

Ricardo Fernandes

**EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DE PREBIÓTICO OU
SIMBIÓTICO EM MARCADORES INFLAMATÓRIOS E
INDICADORES DO ESTADO NUTRICIONAL EM INDIVÍDUOS
COM OBESIDADE MÓRBIDA: UM ENSAIO CLÍNICO
RANDOMIZADO, PLACEBO-CONTROLADO E TRIPLO CEGO**

Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Santa Catarina em cumprimento a requisito para a obtenção do título de Doutor em Nutrição, linha de pesquisa Estudo Dietético e Bioquímico relacionado com o estado nutricional, sob a orientação do Professor Doutor Erasmo Benicio Santos de Moraes Trindade.

Florianópolis
2018

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Fernandes, Ricardo

Efeito da suplementação de prebiótico ou simbiótico em marcadores inflamatórios e indicadores do estado nutricional em indivíduos com obesidade mórbida: um ensaio clínico randomizado, placebo-controlado e triplo cego / Ricardo Fernandes ; orientador, Erasmo Benício Santos de Moraes Trindade, 2018. 226 p.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Nutrição, Florianópolis, 2018.

Inclui referências.

1. Nutrição. 2. Obesidade. 3. Microbiota. 4. Prebióticos. 5. Simbióticos. I. Benício Santos de Moraes Trindade, Erasmo . II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Nutrição. III. Título.

RICARDO FERNANDES

**EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DE PREBIÓTICO OU
SIMBIÓTICO EM MARCADORES INFLAMATÓRIOS E
INDICADORES DO ESTADO NUTRICIONAL EM INDIVÍDUOS
COM OBESIDADE MÓRBIDA: UM ENSAIO CLÍNICO
RANDOMIZADO, PLACEBO-CONTROLADO E TRIPLO CEGO**


Esta Tese foi julgada adequada para obtenção do Título de Doutor em Nutrição, e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Nutrição da Universidade Federal de Santa Catarina.

Florianópolis, 08 de junho de 2018.


Prof.^a Patrícia Faria Di Pietro, Dra.
Coordenadora do Curso

Prof. Erasmo Benicio Santos de
Moraes Trindade, Dr.
Orientador e Presidente da banca
Universidade Federal de Santa Catarina


Banca Examinadora:



Prof. Tales de Carvalho, Dr.
Universidade do Estado de Santa Catarina



Marcelo Fernando Ronsoni, Dr.
Hospital Universitário Polydoro Ernani de São Thiago
Universidade Federal de Santa Catarina



Prof.^a Simone Van de Sande Lee, Dra.
Universidade Federal de Santa Catarina

AGRADECIMENTOS

Agradeço,

A DEUS, pela oportunidade de renascer e viver mais uma vida, de permitir minha evolução moral e intelectual e de reparação dos meus erros passados, por me amparar nos momentos mais difíceis e por colocar em meu caminho espíritos iluminados.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Erasmo Benício Santos de Moraes Trindade. É difícil, muito difícil expressar em poucas palavras tudo que você fez por mim. Professor e orientador na Graduação, na Residência, no Mestrado e no Doutorado, padrinho de casamento e, mais do que tudo, um grande amigo. São dez anos de parceria, de muitas oportunidades e desafios, de investimento no meu aprimoramento profissional, de grandes ensinamentos e de preocupação com o meu bem estar. Sou grato a Deus por você ter me orientado e me conduzido em toda a minha trajetória profissional. Mesmo distantes, a parceria vai continuar! Muito obrigado!

A minha esposa, companheira, incentivadora, amiga, Martha Luisa Machado, que sempre me apoiou em todos os momentos da minha vida, por me compreender nos momentos de ausência, por compartilhar momentos de angústia e de felicidade, por todas as conversas sobre nosso futuro, por tudo! As minhas vitórias não seriam possíveis sem você. Te amo!

A minha família, por me compreender nos momentos de ausência, pela prioridade e pelo investimento na minha educação desde criança, pelo amor e pelo apoio inestimável em todos os momentos da minha vida. Vocês são incríveis, muito obrigado!

A Universidade Federal de Santa Catarina, por todo o conhecimento e oportunidades oferecidos a mim. Em 2005 ingressei nesta Universidade e saí em 2018, são 13 anos convivendo neste espaço que se tornou minha segunda casa. Tenho orgulho de ter feito parte da UFSC. Que venham novos desafios!

Ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição, por todo o conhecimento oferecido a mim, por toda a confiança depositada e por me preparem para a docência.

Ao Grupo de Pesquisa em Imunonutrição e Metabolismo, pela construção coletiva do conhecimento e por todo o auxílio prestado no planejamento e execução deste estudo.

Ao Hospital Universitário Polydoro Ernani de São Thiago e todo seu corpo clínico, por viabilizar a operacionalização deste estudo,

especialmente aos Serviços de Endocrinologia e Metabologia, de Análises Clínicas e de Nutrição e Dietética.


A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos, permitindo dedicação exclusiva ao doutorado.

A Invictus FarmaNutrição, pela doação dos suplementos utilizados neste estudo.

A Professora Dra. Julia Salvan da Rosa, por auxiliar na determinação dos marcadores inflamatórios.

Aos “pacientes” que participaram desta pesquisa, sem eles este trabalho não seria possível.

A todas as pessoas que, direta ou indiretamente, **contribuíram** para a execução desta Tese de Doutorado.

Por fim, gostaria de fazer um agradecimento especial à **sociedade brasileira**, que com seus impostos financiaram toda a minha formação na UFSC, desde a graduação até o doutorado. Tenho certeza que foram milhares de reais investidos em mim. É importante lembrar que todos aqueles que tiveram o privilégio de ter a formação em universidades públicas e de qualidade como a UFSC, tenham em mente que prezar pela excelência no trabalho depois de formado é o mínimo que todos esperam depois de tantos recursos investidos. Sinto esta responsabilidade e espero retornar o investimento com muita produção, tanto no ensino, quando na pesquisa e na extensão, sempre prezando pela excelência. Podem ter certeza que o lema da nossa bandeira estará sempre em minha atuação profissional: Ordem e Progresso. Cidadãos brasileiros, meu muito obrigado! 

*Conheça todas as teorias, domine todas as técnicas, mas ao tocar uma
alma humana, seja apenas outra alma humana.”*
[Carl Gustav Jung – Psiquiatra e Psicoterapeuta suíço (1875 – 1961)]

RESUMO

Estudos em humanos com sobrepeso ou obesidade têm mostrado que prebióticos e simbióticos podem ter efeito benéfico em marcadores inflamatórios e em indicadores bioquímicos e antropométricos do estado nutricional. No entanto, o número de estudos que avaliaram o efeito destes produtos alimentares nestes desfechos em indivíduos com sobrepeso ou obesidade é limitado. Neste sentido, o objetivo desta tese de doutorado foi avaliar o efeito de prebiótico ou simbiótico em marcadores inflamatórios e indicadores do estado nutricional em indivíduos com obesidade mórbida. Uma revisão sistemática foi realizada a fim de recuperar da literatura científica todos os ensaios clínicos randomizados e controlados que investigaram o efeito de prebióticos e simbióticos nos desfechos avaliados nesta presente pesquisa. Os resultados mostraram que nenhum estudo avaliou o efeito de fruto-oligossacarídeo (FOS) em citocinas inflamatórias e de simbióticos contendo FOS em citocinas anti-inflamatórias, além de nenhum estudo ter sido conduzido em indivíduos com obesidade mórbida. Adicionalmente, os estudos apresentavam importantes fragilidades e heterogeneidade metodológicas. A partir dos resultados obtidos, um ensaio clínico randomizado, placebo-controlado e triplo cego foi conduzido em 22 indivíduos adultos. Um grupo recebeu prebiótico 11g/dia de FOS, um grupo recebeu 11g/dia de simbiótico (FOS, *Lactobacillus paracasei* LPC-37 (2×10^9 UFC/dia), *Lactobacillus rhamnosus* HN001 (2×10^9 UFC/dia), *Lactobacillus acidophilus* NCFM (2×10^9 UFC/dia) e *Bifidobacterium lactis* HN019 (2×10^9 UFC/dia)) e um grupo recebeu 11g de placebo (maltodextrina) durante 30 dias. Marcadores inflamatórios (proteína C-reativa (PCR), IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, IL-12p70 e TNF- α) e indicadores bioquímicos e antropométricos do estado nutricional (colesterol total, LDL-colesterol, HDL-colesterol, triglicerídeos, glicemia e insulina de jejum, hemoglobina glicada, índice HOMA-IR, peso corporal, índice de massa corporal (IMC) e circunferência da cintura) foram avaliados. As análises não mostraram diferenças significativas entre os grupos após a suplementação. Nas avaliações intra-grupo, houve redução significativa no colesterol total (-15,0 mg/dL; p=0,002), LDL-c (-17,0 mg/dL; p=0,030), HDL-c (-3,0 mg/dL; p=0,040), peso corporal (-2,6 kg; p=0,028) e no IMC (-1,1 kg/m²; p=0,022) no grupo placebo, embora este grupo tenha apresentado a maior redução na ingestão energética (-17.000 kcal/mês). No grupo prebiótico houve aumento significativo na IL-10 (+0,8 pg/mL; p=0,025), na IL-12p70 (+42,1 pg/mL; p=0,036) e no TNF- α (+3,0 pg/mL;

p=0,036). Por outro lado, houve redução significativa no peso corporal (-2,0 kg; p=0,028) e no IMC (-0,8 kg/m²; p=0,006), em proporção similar ao grupo placebo, no entanto, a redução na ingestão energética foi menor no grupo prebiótico (-1.000 kcal/mês). Mesmo sem significância estatística, o grupo prebiótico apresentou o menor aumento de IL-8 (+0,4 vs +2,0 vs +2,3 pg/mL), foi o único grupo que apresentou redução de IL-6 (-0,7 vs +0,1 vs +1,1 pg/mL), além de ter apresentado a maior redução de PCR (-2,0 vs -1,5 vs -1,2 mg/L). No grupo simbiótico, foi observada redução significativa da circunferência da cintura (-3,0 cm; p=0,031), também com redução da ingestão energética menor que o grupo placebo (-8.500 kcal/mês). Em conclusão, a suplementação de FOS ou de simbiótico contendo FOS podem representar potenciais adjuvantes no tratamento da obesidade mórbida por meio da redução de indicadores antropométricos e do aumento da IL-10 plasmática.

Palavras-chave: Obesidade. Microbiota. Prebióticos. Simbióticos. Inflamação. Estado nutricional.

ABSTRACT

Studies in humans with overweight or obesity have shown that prebiotics and synbiotics may have a beneficial effect on inflammatory markers and biochemical and anthropometric indicators of nutritional status. However, the number of studies that have evaluated the effect of these food products on these outcomes in overweight or obese individuals is limited. In this sense, the objective of this doctoral thesis was to evaluate the effect of prebiotic or symbiotic on inflammatory markers and indicators of nutritional status in individuals with morbid obesity. A systematic review was performed to retrieve from the scientific literature all randomized controlled trials that investigated the effect of prebiotics and synbiotics on the outcomes evaluated in this present study. The results showed that no study evaluated the effect of fructo-oligosaccharide (FOS) on inflammatory and symbiotic cytokines containing FOS in anti-inflammatory cytokines, and no studies were conducted in individuals with morbid obesity. In addition, the studies presented important weaknesses and methodological heterogeneity. This randomized, placebo-controlled, triple blind trial was conducted in 22 adult subjects. One group received prebiotic 11g/day of FOS, one group received 11g/day of synbiotic (FOS, *Lactobacillus paracasei* LPC-37 (2×10^9 CFU/day), *Lactobacillus rhamnosus* HN001 (2×10^9 CFU/day), *Lactobacillus acidophilus* NCFM (2×10^9 CFU/day) and *Bifidobacterium lactis* HN019 (2×10^9 CFU/day)) and one group received 11g/day of placebo (maltodextrin) for 30 days. (C-reactive protein (CRP), IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, IL-12p70 and TNF- α) and biochemical and anthropometric indicators of nutritional status (total cholesterol, LDL-cholesterol, HDL-cholesterol, triglycerides, fasting glycemia, fasting insulin, glycated hemoglobin, HOMA-IR index, body weight, body mass index (BMI) and waist circumference) were evaluated before and after supplementation. The analyzes did not show significant differences between the groups after the supplementation. In the intra-group evaluations, there was a significant reduction in total cholesterol (-15.0 mg/dL, $p=0.002$), LDL-c (-17.0 mg/dL, $p=0.030$), HDL-c (-3.0 mg/dL; $p=0.040$), body weight (-2.6 kg; $p=0.028$) and BMI (-1.1 kg/m², $p=0.022$) in the placebo group, although this group had the highest reduction in energy intake (-17,000 kcal/month). In the prebiotic group, there was a significant increase in IL-10 (+0.8 pg/mL, $p=0.025$), IL-12p70 (+42.1 pg/mL, $p=0.036$) and TNF- α (+3.0 pg/mL; $p=0.036$). On the other hand, there was a significant reduction in body weight (-2.0 kg; $p=0.028$) and BMI (-0.8 kg/m²; $p=0.006$), in a similar proportion to the

placebo group, however, the reduction in energy intake was lower in the prebiotic group (-1,000 kcal/month). Even without statistical significance, the prebiotic group presented the lowest IL-8 increase (+0.4 vs +2.0 vs +2.3 pg/mL), it was the only group that presented a IL-6 reduction (-0.7 vs +0.1 vs +1.1 pg/mL), in addition to presenting the highest CRP reduction (-2.0 vs -1.5 vs -1.2 mg/L). In the synbiotic group, a significant reduction in waist circumference (-3.0 cm; p=0.031) was observed, also with reduction of energy intake lower than the placebo group (-8,500 kcal/month). In conclusion, supplementation with prebiotic (FOS) or synbiotic with FOS may represent potential adjuvants in the treatment of morbid obesity by reducing anthropometric indicators and increasing plasma IL-10.

Key-words: Obesity. Microbiota. Prebiotics. Synbiotics. Inflammation. Nutritional status.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Nível de oxigênio no tecido adiposo branco de indivíduos obesos e não obesos.....	35
Figura 2 – Resposta inflamatória no tecido adiposo branco na eutrofia e na obesidade.....	39
Figura 3 – Principais efeitos da hipóxia em funções-chave do tecido adiposo branco.....	43
Figura 4 – Lipopolissacarídeo, falha na função de barreira e inflamação associada à obesidade.....	48
Figura 5 – Obtenção do fruto-oligossacarídeo por adição enzimática de frutose.....	51
Figura 6 – Estrutura química dos fruto-oligossacarídeos.....	51
Figura 7 – Fluxograma da atualização da busca sistemática.....	63
Figura 8 – Risco de viés dos estudos incluídos nas revisões sistemáticas realizadas pelo grupo de pesquisa e que utilizaram fruto-oligossacarídeos (FOS) ou simbióticos contendo FOS.....	67
Figura 9 – Fluxograma dos passos executados na elaboração da revisão sistemática.....	86

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Pontos de corte para a circunferência da cintura e risco de complicações metabólicas associado com a obesidade.....	31
Quadro 2 – Principais gêneros e espécies bacterianas utilizadas como probióticos.....	54
Quadro 3 – Informação da composição (FIBERFOS®).....	91
Quadro 4 – Informações nutricionais do prebiótico (FIBERFOS®).....	92
Quadro 5 – Informação da composição (Simbioflora®)	92
Quadro 6 – Informações nutricionais do simbiótico (Simbioflora®).....	93
Quadro 7 – Classificação do estado nutricional segundo o Índice de Massa Corporal.....	97
Quadro 8 – Descrição das variáveis, suas dimensões e classificação teórica.....	106

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Termos de busca utilizados para o levantamento sistemático de ensaios clínicos randomizados e controlados até fevereiro de 2018.....	61
Tabela 2 – Características dos estudos incluídos nas revisões sistemáticas realizadas pelo grupo de pesquisa e que utilizaram fruto-oligossacarídeos (FOS) ou simbióticos contendo FOS.....	64
Tabela 3 – Frequências absolutas e relativas de ensaios clínicos e dos resultados obtidos de acordo com o marcador inflamatório avaliado.....	73
Tabela 4 – Frequências absolutas e relativas de ensaios clínicos e dos resultados obtidos de acordo com o indicador bioquímico avaliado.....	75
Tabela 5 – Frequências absolutas e relativas de ensaios clínicos e dos resultados obtidos de acordo com o indicador antropométrico avaliado.....	77
Tabela 6 – Fatores de correção para o cálculo do equivalente metabólico (MET) em indivíduos com obesidade mórbida.....	99

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABESO	Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e Síndrome Metabólica
AGCC	Ácidos graxos de cadeia curta
AMP	Adenosina 3',5'-monofosfato
AP-1	Proteína ativadora-1 (<i>Activator protein-1</i> , em inglês)
CC	Circunferência da cintura
CCL-2	Quimiocina CC ligante 2 (<i>C-C motif chemokine ligand 2</i> , em inglês)
CD14	Co-receptor para TLR-4 (<i>Cluster of differentiation 14</i> , em inglês)
CENTRAL	The Cochrane Central Register of Controlled Trials (em inglês)
ChREBP	Proteína ligadora de elementos responsivos a carboidratos <i>Carbohydrate-responsive element-binding protein</i> (em inglês)
CONSORT	<i>Consolidated Standards of Reporting Trials</i> (em inglês)
DM2	Diabetes <i>mellitus</i> tipo 2
ECR	Ensaio clínico randomizado e controlado
ERO	Espécies reativas de oxigênio
FAS	Ácido graxo sintase (<i>Fatty acid synthase</i> , em inglês)
FOS	Fruto-oligossacarídeo
FTP	Fichas técnicas de preparação
GALT	Tecido linfóide associado à mucosa intestinal (<i>Gut-associated lymphoid tissue</i> , em inglês)
GLUT	Transportador de glicose (<i>Glucose transporter</i> , em inglês)
GPR	Receptor acoplado à proteína G (<i>G protein-coupled receptor</i> , em inglês)
GLP-1	Peptídeo semelhante ao glucagon-1
HDL	Lipoproteína de alta densidade (<i>High density lipoprotein</i> , em inglês)

HIF-1	Fator induzível por hipóxia-1 (<i>Hypoxia-inducible factor-1</i> , em inglês)
HU/UFSC	Hospital Universitário Polydoro Ernani de São Thiago
IFN- γ	Interferon-gama
IL	Interleucina
IMC	Índice de massa corporal
LBP	Proteína ligadora de LPS (<i>Lipopolysaccharide binding protein</i> , em inglês)
LDL	Lipoproteína de baixa densidade (<i>Low density lipoprotein</i> , em inglês)
L-PK	Piruvato quinase hepática (<i>Liver-type pyruvate kinase</i> , em inglês)
LPS	Lipopolissacarídeo
MCT	Transportadores de monocarboxilato (<i>Monocarboxylate transporters</i> , em inglês)
MD2	Proteína de diferenciação mielóide 2 (<i>Myeloid differentiation protein 2</i> , em inglês)
MESH	<i>Medical Subject Headings</i> (em inglês)
MET	Taxa de equivalente metabólico (<i>Metabolic Equivalent of Task</i> , em inglês)
NADPH	Fosfato de dinucleotídeo de nicotinamida e adenina (<i>Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate</i> , em inglês)
NF- κ B	Fator de transcrição nuclear kappa B (<i>Factor nuclear kappa B</i> , em inglês)
OLETF	<i>Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty</i> (em inglês)
PCR	Proteína C-reativa
pO ₂	Pressão parcial de oxigênio
PPAR	Fator proliferador de peroxissomas ativado (Peroxisome proliferator-activated receptor, em inglês)
PRISMA	<i>Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analysis</i> (em inglês)
RE	Retículo endoplasmático
TAB	Tecido adiposo branco
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TNF- α	Fator de necrose tumoral-alfa (<i>Tumor necrosis factor-alpha</i> , em inglês)
TLR	Receptor do tipo Toll (<i>Toll-like receptor</i> , em inglês)
Th	T auxiliador (<i>T helper</i> , em inglês)
Treg	T regulador
UFC	Unidades Formadoras de Colônia
UFSC	Universidade Federal de Santa Catarina
UPR	Resposta à proteína não enovelada (<i>Unfolded protein response</i> , em inglês)
VIGITEL	Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico
VO ₂	Volume de oxigênio
WHO	Organização Mundial da Saúde (<i>World Health Organization</i> , em inglês)

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	25
2 REVISÃO DA LITERATURA	27
2.1 OBESIDADE	28
2.1.1 Etiologia da obesidade	28
2.1.2 Diagnóstico da obesidade	29
2.1.3 Epidemiologia da obesidade	31
2.1.4 Tratamento da obesidade	31
2.2 INFLAMAÇÃO E OBESIDADE	33
2.2.1 Hipóxia no tecido adiposo	35
2.2.2 Glicotoxicidade e lipotoxicidade	39
2.2.3 Estresse do retículo endoplasmático	42
2.3 MICROBIOTA INTESTINAL E OBESIDADE	43
2.4 PREBIÓTICOS E SIMBIÓTICOS	50
2.4.1 Modulação imunológica e metabólica associada ao consumo de fruto-oligossacarídeos (FOS) e simbióticos	55
2.5 PREBIÓTICOS E SIMBIÓTICOS	60
2.5.1 Estratégia de busca e seleção dos estudos	60
2.5.2 Resultado da atualização das revisões sistemáticas	62
3 JUSTIFICATIVA, ORIGINALIDADE, RELEVÂNCIA E CONTRIBUIÇÕES CIENTÍFICA E PARA A PRÁTICA CLÍNICA	79
4 OBJETIVOS	81
4.1 GERAL	81
4.2 ESPECÍFICOS	81
5 HIPÓTESES	83
6 MATERIAIS E MÉTODOS	85
6.1 MÉTODO DA REVISÃO SISTEMÁTICA DA LITERATURA	85
6.2 MÉTODO DO ENSAIO CLÍNICO	88
6.2.1 Delineamento do estudo	88
6.2.2 Participantes do estudo	88
6.2.3 Momentos do estudo	90
6.2.4 Randomização, ocultamento da alocação e mascaramento	90
6.2.5 Caracterização dos suplementos nutricionais	91
6.2.6 Instrumentos e técnicas de coleta de dados	94
6.2.6.1 Caracterização dos indivíduos	94

6.2.6.2 Coleta e preparo do material biológico.....	94
6.2.6.3 Determinação de marcadores inflamatórios e de indicadores bioquímicos do estado nutricional.....	95
6.2.6.4 Indicadores antropométricos do estado nutricional.....	96
6.2.6.5 Estimativa da ingestão dietética atual.....	98
6.2.6.6 Parâmetros clínicos.....	99
6.2.6.7 Avaliação da atividade física.....	99
6.3 TRATAMENTO E ANÁLISE DOS DADOS	100
6.3.1 Modelo de análise.....	100
6.3.2 Análises estatísticas.....	101
6.4 PROCEDIMENTOS ÉTICOS DA PESQUISA.....	102
7 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	103
7.1 ARTIGO 1.....	104
7.2 ARTIGO 2.....	105
8 CONSIDERAÇÕES FINAIS	181
REFERÊNCIAS.....	187
APÊNDICES.....	209
APÊNDICE A – Orientações aos participantes durante a suplementação.....	209
APÊNDICE B – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.....	210
APÊNDICE C – Caracterização dos indivíduos	215
APÊNDICE D – Avaliação antropométrica e laboratorial.....	216
APÊNDICE E – Parâmetros clínicos.....	218
APÊNDICE F – Formulário para registro de ingestão do suplemento.....	219
APÊNDICE G – Nota de imprensa.....	220
ANEXOS.....	223
ANEXO A – Orientação nutricional oferecida aos participantes durante a pesquisa.....	223
ANEXO B – Escala fecal de Bristol.....	225
ANEXO C – Parecer substanciado do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de Santa Catarina.....	226

1 INTRODUÇÃO

A obesidade é um dos maiores problemas de saúde pública no mundo, diminuindo a expectativa e a qualidade de vida. De acordo com o Ministério da Saúde, a obesidade é considerada uma doença crônica de natureza multifatorial dentre os quais estão fatores ambientais, nutricionais e genéticos, caracterizada pelo acúmulo excessivo de gordura corporal, acarretando prejuízos à saúde (BRASIL, 2007).

Evidências mostram que a obesidade está associada à inflamação crônica, caracterizada por concentrações alteradas de mediadores inflamatórios, tais como citocinas, quimiocinas, mediadores lipídicos e proteínas de fase aguda, além da ativação de vias de sinalização inflamatórias (HOTAMISLIGIL, 2017; REILLY; SALTIEL, 2017). Alterações no equilíbrio imunológico podem influenciar a homeostase metabólica, interferindo no metabolismo glicídico, lipídico e hormonal. Esta disruptura imunológica e metabólica está associada com o desenvolvimento de comorbidades, como o diabetes mellitus tipo 2 (DM2), hipertensão, asma, dislipidemia, colelitíase, osteoartrite e câncer, contribuindo para o aumento da mortalidade (WHO, 2017).

Além dos diferentes mediadores imunológicos comumente envolvidos na inflamação crônica e na obesidade, evidências mostram que a microbiota intestinal exerce importante influência na inflamação associada à obesidade. Em indivíduos obesos há baixa riqueza ou diversidade de genes microbianos e elevada abundância de gêneros bacterianos potencialmente pró-inflamatórios, induzindo a inflamação crônica e a resistência à ação da insulina (LE CHATELIER et al., 2013). O lipopolissacarídeo (LPS), um componente da parede celular externa de bactérias gram-negativas, também tem sido apontado como um dos ativadores do processo inflamatório na obesidade. Esse componente é excessivamente absorvido pelos capilares intestinais diante do desequilíbrio da microbiota intestinal (disbiose) e da falha na função da barreira intestinal, promovendo a secreção de citocinas pró-inflamatórias por células imunológicas, evento conhecido como endotoxemia metabólica (BOUTAGY et al., 2016).

Entre as abordagens dietoterápicas utilizadas neste contexto estão os prebióticos e os simbióticos. Prebióticos são substratos seletivamente utilizados por micro-organismos do hospedeiro conferindo benefícios à saúde (GIBSON et al., 2017). Simbióticos são produtos que contém tanto prebióticos quanto probióticos, os quais são micro-organismos vivos que, quando consumidos em quantidades adequadas, conferem benefícios à saúde do hospedeiro (GUARNER et al, 2017; HILL et al.,

2014). Estes produtos alimentares exercem várias funções benéficas, incluindo a inibição do crescimento de bactérias patogênicas, a preservação da função da barreira epitelial, regeneração do tecido epitelial, imunorregulação, regulação do metabolismo lipídico e glicídico, efeitos positivos na absorção de minerais, bem como alívio da constipação, vômitos e diarreia (GUARNER et al, 2017).

A utilização destes suplementos vem sendo pouco explorada como uma nova proposta terapêutica para a regularização da microbiota intestinal, da resposta inflamatória e de parâmetros metabólicos em indivíduos com obesidade. Contudo, efeitos positivos e significativos em seres humanos com excesso de peso vêm sendo observados (BESERRA et al., 2015, FERNANDES et al., 2017). Revisões sistemáticas elaboradas pelo nosso grupo de pesquisa mostram que nenhum estudo investigou o efeito de prebióticos ou simbióticos sobre desfechos inflamatórios, metabólicos ou antropométricos em indivíduos com obesidade mórbida, assim como foi constatada a escassez de estudos nesta temática em geral (BESERRA et al., 2015, FERNANDES et al., 2017). Considerando os potenciais efeitos benéficos destes produtos alimentares na saúde humana, destaca-se a necessidade de maior número de ensaios clínicos randomizados, controlados e duplo/triplo cegos acerca do impacto da suplementação de prebióticos ou simbióticos em indivíduos com obesidade, especialmente com obesidade mórbida, situação de doença relacionada a importantes alterações imunológicas e metabólicas.

Diante do exposto, o objetivo deste estudo consistiu em avaliar o efeito da suplementação de prebiótico ou simbiótico em marcadores inflamatórios e indicadores bioquímicos e antropométricos do estado nutricional em indivíduos com obesidade mórbida.

Com o intuito de descrever os mecanismos pelos quais os prebióticos e simbióticos podem ser considerados adjuvantes no tratamento da obesidade, apresento este trabalho estruturado da seguinte forma: Após a introdução (seção um), descrevo a revisão da literatura sobre as temáticas: obesidade, inflamação, microbiota intestinal, prebióticos e simbióticos, bem como suas inter-relações (seção dois). A seguir, apresento a justificativa, a originalidade deste estudo, bem como as contribuições científica e prática (seção três), os objetivos (seção quatro) e as hipóteses pré-estabelecidas (seção cinco). Os métodos empregados na execução deste estudo estão descritos detalhadamente na seção seis. Na seção sete, são apresentados os resultados e discussão. Por fim, são descritas as considerações finais (seção oito) e apresentados os elementos pós-textuais (referências, apêndices e anexos).

2 REVISÃO DA LITERATURA

Para favorecer a compreensão deste estudo, as definições dos principais termos utilizados na revisão de literatura estão apresentadas a seguir:

- Obesidade: É definida como uma doença crônica de natureza multifatorial dentre os quais estão fatores ambientais, nutricionais e genéticos, caracterizada pelo acúmulo excessivo de gordura corporal, acarretando prejuízos à saúde (BRASIL, 2007). O diagnóstico é dado pelo índice de massa corporal (IMC) ≥ 30 kg/m². Divide-se em três graus: obesidade grau I (leve) definida pelo IMC ≥ 30 kg/m² e < 35 kg/m²; a obesidade grau II (moderada) definida pelo IMC ≥ 35 kg/m² e < 40 kg/m² e a obesidade mórbida, também conhecida como obesidade grave ou grau III, definida pelo IMC ≥ 40 kg/m². Esta classificação baseia-se em padrões internacionais desenvolvidos para pessoas adultas descendentes de europeus (WHO, 1995).
- Microbiota intestinal: Refere-se às colônias de micro-organismos que residem no intestino dos animais e humanos, sendo composta por espécies nativas que colonizam permanentemente o trato gastrointestinal e por um número variável de micro-organismos que vivem temporariamente no trato digestório (QIN et al., 2010).
- Prebiótico: Substratos seletivamente utilizados por micro-organismos do hospedeiro conferindo benefícios à saúde (GIBSON et al., 2017).
- Probiótico: Micro-organismos vivos que, quando consumidos em quantidades adequadas, conferem benefícios à saúde do hospedeiro (HILL et al., 2014).
- Simbiótico: Produto que contém tanto prebióticos quanto probióticos, conferindo benefícios à saúde (GUARNER et al, 2017).
- Inflamação: Reação complexa de tecido vascularizado à infecção, à exposição a toxinas ou à lesão celular, envolvendo acúmulo extravascular de proteínas plasmáticas e leucócitos. Embora a inflamação sirva a uma função protetora no controle de infecções e promoção de reparo tecidual, também pode causar dano tecidual e doença (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2007).
- Citocinas: Proteínas que medeiam as reações inflamatórias e imunológicas. São os principais mediadores de comunicação

entre as células do sistema imunológico (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2007).

- **Estado nutricional:** Representa o estado de saúde de um indivíduo decorrente da ingestão e utilização de nutrientes. O estado nutricional é considerado adequado quando a ingestão dietética é suficiente para cobrir as necessidades de um indivíduo, sem excessos ou deficiências. Por outro lado, quando este equilíbrio é rompido, seja por ingestão excessiva ou deficiente de nutrientes, ocorre uma série de alterações metabólicas que culminam em alterações nos tecidos corporais e em parâmetros antropométricos e funcionais (JEEJEEBHOY; DETSKY; BAKER, 1990).

2.1 OBESIDADE

2.1.1 Etiologia da obesidade

A obesidade se desenvolve quando a ingestão energética excede os gastos de energia ao longo do tempo, conduzindo ao acúmulo de tecido adiposo com conseqüente aumento na massa corporal. No entanto, a obesidade envolve o resultado de uma complexa interação entre fatores genéticos e ambientais, como doenças endocrinológicas, dietas hipercalóricas, sedentarismo, uso de alguns tipos de fármacos, além da influência de aspectos sociais, econômicos e psicológicos. Doenças de ordem genética que podem conduzir ao ganho de peso são raras em humanos. Entre as síndromes genéticas, as mais comuns são a de Prader-Willi, de Bardet-Biedl, deficiência de leptina e de defeitos na produção de hormônios anorexígenos (BAQAI; WILDING, 2015).

Embora fatores genéticos possam ter influência no desenvolvimento da obesidade, o componente ambiental exerce maior influência. Quanto aos fatores ambientais, o consumo excessivo de alimentos densamente energéticos associados à inatividade física tem papel preponderante no que diz respeito à etiologia da obesidade. O estilo de vida ocidental apresenta características consideradas “obesogênicas”, como, por exemplo, o acesso a bebidas açucaradas e a alimentos processados densamente energéticos e de baixo custo, pobres em fibras, vitaminas e minerais, mas ricos em gorduras saturadas, gorduras trans e carboidratos refinados. A densidade energética refere-se à quantidade de energia fornecida por grama de peso do alimento. Alimentos ricos em lipídeos e carboidratos simples produzem menor saciedade comparados aos alimentos que são ricos em carboidratos complexos, o que induz ao chamado consumo passivo excessivo.

Adicionalmente, menores níveis de atividade física, geralmente associados à utilização de tecnologias que favorecem o sedentarismo, tais como o uso de telefones celulares, automóveis e atividades de lazer e laboral sedentárias, além da privação do sono e maior estresse, também têm contribuído para caracterizar o estilo de vida “obesogênico” (GONZÁLEZ-MUNIESA et al., 2017).

Outros fatores mencionados, como desordens endocrinológicas (hipotireoidismo e síndrome de Cushing, por exemplo), uso de alguns tipos de fármacos (anticonvulsivante, neurolépticos, corticosteroides e hipoglicemiantes orais, por exemplo) e aspectos psicológicos (depressão e compulsão alimentar) também contribuem para o desenvolvimento da obesidade, embora em menor proporção se comparados à dieta e à atividade física (BAQAI; WILDING, 2015).

2.1.2 Diagnóstico da obesidade

O diagnóstico da obesidade tem sido discutido nas últimas décadas (RANKINEN et al., 1999; LAVIE et al., 2003; PADWAL et al., 2016), porém, ainda não há consenso de qual seria o melhor método para diagnosticar a obesidade na prática clínica considerando limitações financeiras e de equipamentos. Um indicador válido e recomendado pela *World Health Organization* (WHO) (1995) é o IMC. Contudo, meta-análises tem mostrado que há um paradoxo na obesidade, em que indivíduos com sobrepeso ou obesidade no grau mais baixo (grau I) com comorbidades associadas apresentam sobrevida maior comparado a indivíduos na faixa da eutrofia (FLEGAL et al., 2013; WU et al., 2014). Estes achados inesperados e controversos têm suscitado debates e discussões no mundo, uma vez que podem modificar as recomendações para indivíduos com obesidade. Uma das explicações para este paradoxo vem da forma como é realizado o diagnóstico da obesidade, ou seja, apenas de acordo com a classificação do IMC (HEYMSFIELD; CEFALU, 2013).

Este indicador representa o conteúdo da massa corporal, mas não reflete a distribuição da gordura corporal. A distribuição da gordura corporal é importante na avaliação de obesidade porque a adiposidade visceral (intra-abdominal) é um fator de risco para doenças associadas à obesidade, independentemente da gordura corporal total (LAVIE et al., 2003; PADWAL et al., 2016). Neste sentido, a combinação do IMC com métodos para medição da adiposidade corporal vem sendo utilizadas, tais como dobras cutâneas, bioimpedância, ultrassonografia, tomografia computadorizada, ressonância magnética, absorciometria de raios-X de

dupla energia (DEXA) e circunferência da cintura (ABESO, 2016). No entanto, a maioria dos métodos acima citados tem custo elevado e/ou depende de equipamentos que não estão comumente presentes ou não estão disponíveis para fins de diagnóstico nutricional nos ambulatórios, unidades de internação ou outros espaços da prática clínica.

Uma medida rápida e com baixo custo para medição da adiposidade visceral (diretamente associada com a mortalidade) é a circunferência da cintura (WHO, 2008). Um estudo que investigou a associação entre parâmetros antropométricos e excesso de peso envolvendo mais de 32 mil indivíduos adultos de 19 diferentes populações mostrou que o IMC respondeu por aproximadamente 75% da variação na circunferência da cintura (MOLARIUS et al., 1999) para ambos os sexos. Após uma extensa revisão de literatura, Huxley et al. (2010) concluíram que tanto o IMC quanto a circunferência da cintura estão associados com fatores de risco e eventos cardiovasculares na obesidade e que há melhora na capacidade de associação quando utilizados em conjunto, sendo, portanto, medidas complementares na avaliação do estado nutricional. As Diretrizes Brasileiras de Obesidade (ABESO, 2016) corroboram com essa visão e recomendam o uso conjunto do IMC com a circunferência da cintura.

Uma questão importante neste contexto diz respeito aos pontos de corte para a circunferência da cintura. Apesar de haver diferenças étnicas na distribuição da adiposidade corporal, a recomendação para a população sul americana se baseia na asiática (Quadro 1). Entretanto, a WHO (2008) destaca que para indivíduos com IMC acima de 35 kg/m² não há necessidade de se utilizar pontos de corte para circunferência da cintura, uma vez que a maioria dos indivíduos nestas condições estaria muito acima destes pontos de corte. Como a amostra do presente projeto de pesquisa foi composta apenas por indivíduos com obesidade mórbida (IMC \geq 40 kg/m²), não foram utilizados pontos de corte para a circunferência da cintura.

Por fim, ainda que haja métodos mais acurados para determinação da adiposidade corporal, a WHO continua recomendando o uso do IMC para diagnóstico da obesidade mórbida (WHO, 2017), independente da utilização conjunta ou não de outras medidas de avaliação do estado nutricional. Estas medidas são consideradas complementares e não substituem o IMC no diagnóstico da obesidade.

Quadro 1 – Pontos de corte para a circunferência da cintura e risco de complicações metabólicas associado com a obesidade.

Indicador	Pontos de corte	Risco de complicações metabólicas
Circunferência da cintura	>90 cm – Homem >80 cm – Mulher	Aumentado

Fonte: Alberti et al. (2009).

2.1.3 Epidemiologia da obesidade

Dados da WHO (2017) revelaram que a obesidade quase triplicou desde 1975, atingindo proporções epidêmicas. Em 2016, mais de 1,9 bilhões de adultos em todo o mundo estavam acima do peso e, destes, pelo menos 650 milhões eram obesos. Atualmente, a maioria da população mundial vive em países onde o sobrepeso e a obesidade mata mais que a desnutrição, incluindo todos os países de alta renda e a maioria dos países de renda média, como o Brasil (WHO, 2017). Dados de uma revisão da literatura que reuniu mais de 57 estudos prospectivos mostraram que na faixa de IMC entre 30–35 kg/m² a sobrevida média é reduzida entre 2 a 4 anos e na faixa de 40–45 kg/m² a sobrevida média é reduzida entre 8 a 10 anos, comparado aos indivíduos na faixa da eutrofia (WHITLOCK et al., 2009).

No Brasil, segundo dados da VIGITEL 2016 (Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico), 53,8% da população adulta tem sobrepeso e 18,9% tem obesidade (BRASIL, 2017).

Como a obesidade é um fator de risco para outras doenças, tais como diabetes, hipertensão arterial sistêmica e dislipidemia, torna-se importante conhecer o impacto econômico desta. Dados da *World Obesity Federation* (2017) mostram que os custos com a obesidade no Brasil subirão de US\$ 16,7 bilhões em 2014 para US\$ 34 bilhões em 2025. A maior parte desse custo está relacionada às doenças isquêmicas do coração e ao diabetes, comorbidades associadas à obesidade.

2.1.4 Tratamento da obesidade

O tratamento da obesidade é complexo e multidisciplinar. Segundo as Diretrizes Brasileiras de Obesidade (ABESO, 2016) há várias opções de tratamento, iniciando com a terapia não farmacológica (dieta, atividade física, modificação comportamental, apoio psicológico

e suporte social), em seguida a terapia farmacológica e por último a terapia cirúrgica.

Com relação à terapia nutricional (não farmacológica), a mesma envolve reeducação alimentar, modificação comportamental e uma dieta que promova balanço energético negativo, mas que respeite as preferências e intolerâncias alimentares, condições financeiras e o estilo de vida do indivíduo (ABESO, 2016). Diversos tipos de dietas foram foco de investigação em ensaios clínicos randomizados, tais como dietas ricas em lipídeos e pobres em carboidratos (> 35% de lipídeos e < 45% de carboidratos), dietas pobres em lipídeos (< 25% de lipídeos), dietas ricas em proteínas (aproximadamente 30% de proteínas), dietas hipocalóricas (redução de 500 kcal a partir da necessidade calórica total) e dietas extremamente hipocalóricas (redução de 1500 kcal (mulheres) a 1800 kcal (homens) a partir da necessidade calórica total) (NAUDE et al., 2014; FRANZ et al., 2015). Meta-análises de estudos conduzidos em indivíduos com sobrepeso e obesidade com ou sem diabetes *mellitus* mostraram que dietas isocalóricas ou hipocalóricas com diferentes quantidades de macronutrientes (carboidratos, proteínas e lipídeos) não apresentam diferenças significativas quanto à perda de peso ou fatores de risco cardiovascular [pressão arterial sistólica e diastólica, colesterol total, lipoproteína de alta densidade (HDL-colesterol), lipoproteína de baixa densidade (LDL-colesterol) e triglicerídeos] (NAUDE et al., 2014; FRANZ et al., 2015). Os indivíduos que apresentaram perda de peso superior a 5% em pelo menos 12 meses nos estudos incluídos nestas meta-análises tinham em comum o acompanhamento frequente com profissionais de saúde, prática regular de atividade física, além de uma dieta restrita em calorias. Apesar desses resultados, a porcentagem ideal de macronutrientes ou o déficit ideal de calorias para perda de peso ainda é motivo de debate e controvérsia. Até o surgimento de novas evidências, a terapia nutricional de indivíduos obesos deve se basear, primariamente, na reeducação alimentar com atenção especial à redução no tamanho das porções e na ingestão energética, aliada a uma terapia comportamental, ao suporte social (família, amigos, grupos terapêuticos), a prática regular de atividade física e ao estabelecimento de objetivos e expectativas realistas em relação à perda de peso e melhora de desfechos metabólicos (ABESO, 2016; FRANZ et al., 2015).

Por outro lado, a adesão e os resultados dos tratamentos convencionais para o emagrecimento ainda são insatisfatórios para muitas pessoas com sobrepeso ou obesidade. Terapias não convencionais para perda de peso, tais como suplementos alimentares,

ervas, homeopatia, hipnose e acupuntura têm sido amplamente utilizados em todo o mundo (PODDAR et al., 2011; SUN; WU; CHAU, 2016). Não foram encontrados estudos no Brasil sobre a porcentagem da população que já fez uso dessas terapias, mas pesquisa realizada nos Estados Unidos da América mostrou que mais de 30% daqueles que tentaram perder peso, inclusive obesos, fizeram uso de suplementos dietéticos por conta própria, sem prescrição de um profissional capacitado (PILLITTERI et al., 2008). Neste sentido, ensaios clínicos randomizados, controlados e duplos/triplos cegos são necessários para gerar evidências que permitam obter uma conclusão válida com relação eficácia dessas terapias não convencionais.

Quando não há perda de peso com a adoção das medidas não farmacológicas, o uso de medicamentos deve ser considerado. Nos casos de falha de tratamento não farmacológico e farmacológico, a cirurgia bariátrica é um recurso terapêutico consistente, proporcionando redução nos índices de mortalidade e melhora de comorbidades clínicas, como distúrbios cardiovasculares e endócrinos (CHANG et al., 2014). De acordo com o Ministério da Saúde (BRASIL, 2013a), as indicações para cirurgia bariátrica são: indivíduos que apresentem IMC ≥ 50 kg/m²; indivíduos que apresentem IMC ≥ 40 kg/m², com ou sem comorbidades, sem sucesso no tratamento clínico por, no mínimo, dois anos e que tenham seguido protocolos clínicos; indivíduos que apresentem IMC ≥ 35 kg/m², com comorbidades, sem sucesso no tratamento clínico por, no mínimo, dois anos e que tenham seguido protocolos clínicos. As contraindicações para cirurgia bariátrica são: Limitação intelectual significativa em pacientes sem suporte familiar adequado; quadro de transtorno psiquiátrico não controlado, incluindo uso de álcool ou drogas ilícitas; no entanto, quadros psiquiátricos sob controle não são contraindicativos obrigatórios à cirurgia; doença cardiopulmonar grave e descompensada; hipertensão portal, com varizes esofagogástricas; doenças imunológicas ou inflamatórias do trato digestivo superior; síndrome de Cushing decorrente de hiperplasia na suprarrenal não tratada e tumores endócrinos. Assim como no tratamento não farmacológico e farmacológico, é necessário o seguimento dos indivíduos em longo prazo no sentido de evitar a recuperação do peso anterior ao tratamento.

2.2 INFLAMAÇÃO E OBESIDADE

O tecido adiposo branco (TAB) representa a maior parte do tecido adiposo em seres humanos, sendo o principal reservatório de

energia. Este tecido pode desempenhar função como isolante térmico e proteção de órgãos contra danos mecânicos (TRAYHURN, 2014). Durante muitos anos acreditava-se que o TAB era um tecido relativamente simples, responsável apenas pela síntese, acúmulo e utilização de gordura. Somente nas últimas duas décadas passou a haver interesse pelas funções biológicas do tecido adiposo, dado o aumento exponencial da obesidade em todo o mundo e suas complicações. O estudo de Zhang et al. (1994) foi pioneiro nesta questão com a descoberta da leptina, um hormônio produzido por adipócitos responsável pela menor ingestão alimentar e pelo aumento do gasto energético, além de regular mecanismos neuroendócrinos. A partir de então, houve crescimento no número de estudos na área e o TAB passou a ser reconhecido como importante órgão endócrino, parácrino e autócrino, com alta atividade metabólica, sendo composto por adipócitos maduros, precursor (pré-adipócitos), células endoteliais e do sistema imunológico, vasos sanguíneos, nervos e tecidos linfático e conectivo (JOHNSON; MILNER; MAKOWSKI, 2012). Os adipócitos maduros, entre outras células desse tecido, secretam grande número de proteínas bioativas que controlam funções metabólicas, conhecidas como adipocinas. Estas incluem citocinas, quimiocinas, fatores de crescimento, proteínas de fase aguda, do sistema complemento e moléculas de adesão. As adipocinas estão envolvidas na regulação da pressão arterial, do apetite, do metabolismo lipídico e glicídico, da angiogênese, da resposta inflamatória e da função reprodutiva (TRAYHURN, 2014).

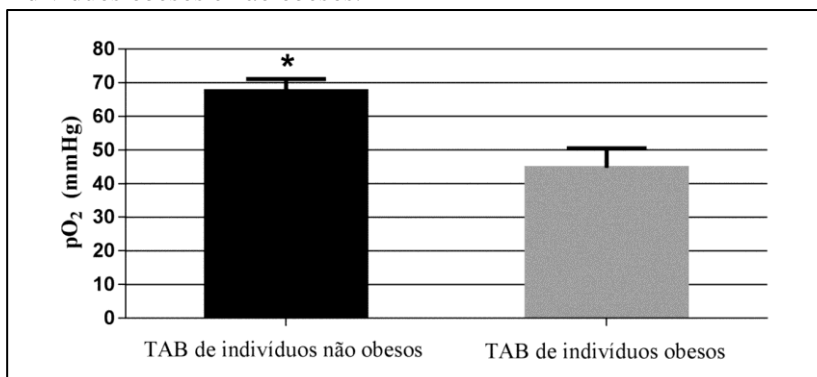
Na obesidade, há aumento importante na produção de adipocinas, principalmente no TAB visceral, o que favorece o desenvolvimento de um estado pró-inflamatório e, por conseguinte, das comorbidades associadas à obesidade (por exemplo, resistência à insulina, diabetes *mellitus*, dislipidemia e hipertensão arterial) (REILLY; SALTIEL, 2017). Assim, a questão central que permeia a inflamação associada à obesidade é: Por que a produção e a liberação de adipocinas aumentam na obesidade, culminando com o desenvolvimento de um estado inflamatório crônico? Há múltiplos mecanismos que regulam a ativação da inflamação associada à obesidade, no entanto, a hipóxia no tecido adiposo (TRAYHURN, 2014), a glicotoxicidade e a lipotoxicidade (TRAYHURN, 2014), o estresse do retículo endoplasmático (BETTIGOLE; GLIMCHER, 2015) e o desequilíbrio da microbiota intestinal (COX; WEST; CRIPPS, 2015) são os mecanismos mais discutidos na literatura. Devido ao fato da microbiota intestinal ter papel relevante na imunomodulação associada ao uso de prebióticos e

simbióticos, intervenções deste estudo, haverá uma subseção dedicada apenas ao papel da microbiota intestinal na obesidade.

2.2.1 Hipóxia no tecido adiposo

O tamanho e a localização dos adipócitos são importantes fatores que estão relacionados com o equilíbrio da secreção de adipocinas. Na obesidade, os adipócitos maduros tornam-se hipertrofiados devido ao acúmulo excessivo de gordura. Conforme a massa tecidual expande, agrupamentos de adipócitos ficam distantes dos vasos sanguíneos, o que gera um quadro de hipóxia tecidual e de redução no fornecimento de nutrientes (TRAYHURN, 2014). O diâmetro de adipócitos de indivíduos obesos varia de 150 a 200 μm (SKURK et al., 2007), sendo similar ou maior que a distância normal de difusão de O_2 na maioria dos tecidos (100-200 μm) (BRAHIMI-HORN; POUYSSÉGUR, 2007). A pressão parcial de oxigênio (pO_2) no TAB de indivíduos obesos é menor comparado aos indivíduos sem obesidade (GOOSSENS et al., 2011). Em nível celular, o oxigênio é um “nutriente” crítico sem o qual a respiração celular e outros processos metabólicos não ocorrem, conduzindo a inviabilidade da sobrevivência das células afetadas pela hipóxia (TRAYHURN, 2014) (Figura 1).

Figura 1 – Nível de oxigênio no tecido adiposo branco de indivíduos obesos e não obesos.



Abreviações: TAB – Tecido adiposo branco; pO_2 – Pressão parcial de oxigênio. *Diferença significativa entre TAB de indivíduos não obesos e obesos ($p=0,005$). Dados obtidos do estudo de Goossens et al. (2011).

O resultado deste processo é a expressão e a secreção desregulada de adipocinas, deslocando o equilíbrio imunológico para a produção de moléculas pró-inflamatórias. A produção de citocinas, quimiocinas e fatores angiogênicos decorrente desta resposta inflamatória têm como objetivo estimular a angiogênese e promover o aumento do fluxo sanguíneo para a região afetada (TRAYHURN, 2014).

Em nível intracelular, fatores de transcrição regulam a expressão de genes sensíveis à hipóxia, como por exemplo, o fator de transcrição nuclear kappa B (NF- κ B), a proteína ligante ao elemento de resposta do AMP cíclico e o fator proliferador de peroxissomas ativados gama (PPAR- γ) (TRAYHURN, 2014). No entanto, um dos principais fatores de transcrição envolvidos na resposta molecular à hipóxia é o Fator-1 induzível por hipóxia (HIF-1). O HIF-1 está envolvido na transcrição de genes que codificam proteínas envolvidas em uma ampla gama de funções celulares, incluindo a captação de glicose, angiogênese, apoptose, remodelamento da matriz extracelular e inflamação (SCHOLZ; TAYLOR, 2013). Exemplos desses genes específicos incluem o transportador de glicose GLUT-1, o fator de crescimento endotelial vascular, a leptina, o inibidor do ativador do plasminogênio-1, angiopoetina tipo 4, o fator inibidor de migração de macrófagos, a adiponectina e a haptoglobina (SCHOLZ; TAYLOR, 2013). Quanto à expressão e secreção de citocinas pró-inflamatórias, o NF- κ B exerce papel predominante, uma vez que quase os produtos de genes ligados à inflamação são regulados pela ativação de NF- κ B (por exemplo, citocinas, quimiocinas e proteínas de fase aguda) (TRAYHURN, 2014).

Por outro lado, é observado grande número de macrófagos infiltrados no tecido adiposo de indivíduos obesos, os quais, juntamente com outras células (por exemplo, neutrófilos, linfócitos B e T, células dendríticas e mastócitos), contribuem para a produção e secreção de mediadores inflamatórios (ASGHAR; SHEIKH, 2017).

Macrófagos respondem à hipóxia por meio do estímulo à produção de citocinas pró-inflamatórias e quimiocinas, as quais aumentam a taxa de transcrição de HIF-1, contribuindo para amplificar a sua ação em tecidos com inflamação crônica (SCHOLZ; TAYLOR, 2013). O número de macrófagos aumenta proporcionalmente de acordo com a quantidade de tecido adiposo e são mais abundantes no tecido adiposo visceral que no subcutâneo (ASGHAR; SHEIKH, 2017). O acúmulo de macrófagos ativados no tecido adiposo pode contribuir para o risco cardiovascular e para a resistência à insulina, sugerindo que os macrófagos são células efetoras envolvidas no desenvolvimento das comorbidades associadas à obesidade (REILLY; SALTIEL, 2017).

Contudo, evidências sugerem que os macrófagos que se acumulam no tecido adiposo de seres humanos tenham uma variedade de fenótipos, desempenhando funções diferentes (BAI; SUN, 2015; ASGHAR; SHEIKH, 2017). De um modo geral, os macrófagos são caracterizados por dois subtipos: macrófagos do tipo I (ou M1 ou ativados pela via clássica) e do tipo II (ou M2 ou ativados pela via alternativa).

Macrófagos M1 são polarizados a partir de macrófagos precursores (M0) por meio da via clássica, em que componentes de bactérias, tais como o lipopolissacarídeo (LPS), ácidos graxos saturados e citocinas produzidas pelas células T helper 1 (Th1), como interferon gama (IFN- γ), conduzem a expressão de citocinas pró-inflamatórias pelos macrófagos, tais como TNF- α , IL(Interleucina)-1 β , IL-12 e espécies reativas de oxigênio (EROs). Em contraste, os macrófagos M2 são ativados por meio da via alternativa, em que citocinas produzidas pelas células T reguladoras (Treg), como IL-10, e pelas células T helper 2 (Th2), como IL-4 e IL-13, promovem a expressão de citocinas anti-inflamatórias pelos macrófagos (por exemplo, a IL-10). Na obesidade, os macrófagos do tecido adiposo mudam de um fenótipo anti-inflamatório (M2) para um fenótipo pró-inflamatório (M1). Os macrófagos M1 têm como uma de suas principais funções cercar adipócitos mortos (devido à hipóxia) em uma estrutura em forma de coroa (crown-like structure) com a liberação subsequente de mediadores pró-inflamatórios, o que contribui para o desenvolvimento da inflamação crônica associada à obesidade (BAI; SUN, 2015; ASGHAR; SHEIKH, 2017).

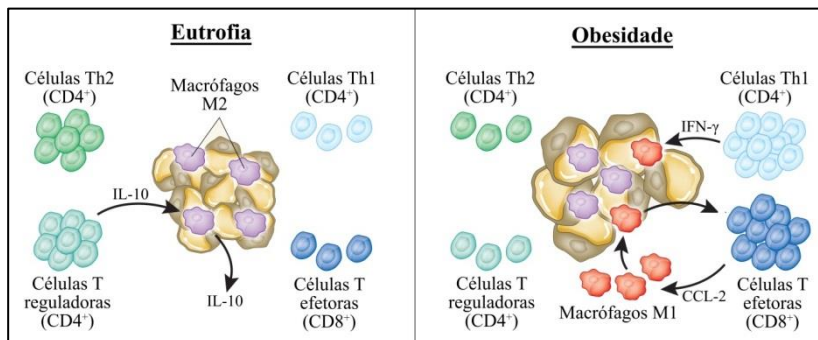
Adicionalmente aos macrófagos, outras células do sistema imunológico inato também contribuem para o desenvolvimento da inflamação crônica. Investigações em camundongos obesos mostraram que células dendríticas e mastócitos promovem a infiltração de macrófagos no tecido adiposo e induzem o fenótipo pró-inflamatório (M1), enquanto os neutrófilos podem causar diretamente resistência à ação da insulina por meio da secreção da elastase neutrofílica no tecido adiposo (LIU et al., 2009b; STEFANOVIC-RACIC et al., 2012; TALUKDAR et al., 2012).

Células do sistema imunológico adaptativo também têm sido implicadas na inflamação crônica associada à obesidade (CINKAJZLOVÁ; MRÁZ; HALUZÍK, 2017). O tecido adiposo de camundongos obesos apresenta acúmulo de células T e seus fenótipos estão direcionados para subtipos pró-inflamatórios. Em camundongos sem obesidade, há predominância de células Treg e Th2. Estas células

são capazes de secretar IL-10 e de estimular a produção de IL-10 de macrófagos residentes no tecido adiposo, restringindo a inflamação. A IL-10 também pode auxiliar na manutenção da sensibilidade à ação da insulina no tecido adiposo mesmo na presença de TNF- α e bloquear a produção de mediadores inflamatórios produzidos pelos adipócitos em resposta à TNF- α (LUMENG, MAILLARD, SALTIEL, 2009). Na obesidade, há uma mudança no perfil de células T, com redução no número de células Treg e Th2 e aumento do número de células T CD8+ e Th1. Esta mudança é acompanhada pela grande produção de IFN- γ pelas células Th1 e de quimiocinas pelas células T CD8+, promovendo o recrutamento de macrófagos M1 (FEUERER et al., 2009; WINER et al., 2009) (Figura 2). A presença de células T anteriormente à presença de macrófagos foi observado no estudo de Nishimura et al. (2009), em que semanas antes da infiltração de macrófagos no tecido adiposo já havia o aumento na proporção CD8+/CD4+.

O conhecimento é limitado quanto ao papel de outras células do sistema imunológico adaptativo, tais como as células B e T helper 17 (Th17), no desenvolvimento da inflamação no tecido adiposo de obesos, assim como o que inicia a ativação e a infiltração de células T (ASGHAR; SHEIKH, 2017). Um estudo com camundongos obesos mostrou que as células B estão envolvidas na polarização dos macrófagos M1 e na patogênese do DM2 (DEFURIA et al., 2013). Quanto às células Th17, tem sido observado em humanos com sobrepeso/obesidade e DM2 que as concentrações destas células são diretamente proporcionais ao peso, enquanto as células Treg tem comportamento oposto, com redução em suas concentrações. (JAGANNATHAN-BOGDAN et al., 2011).

Figura 2 – Resposta inflamatória no tecido adiposo branco na eutrofia e na obesidade.



Fonte: Traduzido e adaptado de Lumeng, Mailard, Saltiel (2009). Abreviações: IL-10 – Interleucina-10; IFN- γ – Interferon-gama; CCL-2 - Quimiocina CC ligante 2.

2.2.2 Glicotoxicidade e lipotoxicidade

Inicialmente, é importante destacar que a hipóxia no tecido adiposo conduz a captação excessiva de glicose. Os adipócitos expressam membros da família dos transportadores de glicose, incluindo GLUT 1, GLUT 3, GLUT 5 e GLUT 12. No entanto, o GLUT 1 é o principal transportador responsável pela captação basal de glicose nos adipócitos. A exposição prolongada ao baixo pO_2 condiciona a maior expressão gênica de GLUT 1 e de enzimas glicolíticas. O objetivo é favorecer a glicólise anaeróbica e manter a produção do trifosfato de adenosina (ATP), uma vez que há redução da geração de ATP pela fosforilação oxidativa devido à privação de oxigênio. Quanto maior o diâmetro do adipócito, maior a captação de glicose. Esta disponibilidade excessiva de glicose nos adipócitos pode favorecer o desenvolvimento de uma resposta inflamatória (TRAYHURN, 2014).

Quatro principais mecanismos explicam a relação entre a exposição excessiva à glicose e o direcionamento para a ativação pró-inflamatória: o primeiro mecanismo diz respeito à mudança no fenótipo dos macrófagos para M1 decorrente de uma “explosão respiratória” e a produção excessiva de EROs; o segundo mecanismo tem relação com a mudança no potencial redox celular; o terceiro mecanismo diz respeito à modificação no metabolismo lipídico mediado pelo excesso de glicose e o quarto mecanismo pela produção de lactato pelos adipócitos.

Quanto ao primeiro mecanismo, de forma similar a uma resposta inflamatória diante de uma invasão bacteriana, os macrófagos M1 apresentam uma “explosão respiratória” (ou em inglês, “respiratory burst”) no tecido adiposo de indivíduos obesos. Para tanto, aumentam a captação de glicose e de oxigênio para favorecer a produção de EROs (ILES; FORMAN, 2002). Esta “explosão respiratória” é também conhecida como “explosão glicolítica” devido ao aumento na captação de glicose. Os macrófagos, assim como os adipócitos, expressam transportadores de glicose, como o GLUT 1 (FU et al., 2004). A ativação de enzimas envolvidas nesta explosão, como a NADPH oxidase, a produção de EROs e a liberação de quimiocinas pelos macrófagos são dependentes da glicólise e da via das pentoses fosfato (HAN et al., 2012). Adicionalmente, a produção de EROs é impulsionada pelo baixo fluxo de elétrons na cadeia transportadora de elétrons, evento que ocorre em células com elevada captação de glicose (BONNEFONT-ROUSSELOT, 2002). Ainda, algumas EROs também agem como mensageiros secundários em vias sinalizadoras do NF- κ B e do fator de transcrição AP-1, estimulando a produção de mediadores pró-inflamatórios (FORMAN; TORRES, 2002).

No que concerne ao segundo mecanismo, quando as concentrações intracelulares de glicose sobrecarregam a via glicolítica, a glicose em excesso é reduzida a sorbitol através da via do poliol (também conhecida como a via da aldose redutase) resultando em uma redução das concentrações de NADPH (compensada por um aumento em NADP⁺) e uma redução das concentrações de glutatona, um antioxidante hidrossolúvel. Esta redução de NADPH influencia reações redox, uma vez que o NADPH é um cofator para muitas dessas reações. A inibição da enzima aldose redutase previne sinais inflamatórios dependentes do NF- κ B induzidos por citocinas, fatores de crescimento e endotoxina, sugerindo que esta enzima está envolvida na inflamação (RAMANA; SRIVASTAVA, 2010).

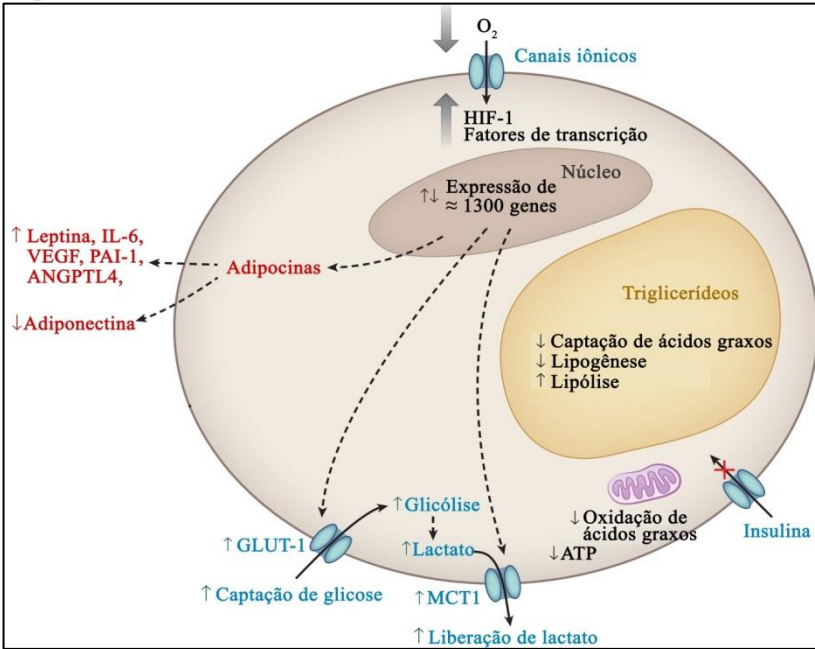
Quanto ao terceiro mecanismo, a glicose pode regular a síntese de lipídeos que contribuem para a produção de ácidos graxos que estimulam reações pró-inflamatórias, assim como contribui para o desenvolvimento da obesidade por meio do acúmulo de triglicerídeos (JOHNSON; MILNER; MAKOWSKI, 2012). Uma importante proteína ativada pelo excesso de glicose é a proteína ligadora de elementos responsivos a carboidratos (ChREBP), responsável por ativar a transcrição de enzimas envolvidas na gliconeogênese e lipogênese, como a ácido graxo sintase (FAS) (KAWAGUSHI et al., 2002). Esta enzima pode auxiliar na síntese de ácidos graxos saturados, como o

palmitato, o qual está relacionado à ativação do NF- κ B e a indução da liberação de citocinas por adipócitos (AJUWON; SPURLOCK, 2005).

No que diz respeito ao quarto mecanismo, o lactato é o principal produto final da glicólise anaeróbica. A proporção de glicose que é convertida a lactato está diretamente correlacionada com o tamanho do adipócito. Este metabólito é transportado para dentro e fora das células pelos transportadores de monocarboxilato (MCT) (HALESTRAP; WILSON, 2012). A exposição de adipócitos à hipóxia conduz à estimulação da expressão gênica de MCTs, principalmente o MCT-1 com o objetivo de prevenir a toxicidade celular pelo acúmulo de lactato (PÉREZ DE HEREDIA; WOOD; TRAYHURN, 2010). No entanto, o lactato não é simplesmente o produto final da glicólise anaeróbica, mas tem múltiplas funções sinalizadoras, incluindo a resistência à ação da insulina no músculo esquelético (CHOI et al., 2002), o estímulo à ativação dos macrófagos (SAMUVEL et al., 2009) e a inibição da lipólise nos adipócitos (LIU et al., 2009a). Portanto, o lactato contribui para a instalação da inflamação no tecido adiposo de indivíduos obesos.

Quanto à lipotoxicidade, a exposição de adipócitos a baixas concentrações de oxigênio conduz à reduzida oxidação de lipídeos e de outros substratos devido à diminuição do metabolismo aeróbico (MAZZATTI et al., 2012). Enquanto a lipólise aumenta em adipócitos em resposta à hipóxia, a captação de ácidos graxos da circulação diminui, o que atenua a lipogênese (YIN et al., 2009). A redução do efeito oxidativo, da captação de lipídios e o aumento do efeito lipolítico promovem o aumento da liberação de ácidos graxos livres no plasma, o que promove a lipotoxicidade, condição observada na obesidade (TRAYHURN, 2014). Ácidos graxos livres na circulação ou no interior dos adipócitos possuem a habilidade de modular a inflamação por meio da sensibilização de receptores de membrana, como os receptores de membrana do tipo Toll (TLRs) (DASU; JIALAL, 2011) e receptores acoplados à proteína G (GPRs) (BRESTOFF; ARTIS, 2013) ou servindo como ligantes para fatores de transcrição, como os PPARs (BESTEN et al., 2015). Além disso, o metabolismo completo de ácidos graxos pode promover a geração de EROs por meio da atividade da cadeia transportadora de elétrons, com alteração subsequente na sensibilidade à ação da insulina (HOUSTIS; ROSEN; LANDER, 2006). Por último, ácidos graxos podem ser convertidos em mediadores lipídicos bioativos, como os eicosanoides, diacilglicerol e ceramidas, os quais são moduladores da inflamação por meio da ativação de cascatas sinalizadoras (WYMAN; SCHNEITER, 2008). A Figura 3 ilustra os principais efeitos da hipóxia no tecido adiposo.

Figura 3 – Principais efeitos da hipóxia em funções-chave do tecido adiposo branco.



Fonte: Traduzido e adaptado de Trayhurn (2014). Abreviações: IL-6: Interleucina-6; VEGF: Fator de crescimento endotelial vascular; PAI-1 - inibidor do ativador do plasminogênio-1; ANGPTL4: Angiopietina-4; GLUT-1: Transportador de glicose-1; MCT1 – Transportador de monocarboxilato; HIF-1: Fator induzível por hipóxia-1; ATP: Trifosfato de adenosina.

2.2.3 Estresse do retículo endoplasmático

O retículo endoplasmático (RE) é a organela celular responsável pela síntese, maturação e tráfego para vias secretoras de proteínas em células eucarióticas. A disfunção desta organela decorrente do excesso de nutrientes contribui para a ocorrência do estresse celular funcional, promovendo uma resposta inflamatória (BETTIGOLE; GLIMCHER, 2015).

Como regulador central do controle de qualidade no enovelamento de proteínas, a capacidade do RE em se adaptar a condições adversas é de suma importância para a célula. Sob condições que desafiam a função do RE, especialmente o aumento de proteínas não enoveladas que entram no RE, esta organela provoca uma resposta

adaptativa elaborada conhecida como resposta às proteínas não enoveladas ou “*unfolded protein response*” (UPR, em inglês). Com este mecanismo, o RE consegue responder às flutuações de demandas metabólicas, acelerando a síntese, o enovelamento e a secreção proteica de forma adequada (BETTIGOLE; GLIMCHER, 2015).

O enovelamento de proteínas é dependente de enzimas que realizam ações de oxirredução que tem o oxigênio molecular como destinatário final de elétrons. O oxigênio molecular reduzido se acumula durante esta resposta adaptativa (UPR), sendo tóxico para as células. Para responder a este agravo, há redução na carga de proteínas que entram no RE e aumento na capacidade do RE de manusear as proteínas não enoveladas, o que envolve a transcrição de genes alvo da UPR. Se ainda assim não for possível restabelecer o controle homeostático (decorrente do excesso de nutrientes que contribui para estimular a UPR), a morte celular (apoptose) é ativada para proteger o organismo de proteínas deformadas, processo que por si só pode conduzir à inflamação (BETTIGOLE; GLIMCHER, 2015).

Este estresse metabólico é caracterizado pela ativação de redes de sinalização pró-inflamatórias e de estresse mediadas por sensores transmembrana que residem no RE e participam da resposta adaptativa (UPR), culminando com a ativação do NF- κ B e de genes alvo inflamatórios. O resultado é a produção e acúmulo de EROs dentro das células, prejudicando as funções celulares e conduzindo a perturbações metabólicas, como a redução da sensibilidade à ação da insulina, danos oxidativos nas células beta-pancreáticas e resistência à ação da leptina no sistema nervoso central, contribuindo para o ganho de peso e para o desenvolvimento do DM2 (BETTIGOLE; GLIMCHER, 2015).

2.3 MICROBIOTA INTESTINAL E OBESIDADE

Além dos diferentes mediadores imunológicos comumente envolvidos nas disfunções metabólicas presentes no indivíduo obeso, evidências mostram que a microbiota intestinal está relacionada com a patogênese e a progressão da obesidade. A terminologia microbiota intestinal refere-se às colônias de micro-organismos que residem no intestino dos animais, sendo composta por espécies nativas que colonizam permanentemente o trato gastrointestinal e por um número variável de micro-organismos que vivem temporariamente no trato digestório (QIN et al., 2010). A microbiota intestinal humana compreende 10 a 100 trilhões de micro-organismos, pertencentes principalmente aos gêneros bacterianos *Bacteroides*, *Bifidobacterium*,

Eubacterium, *Clostridium*, *Lactobacillus*, *Fusobacterium* e cocos gram positivos. O núcleo filogenético da microbiota fecal de um adulto saudável é constituído por um conjunto de cinco filos: Firmicutes (79,4%), Bacteroidetes (16,9%), Actinobacteria (2,5%), Proteobacteria (1%) e Verrucomicrobia (0,1%) (TAP et al., 2009).

A microbiota intestinal tem funções importantes no intestino humano, incluindo: 1) resistência à infecção por micro-organismos patogênicos por meio de competição direta por nutrientes e sítios de adesão, aliada à produção de substâncias antimicrobianas; 2) promoção da proliferação e diferenciação de células epiteliais intestinais para manter uma superfície intestinal intacta; 3) promoção do desenvolvimento do tecido linfoide associado à mucosa intestinal (GALT) via maturação e diferenciação de linfócitos T e B; e 4) extração de energia a partir de carboidratos não digeríveis (COX; WEST; CRIPPS, 2015).

Estudos tem mostrado que a microbiota intestinal de camundongos e de humanos obesos tem a capacidade de aumentar a eficiência na extração de energia dos alimentos e, portanto, pode favorecer o ganho de peso e a deposição de gordura (TURNBAUGH et al., 2006, 2008; JUMPERTZ et al., 2011). As enzimas de camundongos e de humanos não degradam a maioria dos carboidratos complexos e polissacarídeos provenientes de plantas, tais como celulose, xilanas, amido resistente e inulina. A microbiota do cólon tem a capacidade de fermentar esses carboidratos formando ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), principalmente acetato, propionato e butirato, os quais têm funções na saúde intestinal, como, por exemplo, substrato energético para o próprio crescimento bacteriano, para tecidos periféricos e para o epitélio intestinal, modulam a inflamação e auxiliam na motilidade intestinal e na cicatrização de feridas (TREMAROLI; BÄCKED, 2012; BOLOGNINI et al., 2016). A extração de energia pelas bactérias intestinais foi investigada em camundongos geneticamente obesos (ob/ob), os quais têm maiores quantidades de AGCC no ceco e menor conteúdo energético nas fezes comparados aos camundongos não obesos (+/+) (TURNBAUGH et al., 2006). O sequenciamento metagenômico da microbiota cecal dos camundongos ob/ob mostraram aumento de funções de genes relacionados à degradação de polissacarídeos dietéticos e maior proporção de bactérias do filo Firmicutes comparado ao filo Bacteroidetes. De fato, o microbioma (conteúdo genômico da microbiota) de camundongos ob/ob, especialmente relacionado ao filo Firmicutes, tem maiores quantidades de genes que codificam glicosidases, proteínas de membrana transportadoras e enzimas

glicolíticas e de síntese de ATP. Por outro lado, tem menores quantidades de genes que codificam enzimas relacionadas à biossíntese de vitaminas e de alguns tipos de aminoácidos (TURNBAUGH et al., 2006, 2008). A colonização de camundongos *germ-free* (sem colonização microbiana) com a microbiota dos camundongos obesos (ob/ob) resultou em aumento significativo da gordura corporal total comparado a camundongos *germ-free* que foram colonizados com a microbiota de camundongos não obesos (+/+) (TURNBAUGH et al., 2006, 2008). Estes resultados reforçam a hipótese de que a microbiota intestinal de obesos tem maior eficiência na extração energética dos alimentos, possivelmente pelo aumento na expressão de determinados genes bacterianos como explicado acima.

A dieta é capaz de modular a composição da microbiota intestinal de humanos e animais, e esta favorecer ou não o ganho de peso. Mudanças na composição de diferentes filos microbianos têm sido relatado em estudos com camundongos em resposta a introdução de dietas ricas em lipídeos (high-fat diets) (CANI et al., 2007a, 2007b), sugerindo que não apenas a microbiota intestinal tem o potencial de afetar a composição corporal, mas a dieta também pode modular a composição microbiana. Intervenções dietéticas em humanos verificaram o efeito do conteúdo calórico na composição da microbiota intestinal (JUMPERTZ et al., 2011; WU et al., 2011; DAVID et al., 2014). O aumento no conteúdo calórico (2400 kcal/dia para 3400 kcal/dia), mantendo a mesma proporção de macronutrientes por apenas três dias foi capaz de promover aumento significativo na abundância de bactérias do filo Firmicutes e redução significativa de bactérias do filo Bacteroidetes. O aumento de 20% no filo Firmicutes que ocorreu após o seguimento da dieta supracitada (3400 kcal) durante três dias esteve associado ao aumento da extração energética em aproximadamente 150 kcal (JUMPERTZ et al., 2011). Outro estudo com dez indivíduos adultos saudáveis (sem doenças agudas ou crônicas e sem o uso de fármacos até duas semanas antes do experimento) mostrou que a alteração da composição da microbiota pode ocorrer dentro de 24 horas após o início de uma dieta rica em lipídeos e pobre em carboidratos (38% de lipídeos, 35% de carboidratos e 27% de proteínas) comparado a uma dieta pobre em lipídeos e rica em carboidratos (13% de lipídeos, 69% de carboidratos e 18% de proteínas), havendo relação direta entre consumo de gorduras, IMC e filo Firmicutes e Proteobacteria (WU et al., 2011). Neste estudo, os mesmos tipos de alimentos foram oferecidos a todos os participantes, diferindo apenas nas porções oferecidas para se adequar à distribuição de carboidratos, proteínas e lipídeos na dieta. Os

indivíduos foram agrupados em dois enterotipos (agrupamentos de uma parte da microbiota de uma pessoa): um enterotipo de bactérias associadas ao consumo de uma dieta ocidental, rica em proteína animal e gordura saturada, (gênero predominante deste enterotipo: *Bacteroides* (gram-negativo)) e outro enterotipo de bactérias associadas ao consumo de dietas de sociedades agrárias (gênero predominante deste enterotipo: *Prevotella* (gram-negativo)), baseadas em vegetais e alimentos ricos em carboidratos e açúcares simples. Enquanto o enterotipo relacionado ao consumo de dieta ocidental apresentou relação direta com consumo de lipídeos, proteína animal, cálcio, vitamina D, fósforo, zinco, vitamina B₁₂ e relação inversa com o consumo de carboidratos, o contrário foi observado no enterotipo baseado em dietas de sociedades agrárias. Estes resultados mostram que o consumo dietético pode influenciar a composição bacteriana fecal em curto espaço de tempo.

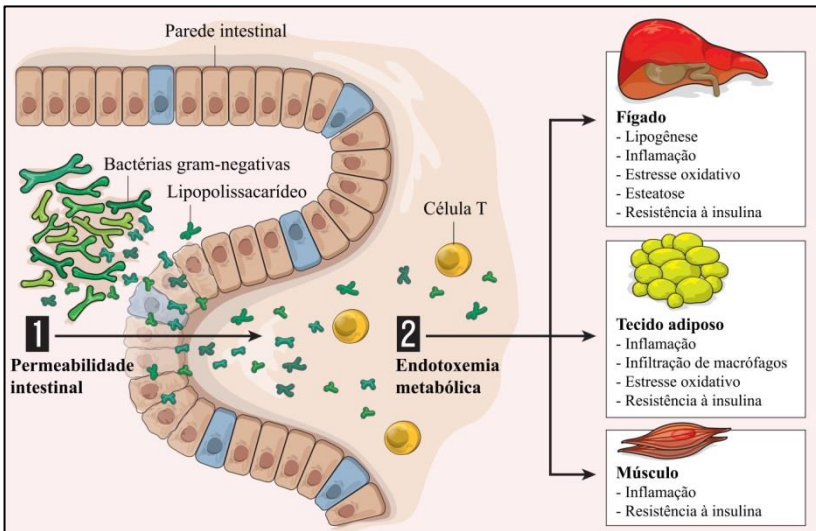
Estudos tem mostrado que a microbiota intestinal difere significativamente entre indivíduos obesos e não obesos, tanto em composição, quanto em função (TURNBAUGH et al., 2009; LE CHATELIER et al., 2013). Estas diferenças são caracterizadas, principalmente, pela baixa riqueza de genes microbianos e pela elevada abundância de gêneros bacterianos potencialmente pró-inflamatórios em indivíduos obesos, os quais podem favorecer o aparecimento da inflamação crônica e da resistência à ação da insulina. Enquanto gêneros bacterianos relacionados com a inflamação são mais dominantes nos indivíduos com baixa riqueza de genes microbianos (por exemplo, *Bacteroides*, *Parabacteroides*, *Ruminococcus Campylobacter*, *Dialister*, *Porphyromonas*, *Staphylococcus* e *Anaerostipes*), outros gêneros bacterianos anti-inflamatórios são mais dominantes nos indivíduos com alta riqueza de genes microbianos (*Faecalibacterium*, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Butyrivibrio*, *Alistipes*, *Akkermansia*, *Coprococcus* e *Methanobrevibacter*). Le Chatelier et al. (2013) verificaram que aqueles com baixa riqueza de genes microbianos abrigam uma microbiota associada à inflamação, uma vez que estes apresentam maior abundância de substâncias redutoras (sugerindo capacidade aumentada para responder ao estresse oxidativo), maior potencial de degradação do muco intestinal (prejudicando a função de barreira intestinal), de formação de gases tóxicos potencialmente carcinogênicos, como o sulfeto de hidrogênio, aumento da abundância de bactérias potencialmente pró-inflamatórias e redução na abundância de bactérias produtoras de butirato (produto final da fermentação de carboidratos não digeríveis e principal fonte de energia para as células colônicas epiteliais). Cottillard et al. (2013) investigaram o efeito durante seis

semanas de uma dieta hipocalórica e rica em proteínas (1200 kcal por dia para mulheres e 1500 kcal por dia para homens: 35% de proteínas, 25% de lipídios, 44% de carboidratos de baixo índice glicêmico e rico em fibras solúveis) em indivíduos com sobrepeso ou obesidade sem patologias crônicas, que não utilizavam qualquer fármaco e que não tinham sido submetidos a qualquer programa de redução do peso nos últimos 12 meses. Em seguida, uma segunda fase da pesquisa caracterizada por aumento de 20% no consumo energético para manutenção do peso durante seis semanas foi realizada. Os pesquisadores observaram que o aumento da riqueza de genes microbianos esteve associado com uma redução significativa da circunferência do quadril e gordura corporal total, menores concentrações de colesterol total, de triglicérides, de PCR e menor resistência à ação da insulina. Os alimentos que mais se associaram com a melhora na riqueza de genes microbianos foram as frutas e os vegetais, os quais contém maiores quantidades de fibras. Estes resultados sugerem que o aumento da riqueza de genes microbianos está associado com a melhora no estado inflamatório e metabólico sistêmico.

Outro fator que contribui para a ocorrência da inflamação em indivíduos obesos é a maior abundância de LPS (ou endotoxina bacteriana) no lúmen intestinal, um componente da parede celular de bactérias gram-negativas que tem sido apontado como um dos gatilhos da inflamação (COX; WEST; CRIPPS, 2015). Este componente é absorvido excessivamente pelos capilares intestinais em condições de desequilíbrio da microbiota intestinal e de falha da função de barreira intestinal (situações presentes em indivíduos com baixa riqueza de genes microbianos, como na obesidade) (TURNBAUGH et al., 2009; MORENO-NAVARRETE et al., 2012; LE CHATELIER et al., 2013), induzindo a inflamação sistêmica através da secreção aumentada de mediadores pró-inflamatórios por células imunológicas, evento conhecido como endotoxemia metabólica (CANI et al., 2007a) (Figura 4). Esta condição está associada à redução das concentrações de espécies de bifidobactérias na microbiota intestinal, as quais favorecem a função de barreira intestinal contra antígenos bacterianos (BOTTACINI et al., 2014). Mesmo em pequenas quantidades, esta substância pode promover respostas inflamatórias importantes em humanos sem obesidade (TAUDORF et al., 2007) e com obesidade após injeção intravenosa de LPS (ROHRER et al., 2011), resultando em aumento da temperatura corporal, da frequência cardíaca, das concentrações de TNF- α , IL-6, cortisol e glucagon.

O LPS tem afinidade pelos quilomicrons e, portanto, atravessa a mucosa intestinal e alcança a corrente sanguínea, podendo causar disfunções metabólicas, como doenças cardiovasculares e síndrome metabólica (GHOSHAL et al, 2009). O LPS estimula a imunidade inata por uma ação coordenada e sequencial de quatro proteínas: TLR-4; proteína ligadora de LPS (LBP); co-receptor para TLR-4 (CD14); e proteína de diferenciação mieloide 2 (MD2). A LBP interage com o LPS, catalisando a extração e transferência de monômeros de LPS para o CD-14 que por sua vez transfere estes monômeros para a MD-2, o qual se associa ao TLR-4 e promove resposta ao LPS (PERI et al, 2010). Esses mecanismos conduzem à ativação intracelular do NF- κ B e a produção subsequente de citocinas, tais como TNF- α e IL-6 (CANI et al., 2008).

Figura 4 - Lipopolissacarídeo, falha na função de barreira e inflamação associada à obesidade.



Fonte: Traduzido de Gravitz (2012).

Para melhor elucidar a relação entre LPS e obesidade, Cani et al. (2007a) observaram que a injeção subcutânea de LPS em camundongos esteve associada à distúrbios metabólicos que incluem resistência à insulina e hiperglicemia de jejum, além do ganho de peso. Em seres humanos com DM1, Lassenius et al. (2011) encontraram correlações positivas entre LPS e características associadas à síndrome metabólica,

aumentando o risco potencial de complicações crônicas. Nesta investigação, diabéticos normoalbuminúricos com altas concentrações plasmáticas de LPS apresentaram correlação positiva com a hemoglobina glicada, IMC, circunferência da cintura, pressão diastólica, apolipoproteína B, triglicerídeos séricos e PCR, e correlação negativa com a sensibilidade à insulina e HDL-colesterol. A correlação encontrada com a apolipoproteína B sugere que as endotoxinas são transportadas pelo VLDL-colesterol, LDL-colesterol ou quilomicrons.

Devido ao fato do LPS ter afinidade pelos quilomicrons e estes serem produzidos em excesso durante uma dieta rica em lipídios, estudos têm verificado se dietas ricas em lipídeos também promovem o aumento das concentrações plasmáticas de LPS, o qual pode desencadear processos inflamatórios. Harte et al (2012) observaram que uma única refeição rica em lipídeos é capaz de alterar as concentrações plasmáticas de LPS. Após 4 horas de uma refeição rica em lipídeos, o aumento das concentrações de LPS na circulação foi 20% maior em indivíduos obesos e 125% maior em indivíduos com DM2 comparado a não obesos. Este achado mostrou que a exposição a uma refeição rica em lipídeos eleva as concentrações de LPS, independentemente do estado metabólico. As dietas ricas em lipídeos também alteram a composição da microbiota intestinal, em particular reduzindo o número de bifidobactérias (CANI et al, 2008). Em conjunto, estes eventos destacam o papel do LPS em promover e contribuir para a exacerbação de distúrbios metabólicos e inflamatórios.

Apesar da associação existente entre a microbiota intestinal, a obesidade e condições relacionadas, algumas questões permanecem obscuras, tais como: Existe um perfil que caracteriza a microbiota intestinal de indivíduos obesos? As alterações da microbiota intestinal conduzem ao desenvolvimento da obesidade ou a obesidade que promove as alterações na microbiota intestinal? As alterações da microbiota intestinal decorrem apenas da dieta e de outros fatores ambientais (uso de fármacos, etilismo, tabagismo, estilo de vida) ou dos processos fisiopatológicos observados na obesidade ou de ambos? As alterações da microbiota intestinal no início da vida estão associadas ao aumento na susceptibilidade para sobrepeso e obesidade no decorrer da vida? Estas e outras perguntas estão sendo debatidas no meio científico atual, no entanto, ainda não há consenso entre os pesquisadores da área.

Neste contexto, várias são as abordagens dietoterápicas que podem ser utilizadas para minimizar as alterações da microbiota intestinal observadas na obesidade, sendo que poucos são os estudos que têm analisado *in vivo* o efeito da suplementação de prebióticos e

simbióticos como adjuvantes no tratamento da obesidade (BESERRA et al., 2015; FERNANDES et al., 2017).

2.4 PREBIÓTICOS E SIMBIÓTICOS

Prebióticos são substratos seletivamente utilizados por micro-organismos do hospedeiro conferindo benefícios à saúde (GIBSON et al., 2017). Para o substrato ser considerado prebiótico, devem ser atendidos alguns requisitos (GIBSON; ROBERFROID, 1995; GIBSON et al., 2017):

1) Não ser hidrolisado nem ser absorvido na parte superior do trato gastrointestinal;

2) Ser um substrato seletivo para um número limitado de bactérias benéficas para o hospedeiro, que são estimuladas a crescer e/ou são metabolicamente ativadas;

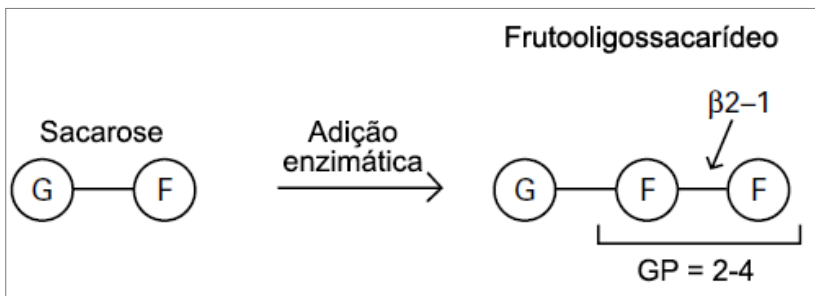
3) Ser capaz de alterar a flora colônica em favor de uma composição mais saudável;

4) Induzir efeitos luminiais ou sistêmicos que são benéficos à saúde do hospedeiro.

Existe uma gama de substâncias consideradas prebióticas, entre eles, os frutanos do tipo inulina (fruto-oligossacarídeo (FOS), oligofrutose e inulina) (BINDELS et al., 2015). As fontes de frutanos do tipo inulina mais consumidas são pães integrais, melancia, laranja, biscoitos, cereais integrais e aspargos, mas também há outras fontes importantes, como batata Yacon, chicória, alho, alho-poró, alcachofra, banana, centeio, cevada e trigo (PEREZ-CORNAGO et al., 2015).

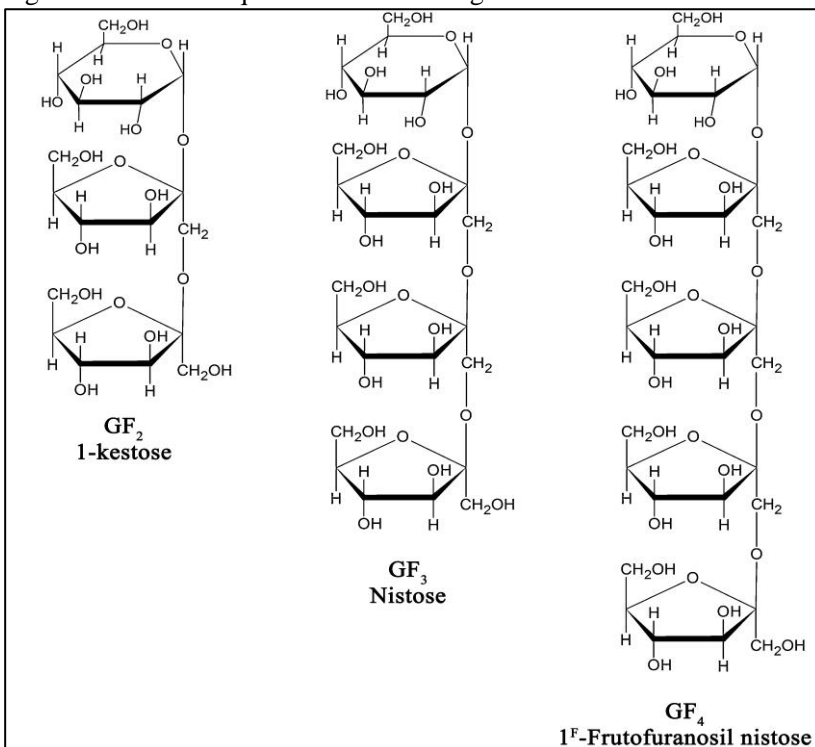
Entre os frutanos do tipo inulina destaca-se o FOS, prebiótico a ser utilizado na presente pesquisa. A sua estrutura química é composta por uma cadeia de unidades de frutose com uma unidade terminal de glicose (Glicose-Frutosen ou GFn) unida por ligações glicosídicas β -(2-1), o que significa que eles não podem ser hidrolisados por enzimas digestivas humanas (LOMAX; CALDER, 2009). A forma comercial de FOS é obtida por meio da adição enzimática de resíduos de frutose à sacarose (Figuras 5 e 6).

Figura 5 – Obtenção de fruto-oligossacarídeos por adição enzimática de frutose.



Fonte: Lomax; Calder, 2009. Abreviações: G – Glicose; F – Frutose; GP – Grau de polimerização.

Figura 6 – Estrutura química dos fruto-oligossacarídeos.



Fonte: Do autor. Baseado no estudo de Dominguez et al. (2013). Abreviações: GF – Cadeia de Glicose-Frutose.

A principal diferença entre os frutanos do tipo inulina é o grau de polimerização (número de unidades monoméricas em uma macromolécula). O FOS tem grau de polimerização com dois a quatro resíduos de frutose, a oligofrutose com até sete resíduos de frutose e a inulina com até sessenta resíduos de frutose (ROBERFROID et al., 2010).

O FOS resiste à hidrólise enzimática no intestino delgado e entra no ceco com sua estrutura intacta. Entretanto, não é excretado nas fezes, o que indica sua completa fermentação no cólon. A utilização do FOS como substrato energético é mediada pelas bactérias colônicas, as quais produzem enzimas glicolíticas que hidrolisam a estrutura do FOS em mono ou dissacarídeos, sendo transportados pelos enterócitos e metabolizados em AGCC, lactato, gás carbônico e hidrogênio (absorvidos e utilizados por diferentes tecidos). Todos os AGCC, particularmente o acetato, propionato e butirato, são os principais produtos finais de reações de fermentação de bactérias que acidificam o cólon. Esta diminuição do pH favorece o desenvolvimento de bactérias potencialmente anti-inflamatórias, especialmente as bifidobactérias e os lactobacilos, além de impedir o crescimento de bactérias potencialmente patogênicas. O FOS também exerce outros efeitos positivos à saúde humana, como alívio da constipação e da diarreia, regulação do metabolismo lipídico e glicídico, diminuição do risco de câncer de cólon, aumento da absorção de alguns minerais, como magnésio e cálcio, redução da absorção intestinal de gorduras e imunorregulação (SINGH et al., 2017).

Outra possibilidade de modular a microbiota intestinal é a utilização de simbióticos. Simbióticos são produtos que contêm tanto prebióticos quanto probióticos, os quais são micro-organismos vivos que, quando consumidos em quantidades adequadas, conferem benefícios à saúde do hospedeiro (GUARNER et al, 2017; HILL et al., 2014). Estes produtos alimentares podem exercer diversas funções benéficas, incluindo a inibição do crescimento de bactérias patogênicas, a preservação da função da barreira epitelial, regeneração do tecido epitelial, imunorregulação, regulação do metabolismo lipídico e glicídico e perda de peso (GUARNER et al., 2017).

Como a definição de simbiótico está intrinsicamente ligada às definições de prebiótico e probiótico, é importante mencionar alguns aspectos dos prebióticos (já discutido anteriormente) e dos probióticos, com destaque para aqueles que serão utilizados no presente estudo, as bifidobactérias e os lactobacilos.

Para ser considerado probiótico, o micro-organismo deve possuir certas características: tolerância a secreções gastrointestinais (ácido gástrico e bile); capacidade de aderir à mucosa gastrointestinal; e a inibição competitiva de organismos patogênicos. Além disso, tem sido proposto que um probiótico eficiente deva cumprir alguns critérios (FONTANA et al., 2013):

- 1) Demonstrar efeito benéfico para o hospedeiro;
- 2) Ser não patogênico, não tóxico e livre de significativos efeitos adversos;
- 3) Ser capaz de sobreviver ao longo do trato gastrointestinal;
- 4) Conter adequado número de células viáveis para conferir benefícios à saúde;
- 5) Ser compatível com a matriz do produto, com as condições de processamento e armazenamento para manter as propriedades desejadas e rotulados com precisão.

Em particular, espécies bacterianas pertencentes aos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* têm sido extensivamente estudados e utilizados como probióticos (Quadro 2) (DICERBO et al., 2016; BOTTACINI et al., 2014).

Quadro 2 – Principais gêneros e espécies bacterianas utilizadas como probióticos.

Filos	Gêneros	Espécies
Firmicutes	<i>Lactobacillus</i>	<i>acidophilus</i>
		<i>bulgaricus</i>
		<i>casei</i>
		<i>crispatus</i>
		<i>fermentum</i>
		<i>gasserii</i>
		<i>johnsonii</i>
		<i>lactis</i>
		<i>paracasei</i>
		<i>plantarum</i>
		<i>reuteri</i>
	<i>rhamnosus</i>	
	<i>Streptococcus</i>	<i>termophilus</i>
<i>Bacillus</i>	<i>cereus</i>	
	<i>subtilis</i>	
Actinobacteria	<i>Bifidobacterium</i>	<i>adolescentes</i>
		<i>animalis</i>
		<i>bifidum</i>
		<i>breve</i>
		<i>infantis</i>
		<i>lactis</i>
		<i>longum</i>
Proteobacteria	<i>Escherichia</i>	<i>coli</i>

Fonte: Williams (2010).

Bifidobactérias são bactérias gram-positivas e anaeróbias, pertencentes ao filo Actinobacteria, encontradas ao longo de todo o trato gastrointestinal (BOTTACINI et al., 2014). Cani et al. (2007b) verificaram que entre diferentes bactérias intestinais de camundongos, as espécies de bifidobactérias correlacionaram-se negativamente com as concentrações plasmáticas de LPS e positivamente com a melhora da tolerância à glicose, a secreção de insulina induzida por glicose e diminuição das citocinas pró-inflamatórias no plasma e no tecido adiposo. Entre os benefícios das bifidobactérias observados em estudos experimentais em indivíduos adultos, destacam-se: redução da produção de citocinas pró-inflamatórias e melhora do perfil lipídico em indivíduos com síndrome metabólica (BERNINI et al., 2016) e redução da

proliferação de bactérias patogênicas no intestino (ODAMAKI et al., 2012).

Os lactobacilos estão amplamente distribuídos no meio ambiente, especialmente em vegetais e nos tratos gastrointestinal e genital. Sua ocorrência é influenciada por diversos fatores ambientais, tais como pH, presença de oxigênio, temperatura e interações com outras bactérias. São bactérias probióticas gram-positivas, anaeróbias facultativas ou microaerófilas (requer menor quantidade de oxigênio) pertencentes ao filo Firmicutes. Estes são amplamente encontrados em lácteos, como leite fermentado, iogurte e queijo. No trato gastrointestinal de humanos saudáveis estão normalmente presentes na cavidade oral, no íleo e no cólon (DICERBO et al., 2016). Entre os benefícios dos lactobacilos observados em ensaios clínicos randomizados, placebo-controlados e duplo-cegos em indivíduos adultos, destacam-se: prevenção do câncer hepático (EL-NEZAMI et al., 2006), adjuvância no tratamento de infecções vaginais (MASTROMARINO et al., 2009), redução do colesterol total e LDL-colesterol (FUENTES et al., 2013), inibição da infecção por *Helicobacter pylori* (FRANCAVILLA et al., 2014), imunomodulação (IEMOLI et al., 2012), melhora da constipação (HIGASHIKAWA et al., 2010), melhora da diarreia (DIETRICH; KOTTMANN; ALAVI, 2014) e melhora do perfil glicêmico e da atividade antioxidante em indivíduos com DM2 (ASEMI et al., 2013).

2.4.1 Modulação imunológica e metabólica associada ao consumo de fruto-oligossacarídeos e simbióticos

O epitélio intestinal está constantemente exposto a uma grande quantidade de materiais estranhos que podem ser prejudiciais ou benéficos para o organismo. Consequentemente, o sistema imunológico precisa encontrar um equilíbrio entre as respostas imunitárias que são induzidas após encontro com patógenos intestinais e a tolerância a bactérias comensais. Caso esse equilíbrio homeostático seja rompido (por exemplo, na obesidade), uma resposta imunitária inapropriada é iniciada, causando danos ao hospedeiro. Nesse sentido, prebióticos e simbióticos tem sido alvo de estudos em modelos animais e humanos quanto ao papel imunomodulador que ambos podem exercer, haja vista a conhecida ação positiva de ambos na restauração do equilíbrio da microbiota intestinal.

No que diz respeito à ação do FOS, o principal produto da fermentação deste prebiótico pelas bactérias intestinais é o acetato (ROSSI et al., 2005), AGCC mais abundante no cólon (~60%) e

responsável por efeitos imunomoduladores (MASUI et al., 2013) e de regulação da homeostase energética (FROST et al., 2014). A abundância e quantidades relativas de AGCC podem ser consideradas biomarcadores do estado de saúde de um indivíduo. A obesidade está relacionada com maiores concentrações fecais de AGCC (RAHAT-ROZEMBLOOM et al., 2014), enquanto indivíduos que realizaram tratamento para obesidade apresentaram redução significativa nas concentrações fecais de AGCC (PATIL et al., 2012). Intervenções dietéticas com frutanos do tipo inulina em indivíduos com sobrepeso ou obesidade mostraram ser efetivas na redução dos altos níveis de AGCC fecal (SALAZAR et al., 2015). Embora a abundância de AGCC em indivíduos com obesidade seja significativamente maior que em indivíduos sem obesidade, estes ácidos graxos parecem exercer efeito protetor, modulando benéficamente a microbiota intestinal, o sistema imunológico e diferentes vias metabólicas.

A produção dos AGCC pelas bactérias intestinais, especialmente o acetato, está relacionado com a redução luminal de pH, impedindo a sobrevivência de micro-organismos patogênicos (FUKUDA et al., 2011). O butirato é o principal substrato energético das células epiteliais intestinais, favorecendo a maturação das células calciformes e a consequente produção de muco, o que resulta em menor adesão bacteriana e melhora na integridade das junções oclusivas, reforçando a função de barreira intestinal (JUNG et al., 2015). Em células epiteliais colônicas, a deficiência de AGCC promoveu a ativação da autofagia, fato relacionado à integridade da barreira intestinal (DONOHOE et al., 2011).

Quanto à modulação imunológica, o receptor acoplado à proteína G 43 (GPR43) é uma proteína que reconhece AGCC em tecidos periféricos, incluindo acetato, propionato e butirato, sendo expressa por adipócitos humanos, células epiteliais colônicas e células mononucleares do sangue periférico, tais como neutrófilos e monócitos (ANG; DING, 2016). A expressão de GPR43 tem sido associada com doenças em que a inflamação tem papel de destaque, como a colite ulcerativa, asma, artrite e obesidade (MASLOWSKI et al., 2009; KIMURA et al., 2013). Maslowski et al. (2009) verificaram que, após tratamento com acetato, os valores de TNF- α e de EROs diminuíram em camundongos germ-free com colite, alterações não observadas em camundongos com colite GPR43 $^{-/-}$, sugerindo que o efeito imunomodulador do acetato é mediado por este receptor. O acetato também foi capaz de reduzir a secreção de TNF- α de neutrófilos humanos e inibiu a atividade do NF- κ B e da IL-6 em cultura de células de carcinoma de cólon humano (TEDELIND et

al., 2007). O tratamento de monócitos e neutrófilos humanos com AGCC diminuiu a expressão da quimiocina CCL-2 e a produção de TNF- α e IFN- γ em resposta ao tratamento com LPS (COX et al., 2009). As células T também têm emergido como alvo para os AGCC. Em camundongos com colite, o propionato desencadeou a liberação da IL-10 por células Treg, citocina anti-inflamatória, mediada pela GPR43 (SMITH et al., 2013). Em bactérias comensais, o butirato e o propionato também induzem a diferenciação de células Treg, promovendo a tolerância imunológica (LOUIS et al., 2014).

Em relação à modulação metabólica, durante o processo de absorção intestinal de AGCC, uma parte destes ácidos graxos é metabolizada pelos próprios colonócitos, enquanto a outra parte é absorvida e transportada até o fígado, onde também é metabolizada (BESTEN et al., 2013). No fígado, os AGCC participam de diferentes rotas metabólicas: enquanto o propionato é incorporado no processo de gliconeogênese, o acetato e o propionato participam do metabolismo lipídico (RÍOZ-CÓVIAN et al., 2016). O envolvimento dos AGCC no metabolismo energético tem atraído a atenção de pesquisadores quanto ao papel destes ácidos graxos no manejo da síndrome metabólica. Kimura et al. (2013) mostraram que o acetato suprimiu a captação de glicose e de ácidos graxos mediado pela insulina em adipócitos de camundongos selvagens. Neste mesmo estudo, o acetato aumentou a expressão gênica de vias glicolíticas e lipolíticas, aumentando o gasto energético. Frost et al. (2014) mostraram que a administração intraperitoneal de acetato em camundongos machos C57BL/6 resultou em menor ingestão de alimentos até duas horas após a injeção, fato explicado pela redução na atividade catalítica hipotalâmica da proteína quinase ativada por AMP, estimulando a expressão de peptídeos anorexígenos, como a pró-opiomelanocortina, e a redução da expressão de peptídeos orexígenos, como o peptídeo relacionado ao gene agouti. Outro mecanismo de ação do acetato associado à redução do peso é mediado pela proteína ligadora de elementos responsivos a carboidratos (ChREBP), responsável por ativar a transcrição de enzimas envolvidas na gliconeogênese e lipogênese, como a piruvato quinase hepática (L-PK) e a FAS. A incubação de AGCC, incluindo acetato, em uma cultura de hepatócitos de ratos mostrou a inativação de ChREBP (KAWAGUSHI et al., 2002). Um estudo in vivo em ratos OLETF (*Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty*) mostrou que a administração oral de acetato reduziu o acúmulo de lipídios no tecido adiposo por meio da redução da atividade de diversas enzimas lipogênicas, incluindo a L-PK e a FAS (YAMASHITA et al., 2007). Em estudo realizado pelos

membros do grupo de pesquisa do presente projeto em indivíduos submetidos à cirurgia bariátrica, o FOS foi capaz de promover redução significativa de peso corporal comparado ao grupo controle após 15 dias de suplementação (FERNANDES et al., 2016). Entretanto, apesar destes dados promissores em estudos em animais, estudos de intervenção com grupo controle em humanos são necessários para firmar conclusões que possam gerar impacto na prática clínica.

Com relação aos simbióticos, devido ao fato dos mesmos conterem probióticos em sua composição, torna-se relevante trazer evidências que destaquem o papel dos probióticos na imunomodulação. Os probióticos interagem com uma ampla variedade de células (enterócitos, células dendríticas, Th1, Th2, Treg) na mucosa intestinal e podem modular a resposta imunitária em direção à ação pró ou anti-inflamatória (WILLIAMS, 2010). No entanto, devem-se evitar generalizações sobre potenciais benefícios dos probióticos para a saúde, pois os efeitos probióticos são específicos para cada cepa, assim, o benefício à saúde atribuído a uma cepa não se aplica necessariamente a outra, mesmo dentro de uma mesma espécie (FREI; AKDIS; O'MAHONY, 2015).

Neste sentido, optou-se por mostrar os principais achados das cepas que estão contidas no simbiótico utilizado no presente estudo (*Lactobacillus rhamnosus* HN001, *Lactobacillus acidophilus* NCFM, *Lactobacillus paracasei* LPC-37 e *Bifidobacterium lactis* HN019).

Quanto ao *L. rhamnosus* HN001, Thomas et al. (2011) mostraram que a ingestão diária de 1×10^{10} UFC/dia desta cepa probiótica durante 49 dias tem efeito imunomodulador, como a maior produção de IL-10 em porcos com doença pulmonar alérgica. Um estudo in vitro (GOOD et al., 2014) mostrou a redução de dano histológico e da expressão de IL-1 β e TNF- α em células da mucosa ileal de camundongos e leitões com enterocolite necrotizante sensibilizadas com LPS e tratadas com *L. rhamnosus* HN001 (75 μ g/mL de meio). Eggers et al. (2018) mostraram que a suplementação de 1×10^{10} UFC/dia de *L. rhamnosus* HN001 por quatro semanas em indivíduos com infecção por *Staphylococcus aureus* promoveu redução significativa desta bactéria no trato gastrointestinal.

A inoculação de 1×10^8 UFC/dia de *L. acidophilus* NCFM durante 14 dias em camundongos fêmeas BALB/c foi relacionado com a redução no crescimento de tumor no cólon e na redução da expressão de quimiocinas (CHEN et al., 2012). No estudo de Petersen et al. (2012), os camundongos com colite que receberam 1×10^9 UFC/dia de *L. acidophilus* NCFM por cinco semanas apresentaram redução nas concentrações séricas de IFN- γ e de quimiocinas mediada pelas células

Treg. Konstantinov et al. (2008) examinaram interações entre culturas de células dendríticas e o *L. acidophilus* NCFM ($1,2 \times 10^8$ UFC) e concluíram que esta cepa probiótica induz a produção de IL-10 e inibe a produção de IL-12p70 pelas células dendríticas. Em homens com DM2, embora não tenha havido mudanças nas concentrações plasmáticas de citocinas, a sensibilidade à ação da insulina foi preservada no grupo que recebeu 1×10^{10} UFC/dia de *L. acidophilus* NCFM durante quatro semanas, enquanto o grupo placebo apresentou redução na sensibilidade à ação da insulina (ANDREASEN, 2010).

Quanto ao *L. paracasei* LPC-37, poucos estudos têm verificado a sua ação em desfechos imunológicos, mas tem sido observada atividade imunomoduladora desta cepa. Roessler et al. (2008) verificaram maior atividade fagocítica de monócitos e granulócitos em indivíduos saudáveis que receberam iogurte contendo $3,9 \times 10^8$ UFC/dia durante oito semanas, conferindo efeito protetor contra possíveis patógenos. Por outro lado, Paineau et al. (2008) não observaram alterações nas concentrações séricas de imunoglobulinas (IgA e IgM) em indivíduos adultos saudáveis que receberam 2×10^{10} UFC/dia de *L. paracasei* LPC-37 durante três semanas.

Por último, estudos com a *B. lactis* HN019 mostram a capacidade desta cepa em modular o sistema imunológico. Gill et al. (2001) observaram aumento da capacidade fagocítica de fagócitos mononucleares e polimorfonucleares em humanos saudáveis após consumo diário de leite suplementado com 5×10^9 a 5×10^{10} de *B. lactis* HN019 durante três semanas. A cultura de células epiteliais humanas com 1×10^3 a 1×10^7 UFC/dia de *B. lactis* HN019 atenuou a expressão da IL-8 e impediu a adesão de patógenos nestas células, exercendo efeito protetor (LIU et al., 2010). A ingestão diária de leite fermentado com $2,72 \times 10^{10}$ UFC/dia de *B. lactis* HN019 durante 45 dias em indivíduos com síndrome metabólica promoveu redução significativa do IMC, colesterol total, LDL-colesterol, TNF- α e IL-6 (BERNINI et al., 2016).

Em conjunto, as evidências mostram o efeito imunomodulador destas cepas em modelos animais e humanos saudáveis, com câncer ou com doenças inflamatórias. Sobre desfechos metabólicos e antropométricos, a literatura ainda não dispõe de estudos suficientes para esclarecer o efeito destas cepas nestes desfechos.

2.5 ENSAIOS CLÍNICOS QUE INVESTIGARAM OS EFEITOS DE FRUTO-OLIGOSSACARÍDEOS E SIMBIÓTICOS NA OBESIDADE

2.5.1 Estratégia de busca e seleção dos estudos

Para a fundamentação da originalidade, relevância e contribuição científica e prática deste projeto de tese, realizou-se uma atualização de duas revisões sistemáticas elaboradas pelo grupo de pesquisa (FERNANDES et al., 2017; BESERRA et al., 2015), sendo uma delas o primeiro resultado desta tese de doutorado (FERNANDES et al., 2017) e que está disposta na seção sete (Resultados). A revisão sistemática oriunda da tese foi conduzida entre 2015 e 2016, com a busca realizada em novembro de 2015. O objetivo da revisão foi avaliar o efeito de prebióticos e simbióticos em marcadores inflamatórios em indivíduos adultos com sobrepeso ou obesidade. É importante destacar que os marcadores inflamatórios são desfechos primários da presente pesquisa. A outra revisão sistemática foi conduzida em 2014, com a busca realizada em maio daquele ano (BESERRA et al., 2015). O objetivo da revisão foi avaliar o efeito de prebióticos e simbióticos em parâmetros glicêmicos e lipídicos em indivíduos adultos com sobrepeso ou obesidade. Estes são desfechos secundários da presente pesquisa, juntamente com os indicadores antropométricos do estado nutricional. A atualização da busca sistemática ocorreu em fevereiro de 2018. No entanto, a fim de não estender demasiadamente esta seção com estudos que não utilizaram o prebiótico da presente pesquisa, a atualização da busca foi realizada considerando como intervenção apenas os termos relacionados à intervenção de interesse, ou seja, o FOS e simbióticos que contém FOS.

De forma resumida, a atualização das revisões supracitadas ocorreu de forma conjunta, unindo as estratégias de busca utilizadas em ambas as revisões (mas retirando os unitermos relacionados a outros prebióticos e simbióticos que não tem relação com este estudo), nas mesmas bases de dados: MEDLINE (via PubMed; National Library of Medicine, Bethesda, Maryland), Science Direct (via Scopus, Elsevier, Philadelphia, USA), Web of Knowledge (via Web of Science, Thomson Reuters, New York, USA) e The Cochrane Central Register of Controlled Trials (CENTRAL) (via Cochrane Library; Wiley Online Library, New York, USA) (Tabela 1). As duas revisões sistemáticas e esta atualização seguiram as recomendações do PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analysis) (LIBERATI et al., 2009).

Os critérios de elegibilidade foram: ensaios clínicos randomizados e controlados; uso de FOS e simbióticos que continham FOS em seres humanos com sobrepeso ou obesidade ($IMC \geq 25\text{kg/m}^2$); amostra composta por adultos entre 18 a 65 anos; estudos que avaliaram desfechos inflamatórios (PCR e citocinas) e metabólicos (perfil lipídico e glicêmico). Vale mencionar que são escassos os estudos que avaliaram indivíduos somente com obesidade (sem considerar sobrepeso). Por este motivo, tanto nas revisões realizadas quanto nesta atualização optou-se por incluir ensaios clínicos randomizados e controlados em indivíduos com sobrepeso. Caso houvesse artigos potencialmente elegíveis com informações pouco claras, o autor correspondente seria contatado por email para fornecer explicações adicionais.

Tabela 1 – Termos de busca utilizados para o levantamento sistemático de ensaios clínicos randomizados e controlados até fevereiro de 2018.

Critérios	Termos de busca utilizados para cada critério
Paciente/População	Pacientes com sobrepeso ou obesidade (<i>obes* OR overweight OR "excess weight" OR "metabolic syndrome"</i>)
Intervenção	Prebiótico (FOS) e simbióticos que utilizaram o FOS (<i>prebiotic* OR fructan* OR fructooligosaccharide* OR fructooligosaccharide* OR fos OR synbiotic* OR bifidobacter* OR lactobacil*</i>)
Comparação	Grupo que não recebeu prebiótico ou simbiótico (<i>"controlled clinical trial" OR "randomized clinical trial"</i>)
Desfechos	Desfechos inflamatórios e metabólicos (<i>immun* OR inflammation OR cytokin* OR chemokine* OR interleukin* OR tnf OR tumor necrosis factor OR interferon OR ifn OR c-reactive protein OR crp OR lipopolyssacharide OR lps OR bacterial endotoxin OR endotoxemia OR endotoxaemia OR "blood glucose" OR "glycated hemoglobin" OR *insulin* OR *cholesterol* OR *triglyceride* OR ldl OR hdl OR hyperlipidemia OR triacylglycerol OR dyslipidemia</i>)

Fonte: Do autor.

A seleção dos estudos potencialmente elegíveis foi realizada inicialmente pela leitura dos títulos, e caso fosse relevante, procedeu-se com a análise dos resumos, e se necessário, do texto completo para confirmar a elegibilidade. Nenhum filtro para refinar a pesquisa foi utilizado.

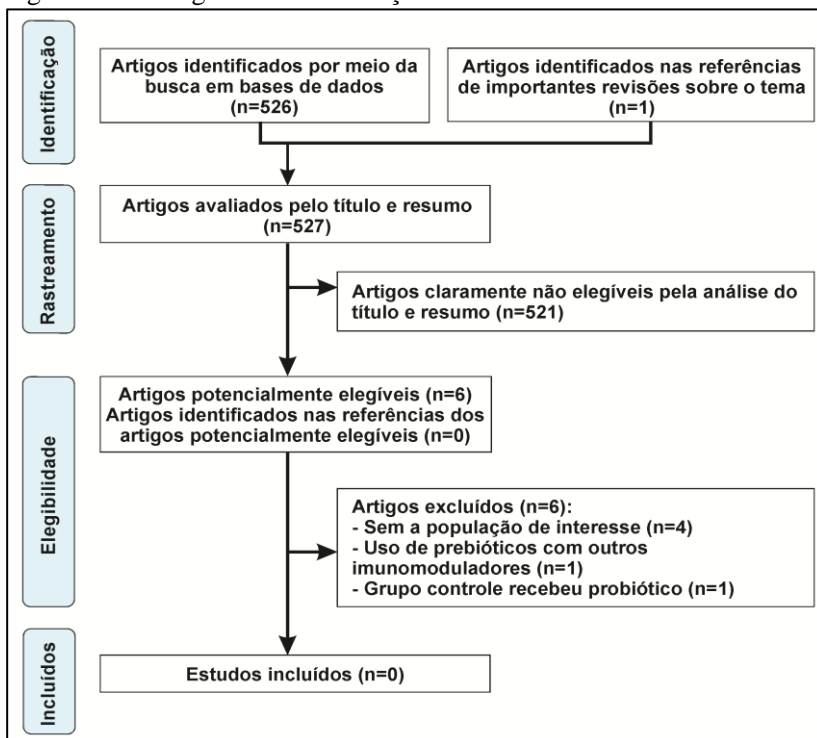
Quanto à extração dos dados, os mesmos seriam extraídos de forma independente por dois revisores do grupo de pesquisa, incluindo o autor do presente projeto, caso houvesse novos estudos a serem incluídos. Em qualquer divergência de opinião, os artigos seriam consultados novamente. No entanto, nenhum novo estudo foi incluído na atualização da busca (vide subseção 2.6.2).

Quanto à avaliação do risco de viés, foi realizada novamente esta etapa com os estudos incluídos nas revisões, utilizando a ferramenta da Cochrane para ensaios clínicos randomizados (HIGGINS; GREEN, 2011). A avaliação foi realizada por dois revisores do grupo de pesquisa. Desacordos entre os revisores na atribuição de “sim” ou “não” para cada item avaliado foram solucionados por meio de discussão até o consenso ser alcançado.

2.5.2 Resultado da atualização das revisões sistemáticas

As buscas nas bases de dados recuperaram 526 artigos e a checagem das referências de revisões importantes na área resultou em um estudo adicional. Após a leitura de títulos e resumos, 521 artigos foram excluídos e seis foram avaliados para elegibilidade. A análise das referências desses seis artigos não resultou na inclusão de artigos potencialmente elegíveis. Ao final, nenhum novo estudo foi incluído. O processo de seleção está apresentado na figura 7. As características dos estudos que utilizaram FOS ou simbióticos que continham FOS e que foram incluídos nas revisões mencionadas (FERNANDES et al., 2017; BESERRA et al., 2015) estão apresentados na tabela 2. A avaliação do risco de viés destes estudos está apresentada na figura 8.

Figura 7 – Fluxograma da atualização da busca sistemática.



Fonte: Do autor.

Tabela 2 – Características dos estudos incluídos nas revisões sistemáticas realizadas pelo grupo de pesquisa e que utilizaram fruto-oligossacarídeos (FOS) ou simbióticos contendo FOS.

Estudo, ano	País	Desenho do estudo/mascaramento	População	IMC médio basal (kg/m ²) Média±DP	Sexo	Idade (anos)	Tamanho amostral (n)	Intervenção – Dose diária	Controle – Dose diária	Duração (dias)	Resultados (Intervenção vs Controle – após suplementação)
de Luis et al., 2013	Espanha	ECR do tipo paralelo / Duplo cego	Obesidade	Intervenção: 35,9±3,4 Controle: 39,2±7,2	M/F	2,5-50	36	60 g de cookie enriquecido com 9,8 g de FOS (n=18)	60 g de cookie sem FOS (n=18)	30	↔ Proteína C-reativa ↔ Glicose de jejum ↔ Insulina de jejum ↔ Colesterol total ↔ LDL-c ↔ HDL-c ↔ Triglicérides ↔ Peso corporal ↔ IMC ↔ Relação cintura-quadril
Genta et al., 2009	Argentina	ECR do tipo paralelo / Duplo cego	Obesidade com dislipidemia moderada e constipação	Intervenção: 34,0±2,0 Controle: 33,0±3,0	F	31-49	35	Xarope de batata Yacon, contendo 0,14 g de FOS/kg = 10 g/70 kg peso corporal (n=20)	Xarope placebo sem FOS (n=15)	120	↓ LDL-c ↓ Glicose de jejum ↓ Insulina de jejum ↔ Colesterol total ↔ HDL-c ↔ Triglicérides ↔ Peso corporal ↔ IMC ↔ Circunferência da cintura

Tabela 2 – Características dos estudos incluídos nas revisões sistemáticas realizadas pelo grupo de pesquisa e que utilizaram fruto-oligosacarídeos (FOS) ou simbióticos contendo FOS. Continuação.

Estudo, ano	País	Desenho do estudo/mascaramento	População	IMC médio basal (kg/m ²)	Sexo	Idade (anos)	Tamanho amostral (n)	Intervenção – Dose diária	Controle – Dose diária	Duração (dias)	Resultados (Intervenção vs Controle – após suplementação)
Luo et al., 2000	França	ECR do tipo <i>cross-over</i> / Duplo cego	Sobrepeso e obesidade com diabetes tipo 2	Intervenção e controle: 28,0±1,0	M/F	57±2	10	FOS - 20 g (n=10)	Sacarose – 20g (n=10)	28	↔ Glicose de jejum ↔ Insulina de jejum ↔ Colesterol total ↔ LDL-c ↔ HDL-c ↔ Triglicérides ↔ Peso corporal ↔ IMC
Eslamparast et al., 2014	Irã	ECR do tipo paralelo/ Duplo cego	Obesidade com doença hepática gordurosa não alcoólica	Intervenção: 32,1±2,4 Controle: 31,3±2,3	M/F	≥ 18*	52	<i>L. casei</i> + <i>L. rhamnosus</i> + <i>S. thermophilus</i> + <i>B. breve</i> + <i>L. acidophilus</i> + <i>B. longum</i> + <i>L. bulgaricus</i> (4x10 ⁸) + FOS (n=26)*	Maltodextrina (n=26)	196	↓ Proteína C-reativa ↓ TNF-α ↓ Insulina de jejum ↓ Glicose de jejum ↔ IMC ↔ Relação cintura-quadril

Tabela 2 – Características dos estudos incluídos nas revisões sistemáticas realizadas pelo grupo de pesquisa e que utilizaram fruto-oligosacarídeos (FOS) ou simbióticos contendo FOS. Continuação.

Estudo, ano	País	Desenho do estudo/mascaramento	População	IMC médio basal (kg/m ²)	Sexo	Idade (anos)	Tamanho amostral (n)	Intervenção – Dose diária	Controle – Dose diária	Duração (dias)	Resultados (Intervenção vs Controle – após suplementação)
Média±DP											
Malaguamera et al., 2012	Itália	ECR do tipo paralelo / Duplo cego	Sobrepeso e obesidade com esteatohepatite não alcoólica	Intervenção: 27,3±1,4 Controle: 27,2±1,3	M/F	30-65	66	<i>B. longum</i> W11 (5 x 10 ⁸ UFC) + 2,5 g de FOS + vitamina B1 (1,4 mg), vitamina B2 (1,6 mg), vitamina B6 (2,0 mg) e vitamina B12 (1,0 mg)	Placebo – 2,5 g (n=32)	168	↓ Proteína C-reativa ↓ TNF- α ↓ LDL-c ↔ Glicose de jejum ↔ Insulina de jejum ↔ Colesterol total ↔ HDL-c ↔ Triglicérides ↔ IMC
Moroti et al., 2012	Brasil	ECR do tipo paralelo / Duplo cego	Sobrepeso e obesidade com dislipidemia e diabetes tipo 2	Intervenção: 27,7±0,8 Controle: 28,2±0,9	F	50-65	20	200 mL de shake contendo <i>L. acidophilus</i> (8x10 ⁸ CFU) + <i>B. bifidum</i> (8x10 ⁸ CFU) + FOS - 2 g	200 mL de shake sem simbiótico (n=10)	30	↔ Colesterol total ↔ Triglicérides ↔ Glicose de jejum ↔ HDL-c

Abreviações: IMC – Índice de Massa Corporal; DP – Desvio padrão; TNF- α – Fator de Necrose Tumoral- α ; LDL – Lipoproteína de baixa densidade; HDL – Lipoproteína de alta densidade; M – Masculino; F – Feminino; FOS – Fruto-oligosacarídeos; UFC – Unidades Formadoras de Colônia; *L.* – *Lactobacillus*; *B.* – *Bifidobacterium*; *S.* – *Streptococcus*; ECR – Ensaio clínico randomizado e controlado; ↔ sem diferença estatisticamente significativa entre os grupos intervenção e controle após a suplementação; ↓ significativamente menor que o grupo controle após a suplementação. * O número de participantes acima de 65 anos de idade foi pequeno e não contribuiu significativamente para a variação nos resultados (relato do autor correspondente); ** A quantidade de FOS e maltodextrina não foi relatada.

Figura 8 – Risco de viés dos estudos incluídos nas revisões sistemáticas realizadas pelo grupo de pesquisa e que utilizaram fruto-oligossacarídeos (FOS) ou simbióticos contendo FOS.

	Gerção da sequência aleatória	Ocultamento da alocação	Cegamento de profissionais e participantes	Cegamento dos avaliadores de desfecho	Desfechos incompletos	Relato seletivo	Outros vieses
de Luis et al., 2013	?	?	+	?	+	+	?
Genta et al., 2009	?	?	+	+	+	+	?
Luo et al., 2000	?	?	?	?	+	+	?
Eslamparast et al., 2014	+	+	+	-	+	+	?
Malaguarnera et al., 2012	+	?	+	?	+	+	?
Moroti et al., 2012	+	?	+	+	+	+	?

Fonte: Do autor. (+) Baixo risco de viés. (?) Risco de viés incerto. (-) Alto risco de viés. Os três primeiros estudos referem-se ao prebiótico (FOS) e os últimos três aos simbióticos contendo FOS.

Diante dos resultados apresentados estratificados por tipo de intervenção, observa-se:

- Quanto ao ano de publicação:
 - Prebióticos: Um foi publicado nos últimos cinco anos, o que denota a necessidade de novos estudos em seres humanos com sobrepeso/obesidade quanto ao efeito de FOS em desfechos inflamatórios e metabólicos.
 - Simbióticos: Um foi publicado nos últimos cinco anos, o que denota a necessidade de novos estudos em seres humanos com

sobrepeso/obesidade quanto ao efeito de simbióticos contendo FOS.

➤ Quanto ao local de estudo:

- Prebióticos: Dois foram realizados na Europa e um na América do Sul. No entanto, nenhum estudo avaliado foi realizado no Brasil.
- Simbióticos: Um foi realizado no Oriente Médio; um na América do Sul (Brasil) e um na Europa.

➤ Quanto ao desenho do estudo:

- Prebióticos: Dois eram ensaios clínicos randomizados e controlados do tipo paralelo, enquanto um era do tipo *cross-over*. O tempo de *washout* aplicado foi de duas semanas (LUO et al., 2000). Não foi avaliado o efeito *carry-over*, limitando a confiabilidade nos achados.
- Simbióticos: Todos eram ensaios clínicos randomizados e controlados do tipo paralelo.

➤ Quanto ao mascaramento:

- Prebióticos: Todos eram duplos cegos, porém pela avaliação do risco de viés observa-se que **apenas um estudo apresentava baixo risco de viés para cegamento/mascaramento dos avaliadores de desfecho.**
- Simbióticos: Todos eram duplos cegos, porém pela avaliação do risco de viés observa-se que **apenas um estudo apresentava baixo risco de viés para cegamento/mascaramento dos avaliadores de desfecho, com um deles apresentando alto risco de viés.**

➤ Quanto ao tipo de indivíduo investigado:

- Prebióticos: Em um ensaio a amostra era composta tanto por indivíduos com sobrepeso quanto por obesidade, enquanto nos outros dois ensaios a amostra era composta apenas por indivíduos com obesidade, embora **nenhum ensaio avaliado tenha sido conduzido exclusivamente em indivíduos com obesidade mórbida (IMC \geq 40 kg/m²).**
- Simbióticos: Em dois ensaios a amostra era composta tanto por indivíduos com sobrepeso quanto por obesidade, enquanto em um ensaio a amostra era composta apenas por indivíduos com obesidade, embora **nenhum ensaio avaliado tenha sido**

conduzido exclusivamente em indivíduos com obesidade mórbida (IMC \geq 40 kg/m²).

- Quanto ao tipo de prebiótico e simbiótico administrado:
 - Prebióticos: Todos utilizaram FOS.
 - Simbióticos: Todos os ensaios utilizaram simbióticos diferentes, embora todos contendo FOS. **Entretanto, nos estudos avaliados não foi utilizado o mesmo simbiótico da presente pesquisa.**

- Quanto à dose:
 - Prebióticos: Variou de 9,8g/dia a 20g/dia. Dos ensaios conduzidos apenas em indivíduos obesos (independentemente do grau de obesidade) (DE LUIS et al., 2013; GENTA et al. 2009), as doses variaram entre 9,8g a 10g/dia. Nenhum estudo avaliado investigou doses de FOS acima de 10g/dia.
 - Simbióticos: A dose de prebiótico contido nos simbióticos administrados variou de 2,0 a 2,5 g/dia e a dose de probiótico contido nos simbióticos variou de 4×10^8 a 5×10^9 UFC/dia. No que se refere especificamente ao FOS, **nenhum ensaio avaliou simbióticos contendo uma dose de FOS acima de 2,5g/dia. Quanto aos ensaios com simbióticos que continham múltiplas cepas como fonte de probióticos, nenhum utilizou uma dose acima de 4×10^8 UFC/dia.**

- Quanto ao tempo de suplementação:
 - Prebióticos: Os três ensaios identificados (DE LUIS et al., 2013; GENTA et al. 2009; LUO et al., 2000) variaram de 28 a 120 dias.
 - Simbióticos: Variou de 30 a 196 dias.

- Quanto à presença ou não de comorbidades:
 - Prebióticos: Dois dos três ensaios relataram a presença de comorbidades na amostra investigada (GENTA et al., 2009; LUO et al., 2000).
 - Simbióticos: Todos os ensaios relataram a presença de comorbidades na amostra investigada.

➤ Quanto à presença ou não de menopausa, alterações no ciclo menstrual e uso de hormônios:

- Prebióticos: Um dos três ensaios relatou que as mulheres incluídas não tinham menopausa (GENTA et al., 2009), mas nenhum dos três ensaios fizeram menção à alterações no ciclo menstrual ou uso de hormônios.
- Simbióticos: Nenhum dos três ensaios fez menção à presença ou não de menopausa, alterações no ciclo menstrual ou uso de hormônios.

Estudos em animais têm mostrado que alterações em hormônios sexuais podem alterar significativamente a microbiota intestinal, a produção de AGCC e de ácidos biliares, a permeabilidade intestinal e o perfil de citocinas na mucosa cecal e no fígado (ORG et al., 2016; SHASTRI et al., 2015).

➤ Quanto aos medicamentos de uso contínuo:

- Prebióticos: Um ensaio (LUO et al., 2000) relatou que os pacientes utilizavam medicamentos de uso contínuo e outro ensaio relatou que não houve uso de medicamentos ao longo da intervenção (GENTA et al., 2009). O terceiro ensaio (DE LUIS et al., 2013) não fez menção sobre este assunto.
- Simbióticos: Todos os ensaios relataram se os pacientes utilizavam (ESLAMPARAST et al., 2014; MOROTI et al., 2012) ou não (MALAGUARNERA et al., 2012) medicamentos ao longo da intervenção.

➤ Quanto às orientações sobre atividade física e estilo de vida:

- Prebióticos: Dois dos três ensaios instruíram os participantes a manter o estilo de vida e/ou não praticar atividade física intensa, **embora não tenham feito qualquer avaliação destas variáveis durante a pesquisa (GENTA et al., 2009; LUO et al., 2000).**
- Simbióticos: Dois dos três ensaios instruíram os participantes a manter o estilo de vida e/ou não praticar atividade física intensa, **embora não tenham feito qualquer avaliação destas variáveis durante a pesquisa (ESLAMPARAST et al., 2014; MOROTI et al., 2012).**

➤ Quanto aos fumantes:

- Prebióticos: **O hábito tabágico não foi critério de exclusão em nenhum ensaio.**

- Simbióticos: O relato do número de fumantes estava presente em dois ensaios (MALAGUARNERA et al., 2012; ESLAMPARAST et al., 2014).
- Quanto à avaliação da ingestão dietética:
 - Prebióticos: **Nenhum ensaio avaliou a ingestão dietética durante a intervenção.**
 - Simbióticos: Apenas dois ensaios com simbióticos (ESLAMPARAST et al., 2014; MOROTI et al., 2012) avaliaram a ingestão dietética durante a intervenção.
- Quanto ao consumo de álcool:
 - Prebióticos: **Nenhum ensaio coletou dados do consumo de álcool durante a intervenção, nem orientou os participantes a evitar o consumo de bebidas alcoólicas.**
 - Simbióticos: **Nenhum ensaio coletou dados do consumo de álcool durante a intervenção**, mas em um ensaio os pesquisadores orientaram os participantes a evitar o consumo de bebidas alcoólicas (MALAGUARNERA et al., 2012) e em outro ensaio o consumo de álcool era critério de exclusão (ESLAMPARAST et al., 2014).
- Quanto ao peso estável antes da suplementação:
 - Prebióticos: Peso estável três meses antes da intervenção foi relatado em apenas um ensaio (DE LUIS et al., 2013).
 - Simbióticos: **Nenhum ensaio relatou se foi considerado peso estável antes da suplementação para inclusão no estudo.**
- Quanto à adesão à suplementação:
 - Prebióticos: Apenas um ensaio forneceu detalhes suficientes para certificar a adesão à suplementação, sem diferenças significativas entre os grupos (DE LUIS et al., 2013).
 - Simbióticos: **Nenhum dos ensaios forneceu detalhes suficientes para certificar a adesão à suplementação, sem diferenças significativas entre os grupos.**
- Quanto ao modelo de análise realizado:
 - Prebióticos: Um ensaio realizou a análise por intenção de tratar (DE LUIS et al., 2013). Os demais ensaios realizaram a análise alternativa (por protocolo).

- Simbióticos: Um ensaio realizou a análise por intenção de tratar (ESLAMPARAST et al., 2014). Os demais ensaios realizaram a análise alternativa (por protocolo).

De acordo com as características expostas, os ensaios apresentam heterogeneidade e fragilidades metodológicas. Assim sendo, os resultados serão descritos por meio de uma análise estratificada por tipo de desfecho encontrado nos ensaios e relacionados a presente proposta (marcadores inflamatórios, indicadores bioquímicos e antropométricos do estado nutricional).

a) Resultados em marcadores inflamatórios

- Prebióticos: Um ensaio avaliou a PCR (DE LUIS et al., 2013). Nenhum dos ensaios avaliou citocinas séricas/plasmáticas.
- Simbióticos: Dois ensaios (ESLAMPARAST et al., 2014; MALAGUARNERA et al., 2012) avaliaram marcadores inflamatórios, sendo que ambos avaliaram a PCR e uma citocina sérica (TNF- α). **Nenhum deles avaliou outras citocinas pró-inflamatórias, assim como não avaliaram citocinas anti-inflamatórias.** Os dois ensaios observaram redução significativa nas concentrações séricas dos marcadores inflamatórios avaliados. Ambos tem diferenças importantes, sendo elas a própria intervenção (simbióticos diferentes), o modelo de análise adotado (intenção de tratar com análise ajustada vs por protocolo sem análise ajustada) e o uso de medicações (uso de alguns fármacos era critério de exclusão vs uso de fármacos não era critério de exclusão). Contudo, os dois ensaios tinham características em comum, tais como: tipo de indivíduo (ambos os sexos com doença hepática gordurosa não alcoólica), sem redução significativa no IMC, ECR do tipo paralelo, duplo cego, sem conflito de interesses, os valores de TNF- α no início do estudo não eram significativamente diferentes entre os grupos e o tempo de suplementação era similar (168 e 196 dias). Embora os simbióticos utilizados não tenham sido os mesmos, ambos utilizaram o FOS como fonte de prebiótico, assim como o simbiótico da presente pesquisa.

A tabela 3 resume os resultados dos estudos com FOS e simbióticos contendo FOS no que diz respeito aos marcadores inflamatórios:

Tabela 3 - Frequências absolutas e relativas de ensaios clínicos e dos resultados obtidos, de acordo com o marcador inflamatório avaliado.

Marcador	Ensaio com prebióticos (n=3)			Ensaio com simbióticos (n=3)		
	Total	Resultado	Resultado	Total	Resultado	Resultado
	n (%)	significativo n (%) ^a	nulo n (%) ^b	n (%)	significativo n (%) ^a	nulo n (%) ^b
PCR	1 (33,3)	0 (0)	1 (33,3)	2 (66,6)	2 (66,6)	0 (0)
TNF- α	-	-	-	2 (66,6)	2 (66,6)	0 (0)

Abreviações: PCR – Proteína C-reativa; TNF- α – Fator de Necrose Tumoral alfa.

^aRedução significativa comparado ao grupo controle após a suplementação ($p < 0,05$).

^bSem mudança significativa comparado ao grupo controle após a suplementação ($p \geq 0,05$).

b) Resultados em indicadores bioquímicos do estado nutricional

- **Prebióticos:** Os três ensaios avaliaram indicadores bioquímicos do estado nutricional (DE LUIS et al., 2013; GENTA et al., 2009; LUO et al., 2000), incluindo colesterol total, LDL-c, HDL-c, triglicerídeos, glicose de jejum e insulina de jejum. Apenas um deles observou redução significativa do LDL-c, da glicemia de jejum e da insulina de jejum (GENTA et al., 2009). Este estudo tem importantes diferenças comparado aos outros dois estudos, tais como características clínicas (sobrepeso/obesidade com comorbidades vs somente obesidade com outras comorbidades), desenho do estudo (ECR do tipo paralelo vs ECR do tipo cross-over) e o sexo dos participantes (feminino vs ambos os sexos). **As evidências sobre o efeito de prebióticos sobre o perfil lipídico, glicose e insulina de jejum são limitadas e com características metodológicas diferentes, suscitando a necessidade da realização de mais ensaios clínicos randomizados, controlados e duplos/triplos cegos.**
- **Simbióticos:** Os três ensaios avaliaram indicadores bioquímicos do estado nutricional (ESLAMPARAST et al., 2014; MALAGUARNERA et al., 2012; MOROTI et al., 2012). Todos avaliaram a glicose de jejum, dois avaliaram a insulina de jejum

(ESLAMPARAST et al., 2014; MALAGUARNERA et al., 2012), dois avaliaram o colesterol total, HDL-c e triglicérides (MALAGUARNERA et al., 2012; MOROTI et al., 2012) e apenas um avaliou a LDL-c (MALAGUARNERA et al., 2012). Quanto ao perfil lipídico, um ensaio (MALAGUARNERA et al., 2012) observou redução significativa de algum parâmetro, neste caso, a LDL-c. Quanto à glicose e insulina de jejum, apenas um ensaio observou redução significativa destes parâmetros (ESLAMPARAST et al., 2014). **Os três ensaios com simbióticos apresentam importantes diferenças entre si no que diz respeito a tempo, dose, tipo de simbiótico, sexo dos participantes, comorbidades e tamanho amostral. Assim, mais ensaios clínicos randomizados, controlados e duplos/triplos cegos são necessários para possibilitar a compreensão do efeito de simbióticos sobre o perfil lipídico e os mecanismos associados.**

A tabela 4 resume os resultados dos estudos com FOS e simbióticos contendo FOS no que diz respeito aos indicadores bioquímicos do estado nutricional:

Tabela 4 - Frequências absolutas e relativas de ensaios clínicos e dos resultados obtidos, de acordo com o indicador bioquímico avaliado.

Indicador	Ensaio com prebióticos (n=3)			Ensaio com simbióticos (n=3)		
	Total	Resultado	Resultado	Total	Resultado	Resultado
	n (%)	significativo n (%) ^a	do nulo n (%) ^b	n (%)	significativo n (%) ^a	do nulo n (%) ^b
CT	3 (100)	0 (0)	3 (100)	2 (66,6)	0 (0)	2 (66,6)
LDL-c	3 (100)	1 (33,3)	2 (66,6)	1 (33,3)	1 (33,3)	0 (0)
HDL-c	3 (100)	0 (0)	3 (100)	2 (66,6)	0 (0)	2 (66,6)
TG	3 (100)	0 (0)	3 (100)	2 (66,6)	0 (0)	2 (66,6)
Glicose de jejum	3 (100)	1 (33,3)	2 (66,6)	3 (100)	1 (33,3)	2 (66,6)
Insulina de jejum	3 (100)	1 (33,3)	2 (66,6)	2 (66,6)	1 (33,3)	1 (33,3)

Abreviações: CT – Colesterol total; LDL – Lipoproteína de baixa densidade; HDL – Lipoproteína de alta densidade; TG – Triglicerídeos.

^aRedução significativa comparado ao grupo controle após a suplementação ($p < 0,05$).

^bSem mudança significativa comparado ao grupo controle após a suplementação ($p \geq 0,05$).

c) Resultados em indicadores antropométricos do estado nutricional

- **Prebióticos:** Os três ensaios avaliaram indicadores antropométricos (DE LUIS et al., 2013; GENTA et al., 2009; LUO et al., 2000). Todos avaliaram o IMC, dois avaliaram o peso corporal (DE LUIS et al., 2013; GENTA et al., 2009), um avaliou a relação cintura-quadril (DE LUIS et al., 2013) e um avaliou a circunferência da cintura (GENTA et al., 2009). Nenhum ensaio observou diferenças significativas entre os grupos antes e após a suplementação.
- **Simbióticos:** Dois ensaios avaliaram indicadores antropométricos (ESLAMPARAST et al., 2014; MALAGUARNERA et al., 2012). Os dois avaliaram o IMC e um deles (ESLAMPARAST et al.,

2014) a relação cintura-quadril. Nenhum ensaio observou diferenças significativas entre os grupos antes e após a suplementação.

É importante destacar que a amostra destes estudos foi composta por indivíduos com sobrepeso ou obesidade ou apenas obesidade em graus inferiores (I e II), portanto, não se sabe se o mesmo efeito seria observado em uma amostra composta apenas por indivíduos exclusivamente com obesidade mórbida.

O autor da presente proposta realizou um ECR triplo cego com indivíduos submetidos à cirurgia bariátrica (FERNANDES et al., 2016) e observou redução significativa do peso corporal do grupo suplementado com FOS comparado ao grupo controle, sendo essa diferença calculada pela subtração do peso final pelo inicial. Apesar dos participantes terem sido submetidos a uma cirurgia, todos tinham obesidade mórbida e utilizaram a mesma intervenção que será utilizada na presente pesquisa (FOS) em uma dosagem menor (6 g/dia) e com um tempo de suplementação menor (15 dias), assim, espera-se que haja efeito significativo de redução de parâmetros antropométricos. No estudo supracitado a dosagem e o tempo de suplementação foram menores devido ao risco potencial de formação de gases e, possivelmente, de deiscência de sutura após a cirurgia.

A tabela 5 resume os resultados dos estudos com FOS e simbióticos contendo FOS no que diz respeito aos indicadores antropométricos do estado nutricional:

Tabela 5 - Frequências absolutas e relativas de ensaios clínicos e dos resultados obtidos, de acordo com o indicador bioquímico avaliado.

Indicador	Ensaio com prebióticos (n=3)			Ensaio com simbióticos (n=3)		
	Total n (%)	Resultado significativo n (%) ^a	Resultado nulo n (%) ^b	Total n (%)	Resultado significativo n (%) ^a	Resultado nulo n (%) ^b
CT	3 (100)	0 (0)	3 (100)	2 (66,6)	0 (0)	2 (66,6)
LDL-c	3 (100)	1 (33,3)	2 (66,6)	1 (33,3)	1 (33,3)	0 (0)
HDL-c	3 (100)	0 (0)	3 (100)	2 (66,6)	0 (0)	2 (66,6)
TG	3 (100)	0 (0)	3 (100)	2 (66,6)	0 (0)	2 (66,6)

Abreviações: IMC – Índice de Massa Corporal; RCQ – Relação Cintura-Quadril; CC – Circunferência da cintura. ^aRedução significativa comparado ao grupo controle após a suplementação ($p < 0,05$). ^bSem mudança significativa comparado ao grupo controle após a suplementação ($p \geq 0,05$).

3 JUSTIFICATIVA, ORIGINALIDADE, RELEVÂNCIA E CONTRIBUIÇÕES CIENTÍFICA E PARA A PRÁTICA CLÍNICA

A JUSTIFICATIVA deste estudo está baseada:

- Nas evidências pouco consistentes sobre o impacto do FOS e de simbióticos contendo FOS em humanos com obesidade devido a fragilidades metodológicas e outras importantes diferenças entre os estudos disponíveis na literatura, tais como: desenho do estudo, tipo de amostra, dose, tempo de suplementação, presença de comorbidades, medicamentos em uso, exposição a diferentes fatores de risco ambientais, adesão à suplementação e modelo de análise, considerando os potenciais efeitos benéficos destes produtos alimentares na resposta inflamatória e indicadores do estado nutricional em indivíduos com obesidade.

A ORIGINALIDADE encontra-se descrita nos itens a seguir:

- A ausência de estudos que investigaram o efeito de prebióticos e simbióticos exclusivamente em indivíduos com obesidade mórbida ($IMC \geq 40 \text{ kg/m}^2$);
- Reduzido número de estudos que coletaram dados referentes a potenciais fatores de confundimento ou modificadores de efeitos, tais como 1) Presença de comorbidades; 2) Medicamentos em uso; 3) Consumo de álcool; 4) Hábito tabágico; 5) Peso estável antes da suplementação; e 6) Adesão à suplementação, caracterizando a fragilidade no rigor científico-metodológico de parte dos estudos incluídos na busca;
- Quanto à dose:
 - ❖ Prebióticos: Não foram encontrados estudos que investigaram doses de FOS acima de 10 g/dia.
 - ❖ Simbióticos: Não foram encontrados estudos que investigaram o efeito de simbióticos contendo: 1) Dose de FOS acima de 2,5 g/dia; e 2) Múltiplas espécies de probióticos com dose acima de 4×10^8 UFC/dia.
- Quanto aos desfechos:
 - ❖ Prebióticos: Não foram encontrados estudos que investigaram o efeito de FOS em citocinas

séricas/plasmáticas, considerando o potencial anti-inflamatório do FOS.

- ❖ Simbióticos: Reduzido número de estudos que investigaram o efeito de FOS em citocinas séricas/plasmáticas, sendo que não foram encontrados estudos que investigaram citocinas anti-inflamatórias.

A RELEVÂNCIA desta proposta reside nas lacunas do conhecimento teórico sobre o efeito de prebióticos e simbióticos em um quadro de obesidade mórbida, considerando o potencial anti-inflamatório e de melhora de indicadores do estado nutricional destes produtos alimentares.

Quanto a CONTRIBUIÇÃO CIENTÍFICA, está baseada nas informações inéditas provenientes dos resultados desta pesquisa sobre desfechos ainda não investigados em seres humanos com obesidade mórbida, contribuindo para o preenchimento, ainda que parcial, de uma lacuna científica nesta área do conhecimento. No que diz respeito à qualidade da evidência, o desenho do estudo (ensaio clínico randomizado, controlado e triplo cego) e o rigor metodológico que foi adotado permitirão obter resultados fidedignos.

Com isso, a CONTRIBUIÇÃO PARA A PRÁTICA CLÍNICA está pautada no fornecimento de evidências para a tomada de decisões clínicas nutricionais quanto ao uso de FOS e simbiótico contendo como adjuvantes não farmacológicos no tratamento da obesidade mórbida.

4 OBJETIVOS

4.1 GERAL

Avaliar o efeito da suplementação de prebiótico ou simbiótico em marcadores inflamatórios (proteína de fase aguda e citocinas inflamatórias) e indicadores bioquímicos e antropométricos do estado nutricional em indivíduos com obesidade mórbida.

4.2 ESPECÍFICOS

- ✓ Elaborar revisão sistemática da literatura, a fim de encontrar e reunir as evidências existentes sobre o efeito de prebióticos e simbióticos em marcadores inflamatórios em indivíduos com sobrepeso ou obesidade;
- ✓ Avaliar o comportamento de marcadores inflamatórios (Proteína C-reativa, IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, IL-12p70 e TNF- α) antes e após a suplementação com prebiótico ou simbiótico;
- ✓ Avaliar o comportamento de indicadores bioquímicos do estado nutricional (Colesterol total, HDL-colesterol, LDL-colesterol, triglicerídeos, glicemia de jejum, insulina de jejum, hemoglobina glicada e HOMA-IR) antes e após a suplementação com prebiótico ou simbiótico;
- ✓ Avaliar indicadores antropométricos do estado nutricional (peso corporal, índice de massa corporal e circunferência da cintura) antes e após a suplementação com prebiótico ou simbiótico;

5 HIPÓTESES

a) Hipóteses primárias a serem confirmadas ou refutadas:

- ✓ Revisão sistemática da literatura: as evidências dos estudos científicos indicarão que a suplementação de prebióticos ou simbióticos reduz as concentrações plasmáticas de marcadores inflamatórios (citocinas, proteína C-reativa e lipopolissacarídeo) em indivíduos com sobrepeso ou obesidade.
- ✓ Ensaio clínico: A suplementação com prebiótico ou simbiótico reduzirá as concentrações plasmáticas da proteína C-reativa, IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-12p70 e TNF- α , enquanto aumentará as concentrações plasmáticas de IL-10.

b) Hipóteses secundárias a serem confirmadas ou refutadas:

- ✓ Ensaio clínico: A suplementação com prebiótico ou simbiótico pode contribuir para a redução das concentrações séricas de colesterol total, LDL-colesterol, triglicerídeos, glicose de jejum e insulina de jejum, as concentrações sanguíneas de hemoglobina glicada e o índice HOMA-IR, enquanto pode contribuir para o aumento das concentrações de HDL-colesterol.
- ✓ Ensaio clínico: A suplementação com prebiótico ou simbiótico pode contribuir para a redução do peso corporal, do índice de massa corporal e da circunferência da cintura.

6 MATERIAIS E MÉTODOS

6.1 MÉTODO DA REVISÃO SISTEMÁTICA DA LITERATURA

A revisão sistemática da literatura teve como objetivo reunir os achados de ensaios clínicos randomizados e controlados quanto aos efeitos da suplementação de prebióticos ou simbióticos em marcadores inflamatórios em indivíduos com sobrepeso ou obesidade. Como já mencionado, são escassos os estudos que avaliaram indivíduos somente com obesidade. Por este motivo, optou-se por incluir também ensaios clínicos em indivíduos com sobrepeso.

Para a elaboração desta revisão, foram seguidas as orientações da declaração PRISMA (*Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analysis*) (LIBERATI et al., 2009) e do *Handbook* para revisões sistemáticas de estudos de intervenção, elaborado pelo grupo Cochrane (HIGGINS; GREEN, 2011).

A sequência de etapas executadas na revisão sistemática está descrita no fluxograma da figura 9. Estas etapas foram delineadas para responder a perguntas de pesquisa utilizando a estratégia PICO:

P – paciente: indivíduos com sobrepeso ou obesidade ($IMC \geq 25,0 \text{ kg/m}^2$);

I – intervenção: prebióticos ou simbióticos;

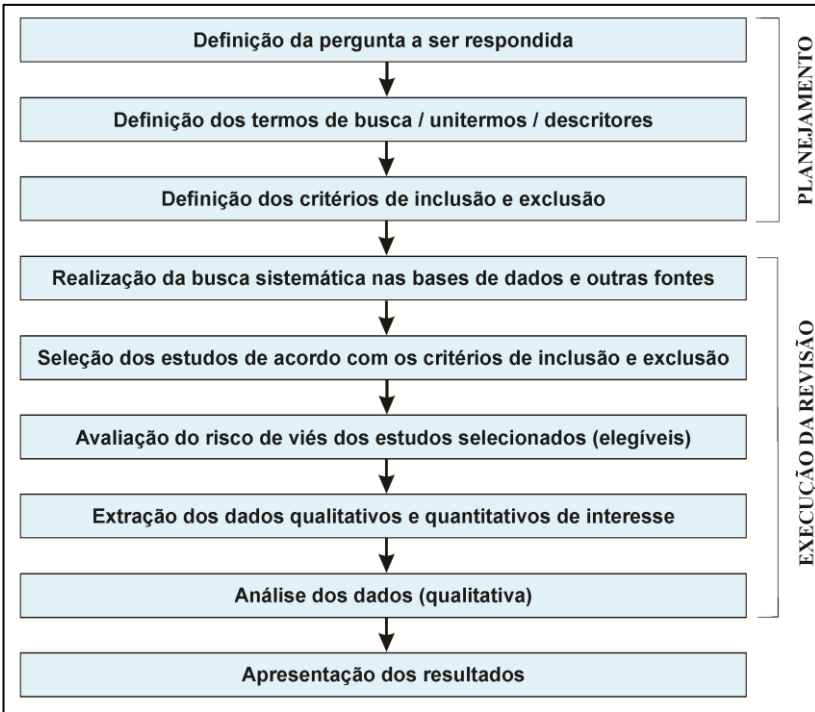
C – comparador: grupo controle recebendo placebo ou não;

O – desfechos: marcadores inflamatórios (citocinas, proteínas de fase aguda e LPS).

Após a definição das perguntas de pesquisa, foram definidos os unitermos (termos de busca/descriptores) com base em palavras-chave de estudos conhecidos, nos *Medical Subject Headings (MeSH terms)*, e em termos comuns da temática, considerando todas as possíveis variações de escrita. Também foram definidas as estratégias de busca, considerando o uso de operadores booleanos (OR e AND), aspas (“”), símbolos de truncamento (\$/*) e parênteses, adaptando a estratégia de acordo com as particularidades de cada base de dados pesquisada.

Os critérios de inclusão foram: ensaios clínicos randomizados e controlados; uso de prebióticos ou simbióticos em seres humanos com sobrepeso ou obesidade ($IMC \geq 25,0 \text{ kg/m}^2$); amostra composta por adultos entre 18 a 65 anos; avaliação de pelo menos um desfecho de interesse; idioma de publicação em inglês, português, espanhol ou francês. Também foram definidos os critérios de exclusão: artigos publicados em outra língua que não as mencionadas anteriormente; resumos, anais de eventos e literatura cinzenta.

Figura 9: Fluxograma dos passos executados na elaboração da revisão sistemática.



Fonte: adaptado de Liberati et al. (2009) e Higgins & Green (2011).

A busca por estudos potencialmente elegíveis foi realizada em quatro bases de dados (PubMed, Scopus, Web of Science e CENTRAL [*The Cochrane Central Register of Controlled Trials*]), nas referências de estudos clínicos e de revisões relevantes sobre o tema. As listas de referências resultantes em cada base de dados foram transferidas para um software gerenciador de referências, a fim de subsidiar as etapas seguintes de identificação e exclusão de estudos repetidos, além de facilitar o processo de seleção dos estudos.

A triagem dos estudos foi realizada pela leitura dos títulos, sendo eliminados aqueles discrepantes dos objetivos da revisão. Os estudos cujos títulos forneceram aparente elegibilidade, tiveram resumo e texto completos analisados para confirmação do preenchimento dos critérios de inclusão. Aqueles elegíveis tiveram os seguintes dados extraídos por

dois revisores independentes (incluindo o autor desta tese de doutorado): autor e ano, país de realização, desenho do estudo, características dos participantes (sexo, idade, IMC, medicamentos de uso contínuo, comorbidades), tamanho amostral, composição, dose e tempo de suplementação dos prebióticos ou simbióticos, dados relativos ao cegamento e a randomização, avaliação da ingestão dietética e da microbiota intestinal, proporção de perdas no seguimento em cada braço do estudo, dados sobre o estilo de vida e atividade física, dados sobre consumo de álcool e hábito tabágico, peso estável antes da suplementação, adesão à suplementação, efeitos adversos, estratégia de análise estatística (por protocolo ou intenção de tratar) e desfechos de interesse (valores antes e após a suplementação). Ao mesmo tempo que foi feita a leitura dos artigos para a extração dos dados mencionados, também foi realizada a avaliação do risco de viés dos estudos pelos revisores, de maneira independente. Esta etapa foi realizada com o uso da ferramenta da Cochrane (HIGGINS; GREEN, 2011). A avaliação da qualidade do relato também foi realizada utilizando o *checklist* do CONSORT (*Consolidated Standards of Reporting Trials*) (SCHULZ, ALTMAN, MOHER, 2010). Todos os dados foram registrados em planilhas para comparação entre os revisores ao final das etapas. Em qualquer divergência de opinião, os artigos foram consultados novamente por ambos os revisores até se chegar a um consenso. Dados necessários e não disponíveis nos artigos foram solicitados por e-mail ao autor correspondente informado na publicação.

É importante destacar que a realização destas etapas por dois revisores independentes é essencial para evitar possíveis erros de identificação/interpretação das informações ou, até mesmo, erros na digitação dos dados extraídos.

Na sequência, foram realizadas análises inferenciais (apenas considerando os resultados encontrados em cada estudo), sem realização de meta-análise. Embora planejado, não foi realizada meta-análise devido a importantes diferenças metodológicas entre os estudos incluídos: diferentes tipos de prebióticos e simbióticos utilizados, diferentes metodologias laboratoriais para mensurar os desfechos, heterogeneidade clínica substancial (diferentes comorbidades, medicamentos utilizados, falta de avaliação da atividade física, informações limitadas sobre uso de álcool e tabaco, veículo de suplementação (pó, cápsulas, acrescentado em bebidas ou alimentos), diferentes desenhos de estudos (paralelo *vs* *cross-over*), estratégias de análise (por protocolo *vs* intenção de tratar) e baixa qualidade do relato na maioria dos estudos, dificultando a avaliação adequada do risco de

viés. Realizar uma meta-análise nesta situação poderia gerar resultados falsos positivos ou falsos negativos.

A revisão sistemática já foi publicada e está disponível na seção de resultados (subseção 7.1).

6.2 MÉTODO DO ENSAIO CLÍNICO

6.2.1 Delineamento do estudo

Ensaio clínico randomizado¹, placebo-controlado e triplo cego, com três braços paralelos, registrado na Plataforma *ClinicalTrials.gov* sob identificação NCT02660333.

O presente projeto foi planejado utilizando duas ferramentas recomendadas por revistas e sociedades científicas para avaliação de ensaios clínicos randomizados e controlados, tais como a lista de checagem do CONSORT (*Consolidated Standards of Reporting Trials*) (SCHULZ, ALTMAN, MOHER, 2010) e a ferramenta da Cochrane para avaliação do risco de viés (HIGGINS et al., 2011).

A ferramenta do CONSORT consiste em uma lista de checagem composta de 37 itens e subitens que formam um conjunto mínimo de recomendações para relatar apropriadamente o desenho, análise e resultados de ensaios clínicos randomizados e controlados. Já a ferramenta da Colaboração Cochrane analisa o risco de ocorrência de seis domínios de viés: viés de seleção, viés de performance, viés de detecção, viés de atrito, viés de relato e outros vieses. O julgamento é subjetivo (alto risco de viés, baixo risco de viés e risco de viés incerto) e cada desfecho deve ser julgado separadamente.

6.2.2 Participantes do estudo

A amostra do estudo foi atingida por saturação temporal com início da coleta em janeiro de 2016 e término da coleta em fevereiro de 2018, sendo constituída por indivíduos adultos com obesidade mórbida ($IMC \geq 40 \text{ kg/m}^2$) assistidos pelo Hospital Universitário Polydoro Ernani de São Thiago da Universidade Federal de Santa Catarina no ambulatório de Obesidade e Cirurgia Bariátrica, de responsabilidade da equipe de Endocrinologia e Metabologia.

Os critérios de inclusão foram: indivíduos adultos (18-60 anos) de ambos os sexos com índice de massa corporal ($IMC \geq 40 \text{ kg/m}^2$). Os critérios de exclusão foram: indivíduos com doenças gastrointestinais prévias (ex: câncer e doenças inflamatórias intestinais); intolerâncias

e/ou alergias alimentares (ex: intolerância à lactose e doença celíaca); uso de álcool e/ou de drogas ilícitas; uso de fármacos anti-inflamatórios e/ou antibióticos e/ou imunossuppressores até três meses antes; uso regular de laxativos, analgésicos e inibidores de apetite; uso atual ou prévio (até um mês) de prebióticos, probióticos, simbióticos ou produtos enriquecidos com estes ingredientes; apresentar intolerância a prebióticos e/ou probióticos e/ou simbióticos; seguimento de uma dieta para perda de peso nos últimos três meses; grávidas ou lactantes; seguimento atual de dietas não usuais (ex: vegetariana, macrobiótica, paleolítico) e fumantes. A elegibilidade foi confirmada mediante análise do prontuário do indivíduo na instituição e por questionamentos feitos ao paciente.

Foram incluídos nos critérios de exclusão aqueles que seguiam dietas não usuais, que apresentava intolerâncias e/ou alergia alimentar ou que fazia uso de fármacos que podiam alterar diretamente a microbiota, o sistema imunológico e o apetite, uma vez que são fatores confundidores ou modificadores de efeito neste tipo de intervenção.

Como critérios de descontinuação, os participantes que ficaram por dois dias consecutivos ou mais sem consumir o suplemento. O ponto de corte de dois dias foi baseado em uma pesquisa com seres humanos que mostrou uma mudança estrutural significativa da comunidade microbiana após dois dias de uma intervenção dietética (DAVID et al., 2014). Estas alterações foram caracterizadas por mudanças na abundância relativa de grupos taxonômicos bacterianos, na atividade microbiana e na expressão gênica microbiana de vários módulos e vias metabólicas. Estes fatores acarretaram em padrões diferenciados de motilidade gastrointestinal, mudanças nos tipos de AGCC produzidos, mudanças na concentração de cetonas na urina, no peso das fezes e na expressão microbiana de genes envolvidos no metabolismo da glicose e de aminoácidos.

Todos os participantes receberam esclarecimento padronizado sobre o tratamento nutricional para perda de peso, visando respeitar critérios éticos quanto à participação no estudo sem impossibilitar acesso ao tratamento nutricional (ANEXO A). Ainda, foi orientado aos indivíduos que durante o período de suplementação evitassem: praticar atividade física intensa; consumir bebida alcoólica e alimentos enriquecidos com prebióticos, probióticos ou simbióticos (APÊNDICE A).

Os pesquisadores e colaboradores realizaram a triagem dos indivíduos que estavam em sua primeira consulta no ambulatório de Obesidade e Cirurgia Bariátrica. Para os indivíduos aptos, foi

apresentada a proposta de pesquisa e efetuado o convite de participação. A assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) ocorreu neste mesmo momento, após leitura em conjunto (APÊNDICE B).

6.2.3 Momentos do estudo

O estudo constou de dois momentos experimentais: M_0 (basal) - momento da primeira consulta ambulatorial e início da suplementação com prebiótico, simbiótico ou placebo; M_1 (final) – momento após 30 dias do início da suplementação com prebiótico, simbiótico ou placebo.

A identificação dos indivíduos potencialmente elegíveis foi realizada pelos pesquisadores após a primeira consulta no ambulatório de Obesidade e Cirurgia Bariátrica do HU/UFSC. Em caso de cumprimento dos critérios estabelecidos, foi apresentado o estudo e realizado o convite para participação. Aqueles que aceitaram participar assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) após a sua leitura (realizada pelo pesquisador) e explicação das dúvidas que poderiam surgir. Na sequência, os indivíduos foram randomizados para um dos três grupos de estudo: Grupo prebiótico (GP), Grupo simbiótico (GS) ou Grupo controle (GC). Neste momento, os indivíduos receberam a caixa contendo os sachês referentes ao grupo para o qual fora alocado, assim como as orientações de consumo.

Ainda no momento basal, os indivíduos foram submetidos às avaliações iniciais pretendidas (dados de caracterização, coleta de sangue para avaliação de indicadores bioquímicos e antropométricos do estado nutricional, coleta de dados clínicos e da ingestão dietética) (APÊNDICES C a E). A ingestão dos suplementos foi continuada pelos 30 dias seguintes, caracterizando o momento final, em que foram realizadas as mesmas avaliações do momento basal, com exceção dos dados de caracterização.

Os pesquisadores mantiveram contato presencial com os indivíduos em análise (quando eles se dirigiam ao HU/UFSC) ou via ligação telefônica uma vez por semana, visando o registro da adesão ao tratamento e a identificação de possíveis efeitos adversos associados ao uso dos suplementos.

6.2.4 Randomização, ocultamento da alocação e mascaramento

Os participantes foram distribuídos aleatoriamente a um dos grupos de tratamento por meio de uma lista de randomização gerada

pelo software estatístico Stata[®] v.13.1 para Windows (StataCorp, Texas, EUA), consistindo em blocos permutados de forma aleatória com três pacientes cada (1:1:1). Após, os grupos de tratamento foram substituídos por códigos numéricos aleatórios com três dígitos, gerados por meio de uma tabela de números aleatórios, para que houvesse o ocultamento da alocação. Esta etapa foi realizada por um pesquisador não envolvido com a pesquisa. Os pesquisadores que recrutaram e acompanharam os participantes apenas tiveram acesso à lista contendo os blocos e os códigos numéricos de randomização, não havendo como prever qual grupo o indivíduo seria alocado.

Os participantes do estudo e os pesquisadores foram mascarados em relação ao consumo e a distribuição da suplementação, respectivamente. Os suplementos e o placebo foram pré-embalados em sachês opacos e fechados pelo fornecedor com os códigos de randomização, sendo idênticos em aparência física, sabor e cor. Os códigos de identificação dos suplementos só foram revelados pela empresa fornecedora após a análise estatística dos dados do estudo, caracterizando o estudo como triplo cego.

6.2.5 Caracterização dos suplementos nutricionais

Os suplementos prebiótico (FiberFOS[®] - Invictus FarmaNutrição, Grupo FQM, Rio de Janeiro, Brasil) e simbiótico (Simbioflora[®] - Invictus FarmaNutrição, Grupo FQM, Rio de Janeiro, Brasil), apresentam as seguintes composições e informações nutricionais:

Quadro 3 - Informação da composição (FiberFOS[®]).

FiberFOS [®] - 2 sachês	
Composição	Quantidade
Fruto-oligossacarídeos	11 gramas

Registro no Ministério da Saúde: 6.6637.0006.

Fonte: Invictus, 2018a.

Quadro 4 - Informações nutricionais do prebiótico (FiberFOS®).

Porção de 12 g de FiberFOS® - 2 sachês		
	Quantidade por porção	VD*
Valor Energético	19 kcal ou 40 kJ	1%
Carboidratos	0,6 g	0,2%
Proteínas	0 g	0%
Gorduras Totais	0 g	0%
Gorduras Saturadas	0 g	0%
Gorduras Trans	0 g	0%
Fibra Alimentar (Fruto-oligossacarídeos)	11 g	44%
Sódio	0 mg	0%

*% Valores Diários com base em uma dieta de 2000 kcal ou 8400 kJ. Seus valores diários podem ser maiores ou menores dependendo de suas necessidades energéticas. **VD não estabelecida.

Registro no Ministério da Saúde: 6.6637.0006.

Fonte: Invictus, 2018a.

Quadro 5 - Informação da composição (Simbioflora®).

Simbioflora® - 2 sachês	
Composição	Quantidade
<i>Lactobacillus paracasei</i> LPC-37	2x10 ⁹ UFC
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> HN001	2x10 ⁹ UFC
<i>Lactobacillus acidophilus</i> NCFM	2x10 ⁹ UFC
<i>Bifidobacterium lactis</i> HN019	2x10 ⁹ UFC
Fruto-oligossacarídeos (FOS)	11 gramas

Registro no Ministério da Saúde: 6.6637.0001.

Fonte: Invictus, 2018b.

Quadro 6 - Informações nutricionais do simbiótico (Simbioflora®).

Porção de 12 g de FiberFOS® - 2 sachês		
	Quantidade por porção	VD*
Valor Energético	19 kcal ou 40 kJ	1%
Carboidratos	0,6 g	0,2%
Proteínas	0 g	0%
Gorduras Totais	0 g	0%
Gorduras Saturadas	0 g	0%
Gorduras Trans	0 g	0%
Fibra Alimentar (Fruto-oligossacarídeos)	11 g	44%
Sódio	0 mg	0%

*% Valores Diários com base em uma dieta de 2000 kcal ou 8400 kJ. Seus valores diários podem ser maiores ou menores dependendo de suas necessidades energéticas. **VD não estabelecida.

Registro no Ministério da Saúde: 6.6637.0006.

Fonte: Invictus, 2018b.

O placebo utilizado foi a maltodextrina, na mesma quantidade dos suplementos supracitados (11 gramas/dia).

A dose utilizada foi baseada em estudos presentes na revisão sistemática conduzida pelo nosso grupo de pesquisa (FERNANDES et al., 2017) que mostrou redução estatisticamente significativa de parâmetros inflamatórios com uso de frutanos do tipo inulina com 10 g/dia.

Os indivíduos foram orientados a consumir dois sachês por dia durante 30 dias em momentos distintos: um sachê em jejum e um sachê no intervalo das refeições. A forma de consumo orientada era a diluição de cada sachê em 100 mL de água em temperatura ambiente até completa diluição (APÊNDICE F).

Os participantes foram orientados a registrar e informar aos pesquisadores todo e qualquer evento que poderia ser considerado um efeito adverso da suplementação. Para tanto, contatos de correio eletrônico e de telefone dos pesquisadores foram disponibilizados aos participantes para comunicarem qualquer intercorrência associada à suplementação.

Conforme uma revisão sistemática da literatura com meta-análise (BESERRA et al., 2015) realizada pelo nosso grupo de pesquisa sobre os efeitos de prebióticos e simbióticos em parâmetros metabólicos em indivíduos com sobrepeso e obesidade, e em outra revisão sistemática da

literatura já publicada também pelo nossos grupo de pesquisa (FERNANDES et al., 2017) quanto aos efeitos de prebióticos e simbióticos em marcadores inflamatórios em indivíduos com sobrepeso e obesidade, não houve desistência dos participantes nos estudos que relataram a ocorrência de reações adversas, independente da dose (1,08 a 21 g/dia) ou tempo de suplementação (28 a 198 dias). Além disso, as reações relatadas eram de baixa intensidade e apenas nos primeiros dias de suplementação, indicando que em alguns indivíduos pode haver um período de adaptação. As reações adversas ocorridas nos estudos foram: flatulência, diarreia, constipação, inchaço e dor abdominal.

Os suplementos utilizados nesse estudo foram doados pela empresa Invictus Farmanutrição[®], sem nenhum conflito de interesse com os pesquisadores. Estes suplementos estão registrados na Agência Nacional da Vigilância Sanitária na categoria de alimentos com alegação de propriedades funcionais e/ou de saúde (BRASIL, 2012, 2013b).

6.2.6 Instrumentos e técnicas de coleta de dados

6.2.6.1 Caracterização dos indivíduos

Os indivíduos participantes do estudo foram caracterizados quanto a:

- a) Dados pessoais: nome completo, sexo, data de nascimento, procedência, endereço residencial, telefone e número do prontuário;
- b) Dados clínicos: Comorbidades associadas, fármacos utilizados, alterações gastrointestinais prévias, consistência e formato das fezes, uso de suplementos vitamínicos e minerais, prática de atividade física e dados sobre o período menstrual.
- c) Dados bioquímicos: Valores iniciais do peso corporal, IMC e CC.

Estas informações foram coletadas diretamente com o paciente e/ou no prontuário do paciente no HU/UFSC.

6.2.6.2 Coleta e preparo do material biológico

Aproximadamente 15 mL de sangue foram coletados em cada momento do estudo por técnico de laboratório capacitado de acordo com técnica padronizada (WHO, 2010) na região cubital do antebraço, utilizando tubos contendo heparina sódica (sistema Vacutainer[®] BD

Biosciences - Abingdon, UK), EDTA (sistema Vacutainer[®] BD Biosciences - Abingdon, UK) ou gel separador (sistema Vacutainer[®] BD Biosciences - Abingdon, UK), em jejum prévio de 8 a 10 horas.

O tubo de sangue com heparina foi acondicionado em caixa térmica e transportado até o Laboratório de Investigação em Doenças Crônicas do Departamento de Ciências Fisiológicas da UFSC para preparação e armazenamento do plasma. As amostras foram centrifugadas no próprio tubo de coleta a 2500 rpm por sete minutos em temperatura ambiente para separação do plasma. Alíquotas de 500 µL foram transferidas para quatro criotubos com capacidade de 2 mL cada, devidamente identificados e armazenados a -80°C. Durante e ao final do estudo foram realizadas a determinação de citocinas plasmáticas no Laboratório de Pesquisa em Imunologia do Departamento de Análises Clínicas da UFSC. Importante destacar que as análises de citocinas foram feitas dentro de um ano após o armazenamento em freezer a -80°C, evitando possíveis perdas de analito por longo período de armazenamento.

O tubo de sangue com gel separador foi avaliado no laboratório de Análises Clínicas do HU/UFSC. O sangue foi deixado em repouso por 10 minutos até completa coagulação. Em seguida, foi centrifugado por um período de cinco minutos a 2500 rpm para a separação do soro.

O tubo de sangue com EDTA para determinação de hemoglobina glicada no sangue total foi avaliado no laboratório de análises clínicas do HU/UFSC.

6.2.6.3 Determinação de marcadores inflamatórios e de indicadores bioquímicos do estado nutricional

- a) PCR: foi determinado pelo método de turbidimetria por procedimento automatizado (Dimension RxL Max[®] integrated chemistry system, Siemens Healthcare GmbH, Erlangen, Alemanha) utilizando reagentes específicos.
- b) Citocinas: IL-1β, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12p70 e TNF foram determinadas por citometria de fluxo (BD Biosciences FACSVerse flow cytometer[®] - BD Biosciences, San Diego, CA, EUA) utilizando o kit comercial Cytometric Bead Array - Human Inflammatory Cytokine Kit[®] (BD Biosciences, San Diego, CA, EUA) e seguindo as instruções do fabricante. Foram expressas em pg/mL.
- c) Insulina de jejum: foi determinada pelo ensaio imunométrico por quimioluminescência (Siemens Healthcare Diagnostics Inc.,

- Newark, DE, USA) utilizando reagentes específicos. As concentrações foram expressas em $\mu\text{UI/mL}$.
- d) Glicemia de jejum: foi determinada pelo método enzimático, de acordo com as instruções do fabricante (Dimension RxL Max[®] - Siemens Healthcare Diagnostics Inc. Newark, DE, U.S.A.). As concentrações foram expressas em mg/dL .
- e) Hemoglobina glicada: foi determinada pelo método de cromatografia de troca iônica, certificado pela *National Glycohemoglobin Standardization Program* (NGSP), utilizando o equipamento D-10 Hemoglobin A1C da BIO-RAD[®] (Bio-Rad Laboratories, Berkeley, CA, USA), por meio de reagentes específicos. As concentrações foram expressas em porcentagem.
- f) Colesterol total, HDL-colesterol, LDL-colesterol e triglicerídeos: foram determinados pelo método enzimático colorimétrico de acordo com as instruções do fabricante (Dimension RxL Max[®] - Siemens Healthcare Diagnostics Inc. Newark, DE, U.S.A.). O LDL-colesterol foi determinado utilizando a equação de Friedewald ($\text{LDL-c} = \text{Colesterol total} - \text{HDL-c} - \text{Triglicerídeos}/5$) (FRIEDEWALD; LEVY; FREDRICKSON, 1972). As concentrações foram expressas em mg/dL para todas as variáveis.
- g) Índice HOMA-IR: foi determinado por meio da seguinte fórmula: $\text{insulina de jejum} (\mu\text{UI/mL}) \times \text{glicemia de jejum} (\text{mmol/L})/22,5$. Para converter a glicemia de jejum para mmol/L , foi multiplicado o valor obtido em mg/dL por 0,0555.

6.2.6.4 Indicadores antropométricos do estado nutricional

Para a avaliação do estado nutricional foram realizadas aferições antropométricas de peso e estatura por pesquisadores capacitados, seguindo técnicas propostas pela WHO (1995) e de circunferência da cintura, seguindo técnicas também propostas pela WHO (2008).

O peso atual foi aferido em balança de plataforma calibrada com capacidade máxima de 150 kg e escala de 100 g, da marca Toledo[®] (Toledo do Brasil[®], São Bernardo do Campo, SP, Brasil). Para aqueles com mais de 150 kg, foi utilizada uma balança eletrônica calibrada (Welmy[®], Santa Bárbara do Oeste, SP), com capacidade de 300 kg e precisão de 50 g. Os indivíduos foram pesados com o mínimo de indumentária, descalços, na posição ereta no centro da plataforma da balança e com os braços soltos ao longo do tronco (WHO, 1995).

A estatura foi medida por estadiômetro acoplado à plataforma com capacidade de 2 m e precisão de 0,5 cm. A estatura dos participantes foi aferida com o indivíduo descalço ou com meias finas e usando poucas roupas de modo que o posicionamento do corpo pudesse ser visto. Os indivíduos participantes ficaram sobre uma superfície plana, com o peso distribuído uniformemente em ambos os pés, em posição ereta, braços pendentes ao lado do corpo, colocando as superfícies posteriores dos calcanhares, as nádegas e a região occipital em contato com a escala de medida. A posição da cabeça foi orientada de modo que a linha de visão estivesse perpendicular ao corpo e paralela ao solo. Os indivíduos foram orientados a inspirar profundamente e manter-se numa posição totalmente ereta. A referência para a mensuração foi o ponto mais alto da cabeça com pressão suficiente para comprimir o cabelo (WHO, 1995).

A classificação do estado nutricional foi realizada pelo IMC utilizando-se os pontos de corte definidos pela WHO (2000), conforme descrito no Quadro 7. O IMC é definido como uma relação do peso em quilogramas com o valor da estatura em metros ao quadrado (kg/m^2).

Quadro 7 - Classificação do estado nutricional segundo o Índice de Massa Corporal.

Classificação	Índice de Massa Corporal (kg/m^2)
Eutrofia	18,50-24,99
Sobrepeso	$\geq 25,00$
Pré-obesidade	25,00-29,99
Obesidade grau I	30,00-34,99
Obesidade grau II	35,00-39,99
Obesidade grau III	$\geq 40,00$

Fonte: WHO (2000).

Para a medida de circunferência da cintura, foi utilizada uma fita métrica (Sanny[®], Califórnia, EUA) inextensível com precisão de 0,1 cm. Na verificação da circunferência da cintura, a fita foi colocada em plano horizontal ao nível do ponto médio entre a costela inferior e a crista ilíaca. O indivíduo foi orientado a permanecer em pé, ereto, com os pés juntos, braços estendidos ao lado do corpo e peso uniformemente distribuído, usando o mínimo de indumentária. As medidas foram aferidas no final de uma expiração normal. Cada medição foi repetida

duas vezes; se as medições diferissem em cerca de 1 cm, a média seria calculada (WHO, 2008).

6.2.6.5 Estimativa da ingestão dietética atual

Para estimativa do quantitativo de energia e nutrientes da ingestão alimentar atual dos participantes do estudo, seguiu-se uma padronização adaptada da proposta do Manual de Avaliação do Consumo Alimentar em estudos populacionais (FISBERG; MARCHIONI, 2012).

Inicialmente todos os alimentos, bebidas e preparações relatados pelos indivíduos nos recordatórios alimentares de 24 horas aplicados em cada momento do estudo foram listados, e seus respectivos valores de energia e nutrientes (carboidratos, proteínas, gorduras totais, saturadas, monoinsaturadas, poli-insaturadas e fibra alimentar) foram determinados com base nos valores apresentados na Tabela de Composição de Alimentos do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (*United States Department of Agriculture - USDA*, 2018) e na Tabela Brasileira de Composição de Alimentos da USP (TBCA, 2017). Na ausência dos itens alimentares nas tabelas de base de dados citadas, procedeu-se a elaboração de fichas técnicas de preparações (FTP) ou consulta em rótulos de embalagens para determinação dos valores de energia e nutrientes.

Ainda, para maior fidedignidade do consumo relatado, foram elaboradas FTP para as preparações alimentares que estavam disponíveis nas bases de dados consultadas, mas que não consideraram em sua descrição o uso de sal ou óleo de adição. As quantidades destes ingredientes adicionadas às FTP foram calculadas de acordo com grupo alimentar e técnica de preparo e com base nas recomendações preconizadas na literatura (DOMENE, 2014).

Posteriormente, as medidas caseiras foram padronizadas e transformadas em gramas/mililitros de alimentos/bebidas tendo como referência os valores disponíveis nas tabelas de equivalências de Pinheiro et al. (2002) e Fisberg et al. (2002). Todas as etapas descritas foram realizadas em planilhas do software Office Excel[®], versão 2010.

Após a conclusão da entrada de dados dos relatos de consumo para cada momento do estudo, realizou-se uma análise para avaliar a consistência das informações digitadas e a presença de valores extremos de ingestão diária (<500 ou > 4000 kcal). Essa etapa permitiu verificar possíveis erros de digitação ou a ocorrência de sub ou super-relatos da ingestão diária relatada pelos indivíduos (WILLETT; HOWE; KUSHI, 1997).

6.2.6.6 Parâmetros clínicos

Parâmetros clínicos como comorbidades associadas, fármacos utilizados, alterações gastrointestinais, presença de constipação, consistência e formato das fezes, prática de atividade física e dados sobre o período menstrual foram verificados (APÊNDICE E). Para a determinação da presença de constipação foram utilizados os critérios diagnósticos do ROMA IV (LACY et al., 2016), um sistema internacional desenvolvido para classificar desordens gastrointestinais funcionais. Para a determinação da consistência e do formato das fezes foram utilizados os critérios da Escala Fecal de Bristol (LEWIS; HEATON, 1997) (ANEXO B), a qual classifica a forma e a consistência das fezes humanas em sete categorias, sendo a categoria número 4 como a referência ideal.

6.2.6.7 Avaliação da atividade física

A atividade física foi avaliada em equivalente metabólico (MET) em horas por dia. Um MET equivale à energia suficiente para um indivíduo se manter em repouso, representado na literatura pelo consumo de oxigênio (VO_2) de aproximadamente 3,5 mL/kg/min (AINSWORTH et al., 2000). Embora essa constante possa ser válida para um homem de 70 kg e 40 anos de idade, ela é superestimada em homens e mulheres com peso elevado (BYRNE et al., 2005). Para corrigir os valores de MET na obesidade, foram utilizados fatores de correção de acordo com a faixa de IMC e sexo do participante (WILMS et al., 2014):

Tabela 6 - Fatores de correção para o cálculo do equivalente metabólico (MET) em indivíduos com obesidade mórbida.

Índice de Massa Corporal (kg/m ²)	Fatores de correção (mL kg ⁻¹ min ⁻¹)	
	Homens	Mulheres
40,0-44,9	-0,91	-1,04
45,0-49,9	-0,97	-1,14
50,0-54,9	-1,01	-1,21
55,0-59,9	-1,14	-1,27
> 60,0	-1,14	-1,36

Fonte: adaptado de Wilms et al. (2014).

Para determinar o MET de cada paciente, foi multiplicado o número de horas por dia relatado para cada atividade física pelos respectivos coeficientes do MET, obtidos a partir de tabelas padronizadas (AINSWORTH et al., 2000). Em seguida, o valor final do MET de cada paciente foi corrigido, considerando os fatores de correção descritos acima.

6.3 TRATAMENTO E ANÁLISE DOS DADOS

6.3.1 Modelo de análise

No quadro a seguir estão descritas as variáveis, suas dimensões (unidades de medida/categorias) e classificação teórica utilizadas nas análises propostas.

Quadro 8 – Descrição das variáveis, suas dimensões e classificação teórica.

Variáveis	Unidades de medida/categorias	Classificação teórica
Ingestão de prebiótico	Sim/Não	Nominal, dicotômica
Ingestão de simbiótico	Sim/Não	
Ingestão de placebo	Sim/Não	
Sexo	Masculino/Feminino	
Comorbidades associadas	Sim/Não	
Fármacos utilizados	Sim/Não	
Constipação	Sim/Não	
Uso de suplementos	Sim/Não	
Presença de menopausa	Sim/Não	
Idade	Anos	Quantitativa, discreta
Consistência e formato das fezes	1 a 7	
Prática de atividade física (Equivalente metabólico)	MET	Quantitativa, contínua
Ingestão dietética	kcal, g, mg	
Citocinas	pg/mL	
Proteína C-reativa	mg/L	
Insulina	μUI/mL	

Quadro 8 – Descrição das variáveis, suas dimensões e classificação teórica. Continuação

Variáveis	Unidades de medida/categorias	Classificação teórica
Glicemia de jejum, colesterol total, HDL, LDL e triglicerídeos	mg/dL	
Hemoglobina glicada	%	
Peso corporal	kg	Quantitativa, contínua
Índice de Massa Corporal	kg/m ²	
Circunferência da cintura	cm	

6.3.2 Análises estatísticas

Os dados foram organizados e registrados em banco de dados no programa Microsoft Office Excel 2010[®]. A análise estatística foi realizada no programa estatístico STATA[®] versão 13.1 para Windows[®].

As variáveis contínuas foram sintetizadas em duas únicas medidas por grupo: média e desvio padrão se a distribuição foi simétrica, ou mediana e intervalo interquartil se foi assimétrica. Em contrapartida, as variáveis categóricas foram descritas em frequência a partir do aparecimento nos grupos estabelecidos. Para avaliação da distribuição dos dados foi aplicado o teste de normalidade de Shapiro-Wilk, sendo consideradas assimétricas as variáveis que apresentaram valor $p < 0,05$.

Para as variáveis contínuas, as comparações entre os grupos (controle e suplementados) foram realizadas utilizando o teste de ANOVA de uma via (dados paramétricos) ou o Teste de Kruskal Wallis (dados não paramétricos). Para comparações intra-grupo foi aplicado o teste T pareado ou o teste de Wilcoxon para dados pareados, quando as variáveis forem simétricas e não simétricas, respectivamente.

Para variáveis categóricas, as comparações entre os grupos (controle e suplementados) foram realizadas utilizando o Teste exato de Fisher.

Os valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos.

6.4 PROCEDIMENTOS ÉTICOS DA PESQUISA

Todos os indivíduos convidados a participar do estudo receberam todas as explicações necessárias para o entendimento do protocolo experimental, assim como dos riscos e possíveis benefícios. Ao concordar com a participação, foi realizada a leitura do TCLE (APÊNDICE B) e sanadas as dúvidas. Após o entendimento e reafirmar seu aceite, o TCLE foi assinado pelo participante.

Destaca-se que nenhum indivíduo foi obrigado a participar do estudo, assim como poderiam se retirar do mesmo a qualquer momento. Além disso, todas as informações foram coletadas de forma sigilosa, sem exposição do indivíduo. Os formulários preenchidos com as informações coletadas dos participantes ficaram de posse do coordenador deste estudo, Prof. Dr. Erasmo Benicio Santos de Moraes Trindade, armazenados em arquivo pessoal, localizado na sala 214, Bloco A, Departamento de Nutrição, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Santa Catarina.

O protocolo deste estudo segue os preceitos estabelecidos na declaração de Helsinkí e na Resolução do Conselho Nacional de Saúde nº 466 de 2012 (BRASIL, 2013c).

Este estudo faz parte de uma proposta maior, intitulada “*Efeitos da suplementação de prebiótico ou simbiótico em indivíduos com obesidade mórbida*”, de responsabilidade e coordenação do Professor Dr. Erasmo Benicio Santos de Moraes Trindade. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da UFSC sob parecer número 1.340.253 (ANEXO C).

7 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O primeiro artigo, referente à revisão sistemática, foi publicado no periódico *Clinical Nutrition*, qualis CAPES A1 Nutrição e os detalhes da publicação serão apresentados na subseção 7.1.

O segundo artigo, referente aos resultados provenientes da pesquisa relativa à tese, foi submetido a um periódico de qualis CAPES A1 Nutrição e será apresentado na subseção 7.2. O artigo foi redigido na língua inglesa e formatado segundo as regras do periódico, porém, nesta tese de doutorado será apresentado na língua portuguesa.

7.1 ARTIGO 1 – REVISÃO SISTEMÁTICA

O artigo de revisão sistemática intitulado: “*Effects of inulin-type fructans, galacto-oligosaccharides and related synbiotics on inflammatory markers in adult patients with overweight or obesity: A systematic review*”, foi publicado no periódico *Clinical Nutrition*, doi: 10.1016/j.clnu.2016.10.003, qualis CAPES A1 Nutrição, fator de impacto: 4.548,. O link de acesso ao artigo é: [https://www.clinicalnutritionjournal.com/article/S0261-5614\(16\)31275-4/fulltext](https://www.clinicalnutritionjournal.com/article/S0261-5614(16)31275-4/fulltext)

7.2 ARTIGO 2 – ORIGINAL DA TESE DE DOUTORADO

TÍTULO: FRUTO-OLIGOSSACARÍDEOS E SIMBIÓTICO
REDUZEM INDICADORES ANTROPOMÉTRICOS E AUMENTAM
AS CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS DE IL-10 EM
INDIVÍDUOS COM OBESIDADE MÓRBIDA: UM ENSAIO
CLÍNICO RANDOMIZADO, PLACEBO-CONTROLADO E TRIPLO
CEGO.

Abreviações utilizadas neste estudo:

AGCC – Ácidos graxos de cadeia curta; ChREBP - Proteína ligadora de elementos responsivos a carboidratos; DM2 – Diabetes mellitus tipo 2; EDTA – Ácido etilenodiamino tetra-acético; FAS - Ácido graxo sintase; FOS – Fruto-oligossacarídeo; HDL – Lipoproteína de alta densidade; GLP-1 – Peptídeo semelhante ao glucagon-1; GPR – Receptor acoplado à proteína G; HOMA-IR – Homeostasis Model Assessment – Insulin Resistance; IL – Interleucina; IMC – Índice de Massa Corporal; LDL – Lipoproteína de baixa densidade; LP-K - Piruvato quinase hepática; LPS – Lipopolissacarídeo; MET – Metabolic Equivalent Task; PCR – Proteína C-reativa; TNF – Fator de necrose tumoral; UFC – Unidades Formadoras de Colônia.

RESUMO

Introdução/Objetivos: Estudos em humanos com sobrepeso e obesidade têm mostrado que prebióticos e simbióticos podem ter efeito benéfico na função imunológica e em indicadores do estado nutricional. No entanto, até o presente momento, nenhum estudo avaliou o efeito destes produtos alimentares em indivíduos com obesidade mórbida. O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da suplementação de fruto-oligossacarídeo (FOS) ou simbiótico contendo FOS em marcadores inflamatórios e indicadores do estado nutricional em indivíduos com obesidade mórbida.

Métodos: Este ensaio clínico randomizado, placebo-controlado e triplo cego com três braços paralelos foi conduzido em 22 indivíduos adultos. No período de 30 dias e com a dosagem de 11 g/dia, um grupo recebeu prebiótico (fruto-oligossacarídeo - FOS), outro grupo recebeu simbiótico (FOS, três cepas de lactobacilos e uma cepa de bifidobactéria) e o outro grupo recebeu placebo (maltodextrina). Marcadores inflamatórios e indicadores bioquímicos e antropométricos do estado nutricional foram avaliados antes e após a suplementação.

Resultados: As análises não mostraram diferenças significativas entre os grupos após a suplementação. Nas avaliações intra-grupo, houve

redução significativa no colesterol total ($p=0,002$), LDL-c ($p=0,030$), HDL-c ($p=0,040$), peso corporal ($p=0,028$) e no IMC ($p=0,022$) no grupo placebo, embora este grupo tenha apresentado a maior redução na ingestão energética (redução aproximada: -17.000 kcal/mês). No grupo prebiótico houve aumento significativo na IL-10 ($p=0,025$), na IL-12p70 ($p=0,036$) e no TNF- α ($p=0,036$). Por outro lado, houve redução significativa no peso corporal ($p=0,028$) e no IMC ($p=0,006$), na mesma proporção do grupo placebo, no entanto, a redução na ingestão energética foi menor no grupo prebiótico (redução aproximada: -1.000 kcal/mês). Mesmo sem significância estatística, o grupo prebiótico apresentou o menor aumento de IL-8 e a maior redução de IL-6 e PCR entre os grupos avaliados. No grupo simbiótico, foi observada redução significativa da circunferência da cintura ($p=0,031$), também com redução na ingestão energética menor que o grupo placebo (redução aproximada: -8.500 kcal/mês).

Conclusões: A suplementação de FOS ou de simbiótico contendo FOS podem representar potenciais adjuvantes no tratamento da obesidade mórbida por meio da redução de indicadores antropométricos e do aumento da IL-10 plasmática, mesmo diante de uma redução modesta da ingestão energética. Apesar destes efeitos benéficos, mais estudos em

humanos são necessários para se estabelecer uma recomendação para a prática clínica.

Palavras-chave: Obesidade. Microbiota. Prebióticos. Simbióticos.

Inflamação. Estado nutricional.

INTRODUÇÃO

A obesidade é um dos maiores problemas de saúde pública no mundo, diminuindo a expectativa e a qualidade de vida. Evidências mostram que a obesidade está associada à inflamação crônica, caracterizada por concentrações alteradas de mediadores inflamatórios, tais como citocinas, quimiocinas, mediadores lipídicos e proteínas de fase aguda, além da ativação de vias de sinalização inflamatórias^{1,2}. Alterações no equilíbrio imunológico podem influenciar a homeostase metabólica, interferindo no metabolismo glicídico, lipídico e hormonal. Esta disruptura imunológica e metabólica está associada com o desenvolvimento de comorbidades, como o diabetes mellitus tipo 2 (DM2), hipertensão, asma, dislipidemia, colelitíase, osteoartrite e câncer, contribuindo para o aumento da mortalidade³.

Estudos tem mostrado que a microbiota intestinal difere significativamente entre indivíduos obesos e não obesos, tanto em composição, quanto em função^{4,5}. Estas diferenças são caracterizadas, principalmente, pela baixa riqueza de genes microbianos e pela elevada abundância de gêneros bacterianos potencialmente pró-inflamatórios em indivíduos obesos, os quais podem favorecer o aparecimento da inflamação crônica e da resistência à ação da insulina⁴. Um dos principais fatores que contribuem para este processo é a maior absorção de lipopolissacarídeo bacteriano (LPS) pelos capilares intestinais devido a maior permeabilidade intestinal (condição presente em indivíduos com baixa riqueza de genes microbianos e desequilíbrio da microbiota intestinal, como na obesidade), induzindo a inflamação sistêmica através da secreção aumentada de mediadores pró-inflamatórios por células imunológicas, evento conhecido como endotoxemia metabólica⁶.

Entre as abordagens dietoterápicas utilizadas neste contexto estão os prebióticos e os simbióticos. Prebióticos são substratos seletivamente utilizados por micro-organismos do hospedeiro conferindo benefícios à saúde⁷. Simbióticos são produtos que contém tanto prebióticos quanto probióticos, os quais são micro-organismos vivos que, quando consumidos em quantidades adequadas, conferem benefícios à saúde do hospedeiro^{8,9}.

A utilização destes suplementos vem sendo explorada como uma nova proposta terapêutica para a regularização da microbiota intestinal, da resposta inflamatória e de indicadores metabólicos em indivíduos com sobrepeso ou obesidade. Duas revisões sistemáticas^{10,11} elaboradas pelo nosso grupo de pesquisa mostraram que prebióticos (especialmente frutanos do tipo inulina) e simbióticos podem exercer ação imunomoduladora e de melhora do perfil lipídico e glicêmico em indivíduos com sobrepeso ou obesidade. Especialmente quanto aos fruto-oligosacarídeos (FOS) e simbióticos contendo FOS, não foram encontrados estudos que investigaram o efeito do FOS em citocinas, nem estudos que investigaram o efeito de simbióticos contendo FOS em citocinas anti-inflamatórias (tais como IL-10), assim como não foram encontrados estudos apenas em indivíduos com obesidade mórbida (Índice de Massa Corporal (IMC) ≥ 40 kg/m²). Além disso, uma série de fragilidades metodológicas foi levantada pelos autores nestas revisões, limitando a confiabilidade dos achados.

Diante do exposto, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da suplementação de FOS ou simbiótico contendo FOS em marcadores inflamatórios e indicadores do estado nutricional em indivíduos com obesidade mórbida.

MATERIAIS E MÉTODOS

Participantes do estudo

A amostra não probabilística deste ensaio clínico randomizado, placebo-controlado e triplo cego foi atingida por saturação temporal (janeiro de 2016 a fevereiro de 2018) em indivíduos adultos com obesidade mórbida assistidos em sua primeira consulta em um ambulatório do Hospital Universitário Polydoro Ernani de São Thiago da Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Brasil.

Os critérios de inclusão foram: indivíduos adultos (18-60 anos) de ambos os sexos com $IMC \geq 40\text{kg/m}^2$. Os critérios de exclusão foram: indivíduos com doenças gastrointestinais prévias (ex: câncer e doenças inflamatórias intestinais); intolerâncias e/ou alergias alimentares (ex: intolerância à lactose e doença celíaca); dependência alcoólica e/ou de drogas ilícitas; uso de fármacos anti-inflamatórios e/ou antibióticos e/ou imunossupressores até três meses antes; uso regular de laxativos, analgésicos e inibidores de apetite; uso atual ou prévio (até um mês) de prebióticos, probióticos, simbióticos ou produtos enriquecidos com estes ingredientes; apresentar intolerância a prebióticos e/ou probióticos e/ou simbióticos; seguimento de uma dieta para perda de peso nos últimos

três meses; grávidas ou lactantes; seguimento atual de dietas não usuais (ex: vegetariana, macrobiótica, paleolítico) e fumantes.

Ressalta-se que foi necessário estabelecer nos critérios de exclusão os indivíduos que seguiam dietas não usuais, apresentavam intolerâncias e/ou alergias alimentares ou faziam uso de fármacos que podiam alterar diretamente a microbiota, o sistema imunológico e o apetite, uma vez que são importantes fatores confundidores ou modificadores de efeito neste tipo de intervenção.

Os participantes que ficaram por dois dias consecutivos ou mais sem consumir o suplemento foram descontinuados. O ponto de corte de dois dias foi baseado em uma pesquisa com seres humanos que mostrou uma mudança estrutural significativa da comunidade microbiana após dois dias de uma intervenção dietética¹². Estas alterações foram caracterizadas por mudanças na abundância relativa de grupos taxonômicos bacterianos, na atividade microbiana e na expressão gênica microbiana de vários módulos e vias metabólicas. Estes fatores acarretaram em padrões diferenciados de motilidade gastrointestinal, mudanças nos tipos de AGCC produzidos, mudanças na concentração de cetonas na urina, no peso das fezes e na expressão microbiana de genes envolvidos no metabolismo da glicose e de aminoácidos.

Todos os participantes receberam esclarecimento padronizado sobre o tratamento nutricional para perda de peso, visando respeitar critérios éticos quanto à participação no estudo sem impossibilitar acesso ao tratamento nutricional (Material suplementar S1). Ainda, foi orientado aos indivíduos que durante o período de suplementação evitassem praticar atividade física intensa, consumir bebida alcoólica e alimentos enriquecidos com prebióticos, probióticos ou simbióticos (Material suplementar S2).

O estudo foi registrado na plataforma *ClinicalTrials.gov* sob identificação NCT02660333 e foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de Santa Catarina sob o número 1.340.253, seguindo orientações éticas internacionais (Declaração de Helsinki). Todos os participantes elegíveis foram convidados a participar e aqueles interessados assinaram um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Desenho do estudo

Os pacientes elegíveis e que aceitaram participar do estudo foram alocados randomicamente em três grupos de tratamento: placebo, prebiótico ou simbiótico. Aqueles que receberam placebo foram orientados a consumir 11 gramas diárias de maltodextrina; aqueles que

receberam prebiótico foram orientados a consumir 11 gramas diárias de FOS (FiberFOS[®], Invictus Farmanutrição, Brasil) e aqueles que receberam simbiótico foram orientados a consumir 11 gramas diárias de FOS + 2×10^9 UFC/dia de *Lactobacillus paracasei* LPC-37, 2×10^9 UFC/dia de *Lactobacillus rhamnosus* HN001, 2×10^9 UFC/dia de *Lactobacillus acidophilus* NCFM e 2×10^9 UFC/dia de *Bifidobacterium lactis* HN019 (Simbioflora[®], Invictus Farmanutrição, Brasil) durante 30 dias. Cada indivíduo ingeria diariamente o conteúdo de dois sachês, sendo um em jejum e o outro no intervalo das refeições, misturando o conteúdo de cada sachê em 100 mL de água em temperatura ambiente.

Os pesquisadores mantiveram contato com os participantes durante a pesquisa via ligação telefônica, visando o registro da adesão ao tratamento e a identificação de possíveis efeitos adversos associados ao uso dos suplementos. Todos os participantes foram instruídos a registrar a ingestão do suplemento em formulário específico fornecido pelos pesquisadores, devolvendo o formulário ao final da suplementação.

Randomização, ocultamento da alocação e mascaramento

Os participantes foram distribuídos aleatoriamente a um dos grupos de tratamento por meio de uma lista de randomização gerada

pelo software estatístico Stata[®] v.13.1 para Windows (StataCorp, Texas, EUA), consistindo em blocos permutados de forma aleatória com três pacientes cada (1:1:1). Após, os grupos de tratamento foram substituídos por códigos numéricos aleatórios com três dígitos, gerados por meio de uma tabela de números aleatórios, para que houvesse o ocultamento da alocação. Esta etapa foi realizada por um pesquisador não envolvido com a pesquisa. Os pesquisadores que recrutaram e acompanharam os participantes apenas tiveram acesso à lista contendo os blocos e os códigos numéricos de randomização, não havendo como prever para qual grupo o indivíduo seria alocado.

Os participantes do estudo e os pesquisadores foram mascarados em relação ao consumo e a distribuição da suplementação, respectivamente. Os técnicos de laboratório que realizaram a coleta de sangue também foram mascarados quanto à distribuição da suplementação. Os suplementos e o placebo foram pré-embalados em sachês opacos e fechados pelo fornecedor com os códigos de randomização, sendo idênticos em aparência física, sabor e cor. Os códigos de identificação dos suplementos só foram revelados pela empresa fornecedora após a análise estatística dos dados do estudo, caracterizando o estudo como triplo cego.

Coleta e preparo do material biológico

Aproximadamente 15 mL de sangue foram coletados em cada momento do estudo por técnico de laboratório capacitado de acordo com técnica padronizada¹³ na região cubital do antebraço, utilizando tubos contendo heparina sódica, EDTA ou gel separador, em jejum prévio de 8 a 10 horas.

As amostras de sangue nos tubos com heparina foram centrifugadas a 400g por sete minutos à temperatura ambiente e alíquotas de plasma (500 µL) foram transferidas para criotubos e armazenadas a -80°C. Importante destacar que a cada um ano era feita a dosagem de citocinas, evitando possíveis perdas de analito por longo período de armazenamento. Para tanto, as amostras foram descongeladas em temperatura ambiente, homogeneizadas e imediatamente utilizadas para análise.

As amostras de sangue nos tubos com EDTA foram utilizadas para determinação de hemoglobina glicada no sangue total.

As amostras de sangue nos tubos com gel separador foram deixadas em repouso por 10 minutos até completa coagulação. Em seguida, os tubos foram centrifugados por um período de cinco minutos a 400g para a separação do soro, o qual foi utilizado para determinação das variáveis relacionadas ao perfil lipídico e glicêmico.

Determinação dos marcadores inflamatórios e dos indicadores bioquímicos do estado nutricional

As concentrações de citocinas (IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, IL-12p70 e TNF- α) foram determinadas por citometria de fluxo (BD Biosciences FACSVerse flow cytometer[®] - BD Biosciences, San Diego, CA, EUA) utilizando o kit comercial Cytometric Bead Array - Human Inflammatory Cytokine Kit[®] (BD Biosciences, San Diego, CA, EUA) e seguindo as instruções do fabricante. Foram expressas em pg/mL.

As concentrações de proteína C-reativa (PCR) foram determinadas por procedimento automatizado utilizando reagentes específicos (Dimension RxL Max[®] integrated chemistry system - Siemens Healthcare GmbH, Erlangen, Alemanha). O método para detecção de PCR foi baseado em uma técnica de imunoensaio turbidimétrico de partículas melhoradas. Os valores foram expressos em mg/L.

As concentrações da insulina de jejum foram determinadas pelo ensaio imunométrico por quimioluminescência (Siemens Healthcare Diagnostics Inc., Newark, DE, USA). As concentrações foram expressas em μ UI/mL.

As concentrações da glicemia de jejum foram determinadas pelo método enzimático, de acordo com as instruções do fabricante

(Dimension RxL Max[®] - Siemens Healthcare Diagnostics Inc. Newark, DE, U.S.A.). As concentrações foram expressas em mg/dL.

As concentrações de hemoglobina glicada foram determinadas pelo método de cromatografia de troca iônica, certificado pela *National Glycohemoglobin Standardization Program* (NGSP), utilizando o equipamento D-10 Hemoglobin A1C da BIO-RAD[®] (Bio-Rad Laboratories, Berkeley, CA, USA). As concentrações foram expressas em porcentagem.

As concentrações de colesterol total, HDL-colesterol e triglicerídeos foram determinadas pelo método enzimático colorimétrico de acordo com as instruções do fabricante (Dimension RxL Max[®] - Siemens Healthcare Diagnostics Inc. Newark, DE, U.S.A.). O LDL-colesterol foi determinado utilizando a equação de Friedewald ($\text{LDL-c} = \text{Colesterol total} - \text{HDL-c} - \text{Triglicerídeos}/5$)¹⁴. As concentrações foram expressas em mg/dL.

O índice HOMA-IR foi determinado por meio da seguinte fórmula: $\text{insulina de jejum } (\mu\text{UI/mL}) \times \text{glicemia de jejum } (\text{mmol/L})/22,5$. Para converter a glicemia de jejum para mmol/L, foi multiplicado o valor obtido em mg/dL por 0,0555.

Na primeira consulta ambulatorial, momento que o indivíduo era recrutado para a pesquisa, o médico responsável pelo ambulatório

solicitava uma série de outros exames bioquímicos que fazia parte do protocolo da primeira consulta ambulatorial, além dos indicadores que fizeram parte deste estudo, são eles: índices hematimétricos (hemácias, hemoglobina, hematócrito, volume corpuscular médio, hemoglobina corpuscular média, concentração de hemoglobina corpuscular média), leucograma (leucócitos, neutrófilos segmentados, linfócitos, monócitos, eosinófilos e basófilos), plaquetas, albumina, sódio, potássio, fósforo, vitaminas D, B₁₂, ácido fólico, cálcio sérico, aspartato aminotransferase, alanina aminotransferase, gama glutamil transferase, fosfatase alcalina, hormônio tireoestimulante, paratormônio, ferro sérico, transferrina, ferritina, capacidade de ligação do ferro livre, capacidade de ligação do ferro total e índice de saturação de transferrina. Estes dados foram coletados do prontuário do paciente.

Determinação dos indicadores antropométricos do estado nutricional

Para a avaliação do estado nutricional foram realizadas aferições antropométricas de peso, estatura e circunferência da cintura, seguindo técnicas propostas pela *World Health Organization* (WHO)^{15,16}.

O peso atual foi aferido em balança de plataforma calibrada com capacidade máxima de 150 kg e escala de 100 g, da marca Toledo[®]

(Toledo do Brasil[®], São Bernardo do Campo, SP, Brasil). Para aqueles com mais de 150 kg, foi utilizada uma balança eletrônica calibrada (Welmy[®], Santa Bárbara do Oeste, SP), com capacidade de 300 kg e precisão de 50 g. A estatura foi medida por estadiômetro acoplado à plataforma com capacidade de 2 m e precisão de 0,5 cm. Para a medida de circunferência da cintura, foi utilizada uma fita métrica inextensível com precisão de 0,1 cm.

A classificação do estado nutricional foi realizada pelo IMC utilizando-se os pontos de corte definidos pela WHO¹⁵.

Estimativa da ingestão dietética atual

Inicialmente, todos os alimentos, bebidas e preparações relatados pelos indivíduos nos recordatórios alimentares de 24 horas aplicados em cada momento do estudo foram listados e seus respectivos valores de energia e nutrientes (carboidratos disponíveis, proteínas, gorduras totais, saturadas, monoinsaturadas, poli-insaturadas, gorduras trans e fibra alimentar) foram determinados com base nos valores apresentados na Tabela de composição de alimentos do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (*United States Department of Agriculture*)¹⁷ e na Tabela Brasileira de Composição de Alimentos da Universidade de São Paulo, Brasil¹⁸. Na ausência dos itens alimentares

nas tabelas de base de dados citadas, procedeu-se a elaboração de fichas técnicas de preparações ou consulta em rótulos de embalagens para determinação dos valores de energia e nutrientes.

Ainda, para maior fidedignidade do consumo relatado, foram elaboradas fichas técnicas de preparações para as preparações alimentares que estavam disponíveis nas bases de dados consultadas, mas que não consideraram em sua descrição o uso de sal ou óleo de adição. As quantidades destes ingredientes adicionadas às fichas técnicas foram calculadas de acordo com grupo alimentar e técnica de preparo e com base nas recomendações preconizadas na literatura¹⁹.

Posteriormente, as medidas caseiras foram padronizadas e transformadas em gramas/mililitros de alimentos/bebidas tendo como referência os valores disponíveis nas tabelas de equivalências de Pinheiro et al.²⁰ e Fisberg et al.²¹. Todas as etapas descritas foram realizadas em planilhas do software Office Excel[®], versão 2016.

Após a conclusão da entrada de dados dos relatos de consumo para cada momento do estudo, realizou-se uma análise para avaliar a consistência das informações digitadas e a presença de valores extremos de ingestão diária (<500 ou > 4000 kcal). Essa etapa permitiu verificar possíveis erros de digitação ou a ocorrência de sub ou super-relatos da ingestão diária relatada pelos indivíduos²².

Parâmetros clínicos e avaliação da atividade física

Parâmetros clínicos como comorbidades associadas, fármacos utilizados, alterações gastrointestinais, presença de constipação, consistência e formato das fezes, prática de atividade física e dados sobre o ciclo menstrual foram verificados. Para a determinação da presença de constipação foram utilizados os critérios diagnósticos do ROMA IV²³. Para a determinação da consistência e do formato das fezes foram utilizados os critérios da Escala Fecal de Bristol²⁴. A atividade física foi descrita em equivalente metabólico (MET) em horas por dia²⁵. Para corrigir os valores de MET na obesidade, foram utilizados fatores de correção de Wilms et al.²⁶, de acordo com a faixa de IMC e sexo do participante.

Análise estatística

Os dados foram organizados e registrados em banco de dados no programa Microsoft Office Excel 2010[®]. A análise estatística foi realizada no programa estatístico STATA[®] versão 13.1 para Windows[®].

As variáveis contínuas foram sintetizadas em duas únicas medidas por grupo: média e desvio padrão se a distribuição foi simétrica, ou mediana e intervalo interquartil se foi assimétrica. Em contrapartida, as variáveis categóricas foram descritas em frequência a

partir do aparecimento nos grupos estabelecidos. Para avaliação da distribuição dos dados foi aplicado o teste de normalidade de Shapiro-Wilk, sendo consideradas assimétricas as variáveis que apresentaram valor $p < 0,05$.

Para as variáveis contínuas, as comparações entre os grupos (controle e suplementados) foram realizadas utilizando o teste de ANOVA de uma via (dados paramétricos) ou o Teste de Kruskal Wallis (dados não paramétricos). Para comparações intra-grupo foi aplicado o teste T pareado ou o teste de Wilcoxon para dados pareados, quando as variáveis fossem simétricas e não simétricas, respectivamente.

Para variáveis categóricas, as comparações entre os grupos (controle e suplementados) foram realizadas utilizando o Teste exato de Fisher.

Os valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos.

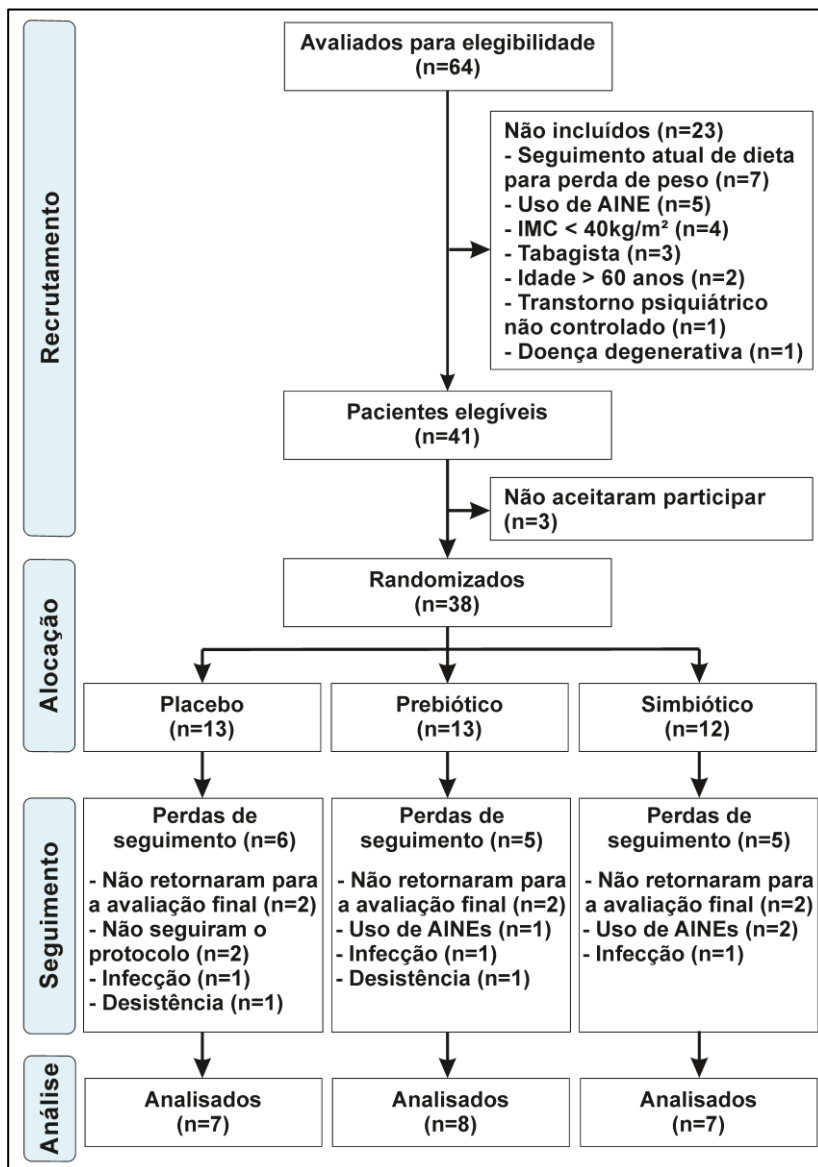
RESULTADOS

Recrutamento, randomização e características basais dos participantes

Durante o período da pesquisa, todos os indivíduos em sua primeira consulta ambulatorial foram avaliados quanto aos critérios de elegibilidade. Do total de 64 indivíduos avaliados, 41 eram elegíveis.

Destes, três não aceitaram participar, restando 38 indivíduos que foram randomizados para os três grupos. Durante o seguimento houve 16 perdas pelos motivos apresentados na figura 1. A causa das infecções de três indivíduos que foram descontinuados do estudo foi de origem do trato respiratório superior, não apresentando relação com a suplementação. A causa do uso de anti-inflamatórios por três indivíduos descontinuados do estudo foi a presença de dor constante nos membros inferiores ou na região lombar. Os participantes que não retornaram no momento final da pesquisa foram contatados por telefone para saber o motivo do não retorno. Todos afirmaram que o motivo foi a incompatibilidade de agenda por compromissos laborais. Nenhum destes participantes relatou efeitos adversos ou que tinham deixado de ingerir o suplemento por motivo de desistência. Por fim, 22 indivíduos foram analisados (Figura 1).

Figura 1 – Fluxograma dos participantes do estudo.



Fonte: Do autor. Legenda: AINE – Anti-inflamatórios não esteroidais. IMC – Índice de Massa Corporal.

Dados demográficos, antropométricos e clínicos dos participantes

no momento basal estão apresentados na tabela 1.

Tabela 1 – Características basais dos participantes do estudo.

Características	Placebo (n=7)	Prebiótico (n=8)	Simbiótico (n=7)	Valor-p
Idade (anos)	43,9 ± 10,0	40,5 ± 10,3	41,3 ± 4,9	0,753 ^a
Sexo (Masculino/Feminino)	2/5	0/8	4/3	0,057 ^b
Peso corporal (kg)	135,3 ± 28,4	119,9 ± 17,9	129,0 ± 25,4	0,473 ^a
IMC (kg/m ²)	50,9 ± 9,4	46,6 ± 5,3	46,0 ± 5,2	0,363 ^a
Circunferência da cintura (cm)	137,3 ± 13,1	126,3 ± 11,6	136,1 ± 14,4	0,216 ^a
MET-horas/dia	29,9 ± 5,0	32,2 ± 7,0	33,3 ± 5,6	0,568 ^a
Constipação funcional (n/%) [*]	0 (0)	2 (25,0)	0 (0)	0,582 ^b
Escala de Bristol				1,000 ^b
Tipos 1-3 ou 5-7	5 (71,4)	5 (75,0)	5 (71,4)	
Tipo 4	2 (28,6)	2 (25,0)	2 (28,6)	

Tabela 1 – Características basais dos participantes do estudo. Continuação.

Características	Placebo (n=7)	Prebiótico (n=8)	Simbiótico (n=7)	Valor-p
Menopausa (n/%)	2 (28,6)	2 (25,0)	0 (0)	0,582 ^b
Comorbidades associadas (n/%)	4 (57,1)	1 (12,5)	3 (42,9)	
Hipertensão arterial sistêmica	4 (57,1)	1 (12,5)	2 (28,6)	0,119 ^b
Ansiedade/Depressão	1 (14,3)	0 (0)	2 (28,6)	0,282 ^b
Diabetes mellitus tipo 2	1 (14,3)	0 (0)	1 (14,3)	0,303 ^b
Dislipidemia	1 (14,3)	3 (37,5)	4 (57,1)	0,500 ^b
Outros**	0 (0)	2 (25,0)	0 (0)	0,266 ^b

Tabela 1 – Características basais dos participantes do estudo. Continuação.

Características	Placebo (n=7)	Prebiótico (n=8)	Simbiótico (n=7)	Valor-p
Medicamentos de uso contínuo (n/%)				
Anti-hipertensivos	4 (57,1)	1 (12,5)	3 (42,9)	0,119 ^b
Antidepressivos	4 (57,1)	1 (12,5)	2 (28,6)	0,282 ^b
Hipoglicemiantes orais	1 (14,3)	0 (0)	2 (28,6)	0,303 ^b
Estatinas	0 (0)	0 (0)	1 (14,3)	1,000 ^b
Outros***	1 (14,3)	2 (25,0)	1 (14,3)	1,000 ^b

Legenda: IMC – Índice de Massa Corporal. MET – Metabolic Equivalent Task (Taxa de equivalente metabólico). As variáveis contínuas foram expressas em média e desvio padrão. ^aTeste de ANOVA. ^bTeste exato de Fisher. *De acordo com os critérios de ROMA IV (Lacy et al.²³). **Psoríase, hipotireoidismo, refluxo gastroesofágico, apneia do sono, síndrome do pânico, insuficiência cardíaca congestiva e varizes nos membros inferiores. ***Antiácidos, hormônio tireoideano e venotônicos.

As características dos participantes não foram significativamente diferentes entre os grupos de tratamento. Em geral, a maioria tinha entre 35 e 50 anos de idade (mínimo-máximo: 20-57 anos), era do sexo feminino, apresentava comorbidades associadas à obesidade e utilizava ao menos um tipo de medicamento. Quanto aos que utilizavam hipoglicemiantes orais, estes faziam uso apenas de metformina. Metade dos participantes era sedentária e a outra metade praticava atividade física de baixa intensidade e por curtos períodos ao longo da semana, sendo que esta proporção estava igualmente distribuída entre os grupos. No momento final da pesquisa também não houve diferença significativa entre os grupos no que diz respeito à prática de atividade física ($p=0,243$). A maioria dos indivíduos relatou fezes endurecidas no momento basal, embora apenas dois cumprissem os critérios para constipação funcional. Quanto às mulheres que apresentavam menopausa, nenhuma estava em terapia de reposição hormonal. Nenhuma mulher relatou ausência de ovulação por contracepção hormonal contínua, apesar de quatro relatarem ciclo menstrual irregular, sendo duas do grupo prebiótico, uma do grupo simbiótico e uma do grupo placebo.

Não foram observadas diferenças significativas no momento basal entre os grupos para quase todos os parâmetros bioquímicos

avaliados e que estavam disponíveis no prontuário do paciente (Material suplementar S3).

Adesão à suplementação e presença de efeitos adversos

No que concerne à adesão à suplementação, todos os indivíduos receberam 60 sachês de suplemento, sendo que a orientação era consumir dois sachês por dia. No grupo placebo, três dos sete participantes consumiram entre 55 e 57 sachês, o restante consumiu todos os sachês. No grupo prebiótico, um dos oito participantes consumiu 58 sachês, o restante consumiu todos os sachês. No grupo simbiótico, todos consumiram os 60 sachês. Não houve diferença significativa na adesão à suplementação entre os grupos ($p>0,05$). Nenhum participante ficou por dois dias ou mais sem consumir o suplemento.

Quanto a efeitos adversos, três indivíduos do grupo prebiótico relataram flatulência, um indivíduo também do grupo prebiótico relatou cólica e um indivíduo do grupo simbiótico relatou fezes endurecidas. No grupo placebo, não houve relato de efeitos adversos. Ninguém na pesquisa desistiu por efeitos adversos da suplementação.

Ingestão dietética

Nenhuma diferença estatisticamente significativa foi observada tanto antes quanto após a suplementação na ingestão de energia, de macronutrientes e de água, com exceção da fibra alimentar em que o consumo nos grupos prebiótico e simbiótico foi significativamente maior comparado ao grupo placebo ($p=0,030$), assim como houve aumento significativo no consumo de fibra alimentar na avaliação intra-grupo nos grupos prebiótico ($p=0,011$) e simbiótico ($p=0,028$) (Tabela 2). No entanto, é importante destacar que houve redução na ingestão energética em todos os grupos de estudo, sendo que para quase todos os demais macronutrientes avaliados também houve redução no consumo em todos os grupos de estudo. Ressalta-se que nenhum participante fez uso de suplementos vitamínicos e minerais durante o estudo.

Tabela 2 – Ingestão dietética dos participantes antes e após a suplementação.

Desfechos	Placebo (n=7)	Prebiótico (n=8)	Simbiótico (n=7)	Valor p^a
<i>Energia (kcal/dia)</i>				
Basal	1.845,3 (1.163,3; 2.083,7)	1.939,9 (990,6; 1.993,1)	1.701,2 (1.238,7; 2.041,5)	0,830
30 dias	1.103,8 (1.016,1; 2.846,2)	1.640,5 (983,5; 1.940,7)	1.573,7 (1.172,2; 2.042,7)	0,758
Valor-p ^b	0,311	0,327	0,237	
Diferença	-573,21 (-741,5; 306,9)	-33,8 (-234,3; 53,3)	-282,5 (-529,0; -34,7)	0,292
<i>Carboidratos disponíveis (g/dia)</i>				
Basal	157,4 (27,9; 250,9)	193,9 (109,3; 276,0)	213,8 (126,7; 247,6)	0,760
30 dias	118,6 (65,7; 160,4)	170,8 (132,7; 297,5)	92,6 (73,7; 174,9)	0,214
Valor-p ^b	0,237	0,799	0,176	
Diferença	-70,8 (-134,5; 37,7)	19,8 (-69,3; 72,2)	-134,8 (-160,1; 19,2)	0,216

Tabela 2 – Ingestão dietética dos participantes antes e após a suplementação. Continuação.

Desfechos	Placebo (n=7)	Prebiótico (n=8)	Simbiótico (n=7)	Valor p^a
<i>Proteínas (g/dia)</i>				
Basal	110,8 (42,7; 168,0)	50,8 (33,8; 72,9)	85,7 (64,8; 88,0)	0,098
30 dias	98,3 (36,7; 118,5)	48,2 (30,3; 75,0)	78,2 (42,2; 92,9)	0,341
Valor-p ^b	0,499	0,483	0,311	
Diferença	-25,0 (-49,5; 47,3)	-10,9 (-20,3; 10,5)	-9,8 (-38,6; 7,2)	0,893
<i>Gordura total (g/dia)</i>				
Basal	56,0 (39,9; 102,5)	43,5 (41,3; 77,4)	50,8 (42,9; 60,7)	0,732
30 dias	29,0 (14,0; 118,2)	33,6 (19,0; 53,2)	66,3 (27,3; 76,1)	0,422
Valor-p ^b	0,398	0,093	0,866	
Diferença	-6,0 (-32,4; 5,6)	-19,9 (-36,9; 8,3)	-7,8 (-23,6; 21,3)	0,448

Tabela 2 – Ingestão dietética dos participantes antes e após a suplementação. Continuação.

Desfechos	Placebo (n=7)	Prebiótico (n=8)	Simbiótico (n=7)	Valor p^a
<i>Gordura saturada (g/dia)</i>				
Basal	18,0 (12,0; 34,2)	15,0 (9,5; 25,1)	12,9 (8,7; 31,4)	0,799
30 dias	11,7 (4,7; 41,1)	11,0 (5,6; 18,1)	16,2 (8,7; 25,3)	0,620
Valor-p ^b	0,128	0,161	0,499	
Diferença	-11,6 (-13,2; 3,2)	-4,6 (-15,1; 2,0)	-2,7 (-15,2; 11,0)	0,925
<i>Gordura mono-insaturada (g/dia)</i>				
Basal	15,0 (13,4; 29,0)	16,6 (8,9; 20,9)	18,7 (17,8; 22,5)	0,364
30 dias	8,6 (4,2; 34,3)	10,8 (6,8; 20,8)	15,5 (9,8; 48,1)	0,381
Valor-p ^b	0,866	0,575	1,000	
Diferença	2,1 (-10,7; 5,3)	-1,7 (-9,6; 6,7)	-3,9 (-12,6; 29,5)	0,983

Tabela 2 – Ingestão dietética dos participantes antes e após a suplementação. Continuação.

Desfechos	Placebo (n=7)	Prebiótico (n=8)	Simbiótico (n=7)	Valor p^a
<i>Gordura poli-insaturada (g/dia)</i>				
Basal	7,6 (5,0; 8,8)	5,6 (3,5; 7,4)	9,7 (5,1; 12,6)	0,201
30 dias	6,8 (2,1; 10,8)	4,2 (3,4; 5,1)	5,4 (4,5; 27,4)	0,382
Valor-p ^b	0,866	0,327	0,735	
Diferença	-0,8 (-1,7; 2,0)	-1,4 (-3,4; 0,3)	0,1 (-3,7; 12,9)	0,477
<i>Gordura trans (g/dia)</i>				
Basal	0,8 (0,6; 1,5)	0,7 (0,4; 0,9)	0,7 (0,5; 0,8)	0,212
30 dias	0,4 (0,2; 1,7)	0,2 (0,1; 0,7)	0,6 (0,4; 0,7)	0,529
Valor-p ^b	0,612	0,050	0,866	
Diferença	-0,6 (-1,2; 1,1)	-0,5 (-0,8; -0,2)	0,0 (-0,2; 0,3)	0,133

Tabela 2 – Ingestão dietética dos participantes antes e após a suplementação. Continuação.

Desfechos	Placebo (n=7)	Prebiótico (n=8)	Simbiótico (n=7)	Valor p^a
<i>Cholesterol (mg/dia)</i>				
Basal	212,1 (101,5; 358,6)	136,4 (78,3; 199,7)	168,8 (146,6; 245,7)	0,378
30 dias	311,4 (178,3; 663,9)	175,7 (92,2; 175,7)	246,1 (52,0; 333,8)	0,181
Valor-p ^b	0,237	1,000	0,735	
Diferença	76,8 (-40,0; 266,9)	-58,3 (-94,0; 115,4)	-8,4 (-98,3; 164,9)	0,513
<i>Fibra dietética (g/dia)</i>				
Basal	19,2 (11,6; 30,3)	12,9 (10,1; 17,2)	17,0 (14,5; 18,5)	0,368
30 dias	16,8 (11,0; 43,1)	27,2 (24,4; 35,9)*	25,1 (23,9; 44,0)*	0,113
Valor-p ^b	0,311	0,011	0,028	
Diferença	-5,0 (-6,3; 4,5)	16,3 (6,1; 22,1)*	10,6 (6,4; 21,9)*	0,030

Tabela 2 – Ingestão dietética dos participantes antes e após a suplementação. Continuação.

Desfechos	Placebo (n=7)	Prebiótico (n=8)	Simbiótico (n=7)	Valor p^a
<i>Água (mL)</i>				
Basal	438,1 (267,8; 823,0)	509,4 (360,0; 607,2)	725,5 (571,8; 953,4)	0,144
30 dias	794,0 (450,3; 1262,6)	571,1 (413,5; 720,2)	684,8 (527,1; 895,5)	0,311
Valor-p ^b	0,063	0,483	0,735	
Diferença	209,7 (-28,9; 393,9)	79,4 (-100,6; 246,5)	-61,6 (-258,2; 323,7)	0,243

Legenda: As variáveis foram expressas em mediana e intervalo interquartil. ^aTeste de Kruskal Wallis. ^bTeste de

Wilcoxon para dados pareados. *Considerando 11g de fibra proveniente da suplementação ofertada. Diferença:

Valor final (30 dias) – valor basal.

Marcadores inflamatórios

Nenhuma diferença estatisticamente significativa foi observada para os marcadores inflamatórios avaliados na comparação entre os grupos, tanto antes quanto após a suplementação no grupo prebiótico. Por outro lado, na avaliação intra-grupo, houve aumento estatisticamente significativo na IL-10 ($p=0,025$), na IL-12p70 ($p=0,036$) e no TNF- α ($p=0,036$) (Tabela 3). Ainda que sem significância estatística, o grupo prebiótico foi o grupo que apresentou menor aumento da IL-8 (+0.4 vs +2.0 vs +2.3 pg/mL) e o único grupo que apresentou redução mediana de IL-6 (-0.7 vs +0.1 vs +1.1 pg/mL), refletindo na maior redução de PCR entre os três os grupos avaliados (-2.0 vs -1.5 vs -1.2 mg/L).

Indicadores bioquímicos e antropométricos do estado nutricional

Quanto aos indicadores bioquímicos, foram observadas diferenças estatisticamente significativas na avaliação entre os grupos para a hemoglobina glicada no momento basal ($p=0,014$) (Tabela 4). Análises estratificadas requerem cautela na sua interpretação, pelo baixo número de observações. Ainda assim, foi realizada uma análise adicional com a retirada dos indivíduos com DM2 (um no grupo placebo e dois no grupo simbiótico), uma vez que houve diferença significativa

no desfecho mencionado acima. Com a retirada destes indivíduos, não houve mais diferença significativa para este desfecho em ambos os momentos da pesquisa ($p > 0,05$) (dados não apresentados). Na avaliação intra-grupo, houve redução estatisticamente significativa nas concentrações séricas de colesterol total ($p = 0,002$), LDL-colesterol ($p = 0,030$) e HDL-colesterol ($p = 0,040$) no grupo placebo.

Quanto aos indicadores antropométricos, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas na avaliação entre os grupos para nenhum desfecho avaliado (Tabela 4). Entretanto, na avaliação intra-grupo, houve redução estatisticamente significativa no peso corporal e no IMC nos grupos placebo ($p = 0,028$ e $p = 0,022$, respectivamente) e prebiótico ($p = 0,009$ e $p = 0,006$, respectivamente), bem como na circunferência da cintura no grupo simbiótico ($p = 0,031$).

Tabela 3 – Marcadores inflamatórios antes e após a suplementação.

Desfechos	Placebo (n=7)	Prebiótico (n=8)	Simbiótico (n=7)	Valor p^a
<i>Interleucina-1β</i> (pg/mL)				
Basal	7,7 (2,2; 8,2)	6,6 (5,6; 7,8)	3,0 (0,0; 9,6)	0,503
30 dias	8,0 (6,7; 10,0)	8,3 (6,4; 10,7)	5,9 (0,0; 7,3)	0,098
Valor-p ^b	0,311	0,263	0,799	
Diferença	1,9 (-2,2; 7,1)	1,7 (-0,7; 4,1)	0,0 (-3,6; 3,2)	0,548
<i>Interleucina-6</i> (pg/mL)				
Basal	8,7 (6,3; 11,2)	10,8 (8,6; 12,4)	6,6 (4,5; 10,6)	0,103
30 dias	9,8 (5,7; 12,2)	11,3 (6,7; 12,0)	7,7 (4,6; 9,1)	0,496
Valor-p ^b	0,499	0,483	0,612	
Diferença	1,1 (-1,1; 2,6)	-0,7 (-1,8; 1,3)	0,1 (-1,5; 2,5)	0,510

Tabela 3 – Marcadores inflamatórios antes e após a suplementação. Continuação.

Desfechos	Placebo (n=7)	Prebiótico (n=8)	Simbiótico (n=7)	Valor p^a
<i>Interleucina-8</i>				
<i>(pg/mL)</i>				
Basal	8,1 (7,3; 13,7)	8,2 (4,5; 14,9)	5,3 (4,4; 17,0)	0,613
30 dias	10,1 (6,7; 18,2)	10,9 (7,9; 20,8)	14,2 (6,9; 15,6)	0,976
Valor-p ^b	0,176	0,327	0,198	
Diferença	2,3 (-2,3; 4,6)	0,4 (-0,8; 7,2)	2,0 (-5,1; 10,3)	0,994
<i>Interleucina-10</i>				
<i>(pg/mL)</i>				
Basal	1,0 (0,5; 18,0)	0,9 (0,1; 18,2)	0,0 (0,0; 3,6)	0,584
30 dias	2,1 (1,1; 18,3)	2,0 (0,8; 19,9)	1,8 (0,3; 2,6)	0,528
Valor-p ^b	0,149	0,025	0,672	
Diferença	0,9 (0,0; 1,3)	0,8 (0,5; 2,0)	0,3 (-1,1; 1,3)	0,536

Tabela 3 – Marcadores inflamatórios antes e após a suplementação. Continuação.

Desfechos	Placebo (n=7)	Prebiótico (n=8)	Simbiótico (n=7)	Valor p ^a
<i>Interleucina-12p70</i> (pg/mL)				
Basal	69,8 (65,8; 95,9)	74,3 (41,3; 85,7)	87,3 (53,3; 135,0)	0,693
30 dias	117,3 (14,7; 172,5)	99,4 (70,4; 338,9)	118,8 (101,5; 235,9)	0,506
Valor-p ^b	0,499	0,036	0,091	
Diferença	21,4 (-12,0; 99,3)	42,1 (6,7; 65,5)	53,0 (-27,3; 91,9)	0,976
<i>Fator de necrose tumoral-α</i> (pg/mL)				
Basal	4,0 (2,7; 8,7)	4,4 (3,5; 5,9)	5,0 (0,0; 10,8)	0,340
30 dias	5,1 (2,0; 13,8)	7,1 (3,7; 11,6)	6,8 (3,6; 11,9)	0,957
Valor-p ^b	0,735	0,036	0,351	
Diferença	0,8 (-2,7; 5,5)	3,0 (0,4; 5,3)	1,3 (-1,7; 6,9)	0,606

Tabela 3 – Marcadores inflamatórios antes e após a suplementação. Continuação.

Desfechos	Placebo (n=7)	Prebiótico (n=8)	Simbiótico (n=7)	Valor p^a
<i>Proteína C-reativa (mg/L)</i>				
Basal	8,9 (3,5; 10,5)	11,3 (8,0; 19,8)	9,0 (2,6; 10,8)	0,963
30 dias	5,8 (5,5; 22,8)	8,6 (4,2; 13,5)	6,7 (4,1; 10,5)	0,928
Valor-p ^b	0,672	0,208	0,735	
Diferença	-1,2 (-3,2; 2,9)	-2,0 (-5,6; 1,4)	-1,5 (-3,1; 1,6)	0,645

Legenda: As variáveis foram expressas em mediana e intervalo interquartil. ^aTeste de Kruskal Wallis. ^bTeste de

Wilcoxon para dados pareados. Diferença: Valor final (30 dias) – valor basal.

Tabela 4 – Indicadores bioquímicos e antropométricos do estado nutricional antes e após a suplementação.

Desfechos	Placebo (n=7)	Prebiótico (n=8)	Simbiótico (n=7)	Valor p
<i>Cholesterol total</i>				
(mg/dL)				
Basal	213,4 ± 58,8	198,8 ± 55,4	182,1 ± 28,3	0,513 ^a
30 dias	200,6 ± 60,8	199,9 ± 54,0	160,7 ± 28,4	0,251 ^a
Valor-p ^c	0,002	0,865	0,097	
Diferença	-15,0 (-17,0; -11,0)	-1,5 (-12,0; 10,0)	-19,0 (-20,0; -5,0)	0,127 ^b
<i>LDL-cholesterol</i>				
(mg/dL)				
Basal	136,3 ± 48,9	126,3 ± 39,6	111,0 ± 18,4	0,469 ^a
30 dias	126,4 ± 42,6	135,1 ± 46,3	99,0 ± 31,2	0,238 ^a
Valor-p ^c	0,030	0,184	0,245	
Diferença	-17,0 (-16,0; -2,0)	9,0 (-3,5; 22,5)	1,0 (-29,0; 8,0)	0,061 ^b

Tabela 4 – Indicadores bioquímicos e antropométricos do estado nutricional antes e após a suplementação.

Desfechos	Placebo (n=7)	Prebiótico (n=8)	Simbiótico (n=7)	Valor p
<i>HDL-colesterol</i> (mg/dL)				
Basal	49,0 ± 12,7	45,0 ± 7,9	41,0 ± 6,1	0,296 ^a
30 dias	44,1 ± 11,0	42,4 ± 7,3	39,1 ± 5,7	0,238 ^a
Valor-p ^c	0,040	0,056	0,343	
Diferença	-3,0 (-9,0; -2,0)	-4,0 (-5,0; 0,0)	-2,0 (-5,0; 3,0)	0,566 ^b
<i>Triglicérides</i> (mg/dL)				
Basal	123,0 (84,0; 273,0)	121,5 (97,5; 230,0)	151,0 (104,0; 233,0)	0,727 ^b
30 dias	91,0 (78,0; 308,0)	137,5 (101,5; 162,0)	127,0 (102,0; 178,0)	0,859 ^b
Valor-p ^d	0,866	0,833	0,271	
Diferença	-2,0 (-32,0; 20,0)	1,5 (-16,0; 17,0)	-12,0 (-84,0; 12,0)	0,768 ^b

Tabela 4 – Indicadores bioquímicos e antropométricos do estado nutricional antes e após a suplementação.

Desfechos	Placebo (n=7)	Prebiótico (n=8)	Simbiótico (n=7)	Valor p
<i>Glicemia de jejum</i> (mg/dL)				
Basal	116,3 ± 22,8	94,1 ± 7,6	107,9 ± 14,9	0,238 ^a
30 dias	115,3 ± 17,4	98,4 ± 6,7	116,3 ± 20,3	0,058 ^b
Valor-p ^c	0,879	0,144	0,377	
Diferença	0,0 (-5,0; 13,0)	4,0 (1,5; 9,0)	2,0 (-8,0; 21,0)	0,783 ^b
<i>Insulina de jejum</i> (μ UI/mL)				
Basal	45,9 (13,6; 50,4)	18,8 (13,6; 33,1)	34,6 (16,5; 44,3)	0,236 ^b
30 dias	43,3 (31,2; 44,5)	21,8 (12,0; 33,4)	25,2 (14,6; 37,1)	0,152 ^b
Valor-p ^d	0,398	0,327	0,237	
Diferença	-7,1 (-13,8; 2,8)	1,3 (-0,9; 4,5)	-6,5 (-28,0; 2,4)	0,226 ^b

Tabela 4 – Indicadores bioquímicos e antropométricos do estado nutricional antes e após a suplementação.

Desfechos	Placebo (n=7)	Prebiótico (n=8)	Simbiótico (n=7)	Valor p
<i>HOMA-IR</i>				
Basal	11,3 (4,2; 18,2)	4,2 (3,0; 8,3)	8,4 (4,2; 11,2)	0,064 ^b
30 dias	10,7 (7,5; 15,5)	5,3 (2,8; 8,5)	7,0 (4,1; 9,0)	0,124 ^b
Valor-p ^d	0,499	0,263	0,311	
Diferença	-0,3 (-5,2; 0,9)	0,6 (-0,3; 1,3)	-1,4 (-6,9; 1,6)	0,394 ^b
<i>Hemoglobina glicada (%)</i>				
Basal	6,3 ± 0,5	5,3 ± 0,3	6,0 ± 1,2	0,014^b
30 dias	6,2 ± 0,5	5,3 ± 0,3	5,8 ± 1,0	0,050 ^b
Valor-p ^c	0,579	0,685	0,416	
Diferença	-0,1 (-0,4; 0,2)	0,0 (-0,1; 0,2)	-0,2 (-0,3; 0,0)	0,318 ^b

Tabela 4 – Indicadores bioquímicos e antropométricos do estado nutricional antes e após a suplementação.

Desfechos	Placebo (n=7)	Prebiótico (n=8)	Simbiótico (n=7)	Valor p
<i>Peso corporal (kg)</i>				
Basal	135,3 ± 28,4	119,9 ± 17,9	129,0 ± 25,4	0,473 ^a
30 dias	132,6 ± 27,5	117,6 ± 18,5	126,3 ± 23,2	0,465 ^a
Valor-p ^c	0,028	0,009	0,057	
Diferença	-2,6 (-5,7; -0,4)	-2,0 (-3,2; -1,4)	-2,9 (-6,5; 0,1)	0,803 ^b
<i>Índice de Massa Corporal (kg/m²)</i>				
Basal	50,9 ± 9,4	46,6 ± 5,3	46,0 ± 5,2	0,363 ^a
30 dias	49,9 ± 9,2	45,8 ± 5,8	45,1 ± 5,0	0,376 ^a
Valor-p ^c	0,022	0,006	0,067	
Diferença	-1,1 (-1,7; -0,1)	-0,8 (-1,3; -0,5)	-1,0 (-2,1; 0,0)	0,943 ^b

Tabela 4 – Indicadores bioquímicos e antropométricos do estado nutricional antes e após a suplementação.

Desfechos	Placebo (n=7)	Prebiótico (n=8)	Simbiótico (n=7)	Valor p
<i>Circunferência da cintura (cm)</i>				
Basal	137,3 ± 13,1	126,3 ± 11,6	136,1 ± 14,4	0,216 ^a
30 dias	134,4 ± 13,7	124,0 ± 13,8	132,9 ± 15,6	0,331 ^a
Valor-p ^c	0,058	0,231	0,031	
Diferença	-2,0 (-5,0; 0,0)	-4,0 (-5,5; 0,0)	-3,0 (-6,0; -1,0)	0,916 ^b

Legenda: As variáveis contínuas foram expressas em média e desvio padrão quando a distribuição foi normal e em mediana e intervalo interquartil quando a distribuição foi não-normal. ^aTeste de ANOVA. ^bTeste de Kruskal

Wallis. ^cTeste T pareado. ^dTeste de Wilcoxon para dados pareados. Diferença: Valor final (30 dias) – valor basal.

DISCUSSÃO

De acordo com o nosso conhecimento e com as revisões sistemáticas realizadas pelo nosso grupo de pesquisa^{10,11}, este é o primeiro estudo que avaliou o efeito do FOS e de um simbiótico contendo FOS em marcadores inflamatórios e indicadores bioquímicos e antropométricos do estado nutricional exclusivamente em indivíduos com obesidade mórbida.

Os resultados não mostraram modificação significativa para os marcadores inflamatórios na avaliação entre os grupos, embora no grupo prebiótico houve aumento significativo na IL-10, IL-12p70 e no TNF- α . Além disso, mesmo sem significância estatística, este grupo apresentou o menor aumento de IL-8, foi o único grupo que apresentou redução de IL-6, refletindo na maior redução de PCR entre os grupos. O FOS, assim como outros prebióticos, é fermentado no lúmen colônico por bactérias sacarolíticas, como as bifidobactérias e os lactobacilos (presentes no simbiótico utilizado nesta pesquisa), gerando ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), consistindo predominantemente pelo acetato, butirato e propionato²⁷. Receptores acoplados à proteína G41 (GPR41) e 43 (GPR43) reconhecem AGCC em tecidos periféricos, sendo expressos por adipócitos humanos, células epiteliais colônicas e células

mononucleares do sangue periférico²⁸. A interação dos AGCC com a GPR43 pode induzir efeitos anti-inflamatórios via modulação de células Treg, as quais produzem IL-10, uma citocina associada à tolerância imunológica^{29,30} e que aumentou significativamente no grupo prebiótico. No entanto, também houve aumento de citocinas pró-inflamatórias no presente estudo, especificamente a IL-12p70 e o TNF- α . Alguns autores têm discutido se a GPR41 e GPR43 tem efeitos anti-inflamatórios ou pró-inflamatórios ou ambos²⁸. Os estudos que avaliaram o impacto da ativação ou inativação destes receptores em diferentes situações de doença foram conduzidos quase que em sua totalidade em camundongos nocaute para GPR43, os quais não mimetizam as complexas interações imunológicas em doenças nos seres humanos. Enquanto estudos em camundongos nocaute para GPR43 com colite ou obesidade mostraram redução da inflamação crônica e melhora no controle glicêmico, na secreção de insulina e na redução da gordura corporal³¹⁻³³, outros estudos em camundongos com o mesmo fenótipo mostraram aumento da inflamação crônica, aumento da massa adiposa e intolerância à glicose³⁴⁻³⁶. Uma comparação sistemática entre padrões de expressão de genes humanos e de camundongos durante a inflamação revelou uma baixa correlação³⁷. Neste sentido, ainda é precoce fazer afirmações contundentes sobre o real efeito de prebióticos ou simbióticos sobre

desfechos imunológicos em humanos, uma vez que o conhecimento sobre as funções destes receptores a partir de estudos em humanos *in vivo* é limitada.

No que diz respeito aos indicadores bioquímicos e antropométricos avaliados, o grupo placebo apresentou redução significativa para colesterol total, LDL-c e HDL-c, os grupos placebo e prebiótico apresentaram redução significativa para peso corporal e IMC e o grupo simbiótico apresentou redução significativa para a circunferência da cintura. É importante mencionar que o grupo placebo apresentou maior redução no consumo energético (mediana: -573,2 kcal/dia) comparado com o grupo prebiótico (mediana: -33,8 kcal/dia) e simbiótico (mediana: -282,5 kcal/dia). Se extrapolarmos esses valores para os 30 dias de suplementação, o grupo placebo deixou de consumir aproximadamente 17.000 kcal em um mês, enquanto os grupos prebiótico e simbiótico deixaram de consumir, aproximadamente, 1.000 kcal e 8.500 kcal em um mês, respectivamente. Neste sentido, era esperado que houvesse redução significativa no peso e no IMC no grupo placebo, refletindo também nos parâmetros metabólicos avaliados. Por outro lado, mesmo com redução de apenas 1.000 kcal em um mês, a redução mediana do peso corporal (-2,0 kg) e do IMC (-0,8 kg/m²) no grupo prebiótico foi muito similar à redução mediana no grupo placebo

(-2,6 kg e -1,1 kg/m², respectivamente), não havendo diferenças significativas entre estes grupos. Embora o grupo simbiótico tenha apresentado redução significativa apenas para circunferência da cintura, a redução mediana do peso corporal (-2,9 kg, p=0,057) e do IMC foi quase significativa (-1,0 kg/m², p=0,067). Uma possível explicação da redução destes indicadores nos grupos prebiótico e simbiótico, mesmo sem a redução expressiva no consumo energético quando comparado ao grupo placebo, deve-se à regulação do metabolismo energético pelo FOS. O acetato é o AGCC mais abundante no cólon e é o principal produto da fermentação do FOS pelas bactérias intestinais²⁷. Kimura et al.³⁸ mostraram que o acetato suprimiu a captação de glicose e de ácidos graxos mediado pela insulina em adipócitos de camundongos selvagens. Neste mesmo estudo, o acetato aumentou a expressão gênica de vias glicolíticas e lipolíticas, aumentando o gasto energético. Outro mecanismo de ação do acetato associado à redução do peso é mediado pela proteína ligadora de elementos responsivos a carboidratos (ChREBP), responsável por ativar a transcrição de enzimas envolvidas na gliconeogênese e lipogênese, como a piruvato quinase hepática (L-PK) e a ácido graxo sintase (FAS). A incubação de AGCC, incluindo acetato, em uma cultura de hepatócitos de ratos mostrou a inativação de ChREBP³⁹. Um estudo em ratos mostrou que a administração oral de

acetato reduziu o acúmulo de lipídios no tecido adiposo por meio da redução da atividade de diversas enzimas lipogênicas, incluindo a L-PK e a FAS⁴⁰. Evidências de estudos em modelos animais têm indicado que os receptores GPR41 e GPR43 podem exercer um papel crítico na homeostase energética⁴¹, como o aumento do consumo de oxigênio^{42,43} e o maior gasto energético³⁵. Embora no presente estudo não tenha havido redução significativa na ingestão energética, Frost et al.⁴⁴ mostraram que a administração intraperitoneal de acetato em camundongos machos C57BL/6 resultou em menor ingestão de alimentos, fato explicado pela redução na atividade catalítica hipotalâmica da proteína quinase ativada por AMP, estimulando a expressão de peptídeos anorexígenos, como a pró-opiomelanocortina, e a redução da expressão de peptídeos orexígenos, como o peptídeo relacionado ao gene *agouti*. Entretanto, ainda não está claro se todos os mecanismos relatados ocorrem em humanos com obesidade e se vias similares podem ser induzidas por outros metabólitos microbianos.

Para abordar a questão da redução da ingestão energética com o uso de FOS em humanos com obesidade, nosso grupo de pesquisa realizou uma busca sistemática da literatura em quatro bases de dados (maiores detalhes no Material Suplementar S4) com o objetivo de reunir os estudos publicados sobre esta questão. Foram encontrados apenas

dois estudos em humanos com obesidade^{45,46}. Um deles⁴⁵ foi um ensaio clínico randomizado, placebo-controlado e duplo cego conduzido em homens e mulheres com obesidade (todos os graus), em que os participantes consumiram *cookies* enriquecidos com FOS, perfazendo 9,8g de FOS/dia durante 30 dias. Os indivíduos que consumiram FOS relataram maior saciedade, menor desejo de comer e maior sensação de plenitude entre 20 e 40 minutos após o consumo de FOS. Contudo, este estudo não avaliou a ingestão dietética e não mostrou melhora significativa dos parâmetros antropométricos e metabólicos avaliados. O outro estudo⁴⁶ foi um ensaio clínico randomizado, placebo-controlado e duplo cego conduzido apenas em mulheres com obesidade, sendo a maioria com obesidade grau I (média de IMC entre 33 e 34 kg/m²), em que as participantes consumiram um xarope de batata Yacon, perfazendo 0,14 g FOS/kg de peso/dia durante 120 dias (aproximadamente 10g/dia a cada 70 kg de peso corporal). As mulheres que consumiram FOS relataram maior saciedade durante o experimento, embora, da mesma forma que o presente estudo, não houve redução significativa na ingestão energética, mas houve redução do peso corporal, IMC e circunferência da cintura. Os resultados do nosso estudo em conjunto com os resultados dos estudos supracitados, sugerem que os efeitos benéficos do FOS no balanço energético em humanos com

obesidade talvez estejam relacionados à mudança na utilização dos nutrientes e no gasto energético, não necessariamente na redução da ingestão energética. Não obstante, um estudo de longo prazo⁴⁷ (um ano) que investigou a suplementação de 20g/dia de trigo com alto teor de fibra em indivíduos hiperinsulinêmicos (maioria dos participantes com sobrepeso), mostrou que houve aumento significativo nas concentrações plasmáticas de acetato e butirato e do peptídeo semelhante ao glucagon-1 (GLP-1), mas que estas mudanças ocorreram entre nove a 12 meses de suplementação, sugerindo que a microbiota intestinal pode demorar esse período para se adequar ao maior conteúdo de fibras na dieta e promover benefícios metabólicos. No que diz respeito às cepas presentes no simbiótico utilizado, a literatura ainda não dispõe de estudos suficientes que esclareçam o efeito destas cepas nestes desfechos.

Os pontos fortes deste estudo são: a originalidade da proposta em avaliar desfechos até então não investigados (citocinas inflamatórias) em indivíduos adultos exclusivamente com obesidade mórbida; a comparabilidade dos indivíduos no início do estudo, considerando que indivíduos com obesidade mórbida podem apresentar importantes diferenças metabólicas e clínicas; o próprio desenho do estudo (randomizado, placebo-controlado e triplo cego) e a adesão à suplementação ($\geq 99\%$). Por outro lado, algumas limitações devem ser

consideradas na interpretação dos achados: o método de amostragem (não probabilístico) pode ter fragilizado o poder e a generalização dos resultados, embora muitas variáveis de confusão e modificadores de efeito neste tipo de estudo estão presentes nos critérios de exclusão; não foi avaliado o efeito da suplementação na microbiota intestinal devido à frequência irregular na evacuação pela maioria dos participantes, o que impossibilitou verificar se houve alteração na composição da microbiota; e a ingestão dietética pode ter apresentado variações intra e interindividuais, conduzindo a mudanças específicas na microbiota intestinal, contudo, os participantes receberam orientações dietéticas padronizadas.

Em conclusão, este ensaio clínico sugere que a suplementação de FOS em indivíduos adultos com obesidade mórbida foi capaz de aumentar significativamente as concentrações plasmáticas de IL-10, IL-12p70 e TNF- α e de reduzir significativamente o peso corporal e o IMC, enquanto o simbiótico avaliado foi capaz de reduzir a circunferência da cintura. A partir dos resultados encontrados, a suplementação de FOS e de simbiótico contendo FOS podem representar potenciais adjuvantes no tratamento não farmacológico da obesidade mórbida, embora mais estudos em humanos com esta situação

de doença sejam necessários para se recomendar o uso destes produtos alimentares na prática clínica.

REFERÊNCIAS

1. Hotamisligil GS. Inflammation, metaflammation and immunometabolic disorders. *Nature* 2017;542(7640):177-185. DOI: 10.1038/nature21363
2. Reilly SM, Saltiel AR. Adapting to obesity with adipose tissue inflammation. *Nat Rev Endocrinol* 2017;13(11):633-643. DOI: 10.1038/nrendo.2017.90
3. World Health Organization. Fact sheet on obesity and overweight, 2017. (Accessed May 8, 2018, at <http://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>).
4. Turnbaugh PJ, Hamady M, Yatsunencko T, et al. A core gut microbiome in obese and lean twins. *Nature* 2009;457(7228):480-4. DOI: 10.1038/nature07540
5. Le Chatelier E, Nielsen T, Qin J, et al. Richness of human gut microbiome correlates with metabolic markers. *Nature* 2013;500(7464):541-6. DOI: 10.1038/nature12506.

6. Cani PD, Amar J, Iglesias MA, et al. Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance. *Diabetes* 2007;56(7):1761-72. DOI: 10.2337/db06-1491
7. Gibson GR, Hutkins R, Sanders ME, et al. Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2017;14(8):491-502. DOI: 10.1038/nrgastro.2017.75
8. Guarner, F. et al. World Gastroenterology Organisation Global Guidelines. Probiotics and prebiotics, 2017. (Accessed May 8, 2018, at <http://www.worldgastroenterology.org/guidelines/global-guidelines/probiotics-and-prebiotics/probiotics-and-prebiotics-english>)
9. Hill C, Guarner F, Reid G, et al. Expert consensus document. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2014;11(8):506-14. DOI: 10.1038/nrgastro.2014.66
10. Beserra BT, Fernandes R, do Rosario VA, et al. A systematic review and meta-analysis of the prebiotics and synbiotics effects on glycaemia, insulin concentrations and lipid parameters in adult patients with

overweight or obesity. *Clin Nutr* 2015;34(5):845-58. DOI:

10.1016/j.clnu.2014.10.004

11. Fernandes R, do Rosario VA, Mocellin MC, et al. Effects of inulin-type fructans, galacto-oligosaccharides and related synbiotics on inflammatory markers in adult patients with overweight or obesity: A systematic review. *Clin Nutr* 2017;36(5):1197-1206. DOI:

10.1016/j.clnu.2016.10.003

12. David LA, Maurice CF, Carmody RN, et al. Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome. *Nature* 2014;505(7484):559-63. DOI: 10.1038/nature12820.

13. World Health Organization. WHO Guidelines on Drawing Blood: Best Practices in Phlebotomy. Geneva: World Health Organization, 2010.

14. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 1972;18(6):499-502.

15. World Health Organization. Physical status: the use and interpretation of anthropometry. Report of a WHO Expert Committee. WHO Technical Report Series 854. Geneva: World Health Organization, 1995.

16. World Health Organization. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO Consultation. WHO Technical Report Series 894. Geneva: World Health Organization, 2000.
17. United States Department of Agriculture. Nutrient Database for standard Reference, 2018. (Accessed May 8, 2018, at <http://ndb.nal.usda.gov/>).
18. Brazilian Food Composition Table. São Paulo University (USP). Food Research Center (FoRC). Version 6.0. São Paulo, 2017. (Accessed May 8, 2018, at <http://www.fcf.usp.br/tbca/>).
19. Domene SMA. Técnica Dietética: teoria e aplicações, 1st edn. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 2014. (*Title of the book in English: Dietetic Technique: theory and applications*).
20. Pinheiro ABV, Lacerda EMA, Benzecry EH, et al. Tabela para Avaliação de Consumo Alimentar em Medidas Caseiras, 4th edn. São Paulo: Atheneu, 2002. (*Title of the book in English: Table for Evaluation of Food Consumption in Domestic Measures*).
21. Fisberg RM, Villar BS. Manual de receitas e medidas caseiras para cálculo de inquéritos alimentares. São Paulo: Signus, 2002. (*Title of the book in English: Manual of recipes and domestic measures for the calculation of food surveys*).

22. Willett WC, Howe GR, Kushi LH. Adjustment for total energy intake in epidemiologic studies. *Am J Clin Nutr* 1997;65(4 Suppl):1220S-1228S; discussion 1229S-1231S. DOI: 10.1093/ajcn/65.4.1220S
23. Lacy BE, Mearin F, Chang L. et al. Bowel disorders. *Gastroenterology* 2016;150(6):1393-1407. DOI: 10.1053/j.gastro.2016.02.031
24. Lewis SJ, Heaton KW. Stool form scale as a useful guide to intestinal transit time. *Scand J Gastroenterol* 1997;32(9):920-4. DOI: 10.3109/00365529709011203
25. Ainsworth BE, Haskell WL, Whitt MC, et al. Compendium of physical activities: an update of activity codes and MET intensities. *Med Sci Sports Exerc.* 2000;32(9Suppl):S498-504.
26. Wilms B, Ernst B, Thurnheer M, et al. Correction factors for the calculation of metabolic equivalents (MET) in overweight to extremely obese subjects. *Int J Obes (Lond)* 2014;38(11):1383-7. DOI: 10.1038/ijo.2014.22
27. Rossi M, Corradini C, Amaretti A, et al. Fermentation of fructooligosaccharides and inulin by bifidobacteria: a comparative study of pure and fecal cultures. *Appl Environ Microbiol.* 2005;71(10):6150-8. DOI: 10.1128/AEM.71.10.6150-6158.2005

28. Ang Z, Ding JL. GPR41 and GPR43 in Obesity and Inflammation - Protective or Causative? *Front Immunol.* 2016;7:28. DOI: 10.3389/fimmu.2016.00028
29. Smith PM, Howitt MR, Panikov N, et al. The microbial metabolites, short-chain fatty acids, regulate colonic Treg cell homeostasis. *Science* 2013;341(6145):569-73. DOI: 10.1126/science.1241165
30. Louis P, Hold GL, Flint HJ. The gut microbiota, bacterial metabolites and colorectal cancer. *Nat Rev Microbiol* 2014;12(10):661-72. DOI: 10.1038/nrmicro3344
31. Bjursell M, Admyre T, Göransson M, et al. Improved glucose control and reduced body fat mass in free fatty acid receptor 2-deficient mice fed a high-fat diet. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2011;300(1):E211-20. DOI: 10.1152/ajpendo.00229.2010
32. Kim MH, Kang SG, Park JH, et al. Short-chain fatty acids activate GPR41 and GPR43 on intestinal epithelial cells to promote inflammatory responses in mice. *Gastroenterology* 2013;145(2):396-406. DOI: 10.1053/j.gastro.2013.04.056
33. Tang C, Ahmed K, Gille A, et al. Loss of FFA2 and FFA3 increases insulin secretion and improves glucose tolerance in type 2 diabetes. *Nat Med.* 2015;21(2):173-7. DOI: 10.1038/nm.3779

34. Maslowski KM1, Vieira AT, Ng A, et al. Regulation of inflammatory responses by gut microbiota and chemoattractant receptor GPR43. *Nature*. 2009;461(7268):1282-6. DOI: 10.1038/nature08530
35. Kimura I, Ozawa K, Inoue D, et al. The gut microbiota suppresses insulin-mediated fat accumulation via the short-chain fatty acid receptor GPR43. *Nat Commun* 2013;4:1829. DOI: 10.1038/ncomms2852
36. McNelis JC, Lee YS, Mayoral R, et al. GPR43 Potentiates β -Cell Function in Obesity. *Diabetes* 2015;64(9):3203-17. DOI: 10.2337/db14-1938
37. Seok J, Warren HS, Cuenca AG, et al. Genomic responses in mouse models poorly mimic human inflammatory diseases. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2013;110(9):3507-12. DOI: 10.1073/pnas.1222878110
38. Kimura I, Inoue D, Hirano K, et al. The SCFA Receptor GPR43 and Energy Metabolism. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2014;5:85. DOI: 10.3389/fendo.2014.00085
39. Kawaguchi T, Osatomi K, Yamashita H, et al. Mechanism for fatty acid "sparing" effect on glucose-induced transcription: regulation of carbohydrate-responsive element-binding protein by AMP-activated protein kinase. *J Biol Chem* 2002;277(6):3829-35. DOI: 10.1074/jbc.M107895200

40. Yamashita H, Fujisawa K, Ito E, et al. Improvement of obesity and glucose tolerance by acetate in Type 2 diabetic Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF) rats. *Biosci Biotechnol Biochem* 2007;71(5):1236-43. DOI: 10.1271/bbb.60668.
41. Byrne CS, Chambers ES, Morrison DJ, et al. The role of short chain fatty acids in appetite regulation and energy homeostasis. *Int J Obes (Lond)* 2015;39(9):1331-8. DOI: 10.1038/ijo.2015.84
42. Kimura I, Inoue D, Maeda T, et al. Short-chain fatty acids and ketones directly regulate sympathetic nervous system via G protein-coupled receptor 41 (GPR41). *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011;108(19):8030-5. DOI: 10.1073/pnas.1016088108
43. Bellahcene M, O'Dowd JF, Wargent ET, et al. Male mice that lack the G-protein-coupled receptor GPR41 have low energy expenditure and increased body fat content. *Br J Nutr.* 2013;109(10):1755-64. DOI: 10.1017/S0007114512003923
44. Frost G, Sleeth ML, Sahuri-Arisoylu M, et al. The short-chain fatty acid acetate reduces appetite via a central homeostatic mechanism. *Nat Commun* 2014;5:3611. DOI: 10.1038/ncomms4611
45. de Luis DA, de la Fuente B, Izaola O, et al. Double blind randomized clinical trial controlled by placebo with a fos enriched

cookie on society and cardiovascular risk factors in obese patients. *Nutr Hosp* 2013;28(1):78-85. DOI: 10.3305/nh.2013.28.1.6255

46. Genta S, Cabrera W, Habib N, et al. Yacon syrup: beneficial effects on obesity and insulin resistance in humans. *Clin Nutr* 2009;28(2):182-7. DOI: 10.1016/j.clnu.2009.01.013

47. Freeland KR, Wilson C, Wolever TM. Adaptation of colonic fermentation and glucagon-like peptide-1 secretion with increased wheat fibre intake for 1 year in hyperinsulinaemic human subjects. *Br J Nutr* 2010;103(1):82-90. DOI: 10.1017/S0007114509991462

FONTES DE FINANCIAMENTO

Este estudo foi financiado com recursos próprios do Programa de Pós-Graduação em Nutrição da Universidade Federal de Santa Catarina, Brasil. Os suplementos foram gentilmente doados pela empresa Invictus FarmaNutrição®. Não houve envolvimento de nenhuma instituição na condução da pesquisa e na preparação do artigo.

CONFLITOS DE INTERESSE

Os autores declaram não haver conflito de interesse.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de bolsa de estudos ao autor principal e a outros co-autores deste trabalho. Ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição e à Universidade Federal de Santa Catarina pelo apoio à pesquisa e financiamento dos reagentes utilizados. Ao Prof.º Dr. Everson Araújo Nunes do Laboratório de Investigação de Doenças Crônicas (LIDoC) e à Prof.ª Dr.ª Tânia Silvia Fröde do Laboratório de Imunologia Clínica - UFSC, por disponibilizarem o uso destes laboratórios para o processamento das amostras biológicas. À Invictus FarmaNutrição[®] pela doação dos suplementos. Aos profissionais do Hospital Universitário Polydoro Ernani de São Thiago - UFSC, pelo apoio na coleta das amostras de sangue e no recrutamento dos indivíduos, em especial, ao Prof. Dr. Emerson Leonildo Marques e ao Serviço de Endocrinologia e Metabologia. À Prof.ª Dr.ª Francilene Graciele Kunradi Vieira, pelo auxílio na análise da ingestão dietética.

DECLARAÇÃO DE AUTORIA

Consta apenas no artigo submetido.

MATERIAL SUPLEMENTAR

Material suplementar S1 - Orientações nutricionais oferecidas a todos participantes durante a pesquisa.

ORIENTAÇÕES NUTRICIONAIS

Retirar/Evitar na alimentação:

- Embutidos (salsicha, linguiça, bacon, mortadela, salame, etc.)
- Enlatados e conservas
- Temperos industrializados (*marcas nacionais foram mencionadas, mas foram omitidas aqui no artigo*)
- Chocolate
- Bebida alcoólica e refrigerante
- Açúcar refinado
- Evitar adoçar os alimentos. Em caso de extrema necessidade: adoçante à base de Stévia.

Incluir na alimentação:

- 2 litros de água e consumir chás e sucos (sugestão: água saborizada – acrescente hortelã, alecrim, cravo, canela, gengibre).

- Frutas como: abacaxi, melancia, melão, goiaba, acerola, morango (3-4 porções/dia)
- Folhosos verde-escuros: couve, hortelã, alface e rúcula (2x/dia).
- Alimentos integrais ao invés de refinados (arroz integral, aveia, pão integral, granola sem açúcar, etc.).
- Leguminosas: feijão (todos os tipos), lentilha, soja, quinoa, amaranto.
- Carnes magras (de preferência brancas): peixe, frutos do mar, frango sem pele, ovos (de preferência caipira e não fritos).
- Controlar o consumo de sal, evitar excessos. Não levar o saleiro à mesa. Temperar a salada somente com azeite de oliva e limão. Pode acrescentar linhaça, gergelim, etc.

DICAS

- Não pule nenhuma refeição. Faça 3 grandes refeições (café da manhã, almoço e janta) e 2-3 pequenos lanches entre as grandes refeições.

- Prepare todo e qualquer tipo de carne retirando toda a gordura aparente e/ou peles.

- Alimentos como: azeite de oliva, sementes de linhaça, de girassol, peixes, aveia, farinha de mandioca, soja e leite de soja auxiliam no combate ao colesterol elevado.

- A castanha de caju granulada pode também ser usada para temperar as saladas, assim como o azeite de oliva, suco de limão, gergelim ou linhaça (use 1 colher de sopa).

- Manter horário regular para as refeições (não ultrapassar 3 horas sem comer).

- Mastigar bem os alimentos (tempo mínimo para cada refeição de 20 min para as grandes refeições e 10 minutos para as pequenas refeições, apreciar e sentir o sabor dos alimentos); a comida deve ser engolida quando em consistência pastosa.

- Evitar líquidos durante as refeições. Espere no mínimo 40 minutos para beber água ou sucos.

Material suplementar S2 - Orientações aos participantes durante o período da suplementação.

Durante o período da pesquisa (30 dias), evitar:

- Praticar atividade física intensa, ou seja, correr velozmente, caminhada veloz em colina/montanha (por exemplo, em trilhas), pedalada rápida, ginástica aeróbica, natação rápida, carregar cargas pesadas (> 20 kg).

- Consumir bebida alcoólica.

- Consumir alimentos enriquecidos com prebióticos, probióticos ou simbióticos, tais como:

- Kefir
- Kimchi
- Missoshiro
- Chucrute
- Coalhada
- Molho shoyu (ou molho de soja)
- Alguns tipos de iogurtes (*Marcas de iogurtes nacionais enriquecidos com probióticos foram mencionadas, mas serão omitidas aqui no artigo*)

- Leite fermentado (*Marcas de leite fermentado nacional foram mencionadas, mas serão omitidas aqui no artigo*).

IMPORTANTE: Sempre olhar o rótulo para se certificar de que o produto não contenha prebiótico e probiótico. Palavras como “fibras” na embalagem são sinônimos para prebióticos e palavras como “cultura viva” e “cultura ativa” na embalagem também são sinônimos para probióticos.

Observação: Ao uso de qualquer medicamento ou suplemento nutricional, anotar o nome, dose e tempo utilizado.

Material suplementar S3 – Indicadores bioquímicos dos participantes do estudo no momento basal.

Indicadores	Placebo (n=7)	Prebiótico (n=8)	Simbiótico (n=7)	Valor p
Hemácias (milhões/mm ³)	4,9 ± 0,6	4,5 ± 0,3	4,9 ± 0,6	0,350 ^a
Hemoglobina (g/dL)	12,7 ± 3,1	12,9 ± 0,9	12,9 ± 2,7	0,430 ^b
Hematócrito (%)	41,6 ± 3,3	38,9 ± 1,9	41,5 ± 5,1	0,295 ^a
VCM (u2 fl)	85,7 ± 9,0	86,1 ± 3,6	85,2 ± 3,3	0,711 ^b
HCM (pg)	28,1 ± 3,4	28,5 ± 1,8	28,1 ± 1,5	0,930 ^a
CHCM (g/dL)	32,8 ± 0,7	33,0 ± 1,3	33,0 ± 0,8	0,850 ^a
Leucócitos (célis/mm ³)	8.790,0 ± 2.061,6	7.652,5 ± 2.515,7	7.154,3 ± 1.818,0	0,370 ^a
Segmentados	5.377,4 ± 1.251,3	4.670,7 ± 1.722,1	4.221,6 ± 1.465,6	0,369 ^a
Linfócitos	2.593,8 ± 788,8	2.362,8 ± 762,1	2.261,7 ± 338,1	0,640 ^a
Monócitos	641,5 ± 148,9	484,8 ± 248,7	547,1 ± 196,9	0,355 ^a

Material suplementar S3 – Indicadores bioquímicos dos participantes do estudo no momento basal.

Indicadores	Placebo (n=7)	Prebiótico (n=8)	Simbiótico (n=7)	Valor p
Eosinófilos	129,5 (82,6; 241,5)	86,6 (38,3; 121,2)	83,6 (41,2; 159,8)	0,450 ^b
Basófilos	28,9 (16,5; 51,7)	25,3 (17,7; 31,9)	18,2 (9,2; 20,5)	0,442 ^b
Plaquetas (mm ³)	270.428,6 ± 86.640,8	235.750,0 ± 18.037,7	247.571,4 ± 37.192,6	0,608 ^b
Albumina (mg/dL)	3,7±0,3	3,7 ± 0,3	3,8 ± 0,2	0,667 ^a
Sódio (mEq/L)	139,1 ± 1,8	4,0 (1,5; 9,0)	138,7 ± 3,0	0,918 ^a
Potássio (mEq/L)	4,4 ± 0,4	139,1 ± 1,6	4,2 ± 0,3	0,403 ^a
Fósforo (mg/dL)	4,0 ± 0,5	4,2 ± 0,3	3,8 ± 0,5	0,457 ^a
Vitamina D (ng/mL)	19,7 ± 6,7	3,8 ± 0,2	25,7 ± 10,1	0,333 ^a
Vitamina B ₁₂ (pg/mL)	436,9 ± 159,9	20,6 ± 6,7	496,0 ± 151,1	0,400 ^a
Ácido fólico (ng/mL)	14,4 ± 6,4	389,6 ± 134,6	17,0 ± 5,7	0,222 ^a

Material suplementar S3 – Indicadores bioquímicos dos participantes do estudo no momento basal.

Indicadores	Placebo (n=7)	Prebiótico (n=8)	Simbiótico (n=7)	Valor p
Cálcio sérico (mg/dL)	9,2 ± 0,4	8,7 ± 0,4	8,8 ± 0,3	0,035^a
AST (U/L)	29 (23; 40)	22 (17,5; 26,5)	29 (18; 33)	0,112 ^b
ALT (U/L)	61 (31; 78)	26,5 (22,5; 34,5)	59 (49; 62)	0,026^b
GGT(U/L)	48 (30; 75)	52,5 (33; 69)	49 (41; 60)	0,950 ^b
Fosfatase alcalina (U/L)	95 (77; 107)	86,5 (68; 100,5)	74 (65; 78)	0,215 ^b
TSH (μUI/mL)	2,18 ± 0,59	2,40 ± 1,48	1,82 ± 0,75	0,587 ^a
Paratormônio (pg/mL)	56,3 ± 12,5	82,2 ± 32,9	70,0 ± 25,4	0,210 ^a
Ferro sérico (μg/dL)	64,1 ± 14,9	68,8 ± 17,7	63,6 ± 17,5	0,806 ^a
Transferrina (mg/dL)	301,1 ± 49,8	318,8 ± 58,1	297,3 ± 43,5	0,689 ^a
Ferritina (ng/mL)	235,8 (117,9; 353,3)	83,6 (42,6; 119,3)	161,8 (50,1; 599,6)	0,086 ^b

Material suplementar S3 – Indicadores bioquímicos dos participantes do estudo no momento basal.

Indicadores	Placebo (n=7)	Prebiótico (n=8)	Simbiótico (n=7)	Valor p
CLFL (µg/dL)	267,6 ± 52,5	278,0 ± 44,4	267,1 ± 51,1	0,888 ^a
CLFT (µg/dL)	331,7 ± 49,0	350,5 ± 53,5	330,7 ± 39,7	0,669 ^a
Índice de saturação da transferrina (%)	19,7 ± 5,6	20,1 ± 5,3	19,9 ± 7,4	0,991 ^a

Legenda: VCM – Volume corpuscular médio. HCM – Hemoglobina corpuscular média. CHCM – Concentração de hemoglobina corpuscular média. AST – Aspartato aminotransferase. ALT – Alanina aminotransferase. GGT – Gama glutamyl transferase. TSH – Hormônio tireostimulante. CLFL – Capacidade de ligação do ferro livre. CLFT – Capacidade de ligação do ferro total. As variáveis contínuas foram expressas em média e desvio padrão quando a distribuição foi normal e em mediana e intervalo interquartil quando a distribuição foi não-normal. ^aTeste de ANOVA. ^bTeste de Kruskal Wallis.

Material suplementar S4 – Busca sistemática da literatura sobre o efeito do FOS na fome e saciedade em humanos.

A busca por estudos potencialmente elegíveis foi realizada em maio de 2015 pelo nosso grupo de pesquisa (visando discussão interna) em quatro bases de dados (PubMed, Scopus, Web of Science e CENTRAL (*The Cochrane Central Register of Controlled Trials*)) e nas referências dos estudos incluídos. Esta busca foi atualizada em 10 de maio de 2018. Os critérios de elegibilidade foram: ensaios clínicos randomizados e controlados; uso de FOS em seres humanos; estudos que avaliaram desfechos relacionados à fome e saciedade; publicados nos idiomas inglês, espanhol e português.

A estratégia de busca adotada foi a seguinte: (*prebiotic* OR inulin OR fructooligosaccharid* OR fructo-oligosaccharid* OR “inulin-type fructan”*) AND (*hunger OR fullness OR “desire to eat” OR meal OR *consumption OR appetite OR satiety OR satiation OR satisfaction OR *intake OR eating OR ingestion*).

As listas de referências resultantes em cada base de dados foram transferidas para um software gerenciador de referências, a fim de subsidiar as etapas seguintes de identificação e exclusão de estudos

repetidos, além de facilitar o processo de seleção dos estudos. Nenhum filtro para refinar a pesquisa foi utilizado.

A triagem dos estudos foi realizada pela leitura dos títulos, sendo eliminados aqueles muito discrepantes dos objetivos da busca. Os estudos cujos títulos forneceram aparente elegibilidade, tiveram resumo e texto completos analisados para confirmação do preenchimento dos critérios de inclusão.

É importante destacar que esta busca sistemática foi realizada por dois revisores de forma independente. Em qualquer divergência de opinião, os artigos foram consultados novamente por ambos os revisores até se chegar a um consenso.

A busca nas quatro bases de dados gerou 8.916 registros. Excluindo os registros repetidos e aqueles claramente não elegíveis na análise de títulos e/ou resumos, restaram 40 registros para serem avaliados. Destes, somente cinco utilizaram o FOS em humanos, sendo dois em situação de obesidade. Nenhum estudo adicional foi encontrado nas listas de referências dos estudos incluídos.

8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nesta seção iremos discorrer sobre algumas considerações adicionais dos estudos realizados e levantar perspectivas teóricas para a melhor compreensão dos achados.

a) **Considerações adicionais sobre o estudo de revisão sistemática:**

- Elaboramos este estudo com rigor metodológico adequado, de acordo com as recomendações do PRISMA (*Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analysis*) (LIBERATI et al., 2009), publicada em periódico de Qualis CAPES Nutrição A1. Apenas ensaios clínicos randomizados, controlados e duplo/triplo cegos foram incluídos na revisão. Estudos que combinaram outros imunomoduladores com prebióticos ou simbióticos não foram incluídos, evitando confundimento sobre o real efeito destes produtos alimentares sobre a inflamação associada à obesidade.
- Salientamos que boa parte dos estudos incluídos (sete dos dez estudos) não consideraram marcadores inflamatórios como desfechos primários, portanto, poucos marcadores foram avaliados, especialmente as citocinas inflamatórias, suscitando maior número de estudos que avaliem estes desfechos.
- Na avaliação do risco de viés e da qualidade do relato, algumas informações importantes, tais como: randomização, ocultamento da alocação e cegamento dos avaliadores de desfecho foram superficialmente ou não descritos na maioria dos estudos. Além disso, outras informações metodológicas relevantes não foram descritas ou foram superficialmente descritas, tais como: detalhes sobre a intervenção, condições clínicas dos participantes, medicamentos ou outros suplementos recebidos, dados do estilo de vida, rotas de entrega do suplemento e métodos para avaliar a adesão à suplementação.
- Devido à heterogeneidade metodológica dos estudos incluídos, não foi possível estabelecer recomendações específicas de dose e tempo de suplementação dos prebióticos e simbióticos para exercer ação imunomoduladora em indivíduos com sobrepeso e/ou obesidade.

b) Considerações adicionais sobre o ensaio clínico randomizado:

- De acordo com as revisões sistemáticas realizadas pelo nosso grupo de pesquisa (BESERRA et al., 2015; FERNANDES et al., 2017) e pela atualização da busca destes estudos descrita na subseção 2.6.2, este é o primeiro ensaio clínico randomizado, placebo-controlado e triplo cego em indivíduos exclusivamente com obesidade mórbida ($IMC \geq 40 \text{ kg/m}^2$) que buscou investigar o efeito de prebiótico (FOS) ou simbiótico contendo FOS em marcadores inflamatórios e indicadores do estado nutricional.
- Quanto à dose e o tempo de suplementação, não há consenso na literatura sobre esta questão. Estudos que buscam modular a microbiota intestinal humana geralmente o fazem por períodos limitados de tempo, por questões financeiras, logísticas e para evitar desistências dos participantes. Contudo, a microbiota intestinal modifica rapidamente diante de uma intervenção nutricional (menos de 24 horas), assim como retorna aos valores basais pouco tempo após a interrupção da intervenção (WU et al., 2011; DAVID et al., 2014). Mesmo com mudanças benéficas na composição da microbiota intestinal, pode não haver consequências benéficas para a saúde. O estudo de Wu et al. (2011) mostrou que a mudança na dieta por 10 dias causou alterações significativas e rápidas na microbiota intestinal, embora insuficientes para fazer o indivíduo mudar de um enterotipo para outro, sugerindo que uma intervenção de longo prazo é necessária para se observarem efeitos positivos à saúde. Nas revisões sistemáticas conduzidas pelo nosso grupo de pesquisa, estudos com doses pequenas e de curto prazo apresentaram melhora significativa nos marcadores inflamatórios, perfil lipídico e glicêmico, assim como estudos com doses grandes e de longo prazo não observaram melhora significativa, e vice-versa. Portanto, não está claro qual a dose e por quanto tempo essas alterações precisarão ser implementadas para alterar permanentemente a microbiota intestinal e modificar o curso da doença. Ensaio clínico randomizados, controlados e duplo/triplo cegos que buscam investigar os efeitos à saúde humana de prebióticos, probióticos ou simbióticos por diferentes quantidades de tempo, em diferentes doses, através de diferentes rotas de entrega serão, portanto, fundamentais para se chegar a uma resposta. Embora sejam

questões complexas que exigirão esforço significativo para serem respondidas, o número de estudos nesta temática tem aumentado substancialmente nos últimos anos.

- Utilizar maltodextrina como placebo foi uma decisão baseada em diversas leituras e discussão entre os pesquisadores. Ao nosso entendimento, um placebo deve ser semelhante em se tratando de características sensoriais do suplemento utilizado como intervenção, bem como, diferir na composição apenas pela ausência da substância que está sendo testada. Os próprios pesquisadores consumiram os suplementos antes de iniciar o estudo, não sendo observadas diferenças do ponto de vista sensorial, nem no modo de diluição dos produtos. A maioria dos estudos com prebióticos, probióticos ou simbióticos que fez uso de placebo, utilizou a maltodextrina. Qualquer produto ingerido pode alterar a microbiota intestinal, no entanto, como o meio pelo qual o prebiótico e o simbiótico alteram os desfechos avaliados é justamente pelos produtos da fermentação microbiana, como os AGCC (acetato, propionato e butirato), o placebo a ser utilizado não deveria promover a formação destes compostos. A maltodextrina é um carboidrato digerível e não fermentável, assim, não se espera que tenha havido estímulo à produção de produtos da fermentação microbiana pelo uso deste ingrediente. Por outro lado, é de conhecimento geral que a maltodextrina tem o mesmo índice glicêmico do amido, o que poderia ter contribuído para alterações dos parâmetros glicêmicos. No entanto, não foi orientado o consumo da dosagem diária do suplemento em apenas um único momento, mas em dois momentos distintos, em jejum ou no intervalo das refeições, reduzindo a possível elevação na glicemia com o uso do placebo. Adicionalmente, todos os indivíduos estavam em jejum noturno de oito a 10 horas para realização da coleta de sangue, desse modo, espera-se que não tenha havido impacto do uso de maltodextrina nos desfechos avaliados.
- Embora o tamanho amostral não tenha sido grande, vale destacar que os principais fatores de confusão neste tipo estudo foram considerados como critérios de exclusão ou foram avaliados durante o estudo, mostrando que não havia diferenças significativas no momento basal. O objetivo foi obter amostras comparáveis do ponto de vista demográfico, dietético, bioquímico e clínico, permitindo inferências mais confiáveis.

- Quanto aos indivíduos perdidos no seguimento, aqueles perdidos por não retornarem ao hospital para a última avaliação, não o fizeram por incompatibilidade de agenda, pois estes tinham compromissos laborais em horário comercial e não foram liberados para a avaliação no hospital. Em contato por telefone, nenhum destes indivíduos relatou a presença de efeitos adversos ou outras intercorrências, além de estarem ingerindo o suplemento ofertado conforme a orientação dos pesquisadores. Normalmente indivíduos que são perdidos no seguimento apresentam piores desfechos quando comparados aos indivíduos que continuam na pesquisa. No entanto, neste caso, não parece ter sido este o motivo.
- É importante discutir sobre um grande diferencial entre estudos em seres humanos e em animais: os seres humanos vivem em um ambiente livre, não controlado, portanto, sujeitos a variações ambientais diversas que podem moldar os resultados de uma pesquisa. Ainda que haja ajuste estatístico para diferentes fatores de confusão, fatores mediadores ou de interação, um estudo clínico dificilmente estará totalmente livre de vieses. Este pressuposto é corroborado pela colaboração Cochrane, uma vez que sua ferramenta de avaliação do risco de viés deixa claro que pode haver alto, incerto ou baixo risco de viés, não ausência total de viés. Por outro lado, faz-se necessário verificar se os efeitos benéficos encontrados nos estudos com animais ou *in vitro* se replicam em humanos. Grande número de estudos em animais tem encontrado resultados promissores com o uso de prebióticos, probióticos e simbióticos, no entanto, em seres humanos os resultados ainda são conflitantes. Um artigo de opinião publicado no periódico *Nature* em maio de 2017 (SUEZ; ELINAV, 2017) que citou uma das revisões sistemáticas do nosso grupo de pesquisa (BESERRA et al., 2015) comenta exatamente esta questão, que a maioria dos estudos que mostram efeito benéfico à saúde com o uso de prebióticos, probióticos e simbióticos foram conduzidos em animais ou *in vitro*, e que os estudos em humanos que mostram efeitos benéficos com o uso destes produtos alimentares ainda não elucidaram quais são os mecanismos associados a estes benefícios em diferentes composições microbianas, além de considerar que pode haver variações interindividuais da microbiota intestinal, deste modo, nem sempre o grupo controle é comparável com o grupo

intervenção do ponto de vista da microbiota intestinal. De fato, cada indivíduo apresenta uma microbiota intestinal específica, sendo que esta microbiota pode variar todos os dias (DAVID et al., 2014), dependendo de fatores genéticos e da exposição a fatores ambientais que alteram a microbiota, como o tipo de parto, amamentação, dieta, uso de medicamentos, doenças agudas ou crônicas, higiene, idade, estilo de vida (estresse, horas de sono, atividade física), vacinação, grau de processamento dos alimentos, inclusive o contato prévio com animais e o ritmo circadiano (TAMBURINI et al., 2016). Além disso, a estrutura e a diversidade da microbiota intestinal variam substancialmente entre diferentes populações, tanto na infância quanto na vida adulta (YATSUNENKO et al., 2012). É praticamente impossível controlar todas estas variáveis em estudos com seres humanos, especialmente naqueles com obesidade mórbida. Portanto, se, hipoteticamente, replicarmos hoje todos os estudos em humanos sob as mesmas circunstâncias clínicas, provavelmente a microbiota intestinal destes indivíduos não seria a mesma e os resultados provavelmente não seriam os mesmos. Em outras palavras, a reprodutibilidade dos estudos que verificam o efeito de moduladores da microbiota intestinal em humanos deve ser debatida no meio científico. Para minimizar esta situação, é essencial que haja a coleta de diferentes variáveis demográficas, clínicas, dietéticas e laboratoriais e que haja uma descrição detalhada dos métodos nos artigos publicados, uma vez que grande número de variáveis pode modular a microbiota intestinal. Em nossas revisões sistemáticas (BESERRA et al., 2015; FERNANDES et al., 2017) percebemos a fragilidade no detalhamento metodológico da maioria dos artigos incluídos, com descrição superficial dos métodos implementados. Em diferentes *momentos o grupo de pesquisa entrou em contato com os autores correspondentes destes estudos para coletar dados adicionais não incluídos na publicação original*. Portanto, de acordo com a nossa opinião, editores, revisores e autores devem ir além do desenho tradicional de um ensaio clínico randomizado, controlado e duplo/triplo cego para estudos que buscam verificar o efeito de moduladores da microbiota intestinal em humanos. A coleta do maior número de dados que caracterizam os participantes dos estudos é essencial, assim como de potenciais fatores de confusão. Adicionalmente, para

os estudos que também buscam investigar o impacto da suplementação na microbiota intestinal, correlacionando as mudanças na microbiota com as mudanças nos outros desfechos avaliados, verificar apenas a composição da microbiota intestinal é insuficiente, pois a composição não reflete necessariamente a simbiose estabelecida entre as bactérias, nem os metabólitos produzidos por estas. Se possível, os estudos deveriam implementar as tecnologias “ômicas”, como a metagenômica, metabolômica e metabonômica, a fim de explorar as interações entre a microbiota intestinal e o hospedeiro.

- Para destacar a força das evidências deste trabalho, executamos um ensaio clínico randomizado, placebo-controlado e triplo cego, minuciosamente planejado. Muitos fatores de confusão neste tipo estudo foram considerados como critérios de exclusão ou foram avaliados no percurso do estudo, sem diferenças significativas entre os grupos de tratamento. A adesão à suplementação nos participantes avaliados foi excelente e pequeno número de participantes relatou a presença de efeitos adversos. Mesmo aqueles que relataram estes efeitos, não houve desistência do estudo por este motivo.

Por fim, baseado neste e nos estudos prévios realizados pelo grupo de pesquisa, acreditamos que a suplementação de 11g/dia de FOS em indivíduos com obesidade mórbida durante 30 dias promove efeitos imunomoduladores e de redução de indicadores antropométricos, enquanto a suplementação de 11g/dia de simbiótico contendo FOS induz à redução de indicadores antropométricos. Como a redução do peso e da gordura corporal, especialmente a visceral, pode conduzir à melhora de desfechos inflamatórios e metabólicos em longo prazo, sugere-se a realização de novos estudos com maior tempo de suplementação, a fim de verificar possíveis efeitos destes produtos alimentares nos desfechos avaliados.

REFERÊNCIAS

ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H.; PILLAI, S. **Imunologia celular e molecular**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2007. 564p.

ABESO - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA PARA O ESTUDO DA OBESIDADE E SÍNDROME METABÓLICA. **Diretrizes Brasileiras de Obesidade 2016**. São Paulo, SP: 4ª ed., 2016. 188 p.

AINSWORTH, B. E. et al. Compendium of physical activities: an update of activity codes and MET intensities. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v. 32, p. 498–516, 2000.

AJUWON, K. M.; SPURLOCK, M. E. Palmitate activates the NF-kappaB transcription factor and induces IL-6 and TNFalpha expression in 3T3-L1 adipocytes. **Journal of Nutrition**, v. 135, n. 8, p. 1841-1846, 2005.

ALBERTI, K. G. et al. Harmonizing the Metabolic Syndrome A Joint Interim Statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. **Circulation**, v. 120, n. 16, p. 1640-1645, 2009.

ANDREASEN, A. S. et al. Effects of Lactobacillus acidophilus NCFM on insulin sensitivity and the systemic inflammatory response in human subjects. **British Journal of Nutrition**, v. 104, n. 12, p. 1831-1838, 2010.

ANG, Z.; DING, J. L. GPR41 and GPR43 in Obesity and inflammation – Protective or Causative? **Frontiers in Immunology**, v. 7, n. 28, 2016.

ASEMI, Z. et al. Effect of multispecies probiotic supplements on metabolic profiles, hs-CRP, and oxidative stress in patients with type 2 diabetes. **Annals of Nutrition and Metabolism**, v. 63, n. 1-2, p. 1-9, 2013.

ASGHAR, A.; SHEIKH, N. Role of immune cells in obesity induced low grade inflammation and insulin resistance. **Cellular Immunology**, v. 315, p. 18-26, 2017.

BAI, Y.; SUN, Q. Macrophage recruitment in obese adipose tissue. **Obesity Reviews**, v. 16, n. 2, p. 127-136, 2015.

BAQAI, N.; WILDING, J. P. H. Pathophysiology and aetiology of obesity. **Medicine**, v. 43, n. 2, p. 73-76, 2015.

BELLAHCENE, M. et al. Male mice that lack the G-protein-coupled receptor GPR41 have low energy expenditure and increased body fat content. **British Journal of Nutrition**, v. 109, n. 10, p. 1755-1764, 2013.

BERNINI, L. J. et al. Beneficial effects of Bifidobacterium lactis on lipid profile and cytokines in patients with metabolic syndrome: A randomized trial. Effects of probiotics on metabolic syndrome. **Nutrition**, v. 32, n. 6, p.716-719, 2016.

BESERRA, B. et al. A Systematic Review and Meta-Analysis of the prebiotics and synbiotics effects on glycaemia, insulin concentrations and lipid parameters in adult patients with overweight or obesity. **Clinical Nutrition**, v. 34, n. 5, p. 845-858, 2015.

BESTEN, G. et al. Short-Chain Fatty Acids Protect Against High-Fat Diet-Induced Obesity via a PPAR γ -Dependent Switch From Lipogenesis to Fat Oxidation. **Diabetes**, v. 64, n. 7, p. 2398-2408, 2015.

BESTEN, G. et al. The role of short-chain fatty acids in the interplay between diet, gut microbiota, and host energy metabolism. **Journal of Lipid Research**, v. 54, n. 9, p. 2325-2340, 2013.

BETTIGOLE, S. E.; Glimcher, L. H. Endoplasmic reticulum stress in immunity. **Annual Review of Immunology**, v. 33, p. 107–138, 2015.

BINDELS, L. B. et al. Towards a more comprehensive concept for prebiotics. **Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology**, v. 12, n. 5, p. 303-310, 2015.

BJURSELL, M. et al. Improved glucose control and reduced body fat mass in free fatty acid receptor 2-deficient mice fed a high-fat diet. **American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism**, v. 300, n. 1, p. E211-220, 2011.

BOLOGNINI, D. The Pharmacology and Function of Receptors for Short-Chain Fatty Acids. **Molecular Pharmacology**, v. 89, n. 3, p. 388-398, 2016.

BONNEFONT-ROUSSELOT, D. Glucose and reactive oxygen species. **Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care**, v. 5, n. 5, p. 561-568, 2002.

BOTTACINI, F. et al. Diversity, ecology and intestinal function of bifidobacteria. **Microbial Cell Factories**, v. 13, S4, 2014. Suplemento 1.

BOUTAGY, N. E. Metabolic endotoxemia with obesity: Is it real and is it relevant? **Biochimie**, v. 124, p. 11-20, 2016.

BRAHIMI-HORN, M. C.; POUYSSÉGUR, J. Oxygen, a source of life and stress. **FEBS Letters**, v. 581, n. 19, p. 3582-3591, 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. **Glossário Temático Alimentação e Nutrição. Série A. Normas e Manuais Técnicos**. Brasília - DF: Ministério da Saúde, 2007.

_____. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Vigitel Brasil 2016: Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico**. Brasília - DF: Ministério da Saúde, 2017.

_____. Ministério da Saúde. Portaria GM nº 425 de 19 de março de 2013. **Estabelece regulamento técnico, normas e critérios para o Serviço de Assistência de Alta Complexidade ao Indivíduo com Obesidade**. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 20 mar. 2013a. Seção 1, p.25.

_____. Resolução-RE n.º 4.858, de 14 de novembro de 2012. Conceder a Alteração, Retificação, Revalidação, Declaração de Caducidade, Cancelamento e o Desarquivamento dos processos dos Produtos para a Saúde Concede alteração de unidade fabril e inclusão de marca. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 26 nov. 2012. Seção 1, p.13. Suplemento.

_____. Resolução-RE n.º 35, de 4 de janeiro de 2013. Concede alteração de unidade fabril e inclusão de marca. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 2013b.

_____. Resolução n.º 466, de 12 de dezembro de 2012. Aprova diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos. Brasília: **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 2013c.

BRESTOFF, J. R.; ARTIS, D. Commensal bacteria at the interface of host metabolism and the immune system. **Nature Immunology**, v. 14, n. 7, p. 676-684, 2013.

BURNS, P. B.; ROHRICH, R. J.; Chung, K. C. The levels of evidence and their role in evidence-based medicine. **Plastic and Reconstructive Surgery**, v. 128, n. 1, p. 305-310, 2011.

BYRNE, N. M. et al. Metabolic equivalent: one size does not fit all. **Journal of Applied Physiology**, v. 99, p. 1112–1119, 2005.

BYRNE, C. S. et al. The role of short chain fatty acids in appetite regulation and energy homeostasis. **International Journal of Obesity (London)**, v. 39, n. 9, p. 1331-1338, 2015.

CANI, P. D. et al. Changes in gut microbiota control metabolic endotoxemia-induced inflammation in high-fat diet-induced obesity and diabetes in mice. **Diabetes**, v. 57, n. 6, p. 1470-1481, 2008.

CANI, P. D. et al. Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance. **Diabetes**, v. 56, n. 7, p.1761–1772, 2007a.

CANI, P. D. et al. Selective increases of bifidobacteria in gut microflora improve high-fat-diet-induced diabetes in mice through a mechanism associated with endotoxaemia. **Diabetologia**, v. 50, n. 11, p. 2374-2383, 2007b.

CHANG, S. H. et al. The effectiveness and risks of bariatric surgery: an updated systematic review and meta-analysis, 2003-2012. **JAMA Surgery**, v. 149, n. 3, p. 275-287, 2014.

CINKAJZLOVÁ, A.; MRÁZ, M.; HALUZÍK, M. Lymphocytes and macrophages in adipose tissue in obesity: markers or makers of subclinical inflammation? **Protoplasma**, v. 254, n. 3, p. 1219-1232, 2017.

CHEN, C. C. et al. Oral inoculation of probiotics *Lactobacillus acidophilus* NCFM suppresses tumour growth both in segmental orthotopic colon cancer and extra-intestinal tissue. **British Journal of Nutrition**, v. 107, n. 11, p. 1623-1634, 2012.

CHOI, C. S. et al. Lactate induces insulin resistance in skeletal muscle by suppressing glycolysis and impairing insulin signaling. **American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism**, v. 283, n. 2, p. E233-E240, 2002.

COTTILARD, A. et al. Dietary intervention impact on gut microbial gene richness. **Nature**, v. 500, n. 7464, p. 585-588, 2013.

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

COX, M. A. et al. Short-chain fatty acids act as anti-inflammatory mediators by regulating prostaglandin E(2) and cytokines. **World Journal of Gastroenterology**, v. 15, n. 44, p. 5549-5557, 2009.

DASU, M. R.; JIALAL, I. Free fatty acids in the presence of high glucose amplify monocyte inflammation via Toll-like receptors. **American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism**, v. 300, n. 1, E145-54, 2011.

DAVID, L. A. et al. Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome. **Nature**, v. 505, n. 7484, p. 559-563, 2014.

DEFURIA, J. et al. B cells promote inflammation in obesity and type 2 diabetes through regulation of T-cell function and an inflammatory cytokine profile. **Proceeding of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 110, n. 13, p.5133-5188, 2013.

DE LUIS, D. A, et al. Double blind randomized clinical trial controlled by placebo with a fos enriched cookie on satiety and cardiovascular risk factors in obese patients. **Nutrición Hospitalaria**, v. 28, n.1, p.78-85, 2013.

DICERBO, A. et al. Mechanisms and therapeutic effectiveness of lactobacilli. **Journal of Clinical Pathology**, v. 69, n. 3, p. 187-203, 2016.

DIETRICH, C. G.; KOTTMANN, T.; ALAVI, M. Commercially available probiotic drinks containing *Lactobacillus casei* DN-114001 reduce antibiotic-associated diarrhea. **World Journal of Gastroenterology**, v. 20, n. 42, p. 15837-15844, 2014.

DOMENE, S. M. A. **Técnica Dietética: teoria e aplicações**. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 2014.

DOMINGUEZ, A. L. et al. An Overview of the Recent Developments on Fructooligosaccharide Production and Applications. **Food and Bioprocess Technology**, v. 7, n. 2, p. 324-337, 2013.

DONOHUE, D.R. et al. The microbiome and butyrate regulate energy metabolism and autophagy in the mammalian colon. **Cell Metabolism**, v. 13, p. 517–526, 2011.

EGGERS, S. et al. Effect of *Lactobacillus rhamnosus* HN001 on carriage of *Staphylococcus aureus*: results of the impact of probiotics for reducing infections in veterans (IMPROVE) study. **BMC Infectious Diseases**, v. 18, n. 1, 129, 2018.

EL-NEZAMI, H. S. et al. Probiotic supplementation reduces a biomarker for increased risk of liver cancer in young men from Southern China. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 83, n. 5, p. 1199-1203, 2006.

ESLAMPARAST, T. et al. Synbiotic supplementation in nonalcoholic fatty liver disease: a randomized, double-blind, placebo-controlled pilot study. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 99, n. 3, p. 535-542, 2014.

FERNANDES, R.; et al. Effects of inulin-type fructans, galacto-oligosaccharides and related synbiotics on inflammatory markers in adult patients with overweight or obesity: A systematic review. **Clinical Nutrition**, v. 36, n. 5, p. 1197-1206, 2017.

FERNANDES, R. et al. Effects of prebiotic and synbiotic supplementation on inflammatory markers and anthropometric indices after Roux-en-Y gastric bypass: a randomized, triple blind, placebo-controlled pilot study. **Journal of Clinical Gastroenterology**, v. 50, n. 3, p. 208-217, 2016.

FEUERER, M. et al. Lean, but not obese, fat is enriched for a unique population of regulatory T cells that affect metabolic parameters. **Nature Medicine**, v. 15, n. 8, p. 930-939, 2009.

FISBERG, R. M.; MARCHIONI, D. M. L. **Manual de Avaliação do Consumo Alimentar em estudos populacionais: a experiência do inquérito de saúde em São Paulo (ISA)**. São Paulo: Faculdade de Saúde Pública da USP, 2012.

FISBERG, R. M., VILLAR, B. S. **Manual de receitas e medidas caseiras para cálculo de inquéritos alimentares**. São Paulo: Signus, 2002.

FLEGAL, K.M. et al. Association of all-cause mortality with overweight and obesity using standard body mass index categories: a systematic review and meta-analysis. **JAMA**, v. 309, n. 1, p. 71-82, 2013.

FONTANA, L. et al. Sources, isolation, characterisation and evaluation of probiotics. **British Journal of Nutrition**, v. 109, p. 35-50, 2013. Suplemento 2.

FORMAN, H. J.; TORRES, M. Reactive oxygen species and cell signaling: respiratory burst in macrophage signaling. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 166, p. S4-S8, 2002. Suplemento 1.

- FRANCAVILLA, R. Lactobacillus reuteri strain combination in Helicobacter pylori infection: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. **Journal of Clinical Gastroenterology**, v. 48, n. 5, p. 407-413, 2014.
- FRANZ, M. J. et al. Lifestyle weight-loss intervention outcomes in overweight and obese adults with type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials. **Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics**, v. 115, n. 9, p. 1447-1463, 2015.
- FREELAND, K. R.; WILSON, C.; WOLEVER, T. M. Adaptation of colonic fermentation and glucagon-like peptide-1 secretion with increased wheat fibre intake for 1 year in hyperinsulinaemic human subjects. **British Journal of Nutrition**, v. 103, n. 1, p. 82-90, 2010.
- FREI, R.; AKDIS, M.; O'MAHONY, L. Prebiotics, probiotics, synbiotics, and the immune system: experimental data and clinical evidence. **Current Opinion in Gastroenterology**, v. 31, n. 2, p. 153-158, 2015.
- FRIEDEWALD, W. T.; LEVY, R. I.; FREDRICKSON, D. S. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. **Clinical Chemistry**, v. 18, n. 6, p. 499-502, 1972.
- FROST, G. et al. The short-chain fatty acid acetate reduces appetite via a central homeostatic mechanism. **Nature Communications**, v. 5, n. 3611, 2014.
- FU, Y. et al. Facilitative glucose transporter gene expression in human lymphocytes, monocytes, and macrophages: a role for GLUT isoforms 1, 3, and 5 in the immune response and foam cell formation. **Blood Cells, Molecules and Diseases**, v. 32, n. 1, p. 182-190, 2004.
- FUENTES, M. C. et al. Cholesterol-lowering efficacy of Lactobacillus plantarum CECT 7527, 7528 and 7529 in hypercholesterolaemic adults. **British Journal of Nutrition**, v. 109, n. 10, p. 1866-1872, 2013.
- FUKUDA, S. ET AL. Bifidobacteria can protect from enteropathogenic infection through production of acetate. **Nature**, v. 469, n. 7331, p. 543-547, 2011.

GENTA, S. et al. Yacon syrup: Beneficial effects on obesity and insulin resistance in humans. **Clinical Nutrition**, v. 28, n. 2, p.182-187, 2009.

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

GIBSON, G. R.; ROBERFROID, M. B. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. **The Journal of Nutrition**, v. 125, n. 6, p. 1401-1412, 1995.

GIBSON, G. R. et al. Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. **Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology**, v. 14, n. 8, p. 491-502, 2017.

GILL, H. S. et al. Enhancement of immunity in the elderly by dietary supplementation with the probiotic *Bifidobacterium lactis* HN019. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 74, n. 6, p. 833-839, 2001.

GONZÁLEZ-MUNIESA, P. et al. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 3, n. 17034, 2017. doi: 10.1038/nrdp.2017.34.

GOOD, M. et al. *Lactobacillus rhamnosus* HN001 decreases the severity of necrotizing enterocolitis in neonatal mice and preterm piglets: evidence in mice for a role of TLR9. **American Journal of Physiology. Gastrointestinal and Liver Physiology**, v. 306, n. 11, p. G1021-G1032, 2014.

GOOSSENS, G. H. et al. Increased adipose tissue oxygen tension in obese compared with lean men is accompanied by insulin resistance, impaired adipose tissue capillarization, and inflammation. **Circulation**, v. 124, n. 1, p. 67-76, 2011.

GRAVITZ, L. Microbiome: The critters within. **Nature**, v. 485, n. 7398, p. S12-S13, 2012. Suplemento.

GUARNER, F. et al. **World Gastroenterology Organisation global guidelines: probiotics and prebiotics February 2017**. Disponível em: <<http://www.worldgastroenterology.org/guidelines/global-guidelines/probiotics-and-prebiotics/probiotics-and-prebiotics-english>>. Acesso em: 08 abril 2018.

HAN, C. Y. et al. NADPH oxidase-derived reactive oxygen species increases expression of monocyte chemotactic factor genes in cultured adipocytes. **Journal of Biological Chemistry**, v. 287, n. 13, p. 10379-10393, 2012.

HALESTRAP, A. P.; WILSON, M. C. The monocarboxylate transporter family--role and regulation. **IUBMB Life**, v. 64, n. 2, p. 109-119, 2012.

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

HEYMSFIELD, S. B.; CEFALU, W. T. Does Body Mass Index Adequately Convey a Patient's Mortality Risk? **JAMA**, v. 309, n. 1, 87-88, 2013.

HIGASHIKAWA, F. et al. Antiobesity effect of *Pediococcus pentosaceus* LP28 on overweight subjects: a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 70, n. 5, p. 582-587, 2010.

HIGGINS, J. P. T.; GREEN, S. **Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions Version 5.1.0**. The Cochrane Collaboration, 2011. Disponível em: <www.cochrane-handbook.org>. Acesso em: 05 fevereiro 2018.

HILL, C. et al. Expert consensus document. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. **Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology**, v. 11, n. 8, p. 506-14, 2014.

HOTAMISLIGIL, G. S. Inflammation, metaflammation and immunometabolic disorders. **Nature**, v. 542, n. 7640, p. 177-185, 2017.

HOUSTIS, N.; ROSEN, E. D.; LANDER, E. S. Reactive oxygen species have a causal role in multiple forms of insulin resistance. **Nature**, v. 440, n. 7086, p. 944-948, 2006.

HUXLEY, R. et al. Body mass index, waist circumference and waist:hip ratio as predictors of cardiovascular risk--a review of the literature. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 64, n. 1, p. 16-22, 2010.

IEMOLI, E. et al. Probiotics reduce gut microbial translocation and improve adult atopic dermatitis. **Journal of Clinical Gastroenterology**, v. 46, S33-40, 2012. Suplemento.

ILES, K. E.; FORMAN, H. J. Macrophage signaling and respiratory burst. **Immunologic Research**, v. 26, n.1-3, p. 95-105, 2002.

INVICTUS. **FIBERFOS**[®]. Disponível em:
< <http://www.farmanutricaoofqm.com.br/index.php/fiberfos/>>. Acesso em: 18 abr. 2018a.

INVICTUS. **Simbioflora**[®]. Disponível em:
< <http://www.farmanutricaoofqm.com.br/index.php/simbioflora/>>. Acesso em: 18 abr. 2018b.

JAGANNATHAN-BOGDAN, M. et al. Elevated proinflammatory cytokine production by a skewed T cell compartment requires monocytes and promotes inflammation in type 2 diabetes. **Journal of Immunology**, v. 186, n. 2, p. 1162-1172, 2011.

JEEJEEBHOY, K. N.; DETSKY, A. S.; BAKER, J. P. Assessment of nutritional status. **Journal of Parenteral and Enteral Nutrition**, v. 14, n. 5, p. 193S-196S, 1990. Suplemento.

JOHNSON, A. R.; MILNER, J. J.; MAKOWSKI, L. The inflammation highway: metabolism accelerates inflammatory traffic in obesity. **Immunological Reviews**, v. 249, n. 1, p. 218-238, 2012.

JUMPERTZ, R. et al. Energy-balance studies reveal associations between gut microbes, caloric load, and nutrient absorption in humans. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 94, n. 1, p. 58-65, 2011.

JUNG, T. H. et al. Butyrate modulates bacterial adherence on LS174T human colorectal cells by stimulating mucin secretion and MAPK signaling pathway. **Nutrition Research and Practice**, v. 9, n. 4, p. 343-349, 2015.

KAWAGUCHI, T. et al. Mechanism for fatty acid "sparing" effect on glucose-induced transcription: regulation of carbohydrate-responsive element-binding protein by AMP-activated protein kinase. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 277, n. 6, p. 3829-3835, 2002.

KIM, M. H. et al. Short-chain fatty acids activate GPR41 and GPR43 on intestinal epithelial cells to promote inflammatory responses in mice. **Gastroenterology**, v. 145, n. 2, p. 396-406, 2013.

KIMURA, I. et al. Short-chain fatty acids and ketones directly regulate sympathetic nervous system via G protein-coupled receptor 41 (GPR41). **Proceeding of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 109, n. 19, p. 8030-8035, 2011.

KIMURA, I. et al. The gut microbiota suppresses insulin-mediated fat accumulation via the short-chain fatty acid receptor GPR43. **Nature Communications**, v. 4, n. 1829, 2013.

KIMURA, I. et al. The SCFA Receptor GPR43 and Energy Metabolism. **Frontiers in Endocrinology (Lausanne)**, v. 5, n. 85, 2014.

KONSTANTINOV, S. R. et al. S layer protein A of *Lactobacillus acidophilus* NCFM regulates immature dendritic cell and T cell functions. **Proceeding of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 105, n. 49, p. 19474-19479, 2008.

LACY, B.E. et al. Bowel disorders. **Gastroenterology**, v. 150, n. 6, p. 1393-1407, 2016.

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

LAVIE, C. J. et al. Body composition and prognosis in chronic systolic heart failure: the obesity paradox. **The American Journal of Cardiology**, v. 91, n. 7, p. 891–894, 2003.

LE CHATELIER, E. et al. Richness of human gut microbiome correlates with metabolic markers. **Nature**, v. 500, n. 7464, p. 541–546, 2013.

LEWIS, S. J.; HEATON, K. W. Stool form scale as a useful guide to intestinal transit time. **Scandinavian Journal of Gastroenterology**, v. 32, n. 9, p. 920–924, 1997.

LIBERATI A. et al. The PRISMA statement for reporting systematic reviews and meta-analyses of studies that evaluate health care interventions: explanation and elaboration. **Journal of Clinical Epidemiology**, v. 62, n. 10, e1–34, 2009.

LIU, C. et al. Adhesion and immunomodulatory effects of *Bifidobacterium lactis* HN019 on intestinal epithelial cells INT-407. **World Journal of Gastroenterology**, v. 16, n. 18, p. 2283–2290, 2010.

LIU, C. et al. Lactate inhibits lipolysis in fat cells through activation of an orphan G-protein-coupled receptor, GPR81. **Journal of Biological Chemistry**, v. 284, n. 5, p. 2811–2822, 2009a.

LIU, J. et al. Genetic deficiency and pharmacological stabilization of mast cells reduce diet-induced obesity and diabetes in mice. **Nature Medicine**, v. 15, n. 8, p. 940–945, 2009b.

LOMAX, A. R.; CALDER, P. C. Probiotics, immune function, infection and inflammation: a review of the evidence. **British Journal of Nutrition**, v. 101, n. 5, p. 633–658, 2009.

LOUIS, P. et al. The gut microbiota, bacterial metabolites and colorectal cancer. **Nature Reviews Microbiology**, v. 12, n. 10, p. 661–672, 2014.

LUMENG, C. N.; MAILLARD, I.; SALTIEL, A. R. T-ing up inflammation in fat. **Nature Medicine**, v. 15, n. 8, p. 846–847, 2009.

- LUO, J. et al. Chronic consumption of short-chain fructooligosaccharides does not affect basal hepatic glucose production or insulin resistance in type 2 diabetics. **The Journal of Nutrition**, v. 130, n. 6, p. 1572-1577, 2000.
- MALAGUARNERA, M. et al. Bifidobacterium longum with fructo-oligosaccharides in patients with non alcoholic steatohepatitis. **Digestive Diseases and Sciences**, v. 57, n. 2, p. 545-553, 2012.
- MASLOWSKI, K. M. et al. Regulation of inflammatory responses by gut microbiota and chemoattractant receptor GPR43. **Nature**, v. 461, n. 7268, p. 1282-1286, 2009.
- MASTROMARINO, P. et al. Effectiveness of Lactobacillus-containing vaginal tablets in the treatment of symptomatic bacterial vaginosis. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 15, n. 1, p. 67-74, 2009.
- MASUI, R. et al. G protein-coupled receptor 43 moderates gut inflammation through cytokine regulation from mononuclear cells. **Inflammatory Bowel Diseases**, v. 19, n. 13, p. 2848-2856, 2013.
- MAZZATTI, D. et al. A microarray analysis of the hypoxia-induced modulation of gene expression in human adipocytes. **Archives of Physiology and Biochemistry**, v. 118, n. 3, p. 112-120, 2012.
- MCNELIS, J. C. et al. GPR43 Potentiates β -Cell Function in Obesity. **Diabetes**, v. 64, n. 9, p. 3203-3217, 2015.
- MOLARIUS, A. et al. Waist and hip circumferences, and waist-hip ratio in 19 populations of the WHO MONICA Project. **International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders**, v. 23, n. 2, p. 116-125, 1999.
- MORENO-NAVARRETE, J. M. et al. Circulating zonulin, a marker of intestinal permeability, is increased in association with obesity-associated insulin resistance. **PLoS One**, v. 7, n. 5, e37160, 2012.
- MOROTI, C. et al. Effect of the consumption of a new symbiotic shake on glycemia and cholesterol levels in elderly people with type 2 diabetes mellitus. **Lipids in Health and Disease**, v. 11:29, 2012.

NAUDE, C. E. et al. Low carbohydrate versus isoenergetic balanced diets for reducing weight and cardiovascular risk: a systematic review and meta-analysis. **PLoS One**, v. 9, n. 7, e100652, 2014.

NISHIMURA, S. et al. CD8⁺ effector T cells contribute to macrophage recruitment and adipose tissue inflammation in obesity. **Nature Medicine**, v. 15, n. 8, p. 914-920, 2009.

ODAMAKI, T. et al. Effect of the oral intake of yogurt containing *Bifidobacterium longum* BB536 on the cell numbers of enterotoxigenic *Bacteroides fragilis* in microbiota. **Anaerobe**, v. 18, n. 1, p. 14-18, 2012.

ORG, E. et al. Sex differences and hormonal effects on gut microbiota composition in mice. **Gut Microbes**, v. 7, n. 4, p. 313-322, 2016.

PADWAL, R. et al. Relationship Among Body Fat Percentage, Body Mass Index, and All-Cause Mortality: A Cohort Study. **Annals of Internal Medicine**, v. 164, n. 8, p. 532-541, 2016.

PAINEAU, D. et al. Effects of seven potential probiotic strains on specific immune responses in healthy adults: a double-blind, randomized, controlled trial. **FEMS Immunology and Medical Microbiology**, v. 53 n. 1, p. 107-113, 2008.

PATIL, D. P. et al. Molecular analysis of gut microbiota in obesity among Indian individuals. **Journal of Biosciences**, v. 37, n. 4, p. 647-657, 2012.

PEREZ-CORNAGO, A. et al. Prebiotic consumption and the incidence of overweight in a Mediterranean cohort: the Seguimiento Universidad de Navarra Project. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 102, n. 6, p. 1554-1562, 2015.

PÉREZ DE HEREDIA, F.; WOOD, I. S.; TRAYHURN, P. Hypoxia stimulates lactate release and modulates monocarboxylate transporter (MCT1, MCT2, and MCT4) expression in human adipocytes. **Pflügers Archiv - European Journal of Physiology**, v. 459, n. 3, p. 509-518, 2010.

PERI, F. Exploring the LPS/TLR4 signal pathway with small molecules. **Biochemical Society transactions**, v. 38, n. 5, p. 1390-1395, 2010.

PETERSEN, R. et al. Consumption of probiotics increases the effect of regulatory T cells in transfer colitis. **Inflammatory Bowel Diseases**, v. 18, n. 1, p. 131-142, 2012.

PILLITTERI, J. L. et al. Use of dietary supplements for weight loss in the United States: results of a national survey. **Obesity (Silver Spring)**, v. 16, n. 4, p. 790-796, 2008.

PINHEIRO, A. B. V. et al. **Tabela para Avaliação de Consumo Alimentar em Medidas Caseiras**. 4. ed. São Paulo: Atheneu, 2002. 75p.

PODDAR, K. et al. Nutraceutical supplements for weight loss: a systematic review. **Nutrition in Clinical Practice**, v. 26, n. 5, p. 539-552, 2011.

QIN, J. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. **Nature**, v. 464, n. 7285, p. 59-65, 2010.

RAHAT-ROZENBLOOM, S. et al. Evidence for greater production of colonic short-chain fatty acids in overweight than lean humans. **International Journal of Obesity (London)**, v. 38, n. 12, p. 1525-1531, 2014.

RAMANA, K. V.; SRIVASTAVA, S. K. Aldose reductase: a novel therapeutic target for inflammatory pathologies. **International Journal of Biochemistry and Cell Biology**, v. 42, n. 1, p. 17-20, 2010.

RANKINEN, T. et al. The prediction of abdominal visceral fat level from body composition and anthropometry: ROC analysis. **International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders**, v. 23, n. 8, p. 801-809, 1999.

REILLY, S. M.; SALTIEL, A. R. Adapting to obesity with adipose tissue inflammation. **Nature Reviews Endocrinology**, v. 13, n. 11, p. 633-643, 2017.

RÍOS-COVIÁN, D. et al. Intestinal Short Chain Fatty Acids and their Link with Diet and Human Health. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, n. 185, 2016.

ROBERFROID, M. et al. Prebiotic effects: metabolic and health benefits. **British Journal of Nutrition**, v. 104, S1e63, 2010. Suplemento 2.

ROESSLER, A. et al. The immune system in healthy adults and patients with atopic dermatitis seems to be affected differently by a probiotic intervention. **Clinical & Experimental Allergy**, v. 38, n. 1, p. 93-102, 2008.

ROHRER, M. et al. Metabolic and physiologic effects of an endotoxin challenge in healthy obese subjects. **Diabetes Care**, v. 34, n. 2, p. 392-397, 2011.

ROSSI, M. et al. Fermentation of fructooligosaccharides and inulin by bifidobacteria: a comparative study of pure and fecal cultures. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 71, n. 10, p. 6150-6158, 2005.

SALAZAR, N. et al. Inulin-type fructans modulate intestinal Bifidobacterium species populations and decrease fecal short-chain fatty acids in obese women. **Clinical Nutrition**, v. 34, n. 3, 501-507, 2015.

SAMUVEL, D. J. et al. Lactate boosts TLR4 signaling and NF-kappaB pathway-mediated gene transcription in macrophages via monocarboxylate transporters and MD-2 up-regulation. **Journal of Immunology**, v. 182, n. 4, p. 2476-2484, 2009.

SCHOLZ, C. C.; TAYLOR, C. T. Targeting the HIF pathway in inflammation and immunity. **Current Opinion in Pharmacology**, v. 13, n. 4, p. 646-653, 2013.

SCHULZ, K. F.; ALTMAN, D. G.; MOHER, D. CONSORT 2010 statement: updated guidelines for reporting parallel group randomized trials. **Annals of Internal Medicine**, v. 152, n. 11, p. 726-732, 2010.

SEOK, J. et al. Genomic responses in mouse models poorly mimic human inflammatory diseases. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 110, n. 9, p. 3507-3512, 2013.

SHASTRI, P. et al. Sex differences in gut fermentation and immune parameters in rats fed an oligofructose-supplemented diet. **Biology of Sex Differences**, v. 6, n. 13, 2015.

SINGH, S. P. et al. Prebiotic Oligosaccharides: Special Focus on Fructooligosaccharides, Its Biosynthesis and Bioactivity. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 183, n. 2, p. 613-635, 2017.

SKURK, T. et al. Relationship between adipocyte size and adipokine expression and secretion. **The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 92, p. 1023–1033, 2007.

SMITH, P. M. et al. The microbial metabolites, short-chain fatty acids, regulate colonic Treg cell homeostasis. **Science**, v. 341, n. 6145, p. 569-573, 2013.

STEFANOVIC-RACIC, M. et al. Dendritic cells promote macrophage infiltration and comprise a substantial proportion of obesity-associated increases in CD11c+ cells in adipose tissue and liver. **Diabetes**, v. 61, n. 9, p. 2330–2339, 2012

SUEZ, J.; ELINAV, E. The path towards microbiome-based metabolite treatment. **Nature Microbiology**, v. 2, n. 17075, 2017.

SUN, N. N.; WU, T. Y.; CHAU, C. F. Natural Dietary and Herbal Products in Anti-Obesity Treatment. **Molecules**, v. 21, n. 10, E1351, 2016.

TALUKDAR, S. Y. et al. Neutrophils mediate insulin resistance in mice fed a high-fat diet through secreted elastase. **Nature Medicine**, v. 18, n. 9, p. 1407–1412, 2012.

TAMBURINI, S. et al. The microbiome in early life: implications for health outcomes. **Nature Medicine**, v. 22, n. 7, p. 713-722, 2016.

TANG, C. et al. Loss of FFA2 and FFA3 increases insulin secretion and improves glucose tolerance in type 2 diabetes. **Nature Medicine**, v. 21, n. 2, p. 173-177, 2015.

TAP, J. et al. Towards the human intestinal microbiota phylogenetic core. **Environmental Microbiology**, v. 11, n. 10, p. 2574–2584, 2009.

TAUDORF, S. et al. Human models of low-grade inflammation: bolus versus continuous infusion of endotoxin. **Clinical and Vaccine Immunology**, v. 14, p. 250–255, 2007.

TBCA. **Tabela Brasileira de Composição de Alimentos**. Universidade de São Paulo (USP). Food Research Center (FoRC). Versão 6.0. São Paulo, 2017. Disponível em: <<http://www.fcf.usp.br/tbca/>>. Acesso em 10 de maio de 2018.

TEDELIND, S. et al. Anti-inflammatory properties of the short-chain fatty acids acetate and propionate: a study with relevance to inflammatory bowel disease. **World Journal of Gastroenterology**, v. 13, p. 2826–2832, 2007.

THOMAS, D. J. et al. Lactobacillus rhamnosus HN001 attenuates allergy development in a pig model. **PLoS One**, v. 6, n. 2, e16577, 2011.

TRAYHURN, P. Hypoxia and adipocyte physiology: implications for adipose tissue dysfunction in obesity. **Annual Review of Nutrition**, v. 34, p. 207-236, 2014.

TREMAROLI, V.; BÄCKHED, F. Functional interactions between the gut microbiota and host metabolism. **Nature**, v. 489, n. 7415, p. 242-249, 2012.

TURNBAUGH, P. J. et al. A core gut microbiome in obese and lean twins. **Nature**, v. 457, n. 7228, p. 480-484, 2009.

TURNBAUGH, P. J. et al. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. **Nature**, v. 444, n. 7122, p. 1027-1031, 2006.

TURNBAUGH, P. J. et al. Diet-induced obesity is linked to marked but reversible alterations in the mouse distal gut microbiome. **Cell Host and Microbe**, v. 3, n. 4, p. 213-223, 2008.

USDA. UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. **Nutrient Database for standard Reference**. 2018. Disponível em: <<http://ndb.nal.usda.gov/>>. Acesso em 18 de abril de 2018.

WHITLOCK, G. et al. Body-mass index and cause-specific mortality in 900000 adults: collaborative analyses of 57 prospective studies. **The Lancet**, v. 373, n. 9669, p. 1083–1096, 2009.

WILLETT, W. C.; HOWE, G. R.; KUSHI, L. W. Adjustment for total energy intake in epidemiologic studies. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 65, n. 4, p. 1220S-1228S, 1997. Suplemento.

WILLIAMS, N.T. Probiotics. **American Journal of Health-System Pharmacy**, v. 67, n. 6, p. 449-458, 2010.

WILMS, B. et al. Correction factors for the calculation of metabolic equivalents (MET) in overweight to extremely obese subjects. **International Journal of Obesity (London)**, v. 38, n. 11, p. 1383-1387, 2014.

WINER, S. et al. Normalization of obesity-associated insulin resistance through immunotherapy. **Nature Medicine**, v. 15, n. 8, p. 921-929, 2009.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Expert committee on physical status: the use and interpretation of anthropometry. Physical status: the use and interpretation of anthropometry**. Report of a WHO expert committee. WHO technical report series, 854. Geneva: WHO, 1995.

_____. **Fact sheet: obesity and overweight**. 2017. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/index.html>>. Acesso em: 18 abr. 2018.

_____. **Obesity: preventing and managing the global epidemic**. Report of a WHO Consultation. WHO Technical Report Series 894. Geneva: World Health Organization, 2000.

_____. **Waist Circumference and Waist–Hip Ratio**: Report of a WHO Expert Consultation. Geneva: WHO, 2008.

_____. **WHO Guidelines on drawing blood: best practices in phlebotomy**. WHO Library Cataloguing-in-Publication Data. Geneva: WHO, 2010.

WORLD OBESITY FEDERATION. **World Obesity Day 2017**. Disponível em: <<http://www.obesityday.worldobesity.org/world-obesity-day-2017>>. Acesso em: 08 abr. 2018.

WU, C. Y. et al. Association of body mass index with all-cause and cardiovascular disease mortality in the elderly. **PLoS One**, v. 9, n. 7, e102589, 2014.

WU, G. D. et al. Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes. **Science**, v. 334, n. 6052 p. 105-108, 2011.

WYMAN, M. P.; SCHNEITER, R. Lipid signalling in disease. **Nature Reviews. Molecular Cell Biology**, v. 9, n. 2, p. 162-176, 2008.

YAMASHITA, H. et al. Improvement of obesity and glucose tolerance by acetate in Type 2 diabetic Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF) rats. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v. 71, n. 5, p. 1236-1243, 2007.

YATSUNENKO, T. et al. Human gut microbiome viewed across age and geography. **Nature**, v. 486, n. 7402, p. 222-227, 2012.

YIN, J. et al. Role of hypoxia in obesity-induced disorders of glucose and lipid metabolism in adipose tissue. **American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism**, v. 296, n. 2, p. E333–E342, 2009.

ZHANG, Y. Y. et al. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homolog. **Nature**, v. 372, n. 6506, p. 425–432, 1994.

APÊNDICES

APÊNDICE A – Orientações aos participantes durante a suplementação.

Durante o período da pesquisa (30 dias), evitar:

- Praticar atividade física intensa, ou seja, correr velozmente, caminhada veloz em colina/montanha (por exemplo, em trilhas), pedalada rápida, ginástica aeróbica intensa, natação rápida, carregar cargas pesadas (> 20 kg).

- Consumir bebida alcoólica.

- Consumir alimentos enriquecidos com prebióticos, probióticos ou simbióticos, tais como:

- Kefir
- Kimchi
- Missoshiro
- Chucrute
- Coalhada

• Molho shoyu (ou molho de soja)

• Alguns tipos de iogurtes (marcas de iogurtes foram mencionadas, mas foram omitidas nesta Tese de Doutorado)

• Leite fermentado (marcas de leites fermentados foram mencionadas, mas foram omitidas nesta Tese de Doutorado).

IMPORTANTE: Sempre olhar o rótulo para se certificar de que o produto não contenha prebiótico e probiótico. Palavras como “fibras” na embalagem são sinônimos para prebióticos e palavras como “cultura viva” e “cultura ativa” na embalagem também são sinônimos para probióticos.

Observação: Ao uso de qualquer medicamento ou suplemento nutricional, anotar o nome, dose e tempo utilizado.

APÊNDICE B – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

O(A) Senhor(a) está sendo convidado (a) a participar, como voluntário, numa pesquisa científica resultante de parceria entre a Universidade Federal de Santa Catarina e o Hospital Universitário Polydoro Ernani de São Thiago (HU). Por favor, leia com atenção e cuidado as informações a seguir e se desejar, discuta com sua família, para que a sua participação possa ser uma decisão bem informada. Caso aceite fazer parte do estudo assine ao final deste documento (nas duas vias). Uma delas é sua e a outra do pesquisador responsável.

INFORMAÇÕES SOBRE A PESQUISA

1. Instituição sede da pesquisa: Departamento de Nutrição (NTR) do Centro de Ciências da Saúde (CCS) no Campus Trindade (Florianópolis-SC) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC). Telefone fixo: (48) 3721-9784 (ramal 23).

2. Título do projeto: Efeito da suplementação de prebiótico e simbiótico sobre a resposta inflamatória e indicadores do estado nutricional em indivíduos com obesidade mórbida: um ensaio clínico, randomizado, placebo-controlado e triplo cego.

3. Pesquisador responsável: Prof. Dr. Erasmo Benicio Santos de Moraes Trindade.

4. Garantia de informação e desistência: O(A) Senhor(a) será esclarecido(a) sobre a pesquisa em qualquer ponto que desejar. Você é livre para recusar-se a participar, retirar seu consentimento ou interromper a participação, a qualquer momento. Mesmo que o(a) Senhor(a) não queira participar do estudo, não haverá nenhuma desvantagem, inclusive em relação ao seu tratamento e aos cuidados que tenha direito a receber.

5. Descrição do estudo: A pesquisa acontecerá no Hospital Universitário Polydoro Ernani de São Thiago, localizado no Campus Universitário, município de Florianópolis, estado de Santa Catarina. Serão convidados a participar do estudo pessoas com diagnóstico de obesidade mórbida. Neste estudo, pretende-se avaliar se a suplementação de prebiótico ou simbiótico apresenta benefícios à saúde humana. Prebióticos são produtos alimentares não digeridos pelo corpo

e que estimulam o crescimento de bactérias benéficas no intestino. Probióticos são micróbios vivos (ou bactérias vivas) que, quando ingeridos em quantidades adequadas, produzem benefícios à saúde humana. Essas bactérias são consideradas seguras para o consumo, desde que consumidas na dose correta. Já os simbióticos são produtos que contêm tanto prebióticos quanto probióticos. Entre os benefícios que estes suplementos podem trazer, destaca-se a melhora da saúde do intestino e a melhora da defesa do organismo, além de auxiliar na perda de peso. Apesar disso, é importante destacar que todos estes benefícios foram observados em indivíduos sem obesidade ou com outras doenças. Em seres humanos com obesidade, ainda existe dúvida se estes suplementos podem trazer todos estes benefícios. Assim, o resultado da pesquisa pode trazer informações importantes para indivíduos que tem esta condição de saúde (obesidade).

Caso aceite participar, serão coletados: dados do prontuário; peso, altura e circunferência da cintura; amostras de sangue para avaliação em laboratório.

As avaliações serão realizadas em quatro momentos: na primeira consulta, 15, 30 e 60 dias após a primeira consulta. O Senhor(a) receberá um tipo específico de suplemento (placebo OU prebiótico OU simbiótico) na quantidade de 12 gramas por dia. A ingestão dos suplementos terá duração de 30 dias, e será iniciada logo após a primeira consulta no respectivo ambulatório. Após este período a suplementação será encerrada, mas o Senhor(a) será acompanhado por mais 30 dias, totalizando 60 dias de pesquisa. Em todos os momentos da pesquisa (0, 15, 30 e 60 dias) haverá coleta de dados clínicos, de sangue, de peso, altura e circunferência da cintura.

É importante esclarecer que haverá uso de placebo (substância inativa). Neste estudo, o placebo que será utilizado é a maltodextrina, um produto alimentar proveniente do amido de milho. A suplementação com placebo é necessária para verificar se a suplementação de prebiótico ou simbiótico traz benefícios à saúde de indivíduos obesos comparado aos indivíduos que são suplementados com uma substância inativa.

É importante deixar claro que o(a) Senhor(a) não poderá escolher qual suplemento quer receber. Durante o período da pesquisa, nem o(a) Senhor(a), nem os pesquisadores terão conhecimento de qual suplemento o(a) Senhor(a) recebeu, apenas ao término do estudo será revelado qual suplemento foi fornecido. Em todos os quatro momentos do estudo será necessário que o(a) Senhor(a) forneça 20 mL de sangue (totalizando 80 mL na soma dos quatro momentos) que serão coletados

pela equipe do laboratório de análises clínicas do HU. Essas amostras de sangue serão usadas para dosagem de substâncias e células que servirão de indicadores para os possíveis efeitos do prebiótico e simbiótico. Além disso, haverá contatos telefônicos uma vez por semana, a fim de acompanhar o andamento do estudo.

Caso o(a) Senhor(a) não aceite a suplementação, solicito a utilização dos dados do seu prontuário. Reafirmo o compromisso ético da não violação destas informações.

6. Riscos e desconfortos: Os efeitos prejudiciais decorrentes da suplementação de prebiótico e simbiótico não são frequentes, entretanto, pode ocorrer aumento de gases, náuseas e dor na barriga. Estudos em indivíduos sem obesidade ou que realizaram cirurgia de redução do estômago não apresentaram efeitos prejudiciais à saúde humana após a suplementação dessas substâncias. Caso o(a) Senhor(a) aceite participar do estudo e ocorra algum desconforto após o início da suplementação, favor interromper o consumo e entrar em contato com os pesquisadores. Importante: Se você for alérgico a prebiótico e/ou simbiótico e/ou maltodextrina, NÃO aceite participar do estudo. No que diz respeito à coleta de sangue, pode existir desconforto decorrente da entrada da agulha e retirada do sangue. Com relação à coleta de peso, altura e circunferência da cintura, o estudo não prevê riscos. Ainda assim, se houver qualquer dano à sua saúde decorrente da sua participação na pesquisa, o(a) Senhor(a) receberá todo o tratamento gratuitamente, inclusive despesas com transporte ou medicamentos, sem custos para o(a) Senhor(a), assim como terá direito à indenização por danos, por parte do pesquisador e da instituição envolvida nas diferentes fases da pesquisa.

7. Benefícios: Ao participar desta pesquisa você não terá nenhum benefício direto (financeiro, por exemplo). Entretanto, esperamos que este estudo contribua com informações importantes à ciência. Os resultados podem trazer benefícios a todos os seres humanos com obesidade mórbida.

8. Custos: O(a) Senhor(a) não terá nenhum gasto com a pesquisa, uma vez que os procedimentos serão feitos na própria instituição onde é realizado o tratamento da obesidade e os suplementos serão doados pelo pesquisador.

9. Esclarecimentos e dúvidas: Se o(a) Senhor(a) tiver alguma dúvida em relação ao estudo ou não quiser mais fazer parte do mesmo, pode entrar em contato com o pesquisador responsável, Prof. Dr. Erasmo Benicio Santos de Moraes Trindade, com o doutorando Ricardo Fernandes pelos seguintes meios: telefone fixo: (48) 3721-9784 (ramal 23); telefone celular: (48) 9615-6587 / 9997-9941; e-mail: erasmotrindade@gmail.com; ricardontr@gmail.com. O(a) Senhor(a) pode também entrar em contato com o pesquisador responsável, Prof. Dr. Erasmo Trindade, no seguinte endereço: Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências da Saúde, Departamento de Nutrição, 3º andar, sala 214, Rua Delfino Conti, s/n, Trindade, Florianópolis, Santa Catarina.

Se o(a) Senhor(a) estiver de acordo em participar do estudo, garantimos que as informações fornecidas serão confidenciais e só serão utilizadas neste trabalho com a finalidade de gerar conhecimento em saúde. Os pesquisadores têm o compromisso de utilizar os dados e o material coletado somente para esta pesquisa. Os resultados do estudo poderão ser publicados em revistas científicas, apresentados em congressos ou eventos científicos, sem que seu nome seja mencionado em parte alguma.

Esta pesquisa está pautada nas orientações e recomendações da Resolução do Conselho Nacional de Saúde 466/2012 e suas complementares.

Se tiver dúvidas sobre seus direitos, o(a) Senhor(a) pode entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de Santa Catarina, coordenador Washington Portela de Souza pelo telefone (48) 3721-6094 ou diretamente no próprio Comitê que fica localizado no prédio Reitoria II, 4º andar, sala 401, Rua Desembargador Vitor Lima, nº 222, Trindade, Florianópolis, Santa Catarina.

CONSENTIMENTO DO SUJEITO DA PESQUISA

Eu....., portador do RG:..... Fone para contato:..... concordo de maneira livre e esclarecida em participar da pesquisa: Efeito da suplementação de prebiótico e simbiótico sobre a resposta inflamatória e indicadores do estado nutricional em indivíduos com obesidade mórbida: um ensaio clínico, randomizado, placebo-controlado e triplo cego. Além de ter lido e entendido todas as informações fornecidas sobre minha participação na

pesquisa, tive oportunidade de discuti-las e fazer perguntas. Todas as minhas dúvidas foram esclarecidas satisfatoriamente. Foi-me garantido que posso retirar meu consentimento a qualquer momento, sem que isto leve a qualquer penalidade ou interrupção de meu acompanhamento, assistência e/ou tratamento.

Florianópolis, _____ de _____ de 201__.

Nome e assinatura do paciente

Prof. Dr. Erasmo B. S. M. Trindade

Ricardo Fernandes

APÊNDICE C – Caracterização dos indivíduos.

Nº prontuário HU/UFSC: _____ Nº da randomização: _____

Nome: _____

E-mail: _____

Telefones: _____

Procedência/Endereço: _____

Sexo: () Masculino () Feminino

Intervenção cirúrgica anterior no trato gastrointestinal: () Não () Sim

Se sim, qual: _____

Comorbidades: _____
_____Medicamentos previamente utilizados (antes da inclusão no estudo): _____

Data de nascimento: ____/____/_____

Data de início da suplementação: ____/____/_____

Data do término da suplementação: ____/____/_____

Número de suplementos ingeridos: _____

APÊNDICE D – Avaliação antropométrica e laboratorial.

AVALIAÇÃO ANTROPOMÉTRICA

Estatura: _____

Marcador	M₀ (Basal)	M₁ (30 dias)
Peso atual (kg)		
IMC (kg/m ²)		
Circunferência da cintura (cm)		

AVALIAÇÃO LABORATORIAL

Marcador	M₀ (Basal)	M₁ (30 dias)
PCR (mg/L)		
Albumina (g/dL)		
Sódio (mEq/L)		
Potássio (mEq/L)		
Fósforo (mg/dL)		
Vitamina D (ng/mL)		
Vitamina B ₁₂ (pg/mL)		
Ácido fólico (ng/mL)		
Ferro sérico (µg/dL)		
Cálcio sérico (mg/dL)		
Insulina (IU/mL)		
Glicemia de jejum (mg/dL)		
Hemoglobina glicada (%)		
Colesterol total (mg/dL)		
HDL-c (mg/dL)		
LDL-c (mg/dL)		
Triglicerídeos (mg/dL)		
Hemáceas (milhões/mm ³)		
Hemoglobina (g/dL)		
Hematócrito (%)		
Volume Corpuscular Médio (u2 fl)		
Hemoglobina Corpuscular Média (pg)		
Concentração de hemoglobina corpuscular média (g/dL)		
Leucócitos (p/mm ³)		

Segmentados (número absoluto)		
Linfócitos (número absoluto)		
Monócitos (número absoluto)		
Eosinófilos (número absoluto)		
Basófilos (número absoluto)		
Contagem de plaquetas (p/mm ³)		
AST (U/L)		
ALT (U/L)		
Gama-GT (U/L)		
Fosfatase alcalina (U/L)		
TSH (μIU/mL)		
Paratormônio (pg/mL)		
Transferrina (mg/dL)		
Ferritina (ng/mL)		
CLFL (μg/dL)		
CLFT (μg/dL)		
Índice de saturação da transferrina (%)		

APÊNDICE E – Parâmetros clínicos

Fármacos utilizados: M ₀ – M ₁ –
Alterações gastrointestinais: M ₀ - () Não () Sim Quais: M ₁ - () Não () Sim Quais:
Presença de constipação (segundo critérios do ROMA IV, 2016): M ₀ – M ₁ –
Consistência e formato das fezes (segundo critérios da Escala de Bristol, 1997): M ₀ - () 1 () 2 () 3 () 4 () 5 () 6 () 7 M ₁ - () 1 () 2 () 3 () 4 () 5 () 6 () 7
Uso de suplementos vitamínicos e minerais: () Não () Sim Qual: Dose:
Prática de atividade física: () Não () Sim Quantas vezes por semana: Tipo de atividade: Duração da atividade:
<i>*Somente para o sexo feminino:</i> Período menstrual regular: () Sim () Não Data da última menstruação: ____/____/_____ Menopausa: () Sim () Não Ausência de ovulação por contracepção hormonal contínua: () Sim () Não

APÊNDICE F – Formulário para registro de ingestão do suplemento.

FORMULÁRIO PARA REGISTRO DE INGESTÃO DO SUPLEMENTO

Nome: _____

Lembre-se de consumir o conteúdo de dois (2) sachês por dia. Cada sachê deve ser diluído em 100 mL de água em temperatura ambiente, em jejum e no intervalo das refeições.

Devem ser consumidos todos os dias, durante trinta (30) dias.

Em caso de problemas com o consumo, entre em contato com o nutricionista Ricardo Fernandes pelo telefone (48) xxxxxxxxx ou (48) xxxxxxxxx ou ainda pelo e-mail: xxxxxxxxx. A ligação pode ser feita a cobrar.

- Marque um “X” no quadradinho se você não consumiu o suplemento no dia.
- Marque “1” no quadradinho se você consumiu o conteúdo de apenas um suplemento no dia.
- Marque “2” no quadradinho se você consumiu o conteúdo de dois suplementos no dia.

Dia ____/____/____

Dia ____/____/____

Dia ____/____/____

Dia ____/____/____

Dia ____/____/____

Dia ____/____/____

Dia ____/____/____

Dia ____/____/____

Dia ____/____/____

Dia ____/____/____

Dia ____/____/____

Dia ____/____/____

Dia ____/____/____

Dia ____/____/____

Dia ____/____/____

Dia ____/____/____

Dia ____/____/____

Dia ____/____/____

Dia ____/____/____

Dia ____/____/____

Dia ____/____/____

Dia ____/____/____

Dia ____/____/____

Dia ____/____/____

Dia ____/____/____

Dia ____/____/____

Dia ____/____/____

Dia ____/____/____

Dia ____/____/____

Dia ____/____/____

APÊNDICE G – Nota de imprensa.

De acordo com a definição do Colegiado Delegado do PPGN-UFSC em 14 de abril de 2015, a nota de imprensa é material obrigatório para todas as teses, com texto direcionado para a população em geral para divulgar os resultados. Esta nota de imprensa será enviada ao Divulga UFSC, que é um informativo diário produzido pela Agência de Comunicação da UFSC (Agecom) que tem o objetivo de difundir as notícias institucionais focadas no dia a dia da Universidade e os principais eventos acadêmicos e culturais. Normalmente os jornalistas da Agecom solicitam o envio de releases com até 3.000 caracteres (entre 400 e 450 palavras).

NOTA DE IMPRENSA

PREBIÓTICO E SIMBIÓTICO CONTRIBUEM PARA A PERDA DE PESO E DA MASSA CORPORAL TOTAL EM INDIVÍDUOS COM OBESIDADE GRAVE

Estudo desenvolvido no Programa de Pós-Graduação em Nutrição da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) pelo Doutor em Nutrição, Ricardo Fernandes, sob orientação do Prof. Dr. Erasmo Benicio Santos de Moraes Trindade, mostrou que o consumo diário de 11 gramas de prebiótico ou de simbiótico durante 30 dias em indivíduos com obesidade grave promove maior redução do peso, da massa corporal total e da circunferência da cintura comparado aos indivíduos que consumiram uma substância inativa (placebo).

Prebióticos são produtos alimentares não digeridos pelo corpo e que estimulam o crescimento de bactérias benéficas no intestino. O prebiótico utilizado foi o fruto-oligossacarídeo, presente em diversos alimentos, como cebola, aspargos, alcachofra, alho, trigo, banana e tomate. Simbióticos são produtos alimentares que contém tanto prebióticos quanto probióticos. Probióticos são bactérias vivas que, quando ingeridas em quantidades adequadas, conferem benefícios à saúde do ser humano. Os probióticos que faziam parte do simbiótico utilizado foram alguns tipos específicos de lactobacilos e bifidobactérias, micro-organismos que são facilmente encontrados no leite fresco e seus derivados (por exemplo, iogurtes, queijos, leite fermentado e kefir).

O estudo é resultado de uma tese de doutorado que envolveu 22 adultos com obesidade grave no Hospital Universitário Polydoro Ernani de São Thiago (HU/UFSC). A obesidade grave foi avaliada por meio do índice de massa corporal, uma medida internacionalmente usada que serve para avaliar o peso do indivíduo em relação à sua altura e assim indicar se está dentro do peso ideal, acima ou abaixo do peso desejado. Os indivíduos com obesidade grave estão muito acima do peso ideal, com acúmulo de gordura em todo o corpo, especialmente na região abdominal. Este excesso de peso pode causar diversas doenças, como diabetes, pressão alta e problemas no coração.

O provável mecanismo que atribuí ao fruto-oligossacarídeo o efeito de redução do peso corporal, da massa corporal total e da circunferência da cintura, envolve a fermentação deste produto pelas bactérias que vivem no intestino do ser humano, incluindo os probióticos, gerando produtos que são absorvidos e utilizados por diversos órgãos do nosso corpo. Esses produtos podem aumentar a atividade metabólica, o gasto de energia e dificultar o armazenamento de gordura pelo nosso corpo, promovendo os benefícios citados acima. Perspectivas futuras incluem avaliar o efeito da suplementação de prebióticos e simbióticos nas próprias bactérias que vivem no intestino do ser humano, assim como verificar se os benefícios observados seriam mantidos ou aumentados utilizando maior tempo de suplementação.

**Para maiores informações das pesquisas realizadas enviar email
para: erasmotrindade@gmail.com ou acesse o site
<http://ppgn.ufsc.br>**

ANEXOS

ANEXO A - Orientação nutricional oferecida aos participantes durante a pesquisa.

ORIENTAÇÕES NUTRICIONAIS

Retirar/Evitar na alimentação:

- Embutidos (salsicha, linguiça, bacon, mortadela, salame, etc.)
- Enlatados e conservas
- Temperos industrializados (*marcas nacionais foram mencionadas, mas foram omitidas aqui nesta Tese de Doutorado*)
- Chocolate
- Bebida alcoólica e refrigerante
- Açúcar refinado
- Evitar adoçar os alimentos. Em caso de extrema necessidade: adoçante à base de Stévia.

Incluir na alimentação:

- 2 litros de água e consumir chás e sucos naturais não adoçados (sugestão: água saborizada – acrescentar hortelã, alecrim, cravo, canela, gengibre).
- Frutas como: abacaxi, melancia, melão, goiaba, acerola, morango (3-4 porções/dia)
- Folhosos verde-escuros: couve, hortelã, alface e rúcula (2x/dia).
- Alimentos integrais ao invés de refinados (arroz integral, aveia, pão integral, granola sem açúcar, etc.).
- Leguminosas: feijão (todos os tipos), lentilha, soja, quinoa, amaranto.
- Carnes magras (de preferência brancas): peixe, frutos do mar, frango sem pele, ovos (de preferência caipira e não fritos).
- Controlar o consumo de sal, evitar excessos. Não levar o saleiro à mesa. Temperar a salada somente com azeite de oliva e limão. Pode acrescentar linhaça, gergelim, etc.

DICAS

- Não pule nenhuma refeição. Faça 3 grandes refeições (café da manhã, almoço e janta) e 2-3 pequenos lanches entre as grandes refeições.
- Prepare todo e qualquer tipo de carne retirando toda a gordura aparente e/ou peles.

- Alimentos como: azeite de oliva, sementes de linhaça, de girassol, peixes, aveia, farinha de mandioca, soja e leite de soja auxiliam no combate ao colesterol elevado.
- A castanha de caju granulada pode também ser usada para temperar as saladas, assim como o azeite de oliva, suco de limão, gergelim ou linhaça (use 1 colher de sopa).
- Manter horário regular para as refeições (não ultrapassar 3 horas sem comer).
- Mastigar bem os alimentos (tempo mínimo para cada refeição de 20 min para as grandes refeições e 10 minutos para as pequenas refeições, apreciar e sentir o sabor dos alimentos); a comida deve ser engolida quando em consistência pastosa.
- Evitar líquidos durante as refeições. Espere no mínimo 40 minutos para beber água ou sucos.

ANEXO B – Escala fecal de Bristol.



Referência: Lewis, S.J.; Heaton, K.W. Stool form scale as a useful guide to intestinal transit time". *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, v. 32, n. 9, p. 920–924, 1997.

ANEXO C – Parecer consubstanciado do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de Santa Catarina.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
SANTA CATARINA - UFSC



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Efeito da suplementação de prebiótico ou simbiótico em indivíduos com obesidade mórbida

Pesquisador: Erasmo Benício Santos de Moraes Trindade

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 49274715.9.0000.0121

Instituição Proponente: Universidade Federal de Santa Catarina

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.340.253

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisa está adequadamente instrumentalizada e os pesquisadores acataram as orientações de ajuste do TCLE conforme a Resolução 466/2012.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

O TCLE foi reajustado adequadamente conforme a Resolução 466/2012.

Recomendações:

sem recomendações.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

conclusão: aprovado.

