginas 258 a 287

Temas em Saúde
Volume 20, Número 1
ISSN 2447-2131
João Pessoa, 2020

Artigo

YIP, W. C. et al. Prevalence of pre-diabetes across ethnicities: a review of impaired fasting glucose (ifg) and impaired glucose tolerance (igt) for classification of dysglycaemia. **Nutrients**, v. 1273, n. 9, 2017.

YUEN, A. et al. Lifestyle and medication interventions for the prevention or delay of type 2 diabetes mellitus in prediabetes: a systematic review of randomised controlled trials. **Australian and new zealand journal of public health**, v. 34, n. 2, 2010.

ZHANG, H. et al. Human gut microbiota in obesity and after gastric by-pass. **PNAS**, v. 106, n. 7, 2009.

ZHOU, M. et al. Investigation and identification of breath acetone as a potential biomarker for type 2 diabetes diagnosis. **Chin. Sci. Bull.**, 2014.

ZOBEL, E. H. Global Changes in Food Supply and the Obesity Epidemic. **Curr Obes Rep**, 2016.

DOI: 10.29327/213319.20.1-17
Páginas 258 a 287