



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

NAIARA LOURENÇO MARI

**EFEITO DO YACON (*Smallanthus sonchifolius*) E
Lactobacillus plantarum SOBRE OS PARÂMETROS
METABÓLICOS E DE ESTRESSE OXIDATIVO EM RATOS
WISTAR COM SÍNDROME METABÓLICA**

Londrina
2015

NAIARA LOURENÇO MARI

**EFEITO DO YACON (*Smallanthus sonchifolius*) E
Lactobacillus plantarum SOBRE OS PARÂMETROS
METABÓLICOS E DE ESTRESSE OXIDATIVO EM RATOS
WISTAR COM SÍNDROME METABÓLICA**

Dissertação apresentado ao Programa de Mestrado e Doutorado em Ciência de Alimentos da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciência de Alimentos.

Orientadora: Prof^a Dr^a Lucia Helena da Silva Miglioranza

Co-orientador: Prof. Dr. José Wander Breganó

Londrina
2015

Catálogo elaborado pela Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central da
Universidade Estadual de Londrina.

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

M332e Mari, Naiara Lourenço.
Efeito do yacon (*Smallanthus sonchifolius*) e *Lactobacillus plantarum* sobre os parâmetros metabólicos e de estresse oxidativo em ratos. Wistar com síndrome metabólica / Naiara Lourenço Mari. – Londrina, 2015.
81 f. : il.

Orientador: Lúcia Helena da Silva Miglioranza.
Coorientador: José Wander Breganó.
Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, 2015.
Inclui bibliografia.

1. Alimentos – Composição – Teses. 2. Yacon – Teses. 3. Síndrome metabólica – Teses. 4. Probióticos – Teses. 5. Prebióticos – Teses. 6. Estresse oxidativo – Teses. I. Miglioranza, Lúcia Helena da Silva. II. Breganó, José Wander. III. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos. IV. Título.

CDU 641.1

NAIARA LOURENÇO MARI

EFEITO DO YACON (*Smallanthus sonchifolius*) E *Lactobacillus plantarum* SOBRE OS PARÂMETROS METABÓLICOS E DE ESTRESSE OXIDATIVO EM RATOS WISTAR COM SÍNDROME METABÓLICA

Dissertação apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciência de Alimentos.

BANCA EXAMINADORA

Orientadora: Profa Dra. Lúcia Helena da Silva
Miglioranza
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Prof. Dr. Isaias Dichi
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Profa Dra. Andrea Name Colado Simão
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Londrina, 25 março de 2015.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por ser tão bondoso comigo, por me proporcionar a oportunidade de fazer o que eu gosto. Nesse período que foi árduo e desafiador o Senhor me guiou dando-me saúde, sabedoria, discernimento, persistência e muita paciência.

Ao meu marido, Marcio meu companheiro e maior incentivador, sempre firme ao meu lado me apoiando e cuidando de tudo, não mede esforços pra me ver feliz e me ajudar. Obrigado por me dar todo o suporte, para que eu pudesse estudar com todas as condições possíveis. A você, dedico esse trabalho.

Aos meus pais, Márcia e Jair, devo a eles a pessoa que sou hoje. Obrigado por tudo que fizeram e fazem por mim até hoje, sem medir esforços. Espero um dia poder recompensar tudo o que me proporcionaram.

A toda minha família, pela torcida e orações.

À Professora Lucia pelo carinho, orientação e paciência. Obrigada pelo suporte e por me proporcionar a oportunidade de fazer o que eu gosto, posso dizer que me “encontrei” na vida acadêmica.

Ao meu co-orientador Professor Wander, por todo suporte e apoio sempre pronto a me ajudar com toda sua paciência e dedicação.

À Professora Andréa, por todo o suporte na realização desse trabalho, sempre pronta a me ajudar. Muito Obrigada.

À Raissa e a Fernanda, sempre dispostas a me ensinar e ajudar. Muito obrigado pela amizade, paciência e pelas palavras de incentivo.

À Daniela, pela ajuda com as análises e por cuidar com tanto carinho do meu trabalho. Muito obrigada.

As meninas do Laboratório de Pós-Graduação (LPG), Denise, Kamila, Carine e Luciana pela colaboração na parte experimental. A ajuda de vocês foi de extrema importância.

À Bruna, por toda sua gentileza e disposição em me ajudar.

Aos meus colegas do Mestrado turma 2013, pela amizade e por todo conhecimento e alegria partilhado nas aulas.

À equipe do Departamento de Ciência dos Alimentos (DCTA), pela presteza e disposição em colaborar com meu projeto.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) pela concessão da bolsa.

MARI, Naiara Lourenço; MIGLIORANZA, Lucia Helena da Silva; BREGANÓ, José Wander. **Efeito do yacon (*Smallanthus sonchifolius*) e *Lactobacillus plantarum* sobre os parâmetros metabólicos e de estresse oxidativo em ratos Wistar com síndrome metabólica**. 2015. 81 f. Disertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2015.

RESUMO

A Síndrome metabólica (SM) é caracterizada pela associação de fatores de riscos para doenças cardiovasculares e Diabetes Mellitus tipo 2, tais como adiposidade abdominal, resistência à insulina, dislipidemia, hipertensão e disfunção endotelial. A presente investigação avaliou o efeito do prebiótico yacon (*Smallanthus sonchifolius*), e do probiótico *Lactobacillus plantarum* Lp115, individualmente e em simbiose, nos parâmetros metabólicos e de estresse oxidativo em ratos com SM. A SM foi induzida por ração enriquecida com 66% de frutose em ratos Wistar machos (n=50), divididos em cinco grupos de dez animais. Os tratamentos foram: G1, que recebeu ração padrão, sem indução de SM. Os grupos G2, G3, G4 e G5, receberam ração enriquecida com 66% frutose. G2: não teve intervenções terapêuticas; G3: recebeu tratamento com probiótico *L.plantarum* Lp 115 (109 UFC); G4: recebeu prebiótico Yacon em pó (10%) e G5: foi tratado com bebida simbiótica contendo *L.plantarum* Lp 115 e yacon (1011 UFC), durante oito semanas. Os tratamentos foram realizados por gavagem. Após oito semanas foi constatada a SM nos roedores alimentados com ração enriquecida com frutose, por meio da comparação dos níveis plasmáticos de glicose em jejum ($p < 0,001$), insulina ($p < 0,005$), HOMA-IR ($p < 0,0003$), triglicerídeos ($p < 0,005$) e HDL-c ($p < 0,005$). O tratamento com probiótico foi eficaz na redução dos níveis plasmáticos de insulina ($p = 0,015$) e HOMA-IR ($p = 0,004$). O tratamento com prebiótico não alterou nenhum dos parâmetros metabólicos avaliados. No entanto, a administração em simbiose, resultou em aumento na resistência à insulina ($p = 0,034$). Com relação ao estresse oxidativo, a indução da SM reduziu os valores de NOx ($p = 0,012$) e aumentou os níveis de SH ($p < 0,0001$) e TRAP ($p = 0,044$). O tratamento com probióticos não alterou nenhum parâmetro avaliado de estresse oxidativo. No entanto, o tratamento com prebióticos reduziu os níveis de hidróperóxido lipídico ($p = 0,002$) e aumentou SH ($p = 0,049$) e TRAP ($p = 0,034$). Em simbiose, houve redução do hidróperóxido lipídico ($p = 0,015$) e aumento dos níveis de Nox ($p = 0,002$) e SH ($p = 0,031$). O presente estudo demonstrou que o uso do probiótico, individualmente, apresentou efeitos favoráveis na redução da resistência à insulina. O uso de prebiótico e simbiótico diminuíram a oxidação lipídica e aumentaram as defesas antioxidantes.

Palavras chaves: Probióticos. Prebióticos. Simbióticos. HOMA-IR. Insulina. TRAP. NO.

MARI, Naiara Lourenço; MIGLIORANZA, Lucia Helena da Silva; BREGANÓ, José Wander. **Yacon effect (*Smallanthus sonchifolius*) and *Lactobacillus plantarum* on metabolic parameters and oxidative stress in rats with metabolic syndrome.** 2015. 81 p. Dissertation (Master's degree in Food Science) – State University of Londrina, Londrina, 2015.

ABSTRACT

Metabolic syndrome (MS) is a cluster of risk factors for cardiovascular disease and type 2 diabetes, such as abdominal obesity, insulin resistance, dyslipidemia, hypertension and endothelial dysfunction. This research evaluated the effect of yacon prebiotic (*Smallanthus sonchifolius*), and the probiotic *Lactobacillus plantarum* Lp115, individually and in symbiosis on metabolic parameters and oxidative stress in rats with MS. MS was induced by diet supplemented with 66% fructose in male Wistar rats (n = 50) with seven weeks, divided into five groups of ten animals. The treatments were: G1, received standard diet and did not receive SM induction (fructose overload). G2, G3, G4 and G5 received diet supplemented with 66% fructose. G2: did not receive therapeutic interventions; G3: received treatment with probiotic *L.plantarum* Lp 115 (109 CFU); G4: received prebiotic Yacon powder (10%); G5: was treated with synbiotic drink containing *L.plantarum* Lp 115 and yacon powder (1011 CFU), for eight weeks. Treatments performed by gavage. After eight weeks it was found SM in rodents fed diet supplemented with fructose, by comparing plasma levels of fasting glucose ($p < 0.001$), insulin ($p < 0.005$), HOMA-IR ($p < 0.0003$), triglycerides ($p < 0.005$) and HDL-c ($p < 0.005$). The probiotic treatment was effective in reducing plasma insulin levels ($p = 0.015$) and HOMA-IR ($p = 0.004$). The prebiotic treatment was not able to change any of the evaluated metabolic parameters. Nevertheless, the symbiosis administration resulted in increased insulin resistance ($P = 0.034$). Regarding oxidative stress, induction of MS reduced NOx values ($p = 0.012$) and increased SH levels SH ($p < 0.0001$) and TRAP ($p = 0.044$). The probiotic treatment was not able to change any parameter evaluated for oxidative stress. However, prebiotic treatment (G4) was capable of reducing lipid hydroperoxide levels ($p = 0.002$), increasing SH ($p = 0.049$) and TRAP ($p = 0.034$). In symbiosis, there was a reduction in lipid hydroperoxide ($p = 0.015$) and increased levels of NOx ($p = 0.002$) and SH ($p = 0.031$). The present study demonstrated that the use of probiotics alone showed favorable effects in reducing insulin resistance. The use of prebiotic and synbiotic decreased lipid oxidation and increased antioxidant defenses.

Key words: Probiotics. Prebiotics. Synbiotics. HOMA-IR. Insulin. TRAP. NO.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Fatores de risco para o desenvolvimento da SM	16
Tabela 2 – Algumas características desejáveis para seleção de probióticos.....	27
Tabela 3 – Alguns micro-organismos com propriedades probióticas	29
Tabela 4 – Composição da dieta padrão e enriquecida com 66% frutose	41
Tabela 5 – Informações nutricionais do yacon em pó	44
Tabela 6 – Avaliação dos parâmetros metabólicos em ratos wistar com SM.....	49
Tabela 7 – Avaliação do estresse oxidativo em ratos wistar com SM.....	51

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Efeitos benéficos dos probióticos e prebióticos sobre a saúde	32
Figura 2 – Modelo experimental	40
Figura 3 – Ração enriquecida com 66% de frutose e ração padrão para roedores	41

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ADP	Adenosina difosfato
AGCC	Ácido graxo de cadeia curta
ALT	Alanina aminotransferase
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ATP	Adenosina trifosfato
AU	Ácido úrico
BAL	Bactérias ácido láctica
DM2	Diabete Mellitus tipo 2
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
EO	Estresse oxidativo
ERN	Espécies reativas de nitrogênio
ERO	Espécies reativas de oxigênio
FOS	Frutoligossacarídeo
GIP	Peptídeo inibidor gástrico
GLP-1	Peptídeo semelhante ao glucagon 1
GLP-2	Peptídeo semelhante ao glucagon 2
GLUT-1	Proteína transportadora de glicose 1
GLUT-2	Proteína transportadora de glicose 2
GLUT-4	Proteína transportadora de glicose 4
GOS	Galactoligossacarídeo
GPX	Glutathione peroxidase
GRAS	Generally Recognized as Safe
GSH	Glutathione reduzida
HDL-c	Lipoproteína de alta densidade
HOMA-IR	Homeostasis Model Assesment Insulin Resistance
IL-10	Interleucina-10
IL-6	Interleucina-6
IMC	Índice de Massa Corporal
LDL-c	Lipoproteína de baixa densidade
LPS	Lipopolissacarídeo
MDA	Malonaldeído

NADPH	Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato
NK	Células natural Killer
NO	Óxido nítrico
NOx	Metabólitos do óxido nítrico
OMS	Organização Mundial da Saúde
PCR	Proteína C reativa
PYY	Neuropeptídeo Y
QM	Quimiluminescência induzida por t-Butil hidroperóxido
RI	Resistência à insulina
SH	Grupamento sulfidrila
SM	Síndrome metabólica
SOD	Superóxido dismutase
STZ	Streptozotocina
TBARS	Substâncias reativas do Ácido tiobarbitúrico
TGI	Trato gastrointestinal
TNF- α	Fator de necrose tumoral alfa
TRAP	Total Radical-Trapping antioxidant parameter
UFC	Unidades formadoras de colônia
VLDL	Lipoproteína de muito baixa densidade

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	OBJETIVOS	15
2.1	Objetivo Geral.....	15
2.2	Objetivos Específicos	15
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
3.1	SÍNDROME METABÓLICA	16
3.1.1	Obesidade e tecido adiposo.....	18
3.1.2	Resistência à insulina	20
3.1.3	Dislipidemia.....	22
3.1.4	Papel da frutose na Síndrome Metabólica	23
3.1.5	Estresse Oxidativo e Síndrome Metabólica	24
3.2	PROBIÓTICOS.....	26
3.2.1	Gêneros de probióticos.....	28
3.2.2	Efeitos dos probióticos sobre a Síndrome Metabólica	30
3.3	PREBIÓTICO	31
3.3.1	Yacon (<i>Smallanthus sonchifolius</i>).....	33
3.3.2	Efeitos benéficos dos prebióticos na Síndrome Metabólica	35
3.4	SIMBIÓTICO	37
4	MATERIAIS E MÉTODO	39
4.1	MODELO EXPERIMENTAL	39
4.1.1	Intervenções Terapêuticas.....	42
4.2	ELABORAÇÃO DAS BEBIDAS PROBIÓTICAS, PREBIÓTICAS E SIMBIÓTICAS	42
4.2.1	Ativação do inóculo.....	43
4.2.2	Produção da bebida probiótica	43
4.2.3	Produção da bebida prebiótica	44
4.2.4	Produção da bebida simbiótica	44
4.3	ANÁLISES LABORATORIAIS	45
4.3.1	Parâmetros bioquímicos	45

4.3.2	Análises imunológicas.....	45
4.3.3	Análises de Estresse Oxidativo.....	46
4.3.3.1	Capacidade Antioxidante Total Plasmática (TRAP)	46
4.3.3.2	Metabólitos do Óxido Nítrico (NOx).....	46
4.3.3.3	Determinação do Grupamento Tiol (SH-grupo).....	47
4.3.3.4	Quimiluminescência induzida por t-Butil hidroperóxidos	47
4.4	ANÁLISE ESTATÍSTICA	47
5	RESULTADOS	48
5.1	Parâmetros metabólicos.....	48
5.2	Estresse Oxidativo.....	50
6	DISCUSSÃO	52
6.1	Parâmetros metabólicos.....	52
6.1.1	Peso.....	52
6.1.2	Resistência à insulina	53
6.1.3	Perfil lipídico.....	55
6.2	Estresse oxidativo	58
6.2.1	Isoprostanos e Hidroperóxido lipídico	58
6.2.2	Metabólitos do Óxido Nítrico (NOx)	60
6.3.3	Capacidade antioxidante total (TRAP) e Grupamento Sulfidril (SH).....	62
7	CONCLUSÃO	65
	REFERÊNCIA	66
	ANEXOS	80
	ANEXO I – CARTA DE APROVAÇÃO DO COMITÊ ÉTICA ANIMAL.....	81

1 INTRODUÇÃO

A Síndrome Metabólica (SM) é caracterizada pela associação de diversos fatores de riscos, podendo levar ao desenvolvimento de doenças cardiovasculares e diabetes Mellitus tipo 2 (DM2) (VIDIGAL et al., 2013). Fatores esses que incluem: adiposidade abdominal, resistência à insulina (RI), hipertensão arterial, dislipidemia com níveis elevados de triglicérides e diminuição dos níveis de lipoproteína de alta densidade (HDL), inflamação de baixo grau e uma disbiose intestinal (DANDONA et al., 2005; BROWN et al., 2012).

Outro fator de risco relacionado à SM é o estresse oxidativo (EO), que ocorre em virtude de um desequilíbrio entre a produção e a inativação de espécies reativas de oxigênio (EROs) e nitrogênio (ERNs). Em indivíduos com SM o EO também está relacionado à adiposidade e RI sugerindo que este desequilíbrio de espécies reativas pode ser um evento precoce no desenvolvimento destas doenças crônicas (ROBERTS; SINDHU, 2009; GRATAGLIANO et al., 2008).

A alimentação inadequada, inatividade física e predisposição genética estão entre os principais fatores que contribuem para o surgimento da SM, cuja prevenção primária é um desafio mundial, com importante repercussão para saúde pública (GIACAGLIA; SILVA; SANTOS, 2010).

Os fatores dietéticos exercem um papel fundamental tanto nos componentes individuais como na prevenção e controle da SM (STEEMBURGO et al., 2005). Portanto, a possibilidade da utilização de probióticos, prebióticos e simbióticos na alimentação surge como forma de auxiliar na prevenção e/ou no tratamento de tais condições.

Os probióticos são micro-organismos vivos (normalmente do gênero *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*) que, quando consumidos regularmente em quantidades suficientes, podem produzir efeitos benéficos à saúde, beneficiando o hospedeiro por meio da melhoria no equilíbrio da microbiota intestinal (GUARNER; MALAGELADA, 2003).

Existe um crescente interesse na exploração dos efeitos dos probióticos nos componentes individuais da SM (KOVATCHEVA-DATCHARY et al., 2013). É bem relatado, na literatura, que várias linhagens de probióticos melhoram os parâmetros metabólicos tais como: hipertensão, obesidade, inflamação, dislipidemia e resistência à insulina (NAKAMURA; OMAZE, 2012).

Por outro lado, os prebióticos são também uma interessante alternativa de consumo, constituem-se de fibras dietéticas fermentáveis encontradas naturalmente em plantas como: chicória, aspargos, alho, cebola, alcachofra que promovem o crescimento de bactérias benéficas como *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* no intestino e conseqüentemente permite alterações benéficas locais e sistêmicas (FRIC, 2007).

O yacon (*Smallanthus sonchifolius*) é uma raiz tuberosa nativa da América do Sul que possui características prebióticas estabelecidas. Essa raiz contém um alto conteúdo de frutooligossacarídeos (FOS) e seu consumo está associado a mudanças na microbiota intestinal e uma melhora nos fatores de riscos para SM, como: obesidade, inflamação, resistência à insulina e níveis lipídicos alterados, além do aumento da saciedade que contribui na manutenção do peso (EVERARD; CANI, 2013).

A hipótese deste presente estudo é que a associação de probióticos e prebióticos em simbiose (simbióticos) pode potencializar todos os efeitos supracitados e se tornar uma importante estratégia dietética no controle e prevenção da SM.

Os simbióticos mais usados consistem de misturas de oligofrutose sendo FOS e galactoligossacarídeos (GOS) os mais utilizados, em combinação com algumas espécies de bactérias probióticas como *L. plantarum*, *L. paracasei*, *L. rhamnosus*, *B. bifidum* ou *B. lactis* (MALAGO; KONINKX; MARINSEK-LOGAR, 2011).

Assim, este estudo visa avaliar o efeito do yacon e *Lactobacillus plantarum* (Lp115) individualmente e em simbiose nos parâmetros metabólicos e de estresse oxidativo em ratos Wistar machos com Síndrome Metabólica (SM) induzida por frutose.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar o efeito do yacon e *Lactobacillus plantarum* (Lp115) isoladamente e em simbiose nos parâmetros metabólicos e de estresse oxidativo em ratos Wistar machos com Síndrome Metabólica (SM) induzida por frutose.

2.2 Objetivos Específicos

- Verificar se o uso de probiótico, prebiótico e simbiótico é capaz de alterar o perfil glicêmico e lipídico em ratos Wistar machos com SM;
- Avaliar o efeito de probiótico, prebiótico e simbiótico nos parâmetros de oxidação lipídica e nas defesas antioxidantes de ratos Wistar machos com SM;
- Comparar se a mistura simbiótica apresenta efeito sinérgico nos parâmetros metabólicos e de estresse oxidativo em relação aos efeitos obtidos individual com o probiótico e prebiótico.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 SÍNDROME METABÓLICA

A síndrome metabólica (SM) é um transtorno complexo representado por um conjunto de fatores de risco cardiovasculares, usualmente relacionados à deposição central de gorduras e à resistência à insulina (RI) (BRANDÃO et al., 2005).

Na década de 1940, o francês Jean Vague reconheceu a existência de dois tipos de obesidade: a andróide, cuja obesidade se assemelha ao tipo masculino, predominantemente abdominal, e a ginecóide, com deposição mais periférica, em quadril ou membros inferiores, típica de mulher. Nos trabalhos de Vague foi demonstrada a estreita relação entre as anormalidades metabólicas, tais como Diabetes mellitus tipo 2 (DM2), hiperlipidemia e hiperuricemia, e o tipo andróide. Esta associação viria a ser a essência da SM (GIACAGLIA; SILVA; SANTOS, 2010).

Não existe uma definição de comum acordo entre as entidades internacionais para a SM, porém, os fatores de riscos são praticamente os mesmos (Tabela 1).

Tabela 1- Fatores de risco para o desenvolvimento da Síndrome Metabólica

FATOR DE RISCO	OMS, 2006*	NCEP-ATP III, 2002**	IDF, 2006***
Obesidade abdominal			
Homem	> 90 cm	> 102 cm	> 90 cm
Mulher	> 85 cm	> 88 cm	> 80 cm
Triglicérides	≥ 150mg/dl	≥ 150mg/dl	≥ 150mg/dl
HDL-c			
Homem	< 35mg/dl	< 40mg/dl	< 40mg/dl
Mulher	<40mg/dl	< 50mg/dl	< 50mg/dl
Pressão Sanguínea	≥ 140/90mmHg	≥ 130/80mmHg	≥ 130/80mmHg
Glicemia em jejum		≥110mg/dl	≥100mg/dl
Resistencia à insulina	Sim	Não	Não

* Organização Mundial da Saúde; ** National Cholesterol Education Program;

*** International Diabetes Federation

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS,1998), a presença de RI é necessária para o diagnóstico de SM, mais a presença de dois ou mais componentes. Para o *National Cholesterol Education Program – Adult Treatment Panel III* (NCEP-ATP III, 2002), o diagnóstico de SM é positivo pela presença de três dos cinco critérios adotado. Já a obesidade abdominal, associada à presença de dois ou mais componentes é obrigatória para firmar o diagnóstico de SM de acordo com o *International Diabetes Federation* (IDF,2006) (STEEMBURGO et al., 2007). Devido a sua simplicidade e praticidade a definição do NCEP-ATP III é recomendada pela I Diretriz Brasileira de Diagnóstico e Tratamento da Síndrome Metabólica.

Apesar de não fazerem parte dos diagnósticos da SM, várias condições clínicas e fisiopatológicas estão frequentemente a ela associadas, tais como: síndrome de ovários policísticos, *acanthosis nigricans*, doença hepática gordurosa não-alcoólica, microalbuminúria, estados pró-trombóticos, estados pró-inflamatórios e de disfunção endotelial e hiperuricemia (BRANDÃO et al., 2005).

Além dos parâmetros característicos da SM, os indivíduos com a doença também apresentam importante disfunção endotelial e aceleração da aterosclerose.

Vários fatores têm sido associados ao seu desenvolvimento, como: i) adiposidade visceral e produção desequilibrada de citocinas pró e antiinflamatórias (adiponectina) pelo tecido adiposo, resultando em inflamação de baixo grau, ii) diminuição da biodisponibilidade do óxido nítrico (NO) resultando em disfunção endotelial, iii) hiperuricemia e iv) estresse oxidativo (EO) (DANDONA et al., 2005)

A SM possui uma etiologia multi-fatorial, que compreende de interações complexas entre os diversos fatores, como: predisposição genética, estilo de vida, dieta e alterações ambientais, incluindo as mudanças epigenéticas durante o desenvolvimento (MALLAPPA et al., 2012).

Desde a segunda metade do século XX, populações de vários países do mundo incluindo o Brasil passaram por transformações comportamentais que levaram ao aumento do consumo de alimentos ricos em calorias e à redução da atividade física. Essas modificações tiveram consequências marcantes no

incremento da prevalência de obesidade, doenças metabólicas e cardiovasculares (GIACAGLIA; SILVA; SANTOS, 2010).

A prevalência da SM é altamente dependente da idade, sendo, atualmente uma epidemia não somente entre pessoas de meia idade, mas também entre adolescentes e idosos (15-20% dos idosos com mais de 70 anos), tornando-se assim um importante problema de saúde pública (FULOP; TESSIER; CARPENTIER, 2006).

São poucos os dados a respeito da prevalência da SM na população brasileira. Vidigal e colaboradores (2013) realizaram uma revisão sistemática, sobre a prevalência de SM na população adulta brasileira. A maior prevalência da SM (65.3%) foi encontrada em um estudo realizado com a população indígena nas cidades de Porto Alegre, Planalto e Nonoai no estado do Rio Grande do Sul utilizando como critério de diagnóstico NCEP-ATP III (2001), onde 60,8% dos estudados eram mulheres e 39,2% homens (ROCHA et al., 2011). Em Virgem das Graças e Caju, área rural do Vale do Jequitinhonha, Minas Gerais foi encontrada a menor prevalência (14,9%), onde a proporção de mulheres também foi superior aos dos homens (PIMENTA; GAZZINELLI; VELÁSQUEZ-MELÉNDEZ, 2011). A prevalência geral de SM da população adulta brasileira está entre 28,9% e 29,6%, não diferindo muito da estimativa mundial que fica em torno de 20% e 25% (VIDIGAL et al, 2013).

3.1.1 Obesidade e tecido adiposo

A obesidade é uma doença crônica multifatorial, de genética e etiologia complexas, acompanhada de elevada morbidade e mortalidade. O acúmulo excessivo de gordura corporal, principalmente a abdominal, armazenada sob a forma de triglicerídeos, está associado à secreção aumentada de ácidos graxos e inúmeros peptídeos, responsáveis por distúrbios metabólicos que contribuem para o desenvolvimento de DM2, RI, dislipidemia, hipertensão arterial, doenças cardiovasculares (GIACAGLIA; SILVA; SANTOS, 2010).

Há diversas formas de medir o acúmulo de gordura corporal, dentre eles destacam-se: o índice de massa corporal (IMC), medidas das dobras cutâneas e medidas das circunferências do corpo, principalmente a circunferência da cintura, que avalia a adiposidade central e o risco cardiovascular, uma vez que o IMC é um parâmetro indireto e não quantifica a gordura corporal (FRANCISCHI et al, 2000).

A obesidade é um dos principais fatores predisponentes da SM e a obesidade abdominal, um dos principais critérios de definição de SM pela International Diabetes Federation (IDF, 2006).

O tecido adiposo exerce diversas funções no organismo, além de ser um reservatório, armazenando energia em excesso na forma de lipídeos, também exerce função endócrina, secretando uma série de substâncias denominadas adipocinas, sintetizadas nos adipócitos e em outras células (células do estroma e macrófagos) (RAJALA; SCHERER, 2003). Dentre as adipocinas, podemos citar interleucina 6 (IL-6), fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), proteína C reativa (PCR), leptina e adiponectina (GIACAGLIA; SILVA; SANTOS, 2010).

É bem conhecido que o tecido adiposo na obesidade está associado a um estado inflamatório crônico de baixo grau, devido a uma superprodução de adipocinas pró-inflamatórias como: TNF- α , IL-6, PCR e leptina, e uma diminuição da adiponectina que é uma adipocina com propriedades anti-inflamatórias (GIACAGLIA; SILVA; SANTOS, 2010).

A leptina é um hormônio sintetizado principalmente no tecido adiposo, age no hipotálamo, inibindo a liberação do neuropeptídeo Y (neurotransmissor responsável pelo estímulo da ingestão de alimento, hipersecreção de insulina e glicocorticóides). Além de proporcionar um aumento no gasto energético (FRANCISCHI et al., 2000; GUIMARÃES et al., 2007), sua produção sérica é proporcional a massa de tecido adiposo, assim indivíduos obesos possuem uma maior concentração desse hormônio no sangue, decorrente de uma produção elevada devido à grande quantidade de gordura corporal (LEITE et al., 2009; RAJALA, SCHERER, 2003).

Na fisiologia normal, o excesso de tecido adiposo é informado ao cérebro mediante níveis elevados de leptina, esta por sua vez promove saciedade, redução da ingestão alimentar e aumento do gasto energético (GIACAGLIA; SILVA; SANTOS,

2010). Em obesos pode ocorrer a deficiência de leptina ou até mesmo a hiperleptinemia, que é bem comum e trata-se de uma resistência à leptina, ocorrendo principalmente no sistema nervoso central e não periféricamente como nas células imunológica (LEITE et al., 2009; RAJALA, SCHERER, 2003).

A adiponectina é expressa exclusivamente nos adipócitos diferenciados, em contraste à maioria das adipocinas, sua expressão diminui à medida que o tecido adiposo aumenta e sua concentração no soro encontra-se reduzida em indivíduos obesos, resistentes à insulina e ateroscleróticos (GIACAGLIA; SILVA; SANTOS, 2010). Possui vários efeitos benéficos como: aumento da sensibilidade à insulina, captação de glicose e redução da produção hepática de glicose, inibição da síntese de ácido graxo, redução dos estoques de triglicerídeos, possui efeito protetor vasoprotetor e reduz a formação da placa aterosclerótica e o risco aterogênico, atenua os efeitos das citocinas pró-inflamatória TNF- α , IL-6 e IL-10, dentre outros efeitos benéficos (GIACAGLIA; SILVA; SANTOS, 2010; RAJALA, SCHERER, 2003; GUIMARÃES et al., 2007).

Um das consequências do estado inflamatório oriundo da obesidade é a RI, cuja etiologia destaca-se pela capacidade dos adipócitos secretarem diversas citocinas pró-inflamatórias como IL-6 e TNF- α oriundas do tecido adiposo, que por sua vez interferem na sinalização intracelular da insulina e comprometem a função endotelial e o metabolismo pós-prandial (RIBEIRO FILHO et al., 2006; GUIMARÃES et al., 2007).

3.1.2 Resistência à insulina

A insulina estimula a captação de glicose pelo tecido adiposo e músculo esquelético, ao mesmo tempo em que inibe a gliconeogênese hepática, ajudando a regular a homeostase glicêmica. Além dessas ações clássicas, existem outros alvos fisiológicos importantes como cérebro, células β pancreáticas, coração, rim e endotélio vascular (KUMAR; PERKINS, 2010).

A RI se caracteriza por uma diminuição da resposta de tecidos alvos (fígado, tecido adiposo e muscular) à insulina, sendo necessária uma maior concentração

desse hormônio para se produzir uma resposta metabólica normal. Nesse sentido, a RI está associada à obesidade, ao envelhecimento, ao hábito de vida sedentário e, ainda a predisposição genética (CINTRA; ROPELLE; PAULI, 2011)

A RI pode ser classificada em periférica e hepática, sendo que a hepática é a primeira a se manifestar e provavelmente a maior contribuinte da patologia no desenvolvimento desse quadro. O fígado deixa de controlar a glicogenólise, a gliconeogênese e a glicogenogênese. A periférica está relacionada com músculos esqueléticos e cardíacos sendo decorrente principalmente da falha no transportador de glicose (GLUT 4). O excesso de ácidos graxos livres e citonas pró-inflamatórias como TNF- α , IL-6, leptina também atuam nos músculos periféricos, dificultando a utilização da glicose uma vez que diminui os efeitos da insulina, devido a uma falha nos seus receptores (EL-ZAYADI, 2010; KUMAR; PERKINS, 2010).

A associação entre obesidade e RI é vista em todos os grupos étnicos e etários, faixa de peso e em ambos os sexos. A maioria dos indivíduos obesos é resistente a insulina. O aumento de gordura corporal total implica no aumento do risco de RI e DM2, mas não é somente a quantidade absoluta de gordura, mas também a distribuição da gordura corporal que tem efeito na sensibilidade à insulina: a obesidade central (gordura abdominal) está mais provavelmente ligada a RI do que os depósitos de gordura periférico (glútea/subcutânea) (KUMAR; PERKINS, 2010; GIACAGLIA; SILVA; SANTOS, 2010).

As células β - pancreáticas inicialmente compensam o estado de RI, aumentando a secreção desse hormônio (hiperinsulinemia compensatória), com o avançar da resistência, essas células falham em responder adequadamente à presença de glicose e conduzem o sistema ao estado de intolerância à glicose (FATANI et al., 2012).

Quando as células β já disfuncionais não conseguem manter a hiperinsulinemia compensatória necessária para manter os níveis de glicose dentro da faixa de normalidade, desenvolve-se o DM2. Esse quadro de DM2 representa o estágio final de uma síndrome progressiva e crônica causada pela combinação de RI e diminuição da função das células β e α pancreática (GIACAGLIA; SILVA; SANTOS, 2010; EL-ZAYADI, 2010)

A RI constitui a base fisiopatológica da SM, sendo um fator determinante no desenvolvimento da DM2 e da doença aterosclerótica (GIACAGLIA; SILVA; SANTOS, 2010). Em razão disso, a identificação laboratorial do estado de RI torna-se fundamental, e existem diferentes formas para tal identificação. Uma delas é o *clamp euglicêmico* onde por meio da administração de insulina intravenosa concomitantemente com a glicose e avaliando-se a resposta, a menor absorção da glicose está associada a uma maior resistência à insulina. Outra alternativa, e que foi utilizada neste trabalho, é o cálculo que correlaciona os índices de glicose e insulina obtidos de amostras sanguíneas em jejum. Trata-se do *homeostasis model assesment for insulin resistance* (HOMA-IR), $HOMA-IR: \text{insulina jejum } (\mu\text{U/ml}) \times \text{glicose jejum } (\text{mmol/L}) / 22,5$ (VASQUES et al., 2007).

3.1.3 Dislipidemia

A dislipidemia é um fator de risco independente para doenças cardiovasculares no contexto da SM, sendo caracterizada por um aumento no nível sérico de triglicerídeos e uma diminuição nas concentrações de HDL-c (high-density lipoprotein cholesterol – lipoproteína de alta densidade) (KUMAR; PERKINS, 2010).

Devido ao desequilíbrio energético, os adipócitos ficam hipertróficos (aumentam de tamanho) ao acumular mais triglicerídeos. Quando se atinge um valor crítico, os adipócitos do tecido adiposo visceral começam a secretar citocinas e quimicitocinas, que promovem o aumento do número de macrófagos, estes por sua vez libera outras citocinas como TNF- α e IL-6 que agem dificultando a transdução do sinal da insulina, reduzindo seu efeito nos adipócitos viscerais (FILHO, 2011; KUMAR; PERKINS, 2010).

Os adipócitos viscerais são responsáveis pela grande quantidade de ácidos graxos não esterificados na circulação, com o aumento da disponibilidade desses ácidos graxos livres (AGL) no sistema hepático, pode ocorrer uma estimulação para esterificação diminuindo a síntese de HDL-c e aumentando a concentração de triglicerídeos e LDL-c no sangue (XAVIER et al., 2013; FILHO, 2011). O aumento

desses AGL também estão relacionados como uma das principais causa de EO na obesidade e SM (GRATTAGLIANO et al., 2008).

3.1.4 Papel da frutose na Síndrome Metabólica

Assim como para os seres humanos, para os animais em geral a dieta é um dos principais agentes que contribuem para o desenvolvimento da SM (GIACAGLIA; SILVA; SANTOS, 2010).

Desse modo, a simples mudança na composição da dieta oferecida aos roedores pode servir como modelo para o desenvolvimento de alguns sintomas associados a SM como: intolerância a glicose, hipertrigliceridemia e RI (TRAN; YUEN; McNEILL, 2009). A frutose é um dos carboidratos possíveis de serem utilizados nestes experimentos, pois quando é metabolizada pode ser convertida em glicose, lipídeos ou lactato (TRAN; YUEN; McNEILL, 2009).

Segundo Barreiros, Bossolan, Trindade (2005), a frutose é um monossacarídeo presente no organismo humano e na maioria das plantas, está comumente inserida na alimentação, sendo encontrada naturalmente não só em frutas, como também consumidas em grandes quantidades pelos humanos em alimentos industrializados, refrigerantes e sucos levando a um aumento do consumo de frutose de mais de 500% entre as décadas de 70 e 90.

A frutose é absorvida no intestino por dois mecanismo distintos, sendo o primeiro, por difusão facilitada mediada pela proteína transportadora de glicose (GLUT 5), que tem alta afinidade pela frutose e sua ação não depende da estimulação da insulina, enquanto o segundo por co-transporte, dependente de glicose, gerando um aumento de 29% na absorção da frutose em associação com glicose na dieta. Na circulação, a frutose é transportada pela proteína GLUT 2 até o fígado onde é rapidamente metabolizada pela enzima frutoquinase que fosforila no carbono 1 em frutose-1 fosfato, que posteriormente é cindida pela aldolase B e duas trioses, diidroxiacetona e glicearaldeído – fosfato. As trioses poderão participar de três vias metabólicas: entrar na via glicolítica para produzir ATP (energia) e piruvato, reduzir até glicerol e participar da síntese de triacilgliceróis e outros lipídeos

(lipogênese) ou sofrer condensação com formação de frutose 1,6 difosfato e posteriormente participar da gliconeogênese (BASCIANO; FEDERICO; ADELI, 2005; TRAN; YUEN; McNEILL, 2009).

3.1.5 Estresse Oxidativo e Síndrome Metabólica

A produção de espécies reativas de oxigênio (EROs), de nitrogênio (ERNs), entre outras espécies reativas, é parte integrante do metabolismo humano e é observada em diversas condições fisiológicas. EROs e ERNs desempenham papéis fisiológicos importantes como o controle da pressão sanguínea, na sinalização celular, na apoptose, na fagocitose de agentes patogênicos (VASCONCELOS et al., 2007).

Por outro lado, quando sua produção é exacerbada, o organismo dispõe de um eficiente sistema antioxidante que consegue controlar e restabelecer o equilíbrio. O estresse oxidativo (EO) resulta do desequilíbrio entre o sistema pró e antioxidante, com predomínio dos oxidantes (VASCONCELOS et al., 2007).

O aumento dos níveis de EROs e ERNs durante o EO tem sido implicada na obesidade, hipertensão, disfunção endotelial e na fisiopatologia da SM (URAKAWA et al., 2003) ocasionando também efeitos tóxicos sobre as células e tecidos através do aumento da oxidação de carboidratos, lipídeos e proteínas e ácidos nucleicos. (HUTCHESON; ROCIC, 2012).

Alguns estudos têm demonstrado que a obesidade está associada ao aumento do (EO) e este pode desencadear o desenvolvimento da resistência à insulina (URAKAWA et al., 2003; ABDILLA N. et al, 2007). O EO associado à obesidade ocorre, quando as adipocitocinas liberadas em grande quantidade ativam a enzima nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato (NADPH) oxidase, resultando em aumento da síntese de ROS, como o ânion superóxido ($-O_2\bullet$). No endotélio, esse radical reage rapidamente com o NO formando peroxinitrito, uma espécie ainda mais reativa. Assim, a produção de ROS contribui para a disfunção endotelial pela diminuição da biodisponibilidade de NO. Entretanto, o EO não ocorre somente por

meio desse mecanismo, já que indivíduos obesos apresentam um consumo aumentado de oxigênio em resposta ao aumento de carga mecânica e de metabolismo miocárdico (GUTIÉRREZ-SALMÉAN; CEBALLOS-REYES; RAMÍREZ-SÁNCHEZ, 2012).

Um aumento prolongado na concentração plasmática de glicose e ácidos graxos acarreta uma produção elevada de EROs e ERNs, que altera a função mitocondrial. Essa disfunção resulta em menor capacidade oxidativa e, conseqüentemente, acúmulo de metabólitos lipídicos que apresentam efeitos deletérios em vários tecidos (GIACAGLIA; SILVA; SANTOS, 2010).

Em tecidos insulino-sensíveis, ocorre inibição das vias de sinalização à insulina levando a uma RI. Nas células β -pancreáticas, há indução de morte celular por apoptose e redução da secreção de insulina estimulada pela glicose. No tecido endotelial, a disfunção mitocondrial relaciona-se ao acúmulo de lipídeos e à disfunção celular, aumentando os riscos para doenças cardiovasculares (GIACAGLIA; SILVA; SANTOS, 2010). Esses efeitos, em conjunto, contribuem para o estabelecimento da SM.

Diversos mecanismos inter-relacionados contribuem para a disfunção endotelial relacionados a RI. Alguns componentes da SM, como baixos níveis de HDL-colesterol, aumento nos níveis de LDL-pequena e densa, a hipertensão arterial e o aumento da oferta de ácidos graxos livres são fatores de risco independentes para aterosclerose e estão associados com função anormal do endotélio (BAHIA; AGUIAR; VILLELA; et al., 2006).

A disfunção endotelial ocorre quando os efeitos vasoconstritores se superpõem aos efeitos vasodilatadores, geralmente como resultado de uma diminuição da biodisponibilidade do óxido nítrico (NO), com perda de sua ação vaso – protetora (BAHIA; AGUIAR; VILLELA; et al., 2006).

A ação vascular da insulina é fundamental para a manutenção da homeostase hemodinâmica e metabólica. A insulina estimula a produção vascular de NO e este, por sua vez, aumenta o fluxo sanguíneo para o músculo esquelético, favorecendo o consumo de glicose. A insulina é responsável pelo aumento na liberação de NO e da

expressão óxido nítrico síntase (eNOS). A RI está associada à disfunção endotelial devido à diminuição da ação da insulina e é caracterizada por problemas na via de sinalização (KIM, 2006).

3.2 PROBIÓTICOS

Probióticos são micro-organismos não-patogênicos que vem sendo consumidos a milhares de anos, o primeiro relato data aproximadamente 76 A.C, quando o historiador romano Plínio recomendava o uso de produtos lácteos fermentados no tratamento de gastroenterites (JANKOVIC et al., 2010).

Já o principio dos micro-organismos benéficos foi aplicado por Ilya Metchnikoff (1845-1916) um microbiologista Russo, prêmio Nobel que isolou *Lactobacillus bulgaricus* de leite fermentado, e considerou que o leite era a razão pela longevidade de camponeses búlgaros (MALAGO; KONINKX; MARINSEK-LOGAR, 2011).

A idéia central de Metchnikoff e que se permanece intacta até nos dias de hoje é de que a ingestão de microrganismos vivos é capaz de alterar e estabilizar a microflora intestinal residente com efeito favorável à saúde do hospedeiro e desta forma prevenir algumas doenças (FRIC, 2007).

O termo probiótico (pro-bios) que do grego significa “para vida” surgiu como um antagônico ao antibiótico (contra vida) (MALAGO; KONINKX; MARINSEK-LOGAR, 2011).

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), probióticos são “micro-organismos vivos, que quando administrados em concentração adequada, confere benefícios à saúde do hospedeiro” (WHO, 2002).

No Brasil, a ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) segue a designação da OMS, e preconiza a ingestão de 10^8 - 10^9 Unidades Formadoras de Colônias (UFC), na recomendação diária do produto pronto para o consumo, como quantidade mínima de bactérias viáveis para designação de um alimento probiótico (ANVISA, 2005)

O número de bactérias viáveis que alcançam o intestino não depende apenas da dose ingerida, mas também de outros fatores. A composição da microbiota intestinal que varia de uma pessoa para outra, motilidade intestinal e o pH gástrico individual, bem como a formulação probiótica, e administração de alimentos ou leites acabam por interferir no número de bactérias finais que alcançarão o intestino (BERTAZZONI et al., 2013).

O uso de culturas bacterianas probióticas promovem a redução da proliferação de bactérias patogênicas, tornando o ambiente intestinal menos antigênico, diminuem citocinas pró-inflamatórias, incrementam citocinas anti-inflamatórias e normalizam a permeabilidade intestinal reforçando assim os mecanismos naturais de defesa do hospedeiro (CHARALAMPOPOULOS; RASTALL, 2009).

Além das propriedades mencionadas, os probióticos devem apresentar algumas características que os fazem seguros para o uso (Tabela 2). Adicionalmente essas bactérias devem possuir o *Status* GRAS (*Generally Recognized as Safe*), ou seja, um histórico de uso seguro na indústria alimentícia (FIGUEROA-GONZÁLEZ et al., 2011).

Tabela 2 - Algumas características desejáveis para seleção de probióticos

Crítérios	Propriedades
Crítérios de segurança	<ul style="list-style-type: none"> - Origem humana - Características da linhagem - Fatores de virulência - Resistência contra antibióticos - Genoma sequenciado
Crítérios tecnológicos	<ul style="list-style-type: none"> - Alta viabilidade - Estabilidade em produtos - Resistência as condições impostas - Cepas estáveis
Crítérios funcionais	<ul style="list-style-type: none"> - Adesão as células epiteliais - Sobrevivência no trato gastrointestinal (TGI) - Inibição de patógenos - Propriedades antimutagênicas e anticarcinogênicas

Fonte: Adaptado de MALAGO; KONINKX; MARINSEK-LOGAR (2011).

Dentre as principais características de seleção de um probiótico destacam-se a definição da origem e identificação, ser inócuo, apresentar resistência a ambientes inóspitos como ácidos e bile, ser viável em quantidade suficiente durante e após o processamento, o transporte e estocagem no produto que as contém, a fim de promover benefícios à saúde do hospedeiro (FIGUEROA-GONZÁLEZ et al., 2011; SAAD, 2006)

3.2.1 Gêneros de probióticos

As bactérias do ácido láctico (BAL), principalmente do gênero *Lactobacillus*, e as bactérias do gênero *Bifidobacterium*, são as mais frequentemente empregadas como probióticos em alimentos. Estes micro-organismos são encontrados em sua maioria na microbiota intestinal de indivíduos saudáveis e em produtos lácteos fermentados (Tabela 3) (FRIC, 2007).

As bactérias do gênero *Lactobacillus* podem ser definidas morfológicamente como Gram-positivas, produtoras de ácido láctico, não formadoras de esporos, catalase negativa, anaeróbicas ou aerotolerantes, homofermentativas ou heterofermentativas, possuem necessidades nutricionais complexas e constituem a maior parte da microbiota de animais e humanos (LEE; SALMINEN, 2009; SAAD, 2006).

Tabela 3 - Alguns micro-organismos com propriedades probióticas

<i>Lactobacillus</i>	<i>Bifidobacterium</i>	Outras espécies
<i>L. acidophilus</i>	<i>B. adolescentis</i>	<i>Enterococcus</i>
<i>L. amylovorus</i>	<i>B. animalis</i>	<i>faecalis</i>
<i>L. brevis</i>	<i>B. bifidum</i>	<i>Enterococcus</i>
<i>L. casei</i>	<i>B. breve</i>	<i>faecium</i>
<i>L. rhamnosus</i>	<i>B. infantis</i>	<i>Lactococcus lactis</i>
<i>L. crispatus</i>	<i>B. lactis</i>	<i>Leuconstoc mesenteroides</i>
<i>L. delbrueckii subsp.bulgaricus</i>	<i>B. longum</i>	<i>Pediococcus acidilactici</i>
<i>L. fermentum.</i>		<i>Sporolactobacillus inulinus</i>
<i>L. gasseri</i>		<i>Streptococcus thermophilus</i>
<i>L. helveticus</i>		<i>Escherichia coli cepa nissle</i>
<i>L. johnsonii</i>		<i>Propionibacterium</i>
<i>L. lactis</i>		<i>freudenreichii</i>
<i>L. paracasei</i>		<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>L. plantarum</i>		<i>Saccharomyces boulardii</i>
<i>L. reuteri</i>		
<i>L. salivarius</i>		

Fonte: Adaptado de CHARALAMPOPOULOS; RASTALL (2009).

O íleo terminal e o cólon parecem ser respectivamente, o local de preferência para colonização intestinal dos *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* (MALAGO; KONINKX; MARINSEK-LOGAR, 2011;).

Existem mais de 150 espécies de *Lactobacillus* descritas (<http://www.bacterio.net/lactobacillus.html>), dentre as mais conhecidas e usadas como probióticos estão *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. reuteri*, *L. plantarum*, *L. helveticus* (VRIES et al.,2006).

Devido à sua abundância, características de crescimento fácil e origem humana, várias cepas de *L. plantarum*, foram testadas quanto aos benefícios na saúde (KLEEREBEZEM et al., 2003). Diferentes efeitos foram observados após o consumo de quantidades significativas de células de *L. plantarum* hospedadas em indivíduos saudáveis. Embora não seja considerada uma bactéria probiótica pela legislação brasileira, é caracterizada como tal em muitos países, onde é utilizada em diversos produtos, apresentando um longo histórico de uso seguro (VRIES et al.,2006).

L. plantarum pode ser isolado a partir da boca até o reto na maioria dos indivíduos saudáveis, mas ele é encontrado em maior concentração no intestino devido ao fato dele ser uma bactéria intestinal comum (VRIES et al., 2006). Está presente também numa grande variedade de nichos ambientais, incluindo fermentados lácteos, produtos cárneos e principalmente em muitos produtos vegetais e vegetais fermentados (YU et al, 2013).

O grande número de proteínas de superfície ancoradas sugere que o *L. plantarum* tenha o potencial de associar-se com várias superfícies e diferentes substratos potencial de crescimento. Além disso, um número relativamente elevado de genes que codificam as funções de regulação indica sua capacidade de adaptação a diversas condições. Todas estas características juntas refletem no potencial do *L. plantarum* em crescer e se adaptar em uma grande variedade de nichos ambientais (KLEEREBEZEM et al., 2003).

Outro motivo pelo qual o *L. plantarum* possui uma ampla versatilidade é devido ao tamanho do seu genoma, que é aproximadamente 50% maior que do que a de qualquer outra bactéria do ácido lático, conferindo a ele uma ampla capacidade metabólica (TAMINE, 2005).

3.2.2 Efeitos dos probióticos sobre a Síndrome Metabólica

Os probióticos são considerados os novos moduladores da microbiota intestinal e recentes estudos têm sugerido que cepas de probióticos, como os *Lactobacillus*, apresentam efeitos benéficos sobre a prevenção e/ou tratamento da SM, agindo em seus componentes individuais como, obesidade, RI, DM2, dislipidemia (KOVATCHEVA-DATCHARY; ARORA, 2013; ANDERSON et al., 2010).

Vários relatos demonstraram que a obesidade induzida após manipulações nutricionais (alto teor de gordura ou açúcar) é caracterizada por alterações na microbiota intestinal no sentido de diminuição do número de lactobacilos e bifidobactérias (LARSEN et al., 2010; BURCELIN et al., 2011).

É importante ressaltar que estes dois grupos de bactérias têm mostrado reduzir os níveis intestinais de lipopolissacarídeos (LPS) em ratos e melhorar a função de barreira da mucosa, fatores envolvidos no desenvolvimento da resposta inflamatória (LARSEN et al., 2010; MALLAPPA et al., 2012).

Segundo Cani et al (2007a) o aumento na concentração de LPS no plasma induzido por uma alimentação rica em gordura ocasiona uma endotoxemia metabólica, sendo o LPS um forte estimulador da liberação de várias citocinas que são fundamentais indutores da RI.

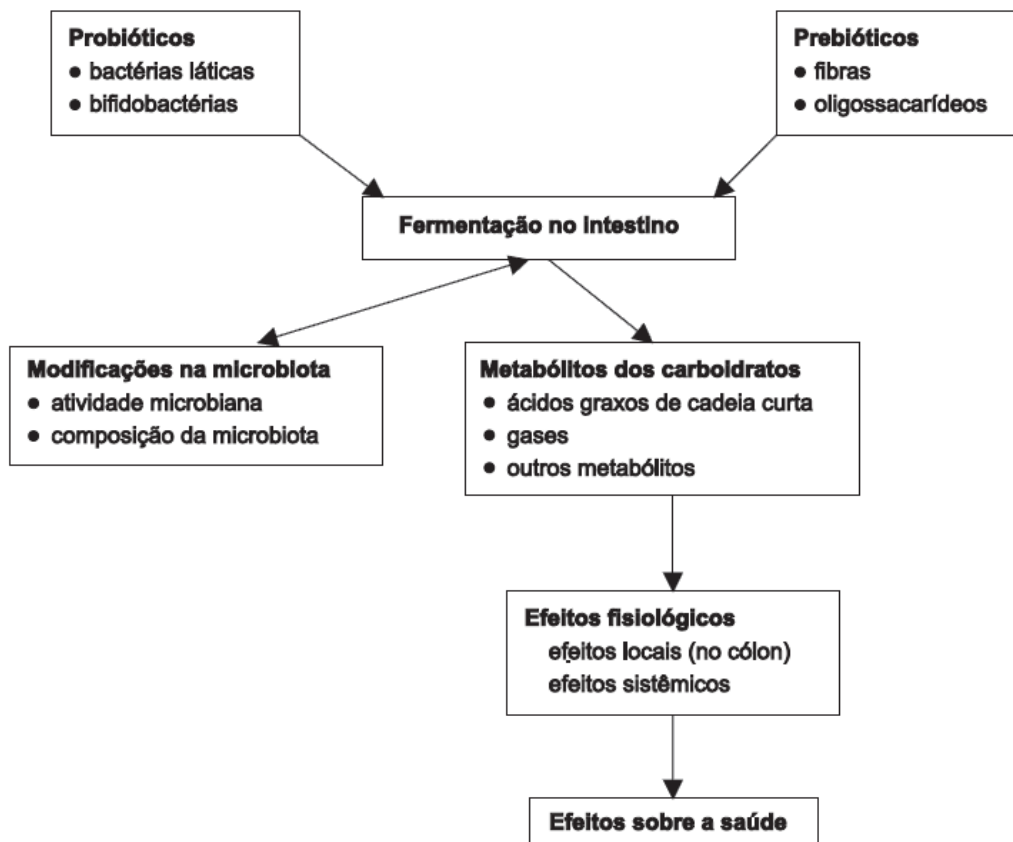
Alguns estudos evidenciam os efeitos benéficos de diversas espécies de *Lactobacillus* em roedores com SM induzida por manipulações dietéticas. Essas diferentes espécies são capazes de melhorar a RI, reduzir glicemia em jejum, estresse oxidativo, dislipidemia (ANDERSON et al., 2010; PARK et al., 2013; PARK et al., 2007; HUANG et al., 2013).

Alguns estudos evidenciaram a melhora na RI, diminuição da glicemia em jejum, estresse oxidativo e da dislipidemia em roedores com SM induzida por manipulação dietética, ao administrar probióticos, como, *L. plantarum* e *L. curvatus* (PARK et al., 2013), *L. plantarum* K68 (HUANG et al., 2013), *L. casei* e *L. acidophilus* (YADAV et al., 2007), *L. acidophilus* ATCC 43121 (PARK et al., 2007) *L. reuteri* GMNL (HSIEH et al., 2013), *L. plantarum* DSM 15313 (ANDERSON et al., 2010).

3.3 PREBIÓTICO

Os prebióticos vêm sendo amplamente estudados desde os anos 90, Gibson e Roberfroid em 1995 definiram os prebióticos como “substâncias não digeríveis que, quando consumidas proporcionam um efeito fisiológico benéfico ao hospedeiro por seletivamente estimular o crescimento favorável das bactérias presentes no cólon e, portanto, melhorar a saúde do hospedeiro” (Figura 1) (MALAGO; KONINKX; MARINSEK-LOGAR, 2011).

Figura 1- Reações dos probióticos e prebióticos com a microbiota intestinal, e seus efeitos benéficos sobre a saúde



Adaptado por: SAAD (2006)

Para um ingrediente alimentar ser classificado como um prebiótico, ele deve apresentar algumas características como:

- 1) não ser absorvido nem hidrolisado na parte superior do trato gastrointestinal, devendo chegar em quantidades adequadas até o intestino;
- 2) ser fermentado seletivamente por um único tipo ou por um número limitado de bactéria do cólon;
- 3) alterar a composição da microbiota intestinal para uma composição mais saudável;

4) induzir preferencialmente efeitos benéficos à saúde do hospedeiro (MALAGO; KONINKX; MARINSEK-LOGAR, 2011; COLLINS; GIBSON, 1999).

Fibra alimentar e oligossacarídeos não digeríveis são os principais substratos de crescimento de micro-organismos intestinais (SAAD, 2006). A fermentação desses componentes é realizada por bactérias anaeróbicas do cólon, levando a produção de gases e ácido láctico que resulta em acidificação dos conteúdos do cólon, além da formação de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), que estimula a proliferação de células epiteliais do cólon e podem também atuar em diferentes tecidos, desempenhando papel na regulação de processos celulares (BIBAS-BONET et al., 2010).

Dentre as substâncias com função prebiótica, podem-se citar frutanos do tipo inulina, especialmente frutoligossacarídeos (FOS) e galactoligossacarídeo (GOS), amido resistente e beta-glucanos (ROBERFROID et al., 2007).

A inulina e a oligofrutose, denominadas de frutano, são fibras solúveis e fermentáveis, que não são digeríveis pela α -amilase ou por enzimas hidrolíticas na parte superior do trato gastrointestinal (SAAD, 2006). Como estes componentes não são absorvidos, eles fornecem substratos para as bactérias intestinais, modulando a composição da microbiota intestinal, a qual exerce um papel primordial na fisiologia gastrointestinal (NAKAMURA; OMAJE, 2012).

Os benefícios à saúde atribuídos ao consumo de prebióticos são vários, dentre eles se destacam: a modulação de funções fisiológicas chaves, como a absorção de cálcio, modulação da composição da microbiota intestinal que exerce um papel importante na fisiologia gastrointestinal, redução do risco de câncer de cólon, redução do número de bactérias patogênicas no intestino, alívio da constipação e diminuição na síntese de triglicerídeos e ácidos graxos no fígado e diminuição desses compostos no sangue (SAAD, 2006; FRIC, 2007).

3.3.1 Yacon (*Smallanthus sonchifolius*)

O yacon é uma raiz tuberosa, oriunda da região Andina, considerada um alimento nutracêutico devido aos seus componentes como fibras alimentares

solúveis e prebióticos que estimulam o crescimento e atividade de bactérias intestinais promotoras da saúde (SANTANA; CARDOSO, 2008).

Foi introduzido no Brasil no início dos anos 90, onde o consumo expressivo iniciou-se em meados dos anos 2000 e a raiz tornou-se conhecida popularmente como batata yacon ou batata diet (SANTANA; CARDOSO, 2008).

O yacon é uma planta medicinal que é semelhante, nas suas raízes, às batatas doces, por ter um gosto adocicado e uma polpa mais firme (SANTANA; CARDOSO, 2008). São consumidas frescas ou cozidas, na forma de sucos, *in natura* e também desidratada na forma de farinha e tem sido considerado um alimento funcional, devido às grandes quantidades de frutanos (isto é; inulina e principalmente frutooligossacarídeo (FOS) (VALENTOVÁ et al.,2006).

A sua composição química tem como principais substâncias água e carboidratos, os quais são armazenados principalmente sob a forma de FOS, sendo estes cerca de 40 -70% do peso seco, existem também de 15 - 40% açúcares simples como sacarose, glicose e frutose (SANTANA; CARDOSO, 2008). O percentual de água das raízes fica em torno de 83-90% do peso fresco, devido ao alto conteúdo de água, o valor energético da raiz é baixo (SANTANA; CARDOSO, 2008).

Diferentemente da maioria de tubérculos e raízes que armazenam carboidratos na forma de amido, o yacon armazena, essencialmente FOS, açúcares que não podem ser digeridos diretamente pelo organismo humano devido à ausência de enzimas necessárias para o metabolismo destes elementos e são considerados compostos bioativos na alimentação humana (VALENTOVÁ et al.,2006).

A inulina e os FOS são dois exemplos de frutanos do tipo inulina, os quais são polímeros lineares de D-frutose, ligados por uma ligação glicosídica β (2-1), muitas vezes com uma porção de glicose terminal (PASSOS; PARK, 2003).

O grau de polimerização de oligofrutose (FOS) varia entre 2 e 10 enquanto a inulina pode ser de 60 ou mais. As ligações β (2-1) destes frutanos impedem a sua digestão na parte superior do trato gastrointestinal humano e são responsáveis pelo

seu valor calórico e efeitos semelhantes de fibras dietéticas (PASSOS; PARK, 2003).

Os FOS possuem efeitos prebióticos, estimulando o crescimento e/ou atividade específica de um número limitado de bactérias benéficas do cólon do hospedeiro, assim como a inibição do crescimento de agentes patogênicos e microrganismos prejudiciais, eles são fermentados seletivamente por bifidobactérias e lactobacilos (ROBERFROID, 2007).

3.3.2 Efeitos benéficos dos prebióticos na SM

Recentemente, tem havido grande interesse na utilização de suplementos alimentares contendo probióticos e prebióticos devido aos seus sugestivos papéis no controle e prevenção da SM. Os mecanismos envolvidos e as estratégias de intervenção em casos de SM com utilização de prebióticos são associados com efeitos da diminuição do grau de inflamação, aprimoramento da função de barreira intestinal, indução de saciedade e melhora do balanço da microbiota intestinal (MALLAPPA et al., 2012).

A administração de prebióticos (oligofrutose) resulta em aumento nas bactérias intestinais gram-positiva, incluindo bifidobactérias e lactobacilos e uma diminuição no LPS plasmático induzido por dieta rica em gorduras e doenças inflamatórias, por meio da avaliação de marcadores inflamatórios (CANI et al., 2007a; CANI et al., 2007b).

Os possíveis mecanismos de ação dos prebióticos baseia-se na produção de peptídeos intestinais secretados por células endócrinas do cólon, aumentando assim a produção de peptídeo semelhante ao glucagon 2 (GLP-2), GLP-1, peptídeo YY (PYY) e redução do peptídeo grelina (CANI et al., 2009).

Numerosos dados têm descrito o efeito da ingestão de prebióticos (FOS) sobre a evolução do peso corporal e a massa gorda em modelos animais (CANI et al., 2007a; CANI; DELZENNE, 2009). Em estudos com modelos de roedores essa diminuição na massa gorda após alimentação com ingredientes que possuem efeitos

prebióticos foi associado à redução de ingestão/alimentos (energia) (ROBERFROID et al., 2007).

A diminuição do consumo de alimentos relacionados ao tratamento com prebióticos em animais pode estar ligada a modulação de peptídeos gastrintestinais envolvidos na regulação da ingestão de alimentos, os quais são produzidos pelas células L endócrinas do trato gastrointestinal, tais como GLP-1, GLP-2, grelina e oxintomodulina, envolvidos na regulação da ingestão de alimentos e consumo de energia (CANI; DELZENNE, 2009).

Corroborando esses dados, em ratos obesos alimentados com frutanos tipo inulina (10% da dieta), houve uma diminuição na ingestão de alimentos por meio da modulação e produção de peptídeos gastrintestinais, juntamente com o aumento dos peptídeos anorexígenos (PYY e GLP-1) e diminuição do peptídeo orexígeno grelina (CAESAR; BACKHED, 2010).

Frutanos tipo inulina também melhoram a homeostase da glicose em ratos e humanos em várias condições nutricionais, essa resposta glicêmica pode ser explicada pelo aumento da secreção de insulina ou sensibilidade à insulina (CANI et al., 2005; ROBERFROID et al., 2007). Devido a uma restauração parcial da massa de células β e insulina pancreática, além do aumento dos níveis de GLP-1 que tem demonstrado aumentar a diferenciação de células β (DRUCKER, 2003).

Um extrato aquoso de tubérculos de yacon com uma concentração de 0,76g frutanos/Kg foi administrado a ratos diabéticos uma vez por semana durante 30 dias. Oliveira, Braga, Fernandes (2013) concluíram que houve uma redução na hiperglicemia e dislipidemia destes ratos e um efeito protetor no fígado devido a redução da atividade da enzima alanina transaminase (ALT).

Pode-se acrescentar a contribuição do consumo de prebióticos, a uma diminuição do grau de inflamação, os quais elevam os microrganismos benéficos, bifidobactérias e lactobacilos, no intestino (NAKAMURA; Omaye, 2012). Esse aumento se correlaciona positivamente com a redução do processo inflamatório por diminuição dos níveis de citocinas e uma consequente melhora nos marcadores da homeostase da glicose (CANI et al., 2007a).

As fibras prebióticas são solúveis e fermentáveis pela microbiota intestinal e estas características se relacionam ao tradicional mecanismo proposto, pelo qual a fibra solúvel age, formando uma emulsão estável do tipo gel e complexando a gordura alimentar, o que impede a hidrólise de gordura pela lipase pancreática (HABIB et al., 2011).

Os efeitos sobre o metabolismo dos lipídeos são devido à inibição da síntese *de novo* de ácido graxo. As fibras prebióticas são capazes de regular negativamente enzimas hepáticas lipogênicas, especificamente ácido graxo sintase (FAS), por meio do aumento da produção de ácido graxo de cadeia curta (AGCC), propionato (DELZENNE; WILLIAMS, 2002).

Os AGCC são relacionados ao metabolismo do colesterol e as fibras prebióticas aumentam o AGCC no ceco, expondo o fígado a elevadas concentrações de ácido propiônico e deprimindo as respostas colesterolêmicas (HABIB et al., 2011).

3.4 SIMBIÓTICO

Outra possibilidade alternativa para se modular ou equilibrar a microbiota intestinal é o uso em conjunto de probióticos e prebióticos, formando os compostos simbióticos.

Os simbióticos foram definidos por Gibson e Roberfroid (1995) como “uma mistura de probióticos e prebióticos que afeta beneficemente o hospedeiro melhorando a sobrevivência e a implantação de suplementos alimentares microbianos vivos no trato gastrointestinal, por estimular seletivamente o crescimento e/ou ativar o metabolismo de um ou de um número limitado de bactérias promotoras da saúde, melhorando assim o bem estar do hospedeiro” (MALAGO; KONINKX; MARINSEK-LOGAR, 2011).

A interação entre o probiótico e prebiótico *in vivo* pode ser favorecida por uma adaptação do probiótico ao substrato prebiótico anterior ao consumo. Em alguns casos isso pode resultar em uma vantagem competitiva para o probiótico, se ele for consumido juntamente com o prebiótico (SAAD, 2006).

O consumo combinado de probióticos e prebióticos pode aumentar os efeitos benéficos de cada um deles, uma vez que o estímulo de cepas probióticas conhecidas leva à escolha dos pares simbióticos substrato-micro-organismo ideal (SAAD, 2006).

Os simbióticos apresentam um melhor efeito benéfico sobre a microbiota intestinal quando comparados com os pré e probióticos consumidos isoladamente, pois reduzem o pH devido a produção de ácido graxos de cadeia curta, gases e ácido láctico, levando a uma diminuição de bactérias patogênicas que possam estar presentes no cólon, aumentando a população de bactérias benéficas como *Bifidobacterium* e *Lactobacillus* (SAAD, 2006; MALAGO; KONINKX; MARINSEK-LOGAR, 2011).

Prebióticos do tipo inulina, FOS ou GOS bem como sua combinação simbiótica com bactérias probióticas *L. plantarum*, *L. paracasei* ou *B. bifidum* aumentaram a população de bifidobactérias e lactobacilos inibindo o crescimento de varias espécies de bactérias patogênicas (*Clostridium sp.*, *E. coli*, *Campylobacter jejuni*, *Enterobacterium sp.*, *Salmonella enteritidis* or *S. typhimurium*) em humanos e em animais (MALAGO; KONINKX; MARINSEK-LOGAR, 2011).

A ingestão diária de 200 mL de um shake simbiótico contendo *L. acidophilus* (10^8 UFC), *Bifidobacterium bifidum* (10^8 UFC) e FOS, durante trinta dias ocasionou uma redução dos níveis de glicemia de jejum, no aumento do HDL, porém não foi capaz de reduzir significativamente os valores de colesterol total e triglicerídeos em indivíduos de 50-60 anos (MOROTI et al., 2012). Schaafsma (1998) verificou uma redução significativa no colesterol total, LDL e na taxa LDL/HDL em homens com idade de 33-64 anos, que consumiram 125 mL de um leite fermentado contendo *L.acidophilus* e FOS, três vezes ao dia durante três semanas, os valores de HDL e glicemia de jejum permaneceram inalterados. Eslamparast e colaboradores (2014) estudaram a ingestão de cápsulas contendo sete linhagens de *Lactobacillus* e FOS administrada duas vezes ao dia, durante vinte e oito semanas em indivíduos com SM e constataram uma melhora nos níveis de glicemia de jejum e insulina quando comparados com o placebo, porém não houve alterações nos níveis de LDL, circunferência da cintura, índice massa corpórea e na ingestão de alimentos.

4 MATERIAIS E MÉTODO

A presente pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal da Universidade Estadual de Londrina (OF.CIRC.CEUA Nº 013/2014).

O estudo experimental e as análises das amostras foram realizados no Biotério do Hospital Universitário, Laboratório de Pós Graduação e no Laboratório de Imunologia Clínica da Universidade Estadual de Londrina. A produção das bebidas utilizadas no experimento foram desenvolvidas e preparadas no Laboratório de Microbiologia de Alimentos no Centro de Ciências Agrárias da mesma instituição.

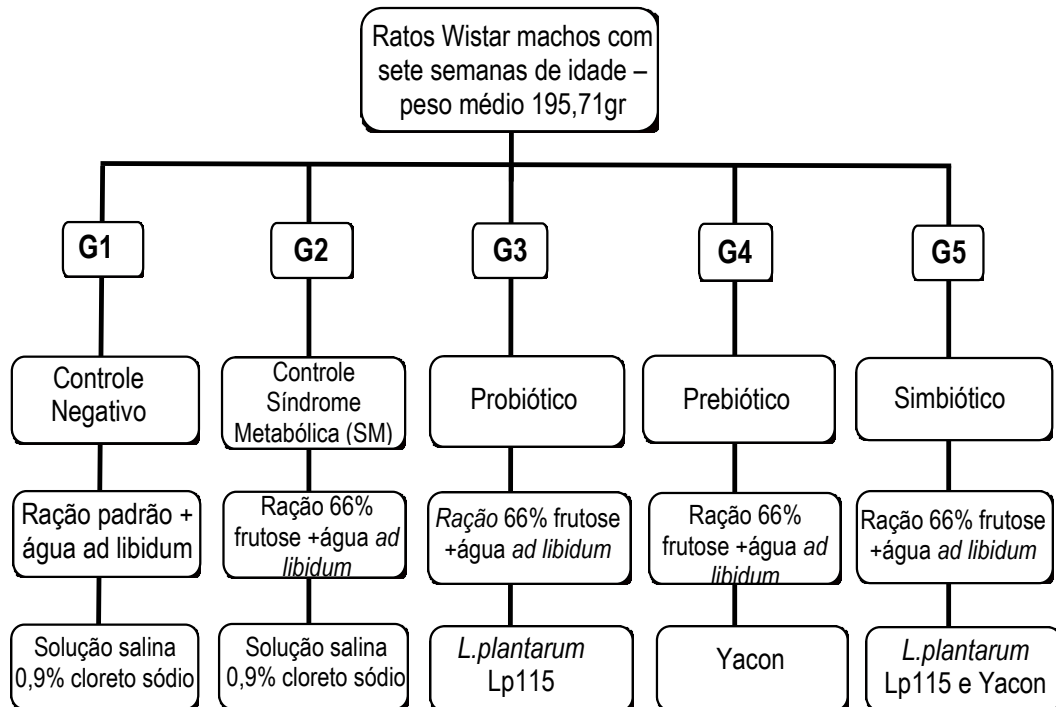
4.1 MODELO EXPERIMENTAL

O estudo foi realizado com 50 ratos da linhagem Wistar, machos com sete semanas de idade, oriundo do Biotério do Hospital Universitário de Londrina, com um peso médio de 195,71gr.

Os animais foram mantidos em gaiolas de polietileno, um animal por gaiola, a uma temperatura média de $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ e umidade de $55\%\pm 10$, respeitando o ciclo claro/escuro de 12/12 horas, com livre acesso a uma dieta controlada e água disponível em garrafas de vidros com bicos de inox, encaixadas na parte superior da grade metálica da gaiola

Assim, os animais foram divididos em cinco grupos experimentais (Figura 2), sendo cada grupo com 10 animais.

Figura 2- Modelo experimental



Cada grupo foi identificado por etiquetas coloridas fixadas na caixa dos animais, contendo o nome do grupo, o número do animal, data de início e término do experimento, sendo o grupo 1 de cor amarela, grupo 2 azul, grupo 3 laranja, grupo 4 vermelho e grupo 5 verde.

Para a indução da SM, os animais foram submetidos a uma dieta com 66% de frutose durante oito semanas (64 dias). Os animais do grupo controle negativo (G1) receberam a ração padrão comercial para roedores Nuvilab®, e os animais do grupo controle positivo com SM (G2), SM e probiótico (G3), SM e prebiótico (G4) e SM e simbiótico (G5) receberam uma ração enriquecida com 66% frutose cristalina (Galem Refines, Israel, maio de 2014) homogeneizada com a ração padrão comercial (Figura 3). A composição da dieta padrão e da enriquecida esta apresentada na tabela a seguir:

Tabela 4- Composição da dieta padrão e enriquecida com 66% frutose

Constituintes	Ração normocalórica (padrão)	Ração enriquecida com frutose
Proteína bruta (mín.)	22,00%	22,00%
Extrato étero (mín.)	4,00%	4,00%
Frutose	—	66,00%
Matéria fibrosa (máx.)	8,00%	8,00%
Matéria mineral (máx.)	10,00%	10,00%
Cálcio (máx.)	1,40%	1,40%
Fósforo (mín.)	0,80 %	0,80 %

Valores referentes a 1 Kg da ração.

Figura 3 Ração enriquecida com 66% de frutose e ração padrão para roedores Nuvilab®



Sendo, A: ração enriquecida com 66% de frutose e B: ração padrão para roedores Nuvilab®

As intervenções terapêuticas começaram a ser administradas diariamente, uma vez ao dia por gavagem, nos animais no primeiro dia do experimento juntamente com a ração enriquecida e a ração padrão, procurando manter sempre o mesmo horário da administração. Todos os animais foram pesados semanalmente em balança analítica digital (Helmac HM 5000).

Após oito semanas do início do experimento, os animais foram anestesiados para obtenção das amostras de sangue. Os parâmetros de análises foram realizados igualmente nos cinco grupos e todos os animais foram sacrificados, após 8 horas de jejum devido à exsanguinação por punção cardíaca. Este procedimento foi realizado após a administração intraperitoneal de tiopental sódico em pó 1g reconstituído em cloreto de sódio 0,9% (40 mg/Kg), conforme a Resolução Normativa nº 13 do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal de 20 setembro de 2013 (BRASIL, 2013).

4.1.1 Intervenções Terapêuticas

Para as intervenções terapêuticas, utilizou-se uma seringa com agulha para gavagem de aço inox com comprimento de sete centímetros. Diariamente, uma vez ao dia, durante as oito semanas do experimento os animais receberam as intervenções terapêuticas referente ao seu grupo:

Grupo 1: 1 mL de solução salina 0,9% de cloreto de sódio

Grupo 2: 1 mL de solução salina 0,9% de cloreto de sódio

Grupo 3: 1 mL da bebida probiótica (leite fermentado com *L.plantarum* (Lp115))

Grupo 4: 1 mL da bebida prebiótica (yacon em pó reconstituído em água)

Grupo 5: 1 mL da bebida simbiótica (leite fermentado com *L.plantarum* (Lp115) e yacon em pó).

4.2 ELABORAÇÃO DAS BEBIDAS PROBIÓTICAS, PREBIÓTICAS E SIMBIÓTICAS

O preparo das bebidas probiótica e simbiótica foram realizadas no Laboratório de Microbiologia e Tecnologia de Alimentos da Universidade Estadual de Londrina, sob todos os critérios de higiene para a produção, embalagem e transporte até o Biotério do Hospital Universitário.

Os ingredientes usados para produção dessas bebidas foram: leite em pó desnatado Molico Nestlé®, Yacon em pó Giroil® e cultura liofilizada de *L.plantarum* – Lp 115, fornecida pela empresa Danisco.

As bebidas probióticas e simbióticas eram produzidas uma vez por semana, em tubos de falcon contendo a porção diária (20mL) para cada grupo. Já a prebiótica era preparada na hora da administração, adicionando 20 mL de água no tubo de falcon contendo yacon em pó.

4.2.1 Ativação do inóculo

Em um tubo de falcon foi adicionado leite em pó (10% m/v), açúcar (8% m/v) e 25 ml de água destilada. O conteúdo foi esterilizado a 121°C por 15 minutos. Após atingir a temperatura média de 25°C foi inoculada a cultura liofilizada de *L.plantarum* – Lp 115. O frasco foi levado à estufa a 37°C por 8 horas.

4.2.2 Produção da bebida probiótica

O leite foi reconstituído (10% m/v) e esterilizado (121°C/15min). Ao atingir a temperatura média de 25°C foi adicionado o inóculo ativado na concentração de 5% (v/v). Após a homogeneização o tubo de falcon foi levado à estufa 37°C, para o processo de fermentação durante 20 horas, obtendo uma contagem final de 10⁹ UFC/mL.

Ao final desse período verificou-se o pH da bebida, objetivando-se obter um valor médio de 4,3, sendo que, para esta avaliação utilizou-se um pHmetro digital devidamente calibrado com pH 4,0 e 7,0. E assim, a bebida probiótica foi acondicionada em refrigeração (5±1°C) para ser administrada nos animais.

4.2.3 Produção da bebida prebiótica

O yacon em pó (10% m/v) foi reconstituído em água filtrada (20mL) na hora da administração aos animais. Cada 1 mL dessa bebida possuía cerca de 0,041g FOS. A figura a seguir mostra as informações nutricionais do yacon em pó utilizado.

Tabela 5- Informações nutricionais do yacon em pó Giroil®

Informações Nutricionais		
Porção 10g		
	Quantidade por porção	% VD
Valor energético	24 Kcal =100Kj	1%
Carboidratos	5,8 g	2%
Proteínas	0,4 g	1%
Fibras totais	6,6 g	26%
Fibras insolúveis	2,2 g	-
Fibras solúveis	0,31g	-
Oligofrutanos	2,7 g	-
Inulina	1,4 g	-
Potássio	27 g	1%

Fonte: Giroil®

4.2.4 Produção da bebida simbiótica

O leite (10% m/v) e o yacon em pó (10% m/v) foram reconstituídos e esterilizados (121°C/15min). Ao atingir a temperatura média de 25°C foi adicionado o inóculo ativado na concentração de 5% (v/v). Após a homogeneização o tubo de falcon foi levado à estufa 37°C, para o processo de fermentação durante 19 h, obtendo uma contagem final de 10¹¹ UFC/mL.

Ao final desse período verificou-se o pH da bebida, objetivando-se obter um valor médio de 4,3, sendo que, para esta avaliação utilizou-se um pHmetro digital devidamente calibrado com pH 4,0 e 7,0. E assim, a bebida simbiótica foi acondicionada em refrigeração (5±1°C) para ser administrada nos animais

4.3 ANÁLISES LABORATORIAIS

As amostras de sangue colhidas no fim do experimento foram distribuídas da seguinte forma, 4 mL de sangue em etilenodiamino tetracético (EDTA) como anticoagulante, 4 mL de sangue sem anticoagulante e 2 mL com fluoreto/EDTA. Em seguida, as amostras foram identificadas e o material foi imediatamente centrifugado a 3.000 rpm. Plasma e soro foram aliquotados em tubos tipo *ependorf* e armazenados em freezer -80°C.

Além do registro semanal de peso corporal dos animais, foram realizadas as seguintes análises laboratoriais:

- Soro: níveis séricos de triglicerídeos, HDL, ácido úrico, insulina, isoprostanos, metabolitos do óxido nítrico (NO).
- Plasma: análise plasmática de glicose jejum, determinação do grupamento tiol (SH), quimiluminescência induzida por t-Butil hidroperóxido (QM), Total Radical –Trapping Antioxidant Parameter (TRAP).

4.3.1 Parâmetros bioquímicos

As análises plasmáticas de glicose jejum, colesterol HDL, triglicerídeos, ácido úrico, foram determinados em um auto-analisador bioquímico, com kits disponíveis comercialmente (Dimension™ Dade AR Dade Behring, Deerfield, IL, USA). A RI foi calculada utilizando o modelo $HOMA-IR = \text{glicemia de jejum (mmol/L)} \times \text{insulinemia de jejum (mU/L)} / 22,5$ (VASQUES et al., 2007).

4.3.2 Análises imunológicas

As dosagens de insulina e isoprostanos-8 foram realizadas pelo método imunoenzimático (Enzyme-linked immunosorbent assay – ELISA) por meio de kits comerciais. Insulina (rat) (Spio bio, USA), isoprostanos -8 (Cayman, USA).

4.3.3 Análises de Estresse Oxidativo

4.3.3.1 Total Radical –Trapping Antioxidant Parameter (TRAP).

O TRAP foi avaliado por quimiluminescência (QM) em uma adaptação do método descrito por Repetto *et al.* (1996). A metodologia é baseada na geração de radicais peroxila (RO_2^{\cdot}), por decomposição térmica, a uma velocidade controlada, do azo iniciador dicloridrato de 2,2'-azobis-(2-metilpropanoamidina) (ABAP). Sabe-se que o ABAP gera radicais peroxil rapidamente, via interação com radicais centrados em carbono e oxigênio molecular, permitindo assim a detecção de antioxidantes hidro e/ou lipossolúveis presentes no soro ou plasma (YOKOZAWA *et al.*, 2000). Ao meio da reação foram acrescentados 100 μ L de luminol em solução aquosa 200 μ M, 5 μ L de soro e 100 μ L de solução aquosa de 2,2 azo-bis (2-amidinopropano) 200 mM. Este experimento foi conduzido em um contador da marca Beckman (EUA) modelo LS 6000, utilizando-se um modo de contagem não coincidente por 25 minutos, com uma faixa de resposta entre 300 a 620 nM com controle de temperatura de 30°C. Os resultados foram expressos em μ M Trolox, sendo que os valores obtidos foram divididos pelo valor do ácido úrico plasmático para corrigir a influência do ácido úrico elevado sobre o TRAP (VENTURINI *et al.*, 2012).

4.3.3.2 Metabólitos do Óxido Nítrico (NOx)

A determinação da concentração de subprodutos do NO foi realizada pela técnica descrita por Navarro-Gonzalvez, García-Benayas, Arenas (1998). O NO é um gás muito instável e rapidamente se degrada nos subprodutos nitratos e nitritos, que podem ser detectados no soro. O método de detecção baseia-se na redução de nitrato a nitrito, mediada por reações de óxido-redução ocorridas entre o nitrato presente na amostra e o sistema cádmio-cobre dos reagentes, com posterior diazotação e detecção colorimétrica do azocomposto formado pela adição do reagente de Griess. A quantificação de NOx foi feita em leitora de microplacas Asys Expert Plus, Biochrom® (Holliston, MA, EUA), sendo as leituras realizadas em 540 nm. A concentração de NOx foi expressa em μ M.

4.3.3.3 Determinação do Grupamento Tiol (SH-grupo)

O grupamento tiol de proteínas foi avaliado no plasma por espectrofotometria descrito previamente por Hu (1994). O método de análise é baseado na reação do ácido 5,5-ditiobis 2-nitrobenzóico (DTNB) com o grupo sulfidril de proteínas. A leitura da reação foi feita em um espectrofotômetro marca ThermoSpectronic®, modelo Helios- α (Waltham, MA, EUA) com o comprimento de onda de 412 nm. Os resultados foram expressos em $\mu\text{M}/\text{mg}$ proteína.

4.3.3.4 Quimiluminescência induzida por t-Butil hidroperóxidos

A avaliação da formação de lipoperóxidos por QL foi efetuada em uma adaptação da técnica descrita por González-Flecha et al (1991). A QM estimulada por t-butil hidroperóxido (QM – LOOH) foi empregada para analisar a integridade dos mecanismos de defesa antioxidante não-enzimáticos e os níveis de lipoperóxidos. Este teste baseia-se na premissa de que um aumento de QM está relacionado com um estresse oxidativo prévio sofrido pelo tecido, levando ao consumo das defesas antioxidantes de baixo peso molecular, tais como vitamina E, e formação de lipoperóxidos. Ao meio da reação foram acrescentados 865 μL de tampão fosfato monobásico 20mM pH 7,4, 125 μL de plasma, 20 μL de t-butil com concentração de 3mM. Foi utilizado contador β marca Backman® (EUA), modelo LS 6000, com contagem não coincidente por 30 segundos e uma faixa de resposta entre 300 e 620 nM. Os resultados foram medidos em cpm.

4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística foi realizada utilizando o *GraphPadPrism* versão 5.0 (GraphPad Software, San Diego, CA, EUA). As variáveis contínuas foram analisadas utilizando-se o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis com *post test* de Dunn e os resultados foram expressos como mediana e intervalo interquartil (IQR) 25%-75%. Os resultados foram considerados significativos quando $p < 0,05$.

5 RESULTADOS

5.1 Parâmetros metabólicos

Após oito semanas, foi verificado que os roedores alimentados com ração enriquecida com frutose (G2) desenvolveram características laboratoriais de SM quando comparado com o G1, como: aumento dos níveis plasmáticos de glicose em jejum ($p < 0,001$), insulina ($p < 0,005$), HOMA-IR ($p < 0,0003$), triglicerídeos ($p < 0,005$) e redução nos níveis de HDL-c ($p < 0,005$). No entanto, ocorreu uma redução no peso ($< 0,0001$) (Tabela 6).

No que se refere aos tratamentos, o probiótico (G3) ocasionou um aumento no peso ($p = 0,0194$) e uma redução nos níveis plasmáticos de insulina ($p = 0,0145$), HOMA-IR ($p = 0,0037$) quando comparado com o G2.

O tratamento com prebiótico (G4) não alterou nenhum dos parâmetros metabólicos avaliados quando comparados com G2. Já administração em simbiose de prebiótico com probiótico (G5) resultou em diminuição no HOMA-IR ($p = 0,0337$) quando comparado com G2. O tratamento com o simbiótico (G5) aumentou o HOMA-IR ($p = 0,0148$) quando comparado ao grupo G3.

Tabela 6 Avaliação dos parâmetros metabólicos em ratos Wistar com Síndrome Metabólica induzida por frutose, submetidos ou não ao tratamento com probiótico, prebiótico e simbiótico

Análise	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4	Grupo 5	G1xG2	G2XG3	G2XG4	G2XG5	G3XG5	G4XG5
Peso (gr)*	192,0 167,8 – 202,8	122,5 109,8-131,3	135,0 131,0 - 165,8	129,5 119,3 – 145,3	134,0 128,0 – 140,0	<0,0001	0,0194	NS	NS	NS	NS
Glicose (mg/dl)	157,5 149,3 – 164,8	195,5 178,3 – 206,3	200,5 193,0 – 206,5	192,0 180,5 – 196,8	188,0 177,0 – 213,0	<0,001	NS	NS	NS	NS	NS
Insulina (pg/ml)	1,34 1,0 – 1,71	2,47 2,02- 2,70	1,70 1,27 – 2,28	2,04 1,55 – 2,65	1,95 1,54 – 2,41	<0,005	0,0145	NS	NS	NS	NS
HOMA-IR	2,205 1,603 – 2,933	5,300 4,520 – 5,520	3,330 2,885 – 3,855	4,000 2,885 – 3,855	4,625 3,668 – 5,025	<0,0003	0,0037	NS	0,0337	0,0148	NS
TRI (mg/dl)	61,0 37,0 – 75,5	133,0 114,3 – 157,3	179,5 117,3 – 257,0	205,0 111,0 – 244,0	137,0 111,0 – 186,0	<0,005	NS	NS	NS	NS	NS
HDL (mg/dl)	61,0 55,0 – 74,3	53,5 46,3 – 60,8	50,0 43,8 – 57,3	49,5 44,5 – 56,8	51,0 44,0 – 55,0	<0,005	NS	NS	NS	NS	NS

Grupo 1: Controle negativo, Grupo 2: Controle positivo Síndrome Metabólica (SM), Grupo 3: SM e probióticos, Grupo 4: SM e prebióticos, Grupo 5: SM e simbióticos. Os dados são expressos como mediana (25%-75%).

*Diferença de peso: (peso final - peso inicial); NS: não significativo; HOMA-IR: *homeostasis model of assessment – insulin resistance*; TRI: triglicerídeos; HDL: lipoproteína de alta densidade.

5.2 Estresse Oxidativo

Com relação ao estresse oxidativo a presença de SM (G2) reduziu os níveis séricos de NOx ($p=0,0115$) e aumentou os níveis plasmáticos de grupamento SH ($p<0,0001$) e do TRAP ($p=0,0443$) quando comparado ao grupo G1 (Tabela 7).

Ao comparar os tratamentos probiótico (G3), prebiótico (G4) e simbiótico (G5) ao grupo da SM sem intervenções (G2), podemos observar que: a administração do *L.plantarum* Lp115 (G3) não foi capaz de alterar nenhum parâmetro avaliado de estresse oxidativo, já o tratamento com yacon (G4) reduziu os níveis de hidroperóxido lipídico ($p=0,0021$) e aumentou SH ($p=0,0488$), TRAP ($p=0,0337$). O uso em simbiose do *L.plantarum* Lp115 com yacon (G5) foi capaz de reduzir o hidroperóxido lipídico ($p=0,0147$) e aumentar os níveis de Nox ($p=0,0021$) e SH ($p=0,0306$)

O tratamento com simbiótico (G5) reduziu os níveis de hidroperóxido lipídico ($p=0,0443$) quando comparado ao probiótico (G3) e aumento os níveis de Nox quando comparados ao G3 ($p=0,0263$) e ao G4 ($p=0,0183$).

Tabela 7- Avaliação do estresse oxidativo em ratos Wistar com Síndrome Metabólica induzida por frutose, submetidos ou não ao tratamento com probiótico, prebiótico e simbiótico.

Análise	G1	G2	G3	G4	G5	G1XG2	G2XG3	G2XG4	G2XG5	G3XG5	G5XG4
Hidroperóxido (cpm)	209,8 190,1 - 242,5	212,4 192,4 - 234,1	205,9 187,3 - 257,0	175,2 168,5 - 189,7	186,1 170,7 - 198,4	NS	NS	0,0021	0,0147	P0,0443	NS
Isoprostanos (pg/ml)	86,71 79,00 - 99,43	81,55 74,29 - 107,80	83,96 62,65 - 95,87	95,07 82,77 - 116,40	81,55 51,34 - 87,04	NS	NS	NS	NS	NS	NS
NO _x (µM)	4,175 3,652- 6,206	2,979 2,655 -3,764	3,016 2,723- 4,888	3,028 1,371- 4,374	5,280 3,589- 7,833	0,0115	NS	NS	0,0021	0,0263	0,0183
SH (µM)	176,6 151,3- 182,9	215,5 200,0 - 232,2	220,6 194,7 - 241,0	241,0 232,4 - 251,0	239,4 227,5 - 251,6	<0,0001	NS	0,0488	0,0306	NS	NS
TRAP (µM)	188,6	209,6	201,7	218,3	215,1						
Trolox/mg AU)	173,2 – 198,5	186,0 – 224,4	168,9 -221,2	211,0 – 242,6	170,6 – 234,8	0,0443	NS	0,0337	NS	NS	NS

Grupo 1: Controle negativo, Grupo 2: Controle positivo Síndrome Metabólica (SM) , Grupo 3: SM e probióticos, Grupo 4: SM e prebióticos, Grupo 5: SM e simbióticos. Os dados são expressos como mediana (25%-75%).

NS: não significativo; NO_x: Metabólitos de Oxido Nítrico; SH: grupamento sulfidril; TRAP: total radical-trapping antioxidant parameter; AU: ácido úrico

6 DISCUSSÃO

6.1 Parâmetros metabólicos

6.1.1 Peso

A obesidade é um dos principais fatores para o desenvolvimento da SM. O excesso de tecido adiposo, principalmente o localizado na região abdominal, está relacionado ao aumento da liberação de ácidos graxos e de citocinas pró-inflamatórias que são responsáveis por distúrbios metabólicos que contribuem para o desenvolvimento de várias doenças como resistência à insulina, DM2, dislipidemia, hipertensão e doenças cardiovasculares (GIACAGLIA; SILVA; SANTOS, 2010).

Dentre os grupos com intervenções terapêuticas, o probiótico – *L.plantarum* Lp 115 apresentou um maior ganho peso, resultado este que difere de alguns estudos onde o tratamento com diferentes espécies de *Lactobacillus* apresentaram efeitos positivos na redução da adiposidade (TAKEMURA; OKUBO; SONOYAMA, 2010; SATO et al., 2008).

Em um estudo semelhante ao nosso, Hsieh e colaboradores (2013) suplementaram a dieta de ratos com 65% frutose durante 14 semanas. O maior ganho de peso ocorreu no grupo alimentado com alta frutose sem intervenções. Os animais que receberam administração oral de *L. reuteri* GMNL-263 (10^9 UFC) apresentaram um menor ganho de peso.

Huang e colaboradores (2013) obtiveram o mesmo resultado ao estudar o comportamento de ratos com SM induzida com dieta 20% frutose, diante do tratamento com *L. plantarum* K68 (10^9 UFC), por um período de oito semanas.

O grupo tratado com prebiótico (G4) apesar de não apresentar resultados significativos, foi o que apresentou um menor ganho de peso dentre os tratamentos, mostrando que o yacon exerce efeito positivo na redução do peso. Resultado semelhante foi apresentado no trabalho de Genta e colaboradores (2009) em que foi

constatada uma redução de peso significativa em mulheres obesas na pré-menopausa com a suplementação de 0,14g FOS/Kg de massa corporal durante 120 dias. Os autores atribuíram a perda de peso ao fato dos FOS aumentarem o tempo de saciedade e conseqüentemente contribuírem para redução do peso.

6.1.2 Resistência à insulina

No presente estudo, o consumo diário do probiótico *L.plantarum* (Lp115) (10^9 UFC) não alterou significativamente os níveis plasmáticos de glicose em jejum. No entanto, houve uma redução na RI, sendo que o efeito individual do probiótico na RI foi mais eficaz do que em simbiose com yacon.

Diferentemente do presente estudo, alguns trabalhos com roedores têm sugerido o efeito de diferentes espécies de *Lactobacillus* na homeostase da glicose e na RI. Yadav, Jain e Sinha (2006) verificaram que a administração de um iogurte Dahi (*Lactococcus lactis* ssp. *Lactis*, *L. lactis cremoris*, *L. lactis* ssp. *diacetylactis* e *Leuconostoc citrovorum*) (10^8 UFC) foi capaz de reduzir a glicemia e a insulina em ratos alimentados com uma dieta enriquecida com 21% frutose por um período de 42 dias. Em outro trabalho deste grupo de pesquisadores eles obtiveram o mesmo resultado ao estudar o comportamento do Dahi (*Lactobacillus acidophilus*, *L. casei* e *L. lactis*) em ratos, tendo a água enriquecida com 21% frutose durante oito semanas (YADAV; JAIN; SINHA, 2007). Os autores enfatizam que o iogurte Dahi exerce um efeito benéfico no atraso do desenvolvimento do DM2.

Park e colaboradores (2013) encontraram resultados semelhantes ao induzirem a SM em ratos com 70% de frutose por três semanas e administraram por via oral diariamente *L. curvatus* HY7601 (10^{10} UFC) e *L.plantarum* KY1032 (10^{10} UFC) durante as três semanas seguintes completando seis semanas de experimento, levando a uma redução na glicemia, na insulina e no índice de HOMA-IR.

Os resultados encontrados em nosso estudo evidenciam que a suplementação com *L.plantarum* Lp115 é capaz de prevenir o desenvolvimento do

DM2 reduzindo a resistência à insulina. O mecanismo pelo qual os probióticos agem na redução da glicemia e na resistência à insulina ainda não está totalmente elucidado, porém existem algumas hipóteses. A hipótese da inflamação é a mais sustentada até o momento, e baseia-se nas evidências de que o desenvolvimento das doenças metabólicas como obesidade e DM2 está relacionada com uma inflamação sistêmica e crônica de baixo grau, ocasionada por alterações na microbiota intestinal induzida por uma dieta rica em gordura (PANWAR et al., 2013; CANI et al., 2007b). O mecanismo pelo qual isso ocorre seria através do aumento do lipopolissacarídeo (LPS) no plasma. De fato o LPS é uma potente molécula pró-inflamatória presente na parede das bactérias gram-negativas, seu aumento no plasma ocasiona a chamada endotoxemia metabólica que está relacionada com processos inflamatórios (EVERARD; CANI, 2013; CANI et al., 2007a). Uma dieta rica em gordura compromete a integridade da barreira intestinal, permitindo a passagem dos LPS à circulação sistêmica, levando à endotoxemia (CANI et al., 2008).

Uma segunda hipótese da ação dos probióticos na RI, é o fato destes aumentarem o número de células natural killer (NK) e receptores de células T (NKT) no fígado (MA; HUA; LI, 2008). O fígado é o principal órgão alvo responsável pela RI mediada por inflamação. Estas células NKT regulam a produção de citocinas pró e anti-inflamatórias, portanto uma depleção dessas células no fígado pode levar a uma produção excessiva de citocinas pró-inflamatórias, como o TNF- α fazendo com que ocorra uma inflamação sistêmica e RI (SEKI et al., 2000).

Nossos dados evidenciam que não foi possível obter resultados benéficos no perfil glicêmico dos animais fazendo uso do yacon. De fato existem resultados contraditórios na literatura quanto ao efeito benéfico do yacon na redução da glicemia e insulina. Satoh e colaboradores (2013) suplementaram a dieta de indivíduos diabéticos, durante cinco meses com 100gr de yacon e constataram que não houve alterações na glicemia em jejum, insulina e HOMA-IR. Scheid e colaboradores (2014) verificaram que a ingestão de 7,4g FOS (yacon em pó liofilizado) durante nove semanas reduziu os níveis de glicose em jejum, porém não houve diferenças significativas nos níveis de insulina e HOMA-IR em idosos. Por outro lado Genta e colaboradores (2009) suplementaram a dieta de mulheres obesas na pré menopausa com 0,14g FOS/kg constatando uma redução no índice

HOMA-IR e nos níveis de insulina, porém não houve alterações nos valores de glicemia em jejum.

A ação dos prebióticos no metabolismo glicêmico baseia-se no aumento da secreção de hormônios intestinais como GLP-1, GIP e grelina em resposta a fermentação de FOS no intestino. Estes peptídeos são liberados pelas células endócrinas do intestino, e teriam a função de aumentar a secreção de insulina pós-prandial (DELZENE et al., 2005). Além disso, o GLP-1 suprime a secreção de glucagon, atrasa esvaziamento gástrico, inibe a ingestão de alimentos ou apetite e melhora a sinalização da insulina no tecido adiposo (DRUCKER, 2003; DELZENE et al., 2005). Habib e colaboradores (2011) constataram que ratos diabéticos tiveram uma redução nos níveis de GLP-1, após a suplementação por 90 dias com farinha de yacon (340 ou 6800 mg/kg/dia). Houve um aumento desse peptídeo no intestino desses animais, porém os valores de glicemia de jejum e insulina não se alteraram. Todos esses dados levam a sugerir a hipótese de que o yacon (FOS) pode desempenhar um papel importante no tratamento de obesidade, SM e DM2 através da sua capacidade de promover a secreção de GLP-1 (GENTA et al., 2009).

O efeito do simbiótico no metabolismo glicêmico ainda permanece desconhecido, porém acredita-se que ocorra devido a uma simbiose entre bactérias ácido láctica e os AGCC em virtude da fermentação do FOS (MOROTI et al., 2012; HABIB et al., 2011). Um shake simbiótico contendo *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium bifidum* (10^8 UFC) e FOS consumido em doses diárias de 200ml reduziu os níveis de glicemia em jejum em idosos diabéticos (MOROTI et al., 2012). Eslamparast e colaboradores (2014) verificaram que cápsulas contendo sete cepas de *Lactobacillus* e FOS administrada duas vezes ao dia, durante vinte e oito semanas foram capazes de melhorar os níveis de glicemia de jejum e insulina quando comparados com o placebo.

6.1.3 Perfil lipídico

A presença da SM foi capaz de alterar o perfil lipídico destes animais, sendo que houve um aumento nos níveis plasmáticos de triglicerídeos e redução do HDL quando comparados com o grupo controle negativo (G1). O mecanismo pelo qual a frutose induz a dislipidemia é através do aumento da lipogênese de novo, e

consequentemente um aumento dos triglicerídeos hepáticos. Esse aumento dos lipídeos hepáticos está associado a uma diminuição da degradação de apoB e consequentemente, ao aumento da síntese e secreção de VLDL ricas em triglicerídeos para corrente sanguínea. A secreção aumentada de VLDL associada à redução da ativação da lipase das lipoproteínas pela insulina resulta em hipertrigliceridemia e consequentemente dislipidemia aterogênica, aumento das lipoproteínas remanescente LDL-c e diminuição dos HDL-c (BASCIANO; FEDERICO; ADELI, 2005; TRAN; YUEN; McNEILL, 2009).

Os resultados encontrados de HDL-c estão de acordo com a literatura, em que o modelo de indução de SM ocasiona uma redução nestes valores. No entanto, os tratamentos utilizados no presente estudo não foram capazes de alterar significativamente o perfil lipídico destes animais (HUANG et al., 2013; YADAV; JAIN; SINHA, 2007a; PARK et al., 2013; HSIEH et al., 2013).

Diferente deste estudo o efeito hipocolesterolêmico dos probióticos tem sido demonstrado em vários ensaios em animais e em humanos. Os mecanismos pelos quais os probióticos afetam as concentrações de colesterol permanecem em estudo (MANZONI, 2008). Algumas hipóteses têm sido propostas, as quais incluem: assimilação do colesterol pelas bactérias; incorporação do colesterol à parede celular das células bacterianas; desconjugação enzimática dos sais biliares, e alteração do metabolismo lipídico pela atuação dos ácidos graxos de cadeia curta (PEREIRA, GIBSON, 2002; STROMPFOVÁ, 2006; ZHAO, YANG, 2005).

Alguns estudos têm sugerido o efeito benéfico dos probióticos no perfil lipídico de roedores. Xie e colaboradores (2011) verificaram a redução significativa nos níveis plasmáticos de triglicerídeos em ratos, após a ingestão de *Lactobacillus plantarum* 9-41-A (10^9 UFC) por seis semanas. Kumar e colaboradores (2011) obtiveram o mesmo resultado ao estudar o comportamento de 30 ratos hipercolesterolêmicos, diante do tratamento com duas linhagens diferentes de *L. plantarum* (Lp91 e Lp21) na mesma concentração de 10^8 UFC, por um período de três semanas. Hsieh e colaboradores (2013) também obtiveram esse mesmo resultado ao administraram durante 14 semanas *L. reuteri* GMNL-263 (10^9 UFC), em ratos alimentados com uma dieta rica em frutose. No entanto, Park e colaboradores (2013) verificaram que *L. curvatus* HY7601 e *L. plantarum* KY1032 nas concentrações

de 10^9 e 10^{10} UFC durante três semanas, foram capazes de reduzir os níveis de triglicerídeos em ratos com SM, porém não houve diferenças significativas nos valores de HDL.

Considerando que não obtivemos resultados positivos na dislipidemia com a suplementação de yacon, existem trabalhos onde esse efeito é notório. Visto que as fibras solúveis possuem efeitos benéficos no metabolismo lipídico, a suplementação com estas fibras tem se mostrado eficaz no aumento da excreção de ácidos biliares, uma vez que maiores quantidades de colesterol são convertidos em ácidos biliares no fígado e são subsequentemente excretadas, a suplementação de fibras solúveis possivelmente eleva o catabolismo de colesterol. Consequentemente, uma menor concentração de colesterol intracelular estimula a expressão de receptores de LDL na membrana plasmática, o aumento da internalização de LDL resulta em uma diminuição nos níveis dessa lipoproteína (OLIVEIRA;BRAGA;FERNANDES, 2013; CHEN; HUANG, 2009).

Estudos indicam que os AGCC como acetato e propionato alcançam o fígado através do sangue portal, e são capazes de modular o metabolismo lipídico hepático de roedores (DELZENNE; WILLIAMS, 2002). O efeito dos FOS na redução dos triglicerídeos é devido a uma redução na secreção de partículas VLDL oriundas do fígado, esse efeito também tem sido associado com uma diminuição da lipogênese de novo e com uma diminuição na expressão de enzimas lipogênicas hepáticas chaves, como ácido graxo sintase (DELZENNE et al., 2002).

Alguns estudos com humanos demonstram resultados contraditórios na melhora do perfil lipídico pela ingestão de FOS. Causey e colaboradores (2000) suplementaram a dieta de 12 homens hipercolesterolêmicos com 20gr inulina por um período de três semanas e constataram uma redução nos níveis de triglicerídeos e colesterol total, porém não houve alterações nos valores de HDL e LDL. Indivíduos com DM2 receberam por vinte dias, 15 gr de inulina (Raftilose® P95, ORAFTI), sendo que no final do tratamento não houve reduções significativas em nenhum parâmetro do perfil lipídico (ALLES et al.,1999). Por outro lado, Genta e colaboradores verificaram que um xarope de yacon na dose de 0,14gFOS/kg/dia foi capaz de reduzir os níveis de colesterol total, triglicerídeos e aumentar HDL.

Em roedores, os resultados encontrados também divergem. Habib e colaboradores (2011) verificaram que a administração de farinha de yacon (340mg/FOS/Kg) durante 90 dias em ratos diabéticos foi capaz de reduzir os níveis de triglicerídeos, porém não houve redução significativa nos valores de colesterol total e LDL. No entanto, Oliveira, Braga, Fernandes (2013) constataram que um extrato aquoso dos tubérculos do yacon (0,76g/FOS/kg) administrados em ratos diabéticos por trinta dias reduziu significativamente os níveis de colesterol total, VLDL, LDL e triglicerídeos.

O efeito do simbiótico no metabolismo lipídico ainda não foi totalmente elucidado, uma vez que depende das condições fisiológicas específicas de cada indivíduo (MOROTI et al., 2012). Roselino e colaboradores (2012) administraram um produto simbiótico de soja com yacon fermentado com *Enterococcus faecium* CRL 183 (10^8 UFC) e *L. helveticus* ssp. *jugurti* 416 (10^9 UFC) em ratos diabéticos durante sete semanas e verificaram uma redução nos níveis de triglicerídeos, aumento no HDL não havendo diferenças significativas nos níveis de colesterol total. Ooi e colaboradores (2010) avaliaram que a ingestão de cápsulas contendo *L.acidophilus* CHO-220 (10^9 UFC) e inulina (0,20g) diariamente durante doze semanas, foram capazes de reduzir os níveis de colesterol total e LDL em homens e mulheres hipercolesterolêmicos, porém não houve alterações significativas nos níveis de triglicerídeos e HDL. Schaafsma (1998) verificou uma redução significativa no colesterol total, LDL e na taxa LDL/HDL em homens com idade de 33-64 anos, que consumiram 125 ml de um leite fermentado contendo *L.acidophilus* (10^8 UFC) e FOS, três vezes ao dia durante três semanas, os valores de HDL e permaneceram inalterados.

6.2 Estresse oxidativo

6.2.1 Isoprostanos e Hidroperóxido lipídico

No presente estudo, a presença de SM (G2) não foi capaz de alterar os níveis de isoprostanos e hidroperóxidos lipídicos avaliados por tert-butil, sendo que, a presença da oxidação lipídica é uma alteração comum em indivíduos com síndrome

metabólica (SIMÃO et al., 2008; SIMÃO et al.,2011). Em estudos com roedores, a alta ingestão de frutose e a presença de SM foram capazes de ocasionar estresse oxidativo, devido a um aumento na peroxidação lipídica (TBARS) (PRABHAKAR et al.,2014; LOPES et al., 2014).

Os níveis de hidroperóxidos foram avaliados por QM, sendo este um método mais sensível e específico para avaliação do estresse oxidativo em indivíduos com SM, pois ele sofre menos interferência do meio, quando comparados com outros métodos, como MDA e TBARS (CASADO et al., 2007).

Neste estudo, tanto a administração do prebiótico (G4) como do simbiótico (G5), foram capazes de reduzir os níveis de hidroperóxido em ratos com SM (G2). Os compostos fenólicos presentes no yacon exibem efeitos citoprotetores em hepatócitos de ratos com danos oxidativos ocasionados por tert-butil hidroperóxidos. O mecanismo de inibição da lipoperoxidação de membrana é devido a uma anulação de reação em cadeia por interação do antioxidante com o radical livre (VALENTOVÁ et al., 2003; VALENTOVÁ et al.,2004).

Apesar do tratamento com probiótico não ter ocasionado uma redução na oxidação lipídica no presente estudo, os leites fermentados têm sido considerados fontes dietéticas de antioxidantes naturais, devido à presença de peptídeos antioxidantes. A maioria dos peptídeos bioativos identificados são derivados da α_s -caseína e tem mostrado capacidade de eliminar radicais livres e inibir a peroxidação lipídica (KORHONEN; PIHLANTO, 2006). A capacidade antioxidante dos peptídeos derivados da proteína do leite baseia-se na presença de proteínas ricas em cisteína que é o precursor mais importante da produção da glutathione um potente antioxidante intracelular (HAYES et al., 2007). Lee e colaboradores (2005) avaliaram a capacidade antioxidante *in vitro* do *L.plantarum* KCTC 3099 (UFC) e observaram que esta espécie apresenta alta atividade antioxidante por inibir a peroxidação lipídica, ser resistente as ROS (principalmente superóxido e peróxido hidrogênio) tendo capacidade de eliminá-los e ser capaz de aumentar a enzima antioxidante SOD.

A ingestão de leite de cabra fermentado com *L.fermentum* ME-3 (10^9 UFC), *L. buchneri* S-15 (10^8 UFC), *L. plantarum* LB-4 (10^8 UFC), durante três semanas, foi capaz de reduzir o estresse oxidativo em homens com idade média de 50 anos,

devido uma redução nos níveis de isoprostanos e espécies reativas de oxigênios (ROS) e um aumento na capacidade antioxidante total do plasma. (KULLISAAR et al., 2003). No entanto o autor enfatiza a dificuldade de comparar a ação antioxidante das bactérias ácido láctica (BAL) em leites fermentados, devido os vários componentes presentes no leite, como minerais, vitaminas, AGCC, biomoléculas que também podem contribuir para a capacidade antioxidante total do plasma. Além disso, as BAL podem ser absorvidas de maneira diferente, pois cada indivíduo possui um metabolismo diferenciado (KULLISAAR et al., 2003; KULLISAAR et al., 2002).

6.2.2 Metabólitos do Óxido Nítrico (NOx)

A disfunção endotelial está presente na fisiopatologia da SM e pode ser avaliada por vários meios, incluindo avaliação dos níveis de metabólitos de óxido nítrico (NOx) (WILLIAMS et al.,2002). Neste trabalho a presença de SM induzida por frutose alterou os níveis de NO, sendo que houve uma redução nos níveis de NOx no grupo SM sem intervenções (G2).

Na presença de estresse oxidativo (EO) ou de citocinas pró-inflamatórias ocorre um aumento na indução da enzima iNOS (macrófagos), que é responsável pela produção de NO. Em um meio onde se tem um aumento ROS é possível que os níveis de NO estejam reagindo com estas espécies reativas de oxigênio e formando peroxinitrito e assim ocasionando uma redução nos níveis de NO (SIMÃO et al., 2011).

As características presentes na SM como hipertensão, dislipidemia e aumento nos níveis glicêmicos são conhecidas por estarem associados a um aumento na produção de ROS, todos estes fatores contribuem para uma disfunção endotelial ocasionando redução nos níveis de NO (WILLIAMS et al.,2002).

A redução nos níveis de NO presente no grupo SM foi encontrada em alguns trabalhos em humanos (SIMÃO et al.,2011; SIMÃO et al.,2010). A alta ingestão de frutose também é responsável por uma redução na biodisponibilidade do NO, devido ao aumento na concentração do ácido úrico (AU) que também se faz presente nessa condição (NAKAGAWA et a.,2006). Ao contrário da glicose, a ingestão oral de

frutose ocasiona um aumento rápido de AU, cerca de 30-60 minutos após o consumo em humanos (NAKAGAWA et al.,2006). A frutose entra nos hepatócitos onde é rapidamente fosforilada pela frutoquinase à frutose-1-fosfato. Durante esta reação, o ATP doa o fosfato, resultando na geração de ADP que é adicionalmente metabolizado em AU (NAKAGAWA et al.,2006). Em ratos alimentados com alta frutose, além de aumentar a produção hepática de AU, ocorre também uma redução na excreção urinária de AU nestes animais (NAKAGAWA et al.,2006).

Em alguns trabalhos experimentais com ratos alimentados com alto teor de frutose, a redução do NO é presente (YEH et al.,2014; VAZQUEZ-PRIETO et al., 2011), porém Kantar e colaboradores (2015) constataram que uma dieta enriquecida com alto teor frutose por um período de oito semanas, ocasionou um aumento nos níveis de NO e Lopes e colaboradores (2014) verificaram que esses níveis não se alteraram com a ingestão aguda de frutose.

Com relação aos tratamentos, no presente estudo os níveis de NO voltaram a subir com o uso do simbiótico quando comparados com *L.plantarum* Lp115 e yacon isolados. No entanto, diferentemente de nosso estudo Rishi e colaboradores (2009) verificaram que uma bebida simbiótica contendo *L.acidophilus* (10^{10} UFC) e inulina foi capaz de reduzir o estresse oxidativo em roedores devido ao aumento das defesas antioxidantes SOD e GSH e uma redução nos níveis de NO, porém a peroxidação lipídica (MDA) foi aumentada no grupo simbiótico quando comparado ao controle sem intervenções.

Poucos estudos têm avaliado o efeito do consumo do yacon nos níveis de NO, e estes são bastante contraditórios. A administração de ácido cafeico um composto fenólico presente no yacon, foi capaz de aumentar os níveis de NO em ratos diabéticos (60 mg/Kg/STZ), uma vez que a biodisponibilidade de NO é reduzida em ratos diabéticos e esta redução por estar relacionada com alterações no endotélio como, DM2, aterosclerose, hipertensão, SM (HO et al., 2013). Por outro lado Mubarak e colaboradores (2012) avaliaram a ingestão de 400mg de ácido clorogênico em homens e mulheres e constataram que apesar do aumento do ácido clorogênico no plasma depois de 150 minutos da ingestão quando comparados com o controle, este composto fenólico não foi capaz de alterar significativamente os valores de NO, pressão arterial e alterar a função endotelial.

O papel dos *Lactobacillus* na proteção contra o estresse oxidativo baseia-se na capacidade de eliminar as ROS (principalmente superóxido e peróxido hidrogênio), quelar íons metálicos e inibir a peroxidação lipídica (LIN; YEN, 1999).

A presença do *L. plantarum* Lp115 não foi capaz de aumentar os níveis de NO neste trabalho, porém os efeitos da ação dos probióticos nos níveis de óxido nítrico são escassos na literatura. Coskun; Aslim; Yuksekdog (2010) verificaram que a administração de *L. delbrückii* subs. *bulgaricus* B3 e *L. delbrückii* subs. *bulgaricus* A13 (10^{10} UFC) por um período de 15 dias, ocasionou um aumento na peroxidação lipídica (TBARS) e nos níveis de NO nas células intestinais de ratos. No entanto houve um aumento nas enzimas antioxidantes GSH e ácido ascórbico (vitamina C).

6.3.3 Capacidade antioxidante total (TRAP) e Grupamento Sulfidrila (SH)

Com relação à capacidade antioxidante, a presença de SM não foi capaz de reduzir os níveis de SH e TRAP. Isso pode ter ocorrido, devido a um aumento na mobilização das defesas antioxidantes para o grupo SM sem intervenções (G2). No caso do grupamento sulfidrila (SH), sua capacidade antioxidante baseia-se na doação do seu H para estabilizar a ROS. No entanto, o uso de prebióticos e simbióticos foram capazes de aumentar a capacidade antioxidante do meio através do aumento nos níveis de SH e TRAP quando comparados com o G2.

Antioxidantes são compostos que podem atrasar ou inibir a iniciação ou propagação da reação de oxidação em cadeia (ANDRADE et al., 2014). O TRAP quantifica todos os antioxidantes (hidrossolúveis e lipossolúveis) de maneira integrada no plasma. Visto que o AU é o principal componente do TRAP, correspondendo a 60% da capacidade antioxidante total plasmática, em indivíduos com hiperuricemia esse valor de TRAP pode ser superestimado, assim é necessário fazer a correção com base na concentração de AU (VENTURINI et al., 2012).

Os valores de TRAP encontrados na presença de SM são contraditórios, Simão e colaboradores (2008) constataram que não houve alterações nos valores de TRAP em indivíduos com SM quando comparados com grupo controle normal. Venturini e colaboradores (2012) verificaram uma redução nestes valores em

pacientes com SM e excesso de peso. Entretanto Skalicky e colaboradores (2008) observaram um aumento nos níveis de TRAP em pacientes obesos com SM, porém eles relacionaram este fato devido a um aumento nas concentrações de AU também presente neste grupo.

A ação antioxidante do yacon tem sido atribuída à presença de alta concentração de compostos fenólicos, tais como ácido cafeico, clorogênico e triptofano presente nos tubérculos, ácido gálico, rutina nas folhas e ácido miricetina e gálico presente nas flores do tubérculo (CAMPOS et al., 2012; ANDRADE et al., 2014).

A capacidade antioxidante presente no yacon (VALENTOVÁ et al., 2003; VALENTOVÁ et al., 2005; SIMONOVSKA et al., 2003; OLIVEIRA et al., 2013) possui uma forte correlação com os compostos fenólicos presentes, sendo um indicativo de que estes compostos sejam os principais responsáveis por esta alta capacidade antioxidante do yacon (CAMPOS et al., 2012).

A atividade antioxidante dos compostos fenólicos é devida principalmente as suas propriedades redox, que desempenham um importante papel na absorção e eliminação de radicais livres, anulação do oxigênio singleto e tripleto ou na decomposição de peróxidos (ZHENG; WANG, 2001; VALENTOVÁ et al., 2003).

No entanto, diferentemente do presente estudo, onde a presença de *L.plantarum* Lp115 não foi capaz de aumentar as capacidades antioxidantes, tem sido mostrado em alguns trabalhos que diferentes linhagens de *Lactobacillus* possuem atividade antioxidante (AMARETTI et al., 2012; VIRTANEN et al., 2007; KULLISAAR et al., 2002; KULLISAAR et a., 2003; LIN; YEN, 1999) e são capazes de reduzir os riscos do acúmulo de ROS durante a ingestão de alimentos probióticos (KULLISAAR et a., 2003).

Ejtahed e colaboradores (2012) verificaram que a ingestão diária de um iogurte contendo *L.acidophilus* La5 (10^6 UFC) e *Bifidobacterium lactis* Bb12 (10^6 UFC) por indivíduos diabéticos tipo 2 durante seis semanas, foi capaz de aumentar os valores de SOD, glutathiona peroxidase e atividade antioxidante total quando comparados com o grupo controle sem probióticos, porém não houve alterações nos valores de catalase e uma redução na peroxidação lipídica (MDA). Em roedores com

SM induzida por frutose, a administração de *L.reuteri* GMNL- 263 (10^9 UFC) foi capaz de regular as enzimas antioxidantes SOD e glutathiona redutase, uma vez reduzidas no grupo controle SM sem intervenções (HSIEH et al., 2013).

O efeito benéfico dos simbióticos no estresse oxidativo pode ser explicado pelo efeito da produção de AGCC, em particular o butirato, este por sua vez estimula o NADPH para a síntese de GSH, induz apoptose e aumenta a regulação da atividade oxidante pelas vias das pentoses (MATTEWS et al., 2007). Madh, Amrutha, Prapulla (2012) realizaram um estudo in vitro para avaliar a capacidade antioxidante (DPPH) em um iogurte probiótico e simbiótico contendo *L.plantarum* CFR 2194, *L.fermentum* CFR 2192 e FOS, a capacidade antioxidante total e os conteúdos fenólicos totais foram maiores no iogurte simbiótico (*L.plantarum* CFR 2194 e FOS). Os autores fazem uma correlação entre os conteúdos fenólicos do FOS e a capacidade antioxidante total. No entanto, a ingestão de um iogurte simbiótico contendo *L.sporogenes* (10^7 UFC) e inulina por indivíduos diabéticos (DM2) durante seis semanas não foi capaz de alterar a capacidade antioxidante total quando comparada com o controle, porém os níveis de GSH aumentaram significativamente (ASEMI et al., 2014).

Em um estudo de Hutt e colaboradores (2009) o consumo de uma bebida simbiótica contendo *L.fermentum* ME-3, *L.paracasei* e *Bifidobacterium longum* com raftilose P05 em indivíduos assintomáticos colonizados com *H.pylori* resultou em um aumento significativo na capacidade antioxidante total do plasma e nos níveis de GSH.

7 CONCLUSÃO

O presente estudo demonstrou que o uso de probiótico individualmente apresenta efeitos favoráveis na redução da resistência à insulina.

No entanto, embora o uso de prebiótico não tenha alterado os parâmetros metabólicos ele diminuiu a oxidação lipídica e aumentou as defesas antioxidantes. O uso do simbiótico estudado parece não ser adequado para o tratamento de resistência à insulina no tempo utilizado.

REFERÊNCIA

ABDILLA N. et al. Impacto of the components of metabolic syndrome on oxidative stress and enzymatic antioxidant activity in essential hypertension. **J Human Hypert.** vol.21, p. 68-75, 2007.

ALLES M.S., et al. Consumption of fructooligosaccharides does not favorably affect blood glucose and serum lipid concentrations in patients with type 2 diabetes. **Am J Clin Nutr.** vol. 69, pag.64-69, 1999.

AMARETTI, A., et al. Antioxidant properties of potentially probiotic bacteria: in vitro and in vivo activities. **Appl Microbiol Biotechnol.** Julho, 2012.

ANDERSON, U; BRANNING, C; AHRNÉ, S et al. Probiotics lower plasma glucose in the high-fat fed C57BL/6J mouse. **Beneficial Microbes.** Vol.1, n.2, pag.189-196, jun., 2010.

ANDRADE, E., et al. Phenolic profile and antioxidant activity of extracts of leaves and flowers of yacon (*Smallanthus sonchifolius*). **Industrial Crops and Products.** vol. 62, pag. 499–506, 2014.

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária . Resolução RDC nº 278, de 22 de setembro de 2005, atualizada em Julho de 2008. Legislação para alimentos com alegações de propriedades funcionais e ou de saúde, novos alimentos/ingredientes, substâncias bioativas e probióticos. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno_lista_alega.htm>. Acesso em: 11 mar. 2014

ASEMI, Z., et al. Effects of synbiotic food consumption on metabolic status of diabetic patients: A double-blind randomized cross-over controlled clinical trial. **Clinical Nutrition.** n. 33, pag.198-203, 2014.

BAHIA, L. et al. O endotélio na síndrome metabólica. **Arq Bras Endocrinol Metab,** v.50, n.2, 2006.

BARREIROS, R. C.; BOSSOLAN, G.; TRINDADE, C. E. P. Frutose em humanos: efeitos metabólicos, utilização clínica e erros inatos associados. **Revista Nutrição.** v.18, n.3, p.377-389, 2005.

BASCIANO, H.; FEDERICO, L.; ADELI, K. Fructose, insulin resistance and metabolic dyslipidemia. **Nutrition & Metabolism**. v.2, n.5, 2005.

BERTAZZONI, E.; DONELLI, G.; MIDTVEDT, T.; NICOLI, J.; SANZ, Y. Probiotics and clinical effects: is the number what counts? **Journal of Chemotherapy**. v. 25, n. 4, p. 193- 212, 2013.

BIBAS-BONET, M. E. et al. Prebiotic effect of yacon (*Smallanthus sonchifolius*) on intestinal mucosa using a mouse model. **Food and Agricultural Immunology**. v.21, n.2, p.175-189, 2010.

BRANDÃO, A. P., et al. Sociedade Brasileira de Hipertensão, Sociedade Brasileira de Cardiologia, Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia, Sociedade Brasileira de Diabetes, Sociedade Brasileira de Estudos da Obesidade. I Diretriz brasileira de diagnóstico e tratamento da síndrome metabólica. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, São Paulo, vol. 84, p.1-28, abr 2005. Suplemento.

BRASIL [1]. Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal – CONCEA. Resolução nº 13, de 20 de setembro de 2013. **Diretrizes da prática de eutanásia do CONCEA**. Disponível em: http://www.mct.gov.br/upd_blob/0234/234055.pdf > Acesso em: 04 fev. 2015.

BROWN, K. et al. Diet-Induced dysbiosis of the intestinal microbiota and the effects on immunity and disease. **Nutrients**. vol.8, n.4, p.1095-1119, 2012.

BURCELIN, R.; SERINO, M.; CHABO, C. et al. Gut microbiota and diabetes: from pathogenesis to therapeutic perspective. **Acta Diabetologia**. Vol 48. Pag 257-273, 2011.

CAESAR, R. F.; BACKHED, F. Effects of gut microbiota on obesity and atherosclerosis via modulation of inflammation and lipid metabolism. **Intern Med**. n. 268, p. 320-328, 2010.

CAMPOS, D., et al. Prebiotic effects of yacon (*Smallanthus sonchifolius* Poepp. & Endl), a source of fructooligosaccharides and phenol compounds with antioxidant activity. **Food Chemistry**. vol. 135, pag. 1592-1599, 2012.

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**. vol.57, n.6, pag. 1470-1481, 2008.

CANI, P. D. et al. Oligofructose promotes satiety in rats fed a high-fat diet: involvement of glucagon-like peptide-1. **Obesity Research**. n. 6, v. 13, p.1000-1007, 2005.

CANI, P.D et al. Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance. **Diabetes**. Vol 56, July, 2007a.

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

CANI, P.D. et al. Changes in gut microbiota control inflammation in obese mice through a mechanism involving GLP-2 driven improvements of gut permeability. **Gut**. v.58, n. 8, p.1091- 1103, 2009.

CANI, P.D.; DELZENNE, M.N. The role of the gut microbiota in energy metabolism and metabolic disease. **Current Pharmaceutical Design**. v.15, p.1546-1558, 2009.

CASADO, M. F., et al. Free radical mediated pre-hemolytic injury in human red blood cells subjected to lead acetate as evaluated by chemiluminescence. **Food Chem Toxicol**. vol.45, pag. 945–952, 2007.

CAUSEY J. L., et al. Effects of Dietary Inulin on Serum Lipids, Blood Glucose and the Gastrointestinal Environment in Hypercholesterolemic Men. **Nutr Res**. vol. 20, pag.191- 201, 2000.

CHARALAMPOPOULOS, D; RASTALL, R. A. Prebiotics and Probiotics Science and Technology. Springer. 2009.

CHEN, J.; HUANG, X.F. The effects of diets enriched in beta-glucans on blood lipoprotein concentrations. **J. Clin.Lipodol**. vol.3, pag.154-158, 2009.

CINTRA, D.E.; ROPELLE, E. R.; PAULI, J. R. Obesidade e diabetes: fisiopatologia e sinalização celular. São Paulo: **SARVIER**, 2011.

COLLINS, M.D; GIBSON, G.R. Probiotics, prebiotics, and synbiotics: approaches for modulating the microbial ecology of the gut. **Am. J. Clin. Nutr**. Vol.69, 1999.

COSKUN, S.; ASLIM, B.; YUKSEDAG, Z. N. Effect of two strains of *Lactobacillus delbruckii* subsp. *bulgaricus* on nitric oxide generation and antioxidant status of rat small intestine. **Med Chem Res.** vol. 19, pag.1082–109, 2010.

DANDONA, P. et al. Metabolic syndrome: a comprehensive perspective based on interactions between obesity, diabetes, and inflammation. **Circulation**, v. 111, n. 11, p. 1448–1454, 2005.

DELZENNE, N. M. et al. Impact of inulin and oligofructose on gastrointestinal peptides. **British Journal of Nutrition.** vol. 93, pag. 157-161, 2005.

DELZENNE, N. M.; WILLIAMS, C. M. Prebiotics and lipid metabolism. **Current Opinion in Lipidology.** v.13, n. 1, p. 61-67, 2002.

DELZENNE, N.M. et al. Inulin and oligofructose modulate lipid metabolism in animals: review of biochemical events and future prospects. **Br. J. Nutr.** vol 87, suppl.2, pag.255-259, 2002.

DING, S. et al. High-fat diet: bacteria interactions promote intestinal inflammation which precedes and correlates with obesity and insulin resistance in mouse. **Plos One.** vol.5, n.8, 2010.

DRUCKER, Daniel J. Enhancing incretin action for the treatment of type 2 diabetes. **Diabetes Care.** Vol. 26, nº 10, October, 2003.

EJTAHED, S. H., et al. Probiotic yogurt improves antioxidant status in type 2 diabetic patients. **Nutrition.** vol. 28, pag.539–543, 2012.

EL-ZAYADI, A. R. Insulin resistance. **Arab. Journal of Gastroenterology.** v.11, p. 66-69, 2010.

ESLAMPARAST T., et al. Effects of synbiotic supplementation on insulin resistance in subjects with the metabolic syndrome: a randomized, double-blind, placebo-controlled pilot study. **Br J Nutr.** n.3, pag.438-445, 2014.

EVERARD, A; CANI, P. D. Diabetes, obesity and gut microbiota. **Best Practice & Research Clinical Gastroenterology.** vol 27, p.73-83, 2013.

FATANI, S. et al. Effects of diet-induced obesity on protein expression in insulin signaling pathways of skeletal muscle in male wistar rats. **International journal of general medicine**, v. 5, p.573-582, 2012.

FIGUEROA-GONZÁLEZ, I.; QUIJANO, G.; RAMÍREZ, G.; CRUZ-GUERRERO, A. Probiotics and prebiotics – perspectives and challenges. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. v. 91, p. 1341 -1348, 2011.

FRANCISCHI, R.P.P. et al. Obesidade: atualização sobre sua etiologia, morbidade e tratamento. **Rev. Nutr.** v. 13, n. 1, p. 17-28, 2000.

FRIC, Premysl. Probiotics and prebiotics – renaissance of a therapeutic principle. **Central Europeu Journal of Medicine**. vol.2, p. 237 -270, 2007.

FULOP, T.; TESSIER D.; CARPENTIER, A. The metabolic syndrome. **Pathologie Biologie**. vol. 54, p. 375-386, 2006.

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

GIACAGLIA, L. R.; SILVA, M. E. R.; SANTOS, R. F. Tratado de Síndrome Metabólica. São Paulo: Roca, 2010.

GONZALEZ FLECHA, B. et al. Hydroperoxide-initiated chemiluminescence: an assay for oxidative stress in biopsies of heart, liver, and muscle. **Free Radic Biol Med**. v. 10, n. 2, p. 93-100, 1991.

GRATTAGLIANO, I. et al. Oxidative stress- induced risk factors associated with the metabolic syndrome: a unifying hypothesis. **Journal of Nutrition Biochemistry**. vol. 19, pag. 491- 504, 2008.

GUARNER, F; MALAGELADA, J.R. Gut flora in health and disease. **The Lancet**. p. 512-519, 2003.

GUIMARÃES, D.E.D. et al. Adipocitocinas: uma nova visão do tecido adiposo. **Rev. Nutri**. vol.20, n. 5, p. 549-559, 2007.

GUTIÉRREZ-SALMÉAN G, CEBALLOS-REYES G, RAMÍREZ-SÁNCHEZ I. Obesity and metabolic syndrome: Future therapeutics based on novel molecular pathways. **Clínica e Investigación en Arteriosclerosis**. vol.24, n.4, p.204-211, 2012.

HABIB, N. C. et al. Hypolipidemic effect of *Smallanthus sonchifolius* (yacon) roots on diabetic rats: Biochemical approach. **Chemico-Biological Interactions**. n. 195, p.31-39, 2011.

HAYES, M., et al. Putting microbes to work: Dairy fermentation, cell factories and bioactive peptides. Part II: Bioactive peptide functions. **Biotechnol J**. vol. 2, pag. 435 - 449, 2007.

HO, Yi-Jin et al. Caffeic acid phenethyl amide improves glucose homeostase and attenuates the progression of vascular dysfunction in streptozotocin-induced diabetic rats. **Cardiovascular Diabetology**. vol.99, n.12, 2013.

HSIEH, F-C; LEE, C-L; CHAI, C-Y et al. Oral administration of *Lactobacillus reuteri* GMNL-263 improves insulin resistance and ameliorates hepatic steatosis in high fructose-fed rats. **Nutrition&Metabolism**. Vol.10, n.35, 2013.

HU, M. L. Measurement of protein thiol groups and glutathione in plasma. **Methods in Enzymology**, v. 233, p. 380–385, 1994.

HUANG, Hui-Yu et al. Supplementation of *Lactobacillus plantarum* K68 and fruit-vegetable ferment along with high fat-fructose diet attenuates metabolic syndrome in rats with insulin resistance. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**. 2013.

HUTCHESON, R.; ROCIC, P. The metabolic syndrome, oxidative stress, environment, and cardiovascular disease: the great exploration. **Experimental Diabetes Research**, v. 2012, p. 1–13, 2012.

HUTT, P., et al. Effects of a synbiotic product on blood antioxidative activity in subjects colonized with *Helicobacter pylori*. **Letters in Applied Microbiology**. n. 48, pag. 797–800, 2009.

IDF – International Diabetes Federation. The IDF Consensus Worldwide definition of the metabolic syndrome, 2006.

JANKOVIC, I.; SYBESMA, W.; PHOTHIRATH, P.; ANANTA, E.; MERCENIER, A. Application of probiotics in food products – challenges and new approaches. **Current Opinion in Biotechnology**. v.21, p.175 – 181, 2010.

KANTAR, S; TURKOZKAN, N; BIRCAN, F.S; TUGÇE, P. Beneficial effects of melatonin on serum nitric oxide, homocysteine, and MDA levels in fructose-fed rats. **Pharmaceutical Biology**. n. 22, pag. 1-7, 2015.

KIM J. et al. Reciprocal relation between insulin resistance and endothelial dysfunction. **Circulation**.vol. 113, p.1888-1904, 2006.

KLEEREBEZEM, M et al. Complete genome sequence of *Lactobacillus plantarum* WCFS1. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**. vol. 100, n.4, p.1990–1995, 2003.

KORHONEN, H.; PIHLANTO, A. Bioactive peptides: Production and functionality. **Int Dairy Journal**. vol.16, pag.945–60, 2006.

KOVATCHEVA-DATCHARY, P.; ARORA, T. Nutrition, the gut microbione and the metabolic syndrome. **Best Pract Res Clin Gastroenterol**. vol. 27, p.59-72, 2013.

KULLISAAR, T., et al. Two antioxidative lactobacilli strains as promising probiotics. **International Journal of Food Microbiology**. vol.72, pag.215 - 224, 2002.

KULLISAAR, Tiiu et al. Antioxidative probiotic fermented goats' milk decreases oxidative stress-mediated atherogenicity in human subjects. **British Journal of Nutrition**. vol. 90, pag. 449–456, 2003.

KUMAR, R. ; GROVER, S. ; BATISH,V.K. Hypocolesterolemic effects of dietary inclusion of two putative probiotic bile salt hidrolase-producing *Lactobacillus plantarum* strains in Sprague-dawley rats. **Brit J. Nutri**. vol. 105, p.561-573, 2011.

KUMAR, V.; PERKINS, J. A. Robbins e Cotran patologia: bases patológicas das doenças. 8.ed. Rio de Janeiro: ELSEVIER, 2010.

LARSEN, N. et al. Gut microbita in human adults with type 2 diabetes differs from non-diabetic adults. **Plos One**, vol.5, 2010.

LEE, Jeongmin et al. Resistance of *Lactobacillus plantarum* KCTC 3099 from Kimchi to Oxidative Stress. **Journal of Medicinal Food**. vol. 8, n. 3, pag.299–304, 2005.

LEE, Y.K.; SALMINEN, S. **Handbook of probiotics and prebiotics**. New Jersey: Wiley, 2009.

LEITE, L.D. et al. Obesidade: uma doença inflamatória. **Revista Ciência & Saúde**. v. 2, n.2, p. 85-95, 2009.

LIN, Meei-Yn; YEN, Chyuan-Liang. Antioxidative Ability of Lactic Acid Bacteria. **J. Agric. Food Chem.** vol. 47, pag. 1460-1466, 1999.

MA,X; HUA, J; LI, Z. Probiotics improve high fat diet-induced hepatic steatosis and insulin resistance by increasing hepatic NKT cells. **J Hepatol.** vol. 49, n. 5, pag. 821-830, 2008.

MADHU, A. N.; AMRUTHA, N.; PRAPULLA, S. G. Characterization and antioxidant property of probiotic and synbiotic yogurts. **Probiotics & Antimicro. Prot.** vol.4, pag. 90-97, 2012.

MALAGO, M.L.R; KONINKX, K.L.; MARINSEK –LOGAR, R. Probiotic bacteria and enteric infectiona. London: **Springer**, 2011.

MALLAPPA, R. H. et al. Management of metabolic syndrome through probiotic and prebiotic interventions. **Indian Journal of Endocrinology and Metabolism.** vol. 16, 2012.

MANZONI, M.S.J.; CAVALLINI, D.C.U.; ROSSI, E.A.The effects of probiotics on blood lipids.**Alim. Nutr.**,Araraquara, v.19, n.3, p. 351-360, jul./set. 2008.

MATTHEWS, G. M., et al. Short-chain fatty acid modulation of apoptosis in the Kato III human gastric carcinoma cell line. **Cancer Biol Ther.** n.6, pag.1051-1057, 2007.

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.** vol.29, n.11, 2012.

MURABAK, A., et al. Acute effects of chlorogenic acid on nitric oxide status, endothelial function, and blood pressure in healthy volunteers: a randomized trial. **Journal de Agricultural and Food Chemistry.** vol. 60, pag. 9130-9136, 2012.

NAKAGAWA, Takahiko. et al. A causal role for uric acid in fructose-induced metabolic syndrome. **Am. J. Physiol. Renal Physiol.** vol. 290, p. 625-631, 2006.

NAKAMURA, Y.K.; OMAE, S. T. Metabolic diseases and pro- and prebiotics: mechanistic insights. **Nutrition & Metabolism.** v. 60, n. 9, 2012.

NAVARRO-GONZÁLVIZ, J. A; GARCÍA-BENAYAS, C.; ARENAS, J. Semi automated measurement of nitrate in biological fluids. **Clinical Chemistry**, v. 44, n. 3, p. 679–81, mar. 1998.

NCEP III – NATIONAL CHOLESTEROL EDUCATION PROGRAM – EXPERT PANEL ADULT TREATMENT PANEL III. Executive summary of the Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert on detection, evaluation and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel III) **JAMA National Institutes of Health**, publication nº 02-5215 – 2002.

OLIVEIRA, G. O; BRAGA, C. P; FERNANDES, A.A.H. Improvement of parameters in type 1 diabetic rats after the roots aqueous extract of yacon (*Smallanthus sonchifolius*) treatment. **Food and Chemical Toxicology**. 2013.

OLIVEIRA, R. B., et al. Topical anti-inflammatory activity of yacon leaf extracts. **Revista Brasileira de Farmacognosia Brazilian Journal of Pharmacognosy**. vol. 23, n.3, pag. 497-505, 2013.

OOI L. G., et al. Lactobacillus gasseri [corrected] CHO-220 and inulin reduced plasma total cholesterol and low-density lipoprotein cholesterol via alteration of lipid transporters. **J Dairy Sci**. vol. 93, pag.5048-5058, 2010.

PANWAR, H.;RASHMI, H. M.;BATISH, V. K.; GROVER, S. Probiotics as potential biotherapeutics in the management of type 2 diabetes – prospects and perspectives. **Diabetes Metab Res Rev**. vol. 29, pag. 103-112, 2013.

PARK, Do – Young et al. Dual probiotic strains suppress high fructose-induced metabolic syndrome. **World Journal of Gastroenterology**. v. 19, n.2, p.274-283, 2013.

PARK, Y. H. et al. Effect of dietary inclusion of *Lactobacillus acidophilus* ATCC 43121 on cholesterol metabolism in rats. **Journal of Microbiology and Biotechnology**. v. 17, n.4, p.655-662, 2007.

PASSOS, L.M.L; PARK Y. K. Frutooligosacarídeos: implicações na saúde humana e utilização em alimentos. **Ciência Rural**. v.33, n.2, 2003.

PEREIRA, D. I. A.; GIBSON, G. R. Cholesterol assimilation by lactic acid bacteria and bifidobacteria isolated from the human gut.**Appl. Environ. Microbiol.**, v. 68, n. 9, p. 4689-4693, 2002.

PIMENTA, A.M.; GAZZINELLI, A.; VELÁSQUEZ-MELÉNDEZ, G. Prevalência da síndrome metabólica e seus fatores associados em área rural de Minas Gerais (MG, Brasil). **Ciêns Saúde Colet**. vol.16, n.7, p.3297- 3306, 2011.

RAJALA, M.W.; SCHERER, P. E. The adipocyte at the crossroads of energy homeostasis, inflammation and atherosclerosis. **Endocrinology**. v. 144, p. 3765-3773, 2003.

REPETO, M. et al. Oxidative stress in blood of HIV infected patients. **Clinica Chim Acta**. vol. 255, n.2, p. 107-117, 1996.

RIBEIRO FILHO, F. F. et al. Gordura visceral e síndrome metabólica: mais que uma simples associação. **Arq Bras Endocrinol Metab**. vol. 50, n. 2, abril 2006.

RISHI, P., et al. Protective efficacy of probiotic alone or in conjunction with a prebiotic in Salmonella-induced liver damage. **FEMS Microbiol Ecol**. vol.69, pag. 222–230, 2009.

RISHI, P., et al. Selection of probiotic *Lactobacillus acidophilus* and its prophylactic activity against murine Salmonellosis. **Int J Probiotic Prebiotic**. vol. 3, pag. 89–98, 2008.

ROBERFROID, M.B. et al. Prebiotics effects: metabolic and health benefits. **British Journal of Nutrition**. v.104, n.2, p. 1-63, 2007.

ROBERTS, C.; SINDHU, K. K. Oxidative stress and metabolic syndrome. **Life Sciences**. vol.84, pag. 705- 712, 2009.

ROCHA, A.K.S.; BÓS, A.J.G.; HUTTNER, E.; MACHADO, D.C. Prevalence of metabolic syndrome in indigenous people over 40 anos years of age in Rio Grande do Sul, Brazil. **Rev. Panam Salud Publica**. vol. 29, n.1, p.41-45, 2011.

ROSELINO, M. N., et al. A potencial symbiotic product improves the lipid profile of diabetic rats. **Lipids in Health and Disease**. vol. 11, 2012.

SAAD, S. M. I. Probióticos e prebióticos: o estado da arte. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. vol. 42, n. 1, jan./mar., 2006.

SANTANA, I; CARDOSO, M.H. Raiz tuberosa de yacon (*Smallanthus sonchifolius*): potencialidade de cultivo, aspectos tecnológicos e nutricionais. **Ciência Rural**. Vol.38, n.3, p.898-905, 2008.

SATO M, et al. Effects of milk fermented by *Lactobacillus gasseri* SBT2055 on adipocyte size in rats. **Br J Nutr**. vol. 99, pag. 1013-1017, 2008.

SATOH, H. et al. Yacon supplementation reduces serum free fatty acids and tumor necrosis factor alpha concentrations in patients with type 2 diabetes. **Diabetol Int**. 2013.

SCHAAFSMA G., et al. Effects of a milk product, fermented by *Lactobacillus acidophilus* and with fructo-oligosaccharides added, on blood lipids in male volunteers. **Eur J Clin Nutr**. vol. 52, pag.436-440,1998.

SCHEID, M.M.A. et al. Freeze-dried powdered yacon: effects of FOS on serum glucose, lipids and intestinal transit in the elderly. **Eur J Nutr**. 2014.

SEKI S, HABU Y, KAWAMURA T, TAKEDA K, DOBASHI H, OHKAWA T. The liver as a crucial organ in the first line of host defense: the role of Kupffer cells, natural killer (NK) cells and NK1.1 Ag+ T cells and T helper 1 immune responses. **Immunol Rev**. vol. 174, pag.35 - 46, 2000.

SIMÃO, A.N.C; LOZOVYOY, M.A.B. et al. Immunological and biochemical parameters of patients with metabolic syndrome and the participation of oxidative and nitroactive stress. **Braz J Med Biol Res**. vol.44, n.7, pag. 707-712, 2011.

SIMÃO, A.N.C; LOZOVYOY, M.A.B. et al. Nitric oxide enhancement and blood pressure decrease in patients with metabolic syndrome using soy protein or fish oil. **Arq Bras Endocrinol Metab**. vol.54, n.6, 2010.

SIMÃO,A.N.C; DICHÍ,J.B.,et al. Influence of uric acid and γ -glutamyltransferase on total antioxidant capacity and oxidative stress in patients with metabolic syndrome. **Nutrition**. vol. 24, pag. 675–681, 2008.

SIMONOVSKA, B., et al. Investigation of phenolic acids in yacon (*Smallanthus sonchifolius*) leaves and tubers. **Journal of Chromatography**. A 1016, pag.98-98, 2003.

SKALICKY ,J.; MUZAKOVA, V.; KANDAR, R., et al. Evaluation of oxidative stress and inflammation in obese adults with metabolic syndrome. **Clin Chem Lab Med.** vol. 46, n.4, pag.499–505, 2008.

STEEMBURGO, T.; DALL'ALBA, V.; GROSS, J.L.; AZEVEDO, M.J. Fatores dietéticos e síndrome metabólica. **Arq. Bras. Endocrinol Metab.** vol. 51, n.9, p.1425-1433, 2007.

STROMPFOVÁ, V. et al. Enterococcus faecium EK13—an enterocin A-producing strain with probiotic character and its effect in piglets. **Anaerobe**, v. 12, p. 242-248, 2006.

TAMINE, Adnan. **Probiotic dairy products**. Blackwell Publishing Ltd ,2005.

TRAN, L. T.; YUEN, V.G.; McNEILL, J. H. The fructose-fed rat: a review on the mechanisms of fructose-induced insulin resistance and hypertension. **Mol Cell Biochem.** p. 145-159, 2009.

TAKEMURA N, OKUBO T, SONOYAMA K. *Lactobacillus plantarum* strain No. 14 reduces adipocyte size in mice fed high-fat diet. **Exp Biol Med.** vol.235, pag.849-856, 2010.

URAKAWA H. et al. Oxidative stress is associated with adiposity and insulin resistance in men. **J Clin Endocrinol Metab.** vol. 88, p.4673-4676, 2003.

VALENTOVA, K. et al. The biological and chemical variability of yacon. **Journal of Agricultural and Food Chemistry.** v.22, n.2, p.1347-1352, 2006.

VALENTOVÁ, K., et al. Antioxidant activity of extracts from the leaves of *Smallanthus sonchifolius*. **Eur J Nutr.** n. 42, pag.61–66, 2003.

VALENTOVÁ, K., et al. Radical scavenging and anti lipoperoxidative activities of *Smallanthus Sonchifolius* leaf extracts. **Journal de Agricultural and Food Chemistry.** vol. 53, pag. 5577- 5582, 2005.

VALENTOVÁ, K., et al. The effect of *Smallanthus sonchifolius* leaf extracts on rat hepatic metabolism. **Cell Biology and Toxicology.** vol.20, pag. 109-120, 2004.

VASCONCELOS, S. M. L. et al. Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humana: principais métodos analíticos para sua determinação. **Química Nova**, v.30, n.5, p. 1323-1338, 2007.

VASQUES, A. C. et al. Análise crítica do uso dos Índices do *Homeostasis Model Assessment* (HOMA) na avaliação da Resistência à Insulina e capacidade funcional das células- β pancreáticas. **Arq Bras Endocrinol Metab**. v.52, n.1, 2008.

VAZQUEZ-PRIETO, M. A. et al. Garlic and anion attenuates vascular inflammation and oxidative stress in fructose-fed rats. **Journal of Nutrition and Metabolism**. vol. 2011, 2011.

VENTURINI, D., et al. Evaluation of oxidative stress in overweight subjects with or without Metabolic Syndrome. **Obesity**. vol.20, n.20, 2012.

VIDIGAL, F.C. et al. Prevalence of metabolic syndrome in Brazilian adults: a systematic review. **BMC Public Health**. vol.13, 2013.

VIRTANEN, T., et al. Development of antioxidant activity in milk whey during fermentation with lactic acid bacteria. **Journal of Applied Microbiology**. n.102, pag. 106 -115, 2007.

VRIES, M.C.; VAUGHAN, E.E.; KLEEREBEZEM,M.; VOS, W.M. *Lactobacillus plantarum*-survival, functional and potential probiotic properties in the human intestinal tract. **International Dairy Journal**, v.16, p. 1018-1028, 2006.

WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION. Guidelines for the evaluation of probiotics in food. Report of a joint FAO/WHO Working group on drafting guidelines for the evaluation of probiotics in food. Ontario, Canadá, 2002.

WILLIAMS, I.L. et al. Obesity, atherosclerosis and the vascular endothelium: mechanisms of reduced nitric oxide bioavailability in obese humans. **International Journal of Obesity**. vol. 26, pag. 754-764, 2002.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Definition, diagnosis of diabetes mellitus and intermediate hyperglycemia, report of a WHO Consulation, 2006.

WU, Chien-Chen et al. Effect of *Lactobacillus plantarum* Strain K21 on High-Fat Diet-Fed Obese Mice. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**. vol. 2015, 2015.

XAVIER, H. C., et al. Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia. V Diretriz brasileira sobre dislipidemia e prevenção da aterosclerose. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, São Paulo, v. 101, n.4, p.1-20, out 2013. Suplemento.

XIE, N. et al. Effects of two *Lactobacillus plantarum* strains on lipid metabolism and intestinal microflora in rats fed a high cholesterol diet. **Bio Med**. vol. 11, 2011.

YADAV, H.;JAIN, S.; SINHA, P.R. Effect of skim milk and Dahi (Yogurt) on blood glucose, insulin, and lipid profile in rats fed with high fructose diet. **Journal of Medicinal Food**. vol.9, n.3, pag. 328-335, 2006.

YADAV, H; JAIN, S; SINHA, P.R. Antidiabetic effect of probiotic dahi containing *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei* in high fructose fed rats. **Nutrition**, vol.23, 62-68, 2007.

YEH, Tung-Chen et al. Caffeine intake improves fructose-induced hypertension and insulin resistance by enhancing central insulin signalling. **Hypertension**. n. 63, pag. 535-541, 2014.

YOKOZAWA, T. et al. Antioxidative activity of green tea treated with radical initiator 2, 2'-azobis(2-amidinopropane) dihydrochloride. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, n. 10, p. 5068–5073, 2000.

YU ,Zhihui; ZHANG,Xue; LI, Shengyu; LI, Changying; LI ,Da; YANG, Zhennai. Evaluation of probiotic properties of *Lactobacillus plantarum* strains isolated from Chinese sauerkraut. **World J Microbiol Biotechnol**. vol. 29, pag.489 - 498, 2013.

ZHAO, J.R.; YANG, H. Progress in the effect of probiotics on cholesterol and its mechanism. **Wei.Sheng.Wu.Xue.Bao.**,v. 45, n.2, p. 315-319, 2005.

ZHENG, W.; WANG, S.Y. Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. **Journal Agric Food Chem**. vol. 49, pag. 5165-5170, 2001.

ANEXOS

ANEXO I
CARTA DE APROVAÇÃO DO COMITÊ ÉTICA ANIMAL



Universidade
Estadual de Londrina

COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

OF. CIRC. CEUA Nº 013/2014

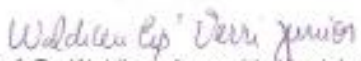
Londrina, 20 de Fevereiro de 2014.

Prezada Pesquisadora,

A CEUA/UEL reunida em 11 de Dezembro de 2013 avaliou o projeto de pesquisa intitulado "Mecanismo de ação de um probiótico, prebiótico ou simbiótico, em ratos Wistar machos com diabetes do tipo 2", registrado sob o processo CEUA nº 28588.2013.97, pesquisa do Centro de Ciências Agrárias, desenvolvido sob sua responsabilidade. Esclarecidos os aspectos metodológicos solicitados, o projeto de pesquisa foi **aprovado** para execução entendendo-se que os princípios éticos postulados pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal estão respeitados.

Serão utilizados 78 ratos Wistar machos de 90 dias de idade e peso aproximado de 250 g. O objetivo deste projeto é investigar o efeito e mecanismo de ação do *Lactobacillus plantarum* (Lp115) e/ou de prebiótico (solução de Yacon) na hiperglicemia de ratos Wistar machos com Diabetes Mellitus tipo 2 induzida por frutose e baixa dose de estreptozotocina. Os parâmetros sanguíneos analisados serão: glicemia, insulina, HOMA IR HOMA β, adiponectina, GLP-1 e fatores inflamatórios. O tempo previsto para desenvolvimento do projeto é de 20 meses a partir da sua aprovação.

Cumpra orientar que caso pretendam-se quaisquer alterações no protocolo de aula prática aprovado, deve-se submeter o novo protocolo à apreciação da CEUA/UEL anteriormente à execução das modificações. Sem mais para o momento, subscrevo-me, cordialmente,


 Prof. Dr. Waldiceu Aparecido Verri Junior
 Coordenador da CEUA/UEL

Ilma. Sra.

Profa. Dra. Lucia Helena da Silva Miglioranza

Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos

Centro de Ciências Agrárias

Com cópia para Sra Égle Maria de Sousa (Chefe da DCA/PROPPG), Diretor do Biotério Central do CCB e Diretor(a) do Centro de Ciências Agrárias.