



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

FABÍOLA MÁLAGA BARRETO

**EFEITO DA INGESTÃO DE LEITE FERMENTADO COM
LACTOBACILLUS PLANTARUM EM PACIENTES COM
SÍNDROME METABÓLICA.**

FABÍOLA MÁLAGA BARRETO

**EFEITO DA INGESTÃO DE LEITE FERMENTADO COM
LACTOBACILLUS PLANTARUM EM PACIENTES COM
SÍNDROME METABÓLICA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência de Alimentos, nível Mestrado, da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciência de Alimentos.

Orientadora: Prof. Dr^a Lúcia Helena da Silva Miglioranza

Co-orientadora: Prof. Dr^a Andréa Name Colado Simão

Londrina
2013

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

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

B273e Barreto, Fabíola Málaga.
Efeito da ingestão de leite fermentado com *Lactobacillus plantarum* em pacientes com síndrome metabólica / Fabíola Málaga Barreto. – Londrina, 2013.
66 f. : il.

Orientador: Lúcia Helena da Silva Miglioranza.
Coorientador: Andréa Name Colado Simão.
Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, 2013.
Inclui bibliografia.

1. *Lactobacillus plantarum* – Teses. 2. Síndrome metabólica – Teses. 3. Leite fermentado – Teses. 4. Bactérias produtoras de ácido láctico – Teses. 5. Probióticos – Teses. I. Miglioranza, Lúcia Helena da Silva. II. Simão, Andréa Name Colado. III. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos. IV. Título.

CDU 664:637.

FABÍOLA MÁLAGA BARRETO

**EFEITO DA INGESTÃO DE LEITE FERMENTADO COM
LACTOBACILLUS PLANTARUM EM PACIENTES COM SÍNDROME
METABÓLICA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência de Alimentos, nível Mestrado, da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciência de Alimentos.

BANCA EXAMINADORA

Profa Dra. Lúcia Helena da Silva Miglioranza
UEL – Londrina – PR

Dr. Isaias Dichi
UEL – Londrina – PR

Dra. Ana Flávia Oliveira
UTFPR – Londrina – PR

Londrina, 02 de abril de 2013.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente aos meus pais por todo amor, dedicação e ensinamentos. Com eles aprendi a não desistir diante dos obstáculos.

À Profa Dra Lúcia Helena da Silva Miglioranza por todo conhecimento compartilhado, pelo incentivo, pela total disponibilidade estando sempre presente para esclarecer minhas dúvidas, pela referência à dedicação com a pesquisa, pelo carinho e pela paciência.

À Profa Dra Andréa Name Colado Simão por ter aceitado ser minha co-orientadora, por toda atenção concedida, pelo conhecimento compartilhado e ajuda concedida nas análises estatísticas e das amostras de sangue, junto com a Profa Dra Helena Kaminami Morimoto.

Ao Prof. Dr. Isaias Dichi e Prof. Dr. Raúl Jorge Hernan Castro- Gómez pelas idéias sugeridas no exame de qualificação que proporcionaram uma melhora substancial no trabalho.

A todos os professores do programa de Pós- Graduação em Ciências de Alimentos pelos ensinamentos repassados e pela atenção concedida durante esses dois anos.

Aos professores da graduação, pela minha formação e pelos ensinamentos repassados. Especialmente à professora Irene Popper por ter despertado em mim um grande interesse pela área de alimentos.

A todos os professores que fizeram parte do meu ensino médio e fundamental no Colégio Estadual Prof. Newton Guimarães que sem dúvida são em grande parte, responsáveis pela minha formação, não só intelectual, mas também pessoal.

A todos os voluntários por acreditarem e confiarem no meu trabalho e por aderirem ao projeto com dedicação.

À Eliane de Souza, enfermeira chefe responsável do Centro de Saúde Municipal Dr. Aroldo Marques Sadenerg (UBS – Vila Brasil) pela autorização cedida para trabalhar com pacientes da comunidade e utilizar o espaço físico da UBS para distribuição das bebidas e coleta das amostras de sangue.

À Adriana Lima, enfermeira chefe responsável pelo Centro de Saúde Municipal Dra. Maria do Socorro N. Brito (UBS – Piza/ Roseira) pela autorização cedida para trabalhar com pacientes da comunidade e utilizar o espaço físico da UBS para distribuição das bebidas e coleta das amostras de sangue.

A todas as auxiliares de enfermagem e recepcionistas das referidas UBS, pela ajuda na recepção dos voluntários.

A todos os meus familiares, que sempre me incentivam e acompanharam e vibraram com o desenvolvimento do projeto. Acreditando em mim até quando eu mesmo não podia mais acreditar.

Aos colegas de mestrado e vizinhos de bancada pelo apoio concedido. Principalmente ao Marsilvio, por todas as bobearas que falamos juntos e risos, essenciais para recarregar as energias nos momentos mais difíceis e ao Douglas Xavier pela atenção concedida no início do experimento e por todas as dicas e ensinamentos compartilhados.

Aos meus amigos que sempre me apoiaram e incentivaram a seguir adiante. Especialmente ao Rodrigo, Juliani e Larissa, a quem confio inteiramente, parceiros de todos os momentos, sempre me proporcionando momentos agradáveis e dando conselhos pertinentes.

Ao CNPq por fornecer a possibilidade de execução do projeto.

Imagination is more important than knowledge
Albert Einstein

BARRETO, Fabíola Málaga. **Efeito da ingestão de leite fermentado com *Lactobacillus plantarum* em pacientes com síndrome metabólica.** 2013. 66f. Dissertação (Mestrado em Ciências de Alimentos) – Universidade Estadual de Londrina. 2013.

RESUMO

A Síndrome Metabólica (SM) é caracterizada pela associação de fatores de risco para doenças cardiovasculares e diabetes tipo 2, tais como dislipidemia, hipertensão, resistência à insulina e obesidade central. O objetivo desse estudo foi avaliar o efeito da ingestão de leite fermentado contendo *L. plantarum* sobre parâmetros bioquímicos e imunológicos de indivíduos com SM. Os pacientes (n=24) foram divididos em dois: grupo controle (n=12) que ingeriu leite desnatado não fermentado (LNF) e grupo tratado por *L. plantarum* (n=12) (LF). Após 90 dias foi verificada redução de glicose, colesterol total, GGT, homocisteína e IL-6 ($p < 0,05$) dos indivíduos do grupo que ingeriu o leite fermentado, indicando ação positiva do *L. plantarum* sobre os mesmos. No entanto as reduções de colesterol total, LDL-c, GGT, ferritina e IL-6 também foram verificadas no grupo que ingeriu apenas leite desnatado. Não houve mudanças significativas na circunferência abdominal, IMC, pressão sistólica, pressão diastólica, índice de resistência à insulina, triglicerídeos, HDL-c, ácido úrico, ferro, PCR, TNF- α e leptina ($p > 0,05$).

Palavras-chaves: Síndrome metabólica. *Lactobacillus plantarum*. Leite fermentado. Glicose e homocisteína.

BARRETO, Fabíola Málaga. *Lactobacillus plantarum* ingestion effect on patients with metabolic syndrome. 2013. 66p. Dissertação (Mestrado em Ciências de Alimentos) – Universidade Estadual de Londrina. 2013.

ABSTRACT

The metabolic syndrome (MS) is characterized by the association of risk factors for cardiovascular disease and type 2 diabetes, such as dyslipidemia, hypertension, insulin resistance and obesity. The aim of this study was to evaluate the effect of fermented milk containing *L. plantarum* intake on biochemical and immunological parameters of subjects with MS. Patients (n = 24) were divided into two groups: control group (n = 12) who ingested non fermented skim milk (NFM) and the group treated with milk fermented by *L. plantarum* (n = 12) (FM). After 90 days it was observed glucose, total cholesterol, GGT, homocysteine and IL-6 (p < 0,05) levels decrease in the group of subjects who ingested fermented milk, indicating positive action of *Lactobacillus plantarum*. However, the decrease in the total cholesterol, LDL-c, GGT, ferritin and IL-6 values was also observed in the group that ingested non fermented milk. There were no significant changes in waist circumference, BMI, systolic blood pressure, diastolic blood pressure, insulin resistance index, triglycerides, HDL cholesterol, uric acid, iron, CRP, TNF- α and leptin (p > 0,05).

Keywords: Metabolic syndrome. *Lactobacillus plantarum*. Fermented milk. Glucose and homocistein.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

| | |
|---|----|
| Figura 1 – Modelo matemático para calcular o índice de resistência à insulina..... | 26 |
| Figura 2 – Modelo matemático para calcular LDL-c (fórmula de Friedewald)..... | 27 |
| Figura 3 – Fluxograma da distribuição dos pacientes..... | 34 |
| Figura 4 – Fluxograma da produção de leite fermentado | 37 |
| Figura 5 – Fluxograma da produção da bebida não fermentada..... | 37 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|--|----|
| Tabela 1 –Identificação clínica dos fatores de risco para desenvolvimento da síndrome metabólica..... | 19 |
| Tabela 2 –Distribuição das desordens metabólicas nos indivíduos participantes da pesquisa | 33 |
| Tabela 3 –Características demográficas e clínicas entre os grupos..... | 35 |
| Tabela 4 –Resultado da análise estatística dos parâmetros bioquímicos e medidas antropométricas | 41 |
| Tabela 5 –Resultado da análise estatística dos parâmetros imunológicos | 47 |

SUMÁRIO

| | | |
|----------|--|----|
| 1 | INTRODUÇÃO | 12 |
| 2 | FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA | 14 |
| 2.1 | CONCEITO DE PROBIÓTICO | 14 |
| 2.2 | CRITÉRIOS DE SELEÇÃO DE PROBIÓTICOS | 15 |
| 2.3 | GÊNEROS DE PROBIÓTICOS | 16 |
| 2.4 | COMERCIALIZAÇÃO DE PRODUTOS PROBIÓTICOS | 17 |
| 2.5 | MICROBIOTA INTESTINAL | 18 |
| 2.6 | SÍNDROME METABÓLICA | 19 |
| 2.6.1 | Hipertensão | 21 |
| 2.6.2 | Obesidade | 21 |
| 2.6.2.1 | O papel do tecido adiposo | 23 |
| 2.6.3 | Resistência à Insulina | 25 |
| 2.6.4 | Dislipidemia | 26 |
| 2.7 | MARCADORES LABORATORIAIS DE DOENÇAS CARDIOVASCULARES | 27 |
| 2.7.1 | Homocisteína | 27 |
| 2.7.2 | Gama Glutamil Transferase (GGT) | 28 |
| 2.7.3 | Ácido Úrico | 28 |
| 2.8 | EFEITOS DO PROBIÓTICO NA SAÚDE HUMANA | 29 |
| 3 | JUSTIFICATIVA | 30 |
| 4 | OBJETIVOS | 31 |
| 5 | METODOLOGIA | 32 |
| 5.1 | PACIENTES | 32 |
| 5.2 | PRODUÇÕES DAS BEBIDAS | 35 |
| 5.2.1 | Preparação do Leite Fermentado | 36 |
| 5.2.1.1 | Ativação do inócuo | 36 |
| 5.2.1.2 | Produção do leite fermentado | 36 |
| 5.2.2 | Produção do Leite não Fermentado | 36 |
| 5.3 | ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS | 37 |

| | | |
|----------|---|-----------|
| 5.4 | MEDIDAS ANTROPOMÉTRICAS E COLETA DAS AMOSTRAS DE SANGUE | 38 |
| 5.5 | ANÁLISES DAS AMOSTRAS DE SANGUE | 39 |
| 5.5.1 | Parâmetros Metabólicos | 39 |
| 5.5.2 | Análise Imunológica..... | 39 |
| 5.6 | ANÁLISES ESTATÍSTICA..... | 39 |
| 6 | RESULTADOS E DISCUSSÃO | 40 |
| 6.1 | ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS | 40 |
| 6.2 | PARÂMETROS METABÓLICOS | 40 |
| 6.2.1 | Obesidade | 41 |
| 6.2.2 | Hipertensão..... | 42 |
| 6.2.3 | Dislipidemia | 43 |
| 6.2.4 | Resistência à Insulina | 44 |
| 6.2.5 | Marcadores Laboratoriais de Doenças Cardiovasculares..... | 45 |
| 6.2.5.1 | Homocisteína..... | 45 |
| 6.2.5.2 | Gama glutamil transferase (GGT)..... | 46 |
| 6.2.5.3 | Ácido úrico | 46 |
| 6.3 | PARÂMETROS IMUNOLÓGICOS | 46 |
| 7 | CONCLUSÃO..... | 49 |
| | REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 50 |
| | ANEXO..... | 63 |
| | ANEXO A | |
| | ANEXO B | |
| | ANEXO C | |

1 INTRODUÇÃO

Os probióticos são consumidos há milhares de anos; porém, só por volta do ano de 1900 esses micro-organismos foram relacionados a efeitos benéficos à saúde humana. Desde então os interesses na área não parou de crescer (MALAGO; KONINKX; MARINSEK-LOGAR, 2011).

A seleção do micro-organismo para produção de alimentos probióticos deve atender a alguns requisitos, por exemplo, estar presente normalmente no trato gastrointestinal, ser administrado em dose suficiente para que atinja o intestino grosso, levando em consideração os obstáculos encontrados no caminho, como a ação ácida do suco gástrico, ou básica da secreção biliar. Ao chegar ao intestino grosso deve ainda ser capaz de colonizá-lo favorecendo, de alguma maneira a saúde do indivíduo (FRECE; BEGANOVIC; VUKOVIC; et al., 2005; PARVEZ; MALIK; KAN; et al., 2006; MALAGO; KONINKX; MARINSEK-LOGAR, 2011).

Estudos relatam que o *Lactobacillus plantarum* atende a tais requisitos, uma vez que é capaz de resistir às condições adversas impostas pelo processo digestivo (quando administrados em doses suficientes), sendo capaz de colonizar o intestino grosso e desenvolver atividades que de alguma forma beneficiam a saúde do hospedeiro. Além de residir normalmente no trato gastrointestinal de humanos. (CONNELLY, 2008; YU; ZHANG; LI; et al., 2012; BOVE; GALLONE; RUSSO; et al., 2012).

Características tecnológicas também devem ser observadas, uma vez que o processamento pode inviabilizá-los. A estabilidade do produto é influenciada pela matriz alimentar a ele vinculada. O produto deve ser estável durante todo o prazo de validade sem causar alterações sensoriais desagradáveis ou redução do número de bactérias viáveis. A associação de probióticos aos produtos lácteos é bastante positiva. São observadas características como aumento de vida útil, alterações sensoriais agradáveis, melhora no valor nutricional e funcional (SAARELA; MOGENSEN; FONDÉN; et al., 2000 MALAGO; KONINKX; MARINSEK-LOGAR, 2011).

A ingestão de leite fermentado contendo probióticos pode trazer diversos benefícios à saúde, como por exemplo, a redução do colesterol sérico e frações (lipoproteína de baixa densidade - LDL-c e lipoproteína de alta densidade - HDL- c) e fatores associados ao desenvolvimento de doenças cardiovasculares (PARVEZ; MALIK; KAN; et al., 2006; MANZONI; CAVALLINI; ROSSI, 2008), elementos relacionados com a síndrome metabólica.

Síndrome Metabólica (SM) é considerada um conjunto de fatores de risco cardiovascular, caracterizada por adiposidade abdominal, resistência à insulina, hipertensão, baixos níveis de HDL-c, altos níveis de triglicérides. É um transtorno complexo que envolve fatores genéticos e ambientais, tendo sido associada a processos inflamatórios crônicos, envolvendo o aumento de proteína C reativa (PCR), fibrinogênio, fator de necrose tumoral α (TNF- α) e interleucina-6 (IL-6). O processo inflamatório crônico tem sido considerado um importante precursor de SM e de diabetes tipo 2, sendo preditor de doenças cardiovasculares (LOPES, 2003; REILLY; RADER, 2003; RUTTER; MEIGS; SULLIVAN; et al., 2004; LUSIS; REUE, 2008).

A prática de atividade física e a mudança no hábito alimentar seriam as primeiras medidas a serem adotadas, embora, na maioria das vezes, o tratamento medicamentoso torna-se indispensável.

Estudos anteriores avaliaram a influência de *L. plantarum* sobre alguns parâmetros isolados da SM em humanos. Porém, não é do nosso conhecimento estudos desse probiótico abordando todas as desordens associadas em pacientes com SM .

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 CONCEITO DE PROBIÓTICOS

Os probióticos são consumidos há milhares de anos, porém apenas no ano de 1900, Metchnikoff, pesquisador do Instituto Pasteur, relacionou a ingestão de leite fermentado a um aumento na expectativa de vida de camponeses búlgaros. Quando comparados aos americanos, essa população chegava a viver, segundo relatos da época, em média 39 anos a mais. Tal longevidade foi atribuída ao leite fermentado largamente consumido por eles, sugerindo que nem todos os micro-organismos eram nocivos à saúde humana (SAHA, 2007; MALAGO; KONINKX; MARINSEK-LOGAR, 2011).

Uma importante contribuição ao trabalho iniciado por Metchnikoff ocorreu em 1936, quando dois veterinários, Zobell e Andersen, sugeriram a existência de um “filme microbiano” recobrando o intestino grosso, formado um ecossistema complexo com atividade metabólica intensa (MALAGO; KONINKX; MARINSEK-LOGAR, 2011).

O termo probiótico (pro-bios) que do grego significa “para vida” surgiu como um antagônico a antibiótico (contra vida), que na época estava em seu auge. Pesquisadores alemães usaram, em 1954, o termo “Probiotka” para designar substâncias ativas essenciais para o desenvolvimento saudável da vida. A partir daí surgiram novas definições ao longo dos anos (MALAGO; KONINKX; MARINSEK-LOGAR, 2011).

Em 1974, Parker, os definiu como: “organismos e substâncias que contribuem para o equilíbrio microbiano intestinal” e em 1989, Roy Fuller modificou esse conceito para: “um suplemento alimentar constituído de micro-organismos vivos que afeta benéficamente o hospedeiro, melhorando o equilíbrio da microbiota intestinal”. Vinte anos depois, pesquisadores holandeses estenderam para: “culturas isoladas ou mistas de micro-organismos que quando aplicadas no animal ou no homem, afeta benéficamente o hospedeiro melhorando as propriedades da microbiota nativa” (MALAGO; KONINKX; MARINSEK-LOGAR, 2011).

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

No Brasil, a resolução RDC nº 2 de 07 de janeiro de 2002 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), os define como “micro-organismos vivos

capazes de melhorar o equilíbrio microbiano intestinal produzindo efeitos benéficos á saúde do indivíduo”, não diferindo da definição aceita pela OMS (ANVISA, 2002).

2.2 CRITÉRIOS DE SELEÇÃO DE PROBIÓTICOS

Ao selecionar um micro-organismo, alguns critérios devem ser observados para que o mesmo seja considerado probiótico. Os probióticos devem estar presentes normalmente no intestino humano; devem ser administrados em dose suficiente para que consiga atingir o intestino, resistindo à ação de ácido, sais biliares e enzimas intestinais. Uma vez presente no intestino, devem ser capazes de aderir às células da mucosa intestinal e colonizá-la, produzindo substâncias antimicrobianas para patógenos. Esses micro-organismos devem ainda ser seguros e produzirem efeitos benéficos à saúde humana, sem prejudicar o organismo receptor (FRECE; BEGANOVIC; VUKOVIC; et al., 2005; PARVEZ; MALIK; KAN; et al., 2006; MALAGO; KONINKX; MARINSEK-LOGAR, 2011).

No entanto, há controvérsias quanto à necessidade de o probiótico ser uma bactéria que reside normalmente no intestino do hospedeiro. Alguns micro-organismos, que não possuem origem humana, têm demonstrado efeito probiótico, tais como a *Saccharomyces boulardii* (FRIC, 2007).

Algumas características tecnológicas também devem ser observadas. Os micro-organismos probióticos não podem perder suas características durante o armazenamento, devendo estar viáveis durante todo prazo de validade do produto, sendo capazes de serem incorporados ao alimento sem provocar alterações sensoriais desagradáveis, além de terem uma boa relação custo-benefício (SAARELA; MOGENSEN; FONDÉN; et al.; 2000 MALAGO; KONINKX; MARINSEK-LOGAR, 2011).

O alimento deve conter uma quantidade mínima do micro-organismo que garanta que o mesmo chegará ao intestino em número suficiente para colonizá-lo, considerando a perda durante a passagem pelo trato gastrointestinal (ROSS; DESMOND; FITZGERALD; et al., 2005).

Danos celulares também podem ocorrer devido a estresse sofrido durante o processamento, como por exemplo, congelamento, secagem ou liofilização (ROSS; DESMOND; FITZGERALD; et al., 2005).

Os alimentos nos quais os probióticos são inoculados também exercem influência na sua estabilidade. Produtos lácteos, por exemplo, desempenham um papel protetor, aumentando sua sobrevivência durante a passagem pelo estômago ao amenizar o

efeito ácido do suco gástrico, possivelmente devido à capacidade tamponante (ROSS; DESMOND; FITZGERALD; et al., 2005).

2.3 GÊNEROS DE PROBIÓTICOS

A maioria dos micro-organismos probióticos pertence ao gênero *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*. Sua utilização em produtos derivados de leite é bastante antiga sendo bastante seguros a saúde. Estima-se que mais de 70 produtos contendo esses dois gêneros são comercializados em todo mundo (iogurte, *Buttermilk*, sobremesas congeladas, leite em pó entre outros) (SAHA, 2007).

Outros gêneros de bactérias, como *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Leuconostocs*, *Propionibacterium* e *Lactococcus*, além de algumas leveduras, também são amplamente utilizados como probióticos (SAHA, 2007; MALAGO; KONINKX, MARINSEK-LOGAR, 2011).

Lactobacillus e *Bifidobacterium* são bactérias Gram-positivas não formadoras de esporos. Possuem exigências nutricionais complexas. São estritamente fermentativas, podendo ser aerotoerantes ou anaeróbias, acidúricas ou acidófilas (MALAGO; KONINKX; MARINSEK-LOGAR, 2011).

As *Bifidobacterium* estão presentes normalmente no trato gastrointestinal humano, constituindo a maior parte da microbiota. Recém-nascidos são colonizados logo ao nascer e a população se mantém relativamente estável até idade avançada. Porém, alguns fatores como a dieta, a ingestão de antibióticos e o estresse, alteram a população desses micro-organismos (SAHA, 2007; MALAGO; KONINKX; MARINSEK-LOGAR, 2011).

A maioria das espécies de bactérias do gênero *Lactobacillus* também está presente normalmente no intestino, sendo importante para manter o ecossistema do mesmo (VERDENELLI; CHELFI; SILVI; et al., 2009).

Atualmente são conhecidas 56 espécies do gênero *Lactobacillus*, dentre elas estão espécies bastante conhecidas e comumente empregadas em produtos probióticos, como: *L. acidophilus*, *L. helveticus*, *L. rhamnosus*, *L. Brevis* e *L. plantarum* (OLIVEIRA; SIVIERI; ALEGRO, 2002; SAHA, 2007).

O *L. plantarum* é uma bactéria que reside normalmente no trato gastrointestinal de humanos. Ela pode ser vinculada a diferentes produtos de fermentação como laticínios, carnes e vegetais, sendo às vezes usada como cultura “starter” e, outras vezes como probiótico (BOVE; GALLONE; RUSSO; et al., 2012).

O *L. plantarum*, ainda não é reconhecido como probiótico pela legislação brasileira, porém diversos países alegam a propriedade probiótica a esse micro-organismo. Estudos demonstram que ele é capaz de resistir às condições impostas pelo trato gastrointestinal, chegando ao intestino em quantidades suficientes para colonizá-lo e assim exercer funções que melhoram a saúde do hospedeiro, tais como: atividade antimicrobiana contra patógenos (*Helicobacter pylori*, *Listeria Monocytogenes*, *Clostridium difficile*,) e regulação da resposta imune (BUJALANCE, MORENO, VALERA, et al., 2007). Sendo também resistente a antibióticos (vancomicina, gentamicina, estreptomicina), podendo ajudar a manter um equilíbrio na microbiota intestinal durante tratamento com essa classe de medicamento (CONNELLY, 2008; YU; ZHANG; LI; et al., 2012).

2.4 COMERCIALIZAÇÃO DE PRODUTOS PROBIÓTICOS

Poucos anos depois da descoberta da existência de bactérias benéficas por Metchnikoff, iniciou-se a comercialização na França de produtos com tais micro-organismos, que eram vendidos em farmácia para ajudar crianças com distúrbios intestinais. Em 1925 o iogurte começou a ser comercializado e rapidamente se espalhou pela Europa e América do Norte. Nessa mesma época, no Japão, um microbiologista da Universidade de Kyoto, descobriu que algumas bactérias da microbiota intestinal contribuíam para defesa contra patógenos. Esses estudos levaram ao isolamento e cultivo do *Lactobacillus casei* que, em 1935, foi inoculado em uma bebida comercializada com o nome de Yakult® (MALAGO; KONINKX; MARINSEK-LOGAR, 2011).

Os probióticos exercem diversas funções em produtos lácteos, algumas relacionadas ao processamento, como por exemplo, a produção de características sensoriais desejáveis pela formação de compostos aromáticos, como acetaldeído em iogurte. Ocorre ainda um aumento de vida útil devido à produção de compostos com possível ação microbiana e a produção de ácido lático, reduzindo o pH do produto e desfavorecendo o crescimento de bactérias deteriorantes. Os probióticos melhoram o valor nutricional do produto ao liberar aminoácidos livres ou ao sintetizar vitaminas (PARVEZ; MALIK; KAN, et al., 2006).

2.5 MICROBIOTA INTESTINAL

O intestino é um ecossistema complexo composto principalmente pela microflora, nutrientes e células hospedeiras, que estão permanentemente interagindo uns com os outros (BOURLIOUX, KOLETZKO, GUANER, et al., 2003).

Além da função principal de digerir e absorver nutrientes, o intestino exerce um papel importante na defesa contra agentes externos. Essa função é desempenhada graças a três principais fatores: a microflora, barreira mucosa e sistema imune local (BOURLIOUX; KOLETZKO; GUANER; et al., 2003).

O corpo humano é composto por trilhões de bactérias de diferentes espécies, estando distribuídas de forma diversa. No sistema gastrointestinal, por exemplo, devido a diversas condições fisiológicas, a distribuição é bastante heterogênea. Poucas bactérias se alojam no estômago, devido ao seu baixo pH. Ao passar por esse órgão, poucas resistem, e dessa forma, um número bastante limitado de bactérias chega ao duodeno onde sofrem ataque de sais biliares e secreções pancreáticas. Somente as que são capazes de tolerar esse ataque aumentam consideravelmente quando atingem o jejuno e cólon (BOURLIOUX; KOLETZKO; GUANER; et al., 2003).

Devido às barreiras fisiológicas e ao curto tempo de permanência, as bactérias se multiplicam muito pouco no intestino delgado, quando atingem o cólon tem acesso às condições favoráveis que necessitam para proliferação, como nutrientes, peristaltismo lento e ausência de secreções intestinais (BOURLIOUX; KOLETZKO; GUANER; et al., 2003; BRANDT; SAMPAIO; MIUKI, 2006).

A microflora intestinal desempenha um papel bastante importante de proteção. Porém, devido à complexidade desse ecossistema, os mecanismos ainda não foram completamente elucidados. Vários mecanismos parecem estar envolvidos, agindo separadamente, juntos ou em sequência: (i) esgotamento ou competição por um mesmo substrato, (ii) competição por sítios de adesão, (iii) produção de um ambiente fisiologicamente restrito (pH, potencial redox, produção de sulfeto de hidrogênio ou de metabolitos tóxicos para outras bactérias), (iv) produção de substâncias antibióticas, como bacteriocinas e (v) produção de sinal molecular que atua em genes codificadores para sobrevivência (BOURLIOUX; KOLETZKO; GUANER; et al., 2003; FRIC, 2007).

Outros fatores podem influenciar na composição da microflora intestinal, como a dieta (ingestão de probióticos e prebióticos, por exemplo), estresse, medicamentos

(antibióticos) e suscetibilidade a infecções, estado imunológico e idade (COLLINS; GIBSON, 1999, SCHIFFRIN; BLUM, 2002).

2.6 SÍNDROME METABÓLICA

A síndrome metabólica (SM) é caracterizada pela associação de diversos fatores de risco metabólico, podendo levar ao desenvolvimento de doenças cardiovasculares e diabetes tipo 2. Desde que foi identificada pela primeira vez, em 1922, vem recebendo diferentes denominações, tais como: síndrome X, síndrome plurimetabólica, quarteto mortal e síndrome de resistência à insulina (LOPES, 2003).

Não existe uma definição internacionalmente acordada para SM. Porém as mais usuais são as propostas pela: Organização Mundial da Saúde (OMS), *The National Cholesterol Education Program Expert Panel Adult Treatment Panel III* (NCEP- ATPIII) e Federação Internacional de Diabetes (FID). Todas se baseiam praticamente nos mesmos critérios e parâmetros de diagnósticos (Tabela 1), diferindo por adotarem classificações distintas.

Tabela 1 – Identificação clínica dos fatores de risco para desenvolvimento da síndrome metabólica

| FATOR DE RISCO | OMS* | FID** | NCEP- ATP III*** |
|----------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| Obesidade abdominal | Tamanho da circunferência | Tamanho da circunferência | Tamanho da circunferência |
| Homem | > 90 cm | > 90 cm | > 102 cm |
| Mulher | > 85cm | > 80cm | > 88cm |
| Triglicerídeos | ≥ 150 mg/dL | ≥ 150 mg/dL | ≥ 150 mg/dL |
| HDL-c | | | |
| Homem | < 35mg/dL | < 40mg/dL | < 40mg/dL |
| Mulher | < 40mg/dL | < 50mg/dL | < 50mg/dL |
| Pressão Sanguínea | ≥ 140/90 mmHg | ≥ 130/85 mmHg | ≥ 130/80 mmHg |
| Glicemia em jejum | - | ≥ 100 mg/dL | ≥ 110 mg/dL |

* Organização Mundial da Saúde; ** International Diabetes Federation; *** National Cholesterol Education Program

A OMS entende que, para uma pessoa ter a SM ela deve necessariamente apresentar alteração no metabolismo da glicose, associada com um ou mais dos seguintes fatores: pressão arterial elevada, alta concentração de triglicerídeos no sangue, baixa concentração de HDL-c e obesidade. A definição proposta pela FID também determina a presença desses componentes, porém tem como fator fundamental a circunferência

abdominal. O NCEP-ATP III permite a classificação de SM pela presença de três componentes dos cinco propostos (dislipidemia com hipertriacilglicerolemia e diminuição dos níveis de HDL-c, circunferência abdominal aumentada, alterações no metabolismo de glicose e hipertensão arterial), sem exigência de nenhum componente em específico (WHO; 1999; NCEP-ATPIII; 2002; IDF, 2006). Em nosso trabalho utilizamos esta última definição por ser a mais utilizada e mais facilmente aplicada.

Além dos parâmetros característicos da SM citados acima, os indivíduos com SM 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 anti-inflamatórias (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 (DANDONA; ALJADA; CHAUDHURI; et al., 2005)

Estudos mostram que a SM está associada ao estresse oxidativo, representado pelo desequilíbrio entre os mecanismos de formação e inativação de radicais livres. Todas as moléculas do organismo estão sujeitas à ação dos radicais livres, incluindo o endotélio e o LDL-c, elementos fundamentais para o desenvolvimento da doença aterosclerótica (HANSEL; GIRAL; NOBECOURT; et al., 2004).

Devido ao estilo de vida sedentário e aumento da população obesa, o número de pacientes com SM cresce constantemente, tornando-se um problema de saúde pública (ALBERT; ECKEL; GRUND; et al., 2009). A obesidade está, em parte, relacionada à mudança do hábito alimentar da população, com um aumento significativo no consumo de açúcares e gorduras, além de uma menor ingestão de fibras (HAN; LEAN, 2007).

Não há estudos sobre a prevalência da SM com dados representativos na população brasileira, mas alguns estudos têm sido realizados em populações de regiões urbanas e rurais e os resultados demonstram não serem muito diferentes do perfil de prevalência mundial (BARBOSA; LESSA; FILHO; et al., 2006).

De acordo com Souza e colaboradores (2003) a prevalência de SM em adultos na cidade de Campos, Rio de Janeiro, foi de 18%, sendo mais frequente em mulheres do que em homens (21,3% e 14,4% respectivamente).

Oliveira e colaboradores (2006) demonstraram prevalência de 24,8% de SM em indivíduos residentes no distrito rural de Cavunge, semi-árido baiano. Novamente a porcentagem foi maior entre as mulheres (38,4% versus 18,6% nos homens), sendo mais elevada entre mulheres com idade superior a 45 anos (41,4% versus 15,9% nas com idade

inferior). Em Virgem das Graças, uma comunidade rural localizada no Vale do Jequitinhonha, no estado de Minas Gerais, a prevalência de SM foi de 21,6% (7,7% em homens e 33,6% em mulheres) (MELÉNDEZ; GAZZINELLI; OLIVEIRA; et al., 2007).

2.6.1 Hipertensão

A hipertensão é uma doença que se caracteriza por pressão arterial persistentemente acima do normal, ou seja, acima de 140 mmHg para pressão sistólica e 90 mmHg para pressão diastólica (POCOCK; RICHARDS, 2005). Sua origem pode ter diversas causas, como por exemplo, o enrijecimento da artéria causado pela deposição de gordura nas paredes (GRUNDY; BREWER; CLEEMAN; et al., 2004).

A hipertensão é um importante fator de risco para doenças coronarianas, sendo mais evidente com o aumento da idade. Essa relação parece estar mais associada a mudanças no estilo de vida do que propriamente com o envelhecimento (MAHAN; SLEEMP, 1998).

Fatores genéticos, hábitos alimentares e o estilo de vida tem bastante influência em seu desenvolvimento (HERMANSEN, 2000) sendo favorecido por: sobrepeso, inatividade física, consumo de álcool, consumo excessivo de sódio (MAHAN; SLEEMP, 1998) e uma dieta pobre em cálcio, potássio e magnésio (HERMANSEN, 2000).

Diversos estudos tem relacionado o consumo de produtos lácteos com baixo teor de gordura a um menor risco de hipertensão (LIN; LYLE; MCCABE; et al., 2000; CARRUTH; SKINNER, 2001; ALONSO; BEUNZA; RODRIGUÉZ; et al., 2005; DJOUSSÉ; PANKOW; HUNT; et al., 2006). Esse resultado pode ocorrer pelo fato de que o leite é uma ótima fonte de cálcio, potássio e magnésio, minerais que estariam associados à diminuição desse risco (TOLEDO; et. al, 2009; HARNDEN; FRAYN; HODSON, 2009).

Dois peptídeos presentes em leites fermentados parecem ser potentes agentes anti-hipertensivos: isoleucina-prolina-prolina e valina-prolina-prolina. O primeiro é encontrado na β -caseína (74-76) e κ -caseína (108-110), enquanto que o segundo é encontrado na β -caseína (84-86) (TAKANO, 2002; BOELSMA; KLOEK, 2010).

2.6.2 Obesidade

A obesidade é definida como um estado de peso corporal aumentado devido ao acúmulo anormal ou excessivo de gordura, que pode ser prejudicial para a saúde,

proveniente de uma ingestão maior de calorias quando comparada com seu gasto (WHO 2002). As causas do desenvolvimento são bastante complexas e não estão totalmente esclarecidas. Existem fatores genéticos, ambientais e psicológicos envolvidos (BOGSAN; FLORENCE; PERINA, et al., 2011).

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 relação quadril-cintura (KLEIN; ALLISON; HEYMSFIELD; et al., 2005).

O IMC é um parâmetro que relaciona o peso e altura do indivíduo podendo ser calculado dividindo o peso em quilogramas pelo quadrado da altura (WHO 2002). Trata-se um parâmetro indireto, uma vez que somente correlaciona a proporção de peso com a altura do indivíduo, não indicando a distribuição da gordura corporal. Pacientes com obesidade central ou visceral tem um risco muito mais alto de desenvolver doenças associadas que aqueles que apresentam acúmulo de gordura distribuída pelo tecido subcutâneo (KLEIN; ALLISON; HEYMSFIELD; et al., 2005, DANIELZIK; LANDSBERG; JOHANNSEN; et al., 2008).

Estudos anteriores demonstram um aumento crescente de doenças crônicas associadas ao aumento do IMC. Indivíduos com sobrepeso, quando comparados com indivíduos de peso normal, tem maior chance de desenvolver diabetes tipo 2 e doenças cardiovasculares (ALBERT; ECKEL; GRUNDY; et al., 2009).

Indivíduos com adiposidade central desenvolvem a SM mais frequentemente que aqueles que possuem a gordura distribuída por todo corpo (STEMBERG; DANIELS, 2003). O excesso de gordura, principalmente abdominal é o principal responsável pelo aumento indivíduos com SM, contribuindo para hipertensão, hipercolesterolemia, redução de HDL-c e hiperglicemia (GRUNDY; BREWER; CLEEMAN; et al., 2004).

O mecanismo que associa o aumento da circunferência abdominal com o risco de doenças cardiovasculares, não está totalmente esclarecido. Parece estar associado à inatividade física, PCR, e resistência à insulina (KATZMARZYK; JANSSEN; ROSS; et al., 2006). A alta concentração plasmática de ácidos graxos livres, provenientes da lipólise visceral, liberado na circulação portal sobrecarrega o fígado com lipídeos, aumentando a resistência à insulina (GRUNDY; BREWER; CLEEMAN; et al., 2004; GIORGINO; LAVIOLA; ERIKSSON, 2005).

A composição da microbiota intestinal também exerce influência no desenvolvimento da obesidade. Alguns indivíduos podem ser portadores de bactérias que

extraem, e/ou armazenam energia de forma mais eficiente, quando comparados às bactérias da microflora de indivíduos magros (LEY; BACKHED; TURNBAUGU; et al., 2005).

Bached e colaboradores (2004) avaliaram a interação da microbiota intestinal na absorção de nutrientes. Camundongos desprovidos de microbiota intestinal tiveram um aumento de 60% da gordura corporal em apenas duas semanas, após ser introduzido a microbiota intestinal de camundongos com a microbiota normal (retiradas a partir do cecum) sem que houvesse alterações na dieta. A fermentação microbiana produz monossacarídeos e ácidos graxos de cadeia curta facilitando a absorção.

Algumas bactérias são capazes de fornecer enzimas que ajudam na digestão de componentes alimentares que não seriam digeridos pelas enzimas presentes no trato gastrointestinal humano, tornando possível a absorção de compostos, que antes seriam eliminados (XU; BJUSELL; HIMROD; et al, 2003).

A obesidade parece ter um papel chave na SM, estando associada, a hipertensão e a resistência à insulina e a hiperinsulinemia, fatores importantes na diabetes tipo 2. Além do mais, pessoas obesas tem maior chance de possuir colesterol elevado e baixo valor de HDL-c (GRUNDY; BREWER; CLEEMAN; et al., 2004).

2.6.2.1 O papel do tecido adiposo

O tecido adiposo exerce diversas funções no organismo, além de ser um reservatório energético, armazenando energia em excesso na forma de lipídeos, também exerce função endócrina, secretando de uma série de substâncias denominadas adipocinas, sintetizadas nos adipócitos e em outras células (células do estroma e macrófagos). Tais substâncias agem em outros tecidos, estando relacionadas de forma direta ou indireta, a processos que contribuem na arteriosclerose, hipertensão arterial, resistências à insulina, diabetes tipo 2, dislipidemia e inflamações (RAJALA; SCHERER, 2003; HERMDORFF; MONTEIRO, 2004).

Dentre as adipocinas, podemos citar o fator de necrose tumoral-alfa (TNF- α), leptina e adiponectina, interleocina-6 (IL-6). Como na obesidade o tecido adiposo encontra-se em maior quantidade, há um aumento na expressão dessas substâncias (HERMDORFF; MONTEIRO, 2004).

O α é uma citocina imunomodulatória e pró-inflamatória, que tem ação direta nos adipócitos, regulando o acúmulo de gordura no organismo, induzindo a apoptose e inibindo a lipogênese. A principal fonte de liberação dessas substâncias são os macrófagos

presentes no tecido adiposo, sendo que sua produção é induzida por triglicerídeos e os ácidos graxos livres (HERMDORFF; MONTEIRO, 2004; FONSECA-ALANIZ; TAKADA; ALONSO-VALE; et al., 2006).

Em pessoas obesas sua secreção é bastante elevada, estando associados ao aumento da secreção de leptina, IL-6, PCR e com a supressão do transportador de glicose (GLUT-4) no tecido adiposo, causando resistência insulínica no adipócito (HERMDORFF; MONTEIRO, 2004; FONSECA-ALANIZ; TAKADA; ALONSO-VALE; et al., 2006).

A leptina é um hormônio sintetizado principalmente pelo tecido adiposo. Age no hipotálamo, inibindo a liberação do neuropeptídeo Y (neurotransmissor responsável pelo estímulo da ingestão de alimentos, hipersecreção de insulina e glicocorticoides). Além disso, proporciona um aumento no gasto de energia por meio da ativação do sistema nervoso simpático (RAJALA; SCHERER, 2003; FONSECA-ALANIZ; TAKADA; ALONSO-VALE; et al., 2006; ELINSON; AMICHAY, 2006; GUIMARÃES; SARDINHA; MIZURINI; et al., 2007; ANTUNES; SANTOS, CARVALHO, 2009).

Indivíduos obesos possuem uma concentração maior desse hormônio no sangue, decorrente de uma produção elevada devido à grande quantidade de gordura corporal (ROSADO; MONTEIRO; CHAIA; et al., 2006; CORREIA, RAHMOUNI, 2006; BELTOWSKI, 2006). Esse fato pode estar relacionado ao desenvolvimento de diabetes tipo 2 em indivíduos com SM (CORREIA; RAHMOUNI, 2006). A leptina atua diretamente na inibição da secreção de insulina (GUIMARÃES; SARDINHA; MIZURINI; et al., 2007).

A adiponectina é expressa exclusivamente nos adipócitos diferenciados. Está presente em níveis mais elevados em mulheres, sendo de duas a três vezes mais concentrada (COMBS; BERG; RAJALA; et al., 2003; HERMDORFF; MONTEIRO, 2004; LEITE; HALPERN, 2005; OLIVEIRA; MATTOS; BIZ, et al., 2011).

Altos níveis de adiponectina são negativamente correlacionados com hiperinsulinemia, resistência à insulina e doenças cardiovasculares, ou seja, difere de outras adipocinas por ter ação protetora. A concentração sérica é inversamente proporcional ao tecido adiposo visceral e ao tecido adiposo subcutâneo visceral (RAJALA; SCHERER, 2003; HERMDORFF; MONTEIRO, 2004; LEITE; HALPERN, 2005; OLIVEIRA; MATTOS; BIZ; et al., 2011).

Indivíduos com concentrações sanguíneas de adiponectina acima do normal, independente do IMC, parecem estar protegidos de doenças metabólicas relacionadas com a obesidade. A dieta tem influência direta sobre a concentração dessas substâncias no sangue (KING; DEEMER; THOMPSON; 2010; OLIVEIRA; MATTOS; BIZ; et al., 2011).

A IL-6 é sintetizada por diferentes tipos de células. No entanto, de 10% a 30% é produzida pelo tecido adiposo, sendo produzida em resposta a micro-organismos e estimulada por outras citocinas, principalmente a IL-1 e α . (LEITE; HALPERN, 2005; FONSECA-ALANIZ; TAKADA; ALONSO-VALE; et al., 2006; ESTEVE; VILLEUENDAST; MALLOLAS; et al., 2006; GUIMARÃES; SARDINHA; MIZURINI; et al., 2007; SOUZA; OLIVEIRA; BLOTTA; et al., 2008).

Essa citocina é um mediador da resposta inflamatória e está relacionada com a obesidade e resistência à insulina, por meio da glicogênese hepática. Além do mais, permite prever o desenvolvimento de diabetes tipo 2. Atua liberando PCR, cujos níveis elevados estão relacionados com aumento da massa gorda e diminuição da sensibilidade insulínica, exercendo também um importante papel no processo inflamatório (LEITE; HALPERN, 2005; FONSECA-ALANIZ; TAKADA; ALONSO-VALE; et al., 2006; ESTEVE; VILLEUENDAST; MALLOLAS; et al., 2006; GUIMARÃES; SARDINHA; MIZURINI; et al., 2007).

2.6.3 Resistência à Insulina

A resistência à insulina se caracteriza por uma diminuição da resposta de tecidos alvos (fígado, tecido adiposo e muscular) à insulina, sendo necessária uma concentração maior desse hormônio para produzir uma resposta metabólica normal. Esse fenômeno pode ocorrer devido a alterações genéticas, metabólicas e nutricionais, sendo bastante associada à obesidade e sedentarismo (MANNA; DAMIANI; SETIAN, 2006; EL-ZAYADI, 2010).

Trata-se de um estado intermediário entre um indivíduo com índice glicêmico normal e com diabetes. É importante lembrar que a resistência à insulina está associada a um risco de diabetes no futuro, ou seja, pessoas com desordem apresentam um risco maior de desenvolver tal doença, porém não a desenvolve obrigatoriamente (WHO 2006).

A maior contribuição para o desenvolvimento da resistência à insulina provém de uma concentração muito elevada de ácidos graxos no sangue, embora não se saiba ao certo o mecanismo (ECKEL; GRUNDY; ZIMMET, 2010).

A resistência à insulina pode ser classificada em periférica e hepática, sendo que a hepática é a primeira a se manifestar. O fígado deixa de controlar a glicogenólise, a gliconeogênese e a glicogenogênese. A periférica está relacionada com músculos esqueléticos

e cardíacos sendo decorrente principalmente de falha no transportador de glicose (GLUT4). O excesso de ácidos graxos livres e citocinas também atuam nos músculos periféricos, dificultando a utilização da glicose uma vez que diminui os efeitos da insulina (EL-ZAYADI, 2010; FILHO, 2011).

Há evidências de que a resistência à insulina pode ser o fator etiológico comum para as demais desordens metabólicas. Ela está associada não só com a diabetes tipo 2, mas também com a obesidade, hipertensão, hipertrigliceridemia e aumento de ácidos graxos livres. Esses fatores isolados, já são por si fatores de risco para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares, mas, quando associados há uma potencialização desse risco (WHO, 1999; SINAIKO; CAPRIO, 2012).

O aumento da pressão arterial decorrente da resistência à insulina parece estar envolvido com o aumento da reabsorção de sódio pelos túbulos renais, estimulado pela insulina (HAN; LEAN, 2010).

A resistência à insulina pode ser medida de diferentes formas. Uma delas é 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 a insulina. Outra alternativa é por 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) (SINAIKO; CAPRIO, 2012). O cálculo consiste em multiplicar o valor da insulina em jejum ($\mu\text{U/L}$) pelo valor de glicose em jejum (mmol/L) e dividir o produto por 22,5 (Figura 1) (EL-ZAYADI, 2010).

Figura 1 – Modelo matemático para calcular o índice de resistência à insulina

$$\text{HOMA-IR} = \frac{\text{Insulina em jejum } (\mu\text{U/L}) \times \text{glicose em jejum } (\text{mmol/L})}{22.5}$$

2.6.4 Dislipidemia

Consiste em uma agregação anormal de lipoproteínas, resultando em um aumento no nível sérico de triglicerídeos e LDL-c e diminuição nas concentrações de HDL-c (ALBERT; ECKEL; GRUNDY, et al., 2009).

O nível sérico elevado de colesterol no sangue geralmente está relacionado com o desenvolvimento de doenças coronarianas (KIMOTO; OHMOMO; OKAMOTO, 2002).

A dislipidemia é um dos fatores iniciais da SM. Devido ao desequilíbrio energético, os adipócitos 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 no estroma. Os macrófagos, por sua vez, liberam outras citocinas, como α e IL-6 que possuem ação parácrina, e agem dificultando a transdução do sinal da insulina, reduzindo seu efeito nos adipócitos viscerais (FILHO, 2011).

Os adipócitos viscerais são responsáveis pela liberação de grande quantidade de ácidos graxos não esterificados na circulação. Essas células são ricas em receptores β -adrenérgicos, estando ligada a ativação das lipases (FILHO, 2011).

Os ácidos graxos livres inibem o metabolismo periférico da glicose e reduzem a sensibilidade à insulina. Em concentrações acima do normal podem ter influencia maior na resistência a insulina que a hiperinsulinemia e exaustão das células beta. Com o aumento da disponibilidade de ácidos graxos livres no sistema hepático, pode ocorrer uma estimulação para esterificação, diminuindo a síntese de HDL-c, aumentando a concentração de triglicerídeos no sangue e aumentando as LDL-c (HAN; LEAN, 2010).

O perfil clínico lipídico pode ser identificado por meio de provas bioquímicas, após 12 a 14 horas de jejum. O nível de LDL-c pode ainda ser identificado aplicando-se a fórmula de Friedewald (Figura 2), que correlaciona o teor de colesterol total com HDL-c e triglicerídeos (HAN, 2007).

Figura 2 – Modelo matemático para calcular LDL-c (fórmula de Friedewald)

$$\text{LDL-c} = \text{Colesterol Total} - \text{HDL-c} - \text{Triglicerídeos}/5$$

2.7 MARCADORES LABORATORIAIS DE DOENÇAS CARDIOVASCULARES

2.7.1 Homocisteína

A homocisteína é um aminoácido que deriva da desmetilação da metionina (MALINOWSKA; CHMURZYNSKA, 2009). Estudos ao longo dos anos vêm investigando a

relação entre concentrações elevadas de homocisteína e doenças coronárias, indicando ser um potente marcador para avaliação de risco cardiovascular (Homocysteine Studies Collaboration, 2002; HUMPHREY; FU; ROGERS; et al., 2008; VEERANNA; ZALAWADIYA; NIRAJ; et al., 2011).

Estudos *in vivo* sugerem que a homocisteína provoca um aumento na tensão de oxigênio e uma redução na função endotelial, aumentando sua permeabilidade e favorecendo a formação de trombos. Atua também acelerando a formação de trombina, favorecendo ainda mais a agregação plaquetária (SPLAVER; LAMAS; HENNEKENS, 2004).

Fatores genéticos, idade, sexo e estilo de vida estão relacionados com a concentração sérica de homocisteína. Mulheres, idade avançada, consumo excessivo de café e tabaco, inatividade física estão relacionadas com hiperhomocisteinemia. Enquanto que, a ingestão de vitaminas do complexo B e folatos estão associadas com a redução da concentração sérica (VERHOEF; MELEADY; DALY; et al. 1999; BREE; VERSCHUREN; KROMHOUT; et al., 2002, CHMURZYNKA; MALINOWSKA; RAJEWSKA, 2012).

2.7.2 Gama Glutamil Transferase (GGT)

Gama glutamil transferase é uma enzima sintetizada principalmente no fígado, que atua contribuindo para o catabolismo extracelular de glutatona, o maior antioxidante do corpo. O uso da GGT como marcador da ingestão de álcool e de doenças hepáticas é conhecido há muitos anos. Recentemente essa enzima vem, sendo usada como marcador de doenças cardiovasculares (MASON; STARKE; KIRK, 2010). O estresse oxidativo está associado a condições patológicas como: inflamação, carcinogênese, envelhecimento e arterosclerose (DROGE, 2002).

Estudos anteriores apresentam relação direta entre os níveis de GGT e doenças cardiovasculares (FRASER; HARRIS; SATTAR; et al., 2007; SHIMIZU; IMANO; OHIRA; et al., 2010), bem como desordens metabólicas associadas à SM (LEE; EVANS; ROBINS; et al., 2007; RYU; CHANG; WOO; et al., 2010; HWANG; LIN; LIU; et al., 2012).

2.7.3 Ácido Úrico

O aumento no índice de ácido úrico no soro está relacionado com doenças cardiovasculares (KIM; SGUEVARA; KIM; et al., 2009; KIM; SGUEVARA; KIM; et al.,

2010). Ainda não está totalmente esclarecido se o ácido úrico é um fator de risco para doenças cardiovasculares ou se constitui apenas como marcador de outros processos pré-aterogênicos. Há estudos que indicam que essa relação não é independente, uma vez que o ácido úrico também está relacionado com IMC, concentração sérica de creatina, triglicerídeos, adiponectina e ingestão de álcool, todos esses fatores de risco para doenças cardiovasculares (LAZZERU; VALENTE; CHIOSRTI; et al., 2010; OIKONEM; SAARENHOVI; LYYTITAINEN; et al., 2012). Outros relatam que o ácido úrico é um fator de risco independente (STRASAK; KELLEHER; BRANT; et al., 2008; CHUANG; CHEN; YEH; et al., 2012).

2.8 EFEITOS DOS PROBIÓTICOS NA SAÚDE HUMANA

Os probióticos interferem no sentido de promover diversos efeitos benéficos ao hospedeiro. Dentre eles destacam-se: redução do sintoma de má absorção da lactose, prevenção de infecções intestinais, diarreia, gastroenterite, redução da incidência de tumores, modulação do sistema imune, controle da síndrome do intestino irritado e de doenças inflamatórias intestinais, alívio dos sintomas de alergia alimentar em crianças, redução do nível de colesterol total e LDL-c e aumento do HDL-c, entre outros (PARVEZ; MALIK; KAN; et al., 2006; MANZONI; CAVALLINI; ROSSI, 2008).

Alguns desses benefícios estão bem estabelecidos, enquanto outros têm demonstrado resultados promissores apenas em estudos com animais. Assim para subsidiar tais informações, existe a necessidade de maior número de investigações com seres humanos (SAHA, 2007).

O efeito exercido pelos probióticos é baseado em propriedades como: a capacidade de competir com micro-organismos patogênicos na adesão do epitélio intestinal; síntese de peptídeos com ação bacteriostática e bactericida; inibição do crescimento do patógeno; influência sobre a resposta imune; estimulação e eliminação de toxinas; síntese de esteroides a partir do colesterol; influência sobre a secreção de muco, absorção, motilidade e fluxo sanguíneo esplâncnico; entre outros (FRIC, 2007).

3 JUSTIFICATIVA

A SM tornou-se um problema de saúde pública. Os hábitos alimentares e o estilo de vida sedentário da população fazem com que o número de pacientes cresça constantemente.

Estudos anteriores avaliam as propriedades probióticas do *Lactobacillus plantarum* em parâmetros isolados da SM e outros fatores de risco de doenças cardiovasculares. Porém, não é do nosso conhecimento estudos que verificam a interferência deste probiótico no tratamento de pacientes com SM. A associação deste micro-organismo ao leite pode trazer benefícios a pessoas com SM por meio da redução dos fatores de risco associados.

4 OBJETIVO

Avaliar a influência da ingestão de leite fermentado contendo *Lactobacillus plantarum*, durante um período de 90 dias, sobre a dislipidemia, hiperglicemia, obesidade, hipertensão e fatores de risco cardiovasculares em pacientes com síndrome metabólica

5 METODOLOGIA

5.1 PACIENTES

Os pacientes da pesquisa foram selecionados em duas Unidades Básicas de Saúde (UBS) da cidade de Londrina: Centro de Saúde Municipal Dr. Aroldo Marques Sadenberg (UBS – Vila Brasil) e Centro de Saúde Municipal Dra. Maria do Socorro N. Brito (UBS – Piza/ Roseira). A autorização para trabalhar com pacientes das UBSs foi cedida pela Secretaria Municipal de Saúde da cidade (ANEXO I).

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisas Envolvendo Seres Humanos da Universidade Estadual de Londrina, sob cadastro no 324/2011, aprovado em 24 de novembro de 2011. (ANEXO II).

Todos os pacientes receberam e assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido (ANEXO III), que dispunha de informações sobre o projeto de pesquisa, tais como: objetivo, benefícios esperados e esclarecimentos sobre a sua condição participante do projeto. Além do termo foram realizadas reuniões, onde puderam esclarecer suas dúvidas quanto ao projeto.

Os parâmetros adotados para seleção dos pacientes seguiram a definição do NCEP- ATPIII (Tabela 1). Foram excluídos os que possuíam doença renal, hepática, gastrointestinal, câncer e também os que faziam uso de medicamentos hipolipemiantes e hipoglicemiantes, terapia de reposição de estrogênio e suplementos antioxidantes. Os não foram aconselhados a seguir uma dieta específica ou ainda intensificar a prática de exercícios, devendo manter o hábito de vida normal, com relação a dieta, exercícios físicos e medicação.

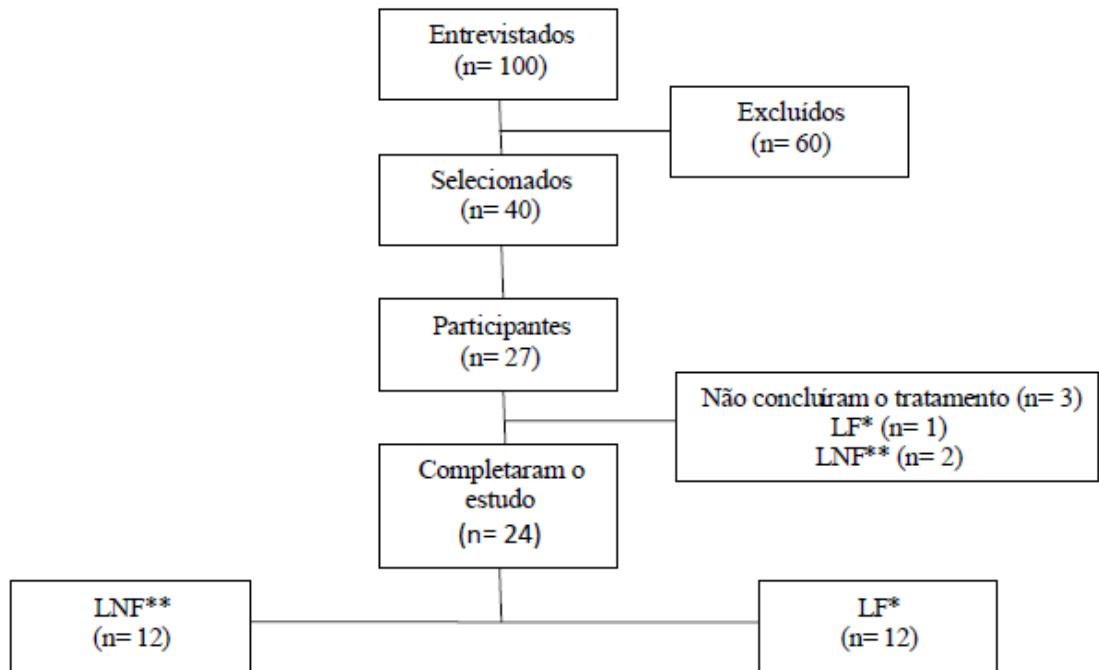
Participaram da entrevista inicial cerca de 100 pessoas. Dentre elas, 40% se encaixaram no perfil desejado. Após entrevista e esclarecimento sobre o projeto, 27 pacientes com SM, com idade entre 47 e 81 anos, concordaram em participar da pesquisa (Tabela 2).

Tabela 2 – Distribuição das desordens metabólicas nos indivíduos participantes da pesquisa

| | | | | | | |
|----|---|----|---|---|---|---|
| 1 | F | 47 | X | x | x | |
| 2 | F | 79 | X | x | x | |
| 3 | F | 65 | | x | x | x |
| 4 | M | 65 | | x | x | x |
| 5 | F | 67 | | x | x | x |
| 6 | F | 60 | X | | x | x |
| 7 | F | 55 | X | | x | x |
| 8 | F | 67 | X | | x | x |
| 9 | F | 77 | X | | x | x |
| 10 | F | 61 | X | | x | x |
| 11 | F | 69 | X | | x | x |
| 12 | F | 64 | X | | x | x |
| 13 | F | 66 | X | | x | x |
| 14 | F | 79 | X | x | | x |
| 15 | F | 81 | X | x | | x |
| 16 | F | 64 | X | x | | x |
| 17 | F | 58 | X | x | | x |
| 18 | F | 74 | X | x | | x |
| 19 | F | 69 | X | x | | x |
| 20 | F | 54 | X | x | x | x |
| 21 | F | 53 | X | x | x | x |
| 22 | F | 64 | X | x | x | x |
| 23 | F | 62 | X | x | x | x |
| 24 | F | 57 | X | x | x | x |
| 25 | F | 60 | X | x | x | x |
| 26 | F | 56 | X | x | x | x |
| 27 | F | 59 | X | x | x | x |

RI*: resistência à insulina

Os pacientes foram alocados em dois grupos. Um recebeu a bebida fermentada (n=14) e o outro recebeu a bebida não fermentada (n=13). Durante 90 dias ingeriram uma porção de 80mL/dia do leite fermentado ou não fermentado, dependendo do grupo ao qual pertenciam. Dos pacientes participantes, 24 aderiram ao tratamento até o final (Figura 3).

Figura 3 – Fluxograma distribuição dos pacientes

LF*: Leite fermentado; LNF**: leite não fermentado.

Para monitorar a adesão ao tratamento, os pacientes foram instruídos a levar as bebidas não ingeridas, caso houvesse, na data da entrega do novo lote. Caso a ingestão fosse insatisfatória, seriam excluídos do projeto. Também foram orientados a manter seu estilo de vida com relação aos hábitos alimentares, atividade física e quanto ao uso de medicamentos.

Não houve diferença entre os grupos de participantes em relação ao gênero, etnia, idade, medicamentos de hipertensão, IMC, circunferência abdominal, pressão sistólica e diastólica.(Tabela 3).

Tabela 3 –Características demográficas e clínicas entre os grupos

| Parâmetro | Grupo do leite não fermentado (n = 12) | Grupo do leite fermentado (n = 12) | p |
|---|---|---------------------------------------|-------|
| Gênero (F/M) ^a | 12/0 | 11/1 | 1,000 |
| Caucasiano/ Não caucasiano ^a | 12/0 | 12/0 | 1,000 |
| Medicamentos de hipertensão (%) ^a | 11/1 | 11/1 | 1,000 |
| IMC ^b | 27,5 (24,3 - 30,0) | 27,5 (26,0 - 31,3) | 0,643 |
| CA (cm) ^b | 103,5 (94,0 - 107,9) | 101,0 (96,5 - 108,5) | 0,686 |
| PAS (mmHg) ^b | 120,0 (110,0 - 130,) | 120,0 (112,5 - 137,5) | 0,697 |
| PAD(mmHg) ^b | 75,0 (70,0 - 80,0) | 80,0 (70,0 - 80,0) | 0,643 |

Teste Fisher's. Teste Mann-Whitney^b. Os dados são expressos como mediana (25%-75%).
M/F: Feminino/Masculino; CA: Circunferência Abdominal; IMC: Índice de massa corpórea;
PAS: pressão arterial sistólica; PAD: pressão arterial diastólica.

5.2 PRODUÇÕES DAS BEBIDAS

As bebidas foram produzidas e envasadas no Laboratório de Microbiologia e Tecnologia de Alimentos da Universidade Estadual de Londrina, sob critérios adequados de higiene e sanitização.

Os ingredientes usados para a produção foram: leite em pó desnatado Molico Nestlé®, açúcar refinado, aromatizante de baunilha e aromatizante de frutas cítricas. Para a produção da bebida fermentada foi utilizado cultura liofilizada de *L. plantarum* – Lp 115, fornecido pela empresa Danisco.

A bebida foi preparada a cada 14 dias. Após a produção, as bebidas foram redistribuídas em frascos menores contendo a porção diária recomendada de 80 mL. A cada duas semanas eram entregues aos pacientes a quantidade necessária para esse período, ou seja, 14 frascos contendo 80mL em cada.

5.2.1 Preparação do Leite Fermentado

5.2.1.1 Ativação do inócuo

Em um tubo 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 próxima da ambiente foi inoculada a cultura liofilizada de *L. plantarum* – Lp 115. O frasco foi levado à estufa a 37 °C por 8 horas.

5.2.1.2 Produção do leite fermentado

O leite fermentado foi produzido em frascos de vidro de 500 mL com tampa rosqueável resistentes a esterilização.

O leite foi reconstituído (10% m/v) com adição de açúcar refinado (8% m/v) foi esterilizado (121 °C / 15min.). Ao atingir temperatura próxima da ambiente foi adicionado o inócuo ativado na concentração de 10% (v/v). Após homogeneização o frasco foi levado à estufa 37 °C.

O processo de fermentação durou cerca de 18 horas. No final desse período foi verificado o pH da bebida obtendo-se um valor médio de 4,3. Para tal avaliação utilizou-se um potenciômetro digital devidamente calibrado com pH 4,0 e 7,0.

Depois de fermentado foi adicionado aroma de frutas cítricas (0,01% v/v) e baunilha (0,05% v/v).

As bebidas prontas foram envasadas em frascos plásticos menores previamente esterilizados. E acondicionadas sob refrigeração (5 ± 1 °C).

A figura 4 demonstra em forma esquemática o processo.

5.2.2 Produção do Leite não Fermentado

O leite não fermentado foi preparado de forma semelhante ao leite fermentado, porém sem a adição do inócuo (Figura 5).

Figura 4 – Fluxograma da produção de leite fermentado

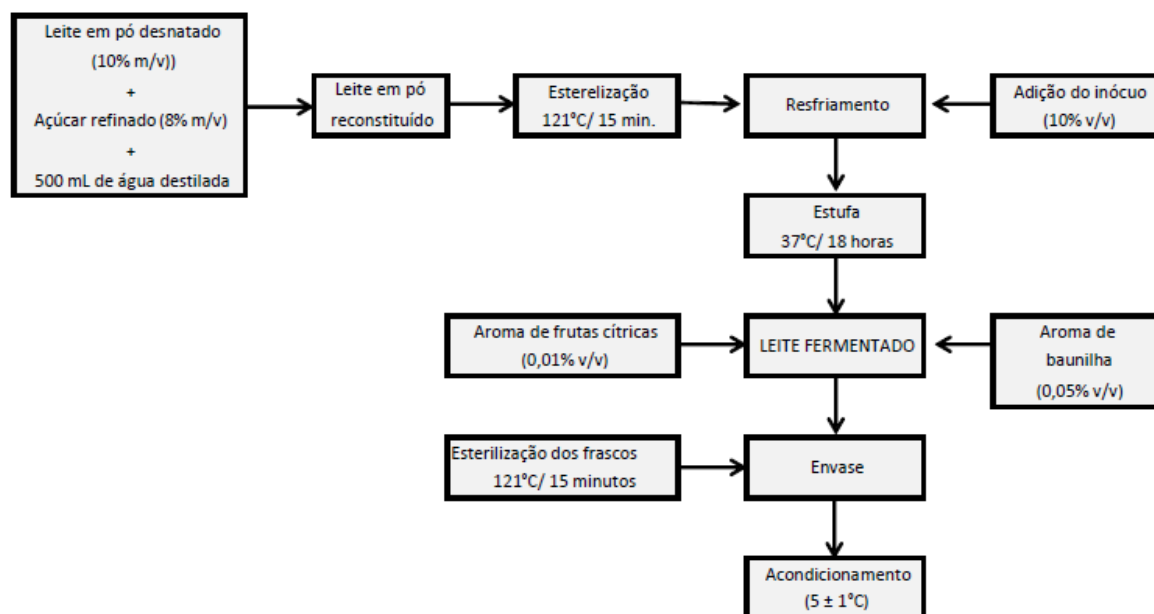
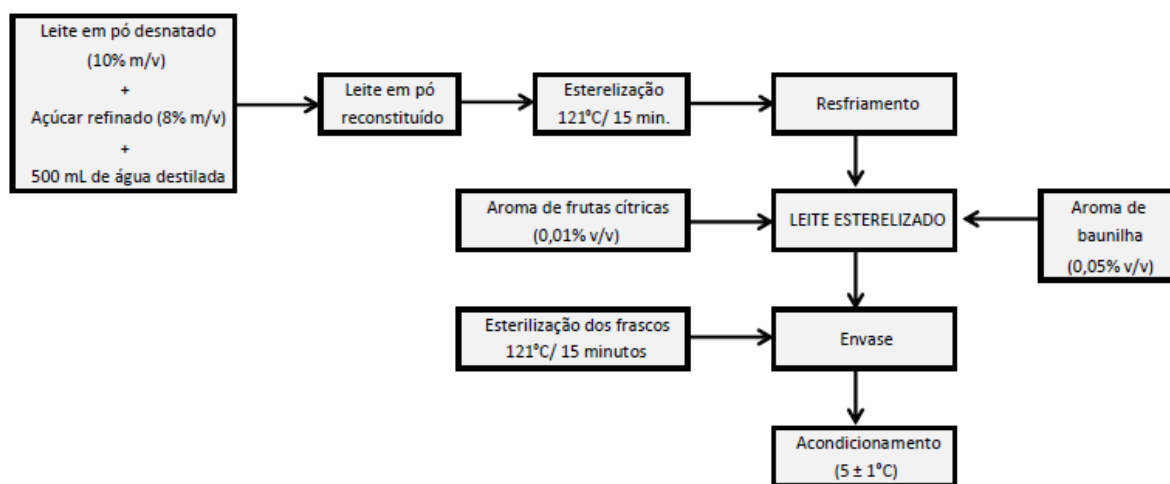


Figura 5 – Fluxograma da produção de leite não fermentado



5.3 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

As análises microbiológicas foram embasadas no que preconiza a legislação brasileira vigente.

A RDC nº 12 de janeiro de 2001 da ANVISA, relata parâmetros microbiológicos sanitários que devem ser avaliados em alimentos destinados a consumo humano. A resolução estabelece a necessidade de avaliar a contagem de coliformes a 45 °C em leite fermentado (ANVISA, 2001). A ANVISA preconiza ainda que a contagem mínima

de bactérias viáveis para um produto ser considerado probiótico deve estar na faixa de 10⁸ a 10⁹ UFC. (ANVISA, 2008)

A Instrução normativa nº 16 de 23 de agosto de 2005, do Ministério da Agricultura, pecuária e Abastecimento (MAPA) estabelece padrões de identidade e qualidade de bebida láctea destinada ao consumo humano. Segundo a legislação a bebida láctea fermentada deve conter uma contagem total de bactérias lácticas viáveis de 10⁶ UFC/g no produto final durante todo o prazo de validade. Além de padrões de higiene, com contagem de coliformes totais e a 45°C (MAPA 2005).

A contagem de bactérias lácticas viáveis foi realizada por diluições seriadas em água peptonada 0,1% (m/v) (Oxoid, Basingstoke, Hampshire, England) e plaqueamento por *pour plate* em ágar MRS (de Man Rogosa e Sharpe, Difco, Diadema, BR). A contagem de coliformes totais e a 45°C se deu em meio caldo verde brilhante (Himedia; Mumbai).

5.4 MEDIDAS ANTROPOMÉTRICAS E COLETA DAS AMOSTRAS DE SANGUE.

As medidas antropométricas e as coletas das amostras de sangue foram realizadas antes do início do tratamento (T₀) e 90 dias após (T₉₀), no último dia da ingestão da bebida.

As amostras de sangue foram coletadas nas UBSs pelas enfermeiras responsáveis e levadas ao Laboratório de Análises Clínicas do Departamento de Patologia, Análises Clínicas e Toxicológicas do Hospital Universitário de Londrina para serem examinadas. Os voluntários foram orientados a fazer jejum de 12 horas.

No mesmo dia da coleta foi verificado: pressão arterial, peso, altura, e circunferência abdominal dos pacientes (sempre efetuado pela mesma pessoa). A pressão arterial foi aferida por meio de um esfigmomanômetro, após os pacientes permanecerem por no mínimo 10 minutos sentados (PICKERING; HALL; APPEL; et al, 2005). O peso e altura foram verificados em balança digital antropométrica acoplada com estadiômetro após os pacientes retirarem os calçados. A circunferência abdominal foi verificada no ponto médio entre a parte inferior da última costela palpável e a parte superior da crista ilíaca, de acordo com a OMS (WHO, 2008).

5.5 ANÁLISES DAS AMOSTRAS DE SANGUE

As amostras de sangue foram avaliadas quanto: colesterol total e frações (HDL-c e LDL-c), triglicerídeos, insulina, glicose, resistência à insulina, gama glutamil tranferase (GGT), homocisteína, ácido úrico, IL-6, α , leptina e adiponectina.

5.5.1 Parâmetros Metabólicos

A dosagem de colesterol total, triglicerídeos, HDL-c, glicose, GGT e ácido úrico foram feita com kits comerciais Dade Behring utilizado um auto-analisador bioquímico (Dade Dimension AR Dade Behring, Deerfield, IL, EUA). Os níveis séricos de insulina e homocisteína foram determinados por quimioluminescência em micropartículas (Architect, Abbott Laboratory, Abbott Park, IL, USA) e a resistência à insulina foi calculada utilizando o modelo HOMA-IR.

5.5.2 Análises Imunológicas

A dosagem de IL-6, TNF α , leptina e adponectina foram feitas pelo método imunoenzimático *Enzyme-linked immunosorbent assay* - ELISA por meio de kits comerciais eBioscience (eBioscience; Inc. Copyright; US).

5.6 Análise Estatística

A distribuição de gênero, etnia e uso de medicamentos utilizados para hipertensão foi analisada pelo teste exato de Fisher. Foi realizado teste de Mann-Whitney para comparação dos dados obtidos no T0 entre os grupos e para comparar os tratamentos. O teste de Wilcoxon foi realizado para comparação entre os dois tempos (T0 e T90) dentro do grupo. Os dados foram apresentados como mediana e percentis (25% - 75%) e o nível de significância foi estabelecido em $p < 0,05$. Para análise estatística utilizou-se o programa Graf Pad Prism versão 4.0.

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

No final de cada lote foi avaliado o teor coliforme total e a 45°C. Todos os lotes apresentaram resultado satisfatório para os parâmetros microbiológicos avaliados.

A contagem de bactérias viáveis no produto fermentado esteve contida em 10^8 UFC/mL, não havendo redução de nem um ciclo log durante os 14 dias de estocagem. Segundo o MAPA a quantidade de bactérias viáveis recomendada é de no mínimo 10^6 UFC/g. Considerando o peso médio da porção diária recomendada em torno de 85 gramas, chegamos a uma contagem final próxima de $1,25 \times 10^7$ UFC/g. A ANVISA recomenda uma contagem de no mínimo 10^8 a 10^9 UFC. A contagem média por mL do produto foi de $4,5 \times 10^8$, multiplicando esse valor pelo volume diário recomendado a contagem pode ser expressa em: $3,6 \times 10^9$ UFC. O resultado mostrou-se satisfatório diante das recomendações das legislações vigentes.

6.2 PARÂMETROS METABÓLICOS

Diante dos valores encontrados na investigação (Tabela 4), podemos notar que, após 90 dias de tratamento, houve redução significativa, em relação aos valores iniciais, dos níveis de glicose ($p = 0,04$) e homocisteína ($p = 0,02$), apenas no grupo que ingeriu o leite fermentado. Houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre os tratamentos.

Tanto o grupo que ingeriu o leite fermentado, quanto o grupo que ingeriu o leite não fermentado apresentou redução nos níveis de colesterol total ($p = 0,01/0,04$ respectivamente) e GGT ($p = 0,02/0,04$ respectivamente). Houve redução significativa de LDL-c ($p = 0,02$) no grupo que ingeriu a bebida não fermentada e uma tendência a redução de LDL-c ($p = 0,09$) para o outro grupo. O único parâmetro que os grupos saíram de baseline diferente foi GGT.

Tabela 4 –Resultado da análise estatística dos parâmetros bioquímicos e medidas antropométricas

| Parâmetro | Grupo do leite não fermentado (n = 12) | | | Grupo do leite fermentado (n = 12) | | |
|--------------------------|---|--------------------------|-------|---------------------------------------|--------------------------|-------|
| | T0 | T90 | p | T0 | T90 | p |
| CA (cm) | 103,5 (94,0 - 107,9) | 103,3 (97,25 - 109,6) | 1,000 | 101 (96,5 - 108,5) | 99,7 (9,88 - 108,0) | 0,657 |
| Peso (Kg) | 67,7 (60,5 - 75,7) | 70,1 (60,4 - 76,7) | 1,000 | 66,0 (63,3 - 82,8) | 66,9 (63,9 - 80,7) | 0,320 |
| IMC (Kg/m ²) | 27,5 (24,3 - 30,0) | 28,5 (24,0 - 30,0) | 0,824 | 27,5 (26,0 - 31,3) | 29,0 (26,3 - 34,8) | 0,106 |
| PAs (mmHg) | 120,0 (110,0 - 130,0) | 120,0 (102,5 - 130,0) | 0,873 | 120,0 (112,5 - 137,5) | 130,0 (120,0 - 137,5) | 0,765 |
| PAd (mmHg) | 75,0 (70,0 - 80,0) | 80,0 (70,0 - 80,0) | 1,000 | 80,0 (70,0 - 80,0) | 80,0 (80,0 - 80,0) | 0,588 |
| Glicose (mg/dL)* | 98,5 (85,3 - 110,0) | 95,5 (84,0 - 130,8) | 0,755 | 109,0 (91,5 - 146,8) | 98,5 (87,5 - 124,8) | 0,037 |
| Insulina (µU/mL) | 9,4 (7,2 - 11,6) | 9,1 (7,5 - 12,8) | 0,380 | 12,7 (7,5 - 16,3) | 10,6 (6,3 - 16,4) | 0,556 |
| HOMA-IR | 3,5 (1,7 - 5,4) | 2,7 (1,5 - 4,7) | 0,328 | 2,5 (1,9 - 2,9) | 2,7 (1,7 - 3,2) | 0,505 |
| Colesterol total (mg/dL) | 210,5 (181,8 - 218,8) | 180,0 (159,5 - 197,8) | 0,043 | 207,0 (196,0 - 224,8) | 182,0 (153,8 - 203,5) | 0,010 |
| Triglicerídeos (mg/dL) | 118,0 (102,5 - 154,3) | 150,2 (102,8 - 180,5) | 0,060 | 154,5 (118,8 - 231,8) | 170,5 (119,3 - 232,0) | 0,594 |
| LDL-c (mg/dL) | 47,5 (42,0 - 54,0) | 19,5 (43,3 - 53,3) | 0,431 | 48,0 (36,8 - 63,0) | 45,0 (35,5 - 61,5) | 0,624 |
| HDL-c (mg/dL) | 135,0 (122,9 - 145,1) | 97,2 (82,1 - 128,2) | 0,002 | 125,6 (114,6 - 146,1) | 96,2 (71,8 - 121,0) | 0,092 |
| GGT (U/L)** | 27,0 (22,5 - 31,0) | 23,5 (19,0 - 28,3) | 0,036 | 39,5 (31,8 - 74,3) | 36,0 (25,5 - 62,8) | 0,018 |
| URCA (mg/dL) | 4,8 (4,7 - 6,5) | 4,9 (4,5 - 6,7) | 0,622 | 5,3 (4,0 - 6,4) | 5,3 (3,5 - 6,2) | 0,791 |
| Homocisteína* (µmol/mL) | 11,1 (9,3 - 14,4) | 10,1 (9,4 - 12,0) | 0,301 | 12,1 (10,4 - 14,7) | 11,5 (9,6 - 12,1) | 0,019 |

Teste de Wilcoxon. Os dados são expressos como mediana (25%-75%). CA: Circunferência Abdominal; IMC: Índice de massa corpórea; PAs: pressão arterial sistólica; PAd: pressão arterial diastólica; HOMA-IR: índice de resistência à insulina; GGT: gama GT; URCA: ácido úrico.

*Diferença entre os tratamentos (Leite fermentado vs não fermentado) Teste Mann-Whitney

**Baseline diferentes

6.2.1 Obesidade

Para avaliar alterações relacionadas à obesidade foram utilizados: medida da circunferência abdominal (CA) e índice de massa corpórea (IMC). Não houve redução significativa entre eles ($p > 0,05$) durante o período de estudo.

Alguns estudos *in vivo* usando modelos animais, principalmente roedores (LEE; PAEK; LEE; et al., 2007; TAKEMURA; OKUBO; SONOYAMA, 2010) e *in vitro* (PARK; AHN; HUH; et al., 2011) apresentaram um efeito positivo na redução da adipocidade pelo tratamento com diferentes cepas de *L. plantarum*. Mesmo assim permanecem não elucidados os mecanismos que resultam nas respostas encontradas por esses investigadores, particularmente em humanos.

Em um estudo envolvendo seres humanos, o *L. gasei* SBT2055 influenciou a redução de adiposidade abdominal e peso corporal. Os indivíduos ingeriram 200mL por dia de feite fermentado contendo 10^8 UFC/mL durante 12 semanas (KADOOKA; SATO; IMAIZUMI; et al., 2010), quantidade maior em um ciclo log da utilizada em nosso estudo.

Os voluntários foram aconselhados a manter seu estilo de vida normal, não tendo sido recomendado uma dieta específica ou atividade física regular. Esse fator pode ter influenciado o resultado, diferindo daquele encontrado por outros autores em modelos animais e *in vitro*, onde interferentes podem ser controlados.

6.2.2 Hipertensão

Não ocorreu diferença significativa na pressão sistólica (PAS) e diastólica (PAD) de ambos os grupos ($p > 0,05$).

Algumas bactérias lácticas usadas na produção de leite fermentado produzem polipeptídios que atuam inibindo a enzima conversora de angiotensina (ECA), resultando em uma resposta vasodilatadora e conseqüentemente reduzindo a pressão arterial (SEPPO; JUAHAINEM; POUSSA; et al., 2003; BOELSMA; KLOEK, 2010; CABELLO; HERRERA; ARTACHO, 2011; MCGRANE; ESSEY; OBBAGY, et al., 2011).

Pan e colaboradores (2005) demonstraram que *L. helveticus* produziram isoleucina-prolina-prolina (IPP) e valina-prolina-prolina (VPP), dois polipeptídios com ação inibitória na ECA, a partir de leite desnatado. Um estudo com 89 indivíduos verificou que a administração de leite fermentado com *L. helveticus* (contendo uma quantidade de 5mg/dia dos polipeptídeos citados acima), foi capaz de reduzir a pressão arterial em pacientes hipertensos após 12 semanas de tratamento. Porém os indivíduos que fizeram parte do grupo estudado não faziam uso de medicamentos anti-hipertensivo (JAUHAINEN; RONNBACK; VAPAALO; et al., 2010). Diferente do trabalho citado acima, dos 24 pacientes que concluíram o presente estudo, apenas 2 não faziam uso de anti-hipertensivo. Tais medicamentos podem ter mascarado uma possível ação do *L. plantarum* sobre a hipertensão.

Outros estudos não apresentaram melhora no quadro hipertensivo dos pacientes pela ação dos lactopeptídeos. Engberink (2008) e colaboradores avaliaram o comportamento de 135 hipertensos que não faziam uso de medicamentos para controlar a pressão arterial, frente a uma dose de 14mg/dia de IPP e VPP, durante um período de 8 semanas. Usinger e colaboradores (2010) acompanhou, durante o mesmo período de tempo, uma população de 94 hipertensos. Nesse estudo foi avaliando o efeito de leite fermentado com *L. helveticus* com uma dosagem de 4,7 mg/dia de IPP e VPP. Ambos os tratamentos não resultaram em redução significativa da pressão arterial nos indivíduos participantes.

Não é do nosso conhecimento estudos que relacionam a produção de polipeptídios por *L. plantarum*, assim como a ação desse probiótico na pressão arterial.

6.2.3 Dislipidemia

O perfil lipídico dos voluntários foi avaliado por meio dos seguintes parâmetros: colesterol total, triglicerídeos, HDL-c e LDL-c. Ocorreu redução significativa de colesterol total no grupo que foi tratado com *L. plantarum* ($p=0,01$) e uma tendência à redução de LDL-c ($p=0,09$). O grupo que ingeriu o leite não fermentado também apresentou redução significativa colesterol total ($p=0,04$) e LDL-c ($p=0,002$). Não houve diferença significativa entre os tratamentos ($p> 0,05$). Não foi detectada alteração significativa nos níveis de triglicerídeos e HDL-c ($p> 0,05$) nos dois grupos investigados.

Alguns estudos demonstraram bons resultados na melhora do perfil lipídico pela ingestão de produtos lácteos. Não se sabem quais compostos do leite são responsáveis por essa melhora, mas se sabe que esse efeito é mais pronunciado quando associado a uma bactéria probiótica (KIMOTO; OHMOMO; OKAMOTO, 2002; BEGLEY; HILL; GAHAN, 2006; PATEL; SINGHANIA; PANDEY; CHINCHOLKAR, 2010).

Algumas hipóteses têm sido citadas para explicar o mecanismo pelo qual os probióticos reduzem o colesterol. Sabe-se que algumas culturas são capazes de incorporar o colesterol em sua membrana celular, causando uma melhora no nível de colesterol sérico, uma vez que ele se torna indisponível para absorção sanguínea (KIMOTO; OHMOMO; OKAMOTO, 2002).

Algumas culturas produzem hidrolases de sais biliares. Aproximadamente 95% dos sais biliares são absorvidos no íleo. Sais biliares desconjugados são mais hidrofóbicos que sua forma conjugada, reduzindo a eficiência de reabsorção e tendo como consequência a excreção de maior quantidade de ácidos biliares livre nas fezes. Para

compensar essa perda, novos ácidos biliares são sintetizados, promovendo um aumento no consumo de colesterol e conseqüentemente uma redução do nível sérico (BEGLEY; HILL; GAHAN, 2006, PATEL; SINGHANIA; PANDEY; et al., 2010; CHANG; PARK; JANG; et al., 2011).

O cálcio e magnésio, minerais presentes no leite, também podem atuar na redução do colesterol. O cálcio está envolvido no mecanismo de absorção intestinal de colesterol. Atua ainda aumentando a perda de gordura pelas fezes, por meio de um mecanismo muito pouco conhecido (VASKONEM, 2003). O efeito do magnésio ainda não está elucidado, mas supõe-se que ele atua de forma semelhante ao cálcio. (MCGRANE; ESSEY; OBBAGY, et al., 2011).

Outros estudos em roedores tem sugerido o efeito hipocolesterolêmico de diferentes linhagens de *L. plantarum*. Nguyen e colaboradores (2007) verificaram o efeito hipocolesterolêmico em ratos, após 14 dias de ingestão da linhagem PH04, em uma concentração de 10^7 UFC por dia. Jeun e colaboradores (2010) avaliou a linhagem KCTK3928 em uma concentração de 109 UFC/dia, em 6 camundongos. Obtendo o mesmo resultado. Xie e colaboradores (2011) verificou redução significativa dos índices de colesterol total, LDL-c e triglicerídeos em ratos (n=40), após ingestão de 10^9 UFC da linhagem 9-41-A por 6 semanas. Kumar e colaboradores (2011) obteve o mesmo resultado ao estudar o comportamento de 30 ratos hipercolesterolêmicos, diante do tratamento com duas linhagem diferentes de *L. plantarum* (Lp 91 e Lp21), na mesma concentração (10^8 UFC), por um período de 3 semanas. O perfil lipídico dos estudos citados a cima foram avaliados no plasma ou soro sanguíneo.

6.2.4 Resistência à Insulina

Os parâmetros investigados incluíram avaliação dos níveis de glicose, insulina e HOMA-IR. Ocorreu uma redução significativa dos níveis de glicose apenas no grupo de pacientes tratados com o leite fermentado (p= 0,037), sendo significativa a diferença dos tratamentos (p =0,01) Não houve diferença significativa nos níveis séricos de insulina e HOMA-IR em ambos os grupos (p> 0,05).

Outras espécies de Lactobacilos, como *L. casei* e *L. acidophilus*, têm sido avaliados quanto a resistência à insulina. Naito e colaboradres (2011) obtiveram melhora no quadro de resistência à insulina em ratos (n=20) após 4 semanas de tratamento com *L. casei* (linhagem *Shirota* YIT). Outro grupo de pesquisadores avaliou o efeito do *L. acidophilus*

NCFM (1010UFC/dia) em 48 mulheres com diabetes tipo 2, durante o mesmo período, não obtendo melhora, ou seja o quadro de resistência à insulina foi preservado (ANDREASEN; LARSEN; SKOVSGAARD; et al., 2010).

Os relatos sobre a melhora no perfil glicêmico envolvendo *L. plantarum* são escassos na literatura. Kim e colaboradores (2012) estudou o efeito da ingestão, por 25 dias, de um extrato obtido de um produto fermentado a base de *ginseng* com *L. plantarum* KCCM 11322 (10^7 UFC), em ratos diabéticos; obtendo como resultado uma melhora da intolerância a glicose e a insulina. Porém estudos indicam que o *ginseng* possui substâncias anti-hiperglicemiante.

6.2.5 Marcadores Laboratoriais de Doenças Cardiovasculares

6.2.5.1 Homocisteína

Durante o período de 90 dias ocorreu redução significativa na concentração plasmática de homocisteína no grupo tratado com a bebida fermentada ($p= 0,02$). Nenhuma alteração significativa foi verificada no grupo controle ($p> 0,05$). Houve diferença significativa entre os tratamentos ($p<0,05$)

O nível plasmático de homocisteína é influenciado pela alimentação. A ingestão de açúcar e gorduras está associada com aumento na concentração, enquanto que o consumo de leite, vegetais e frutas está associado com uma redução. Isso se deve ao fato de que esses alimentos são uma fonte moderada de folatos (SYBESMA; STARRENBURG; TIJSSELING; et al., 2003; KONSTANTINOVA; VOLLSET; BERSTAD, et al., 2007). Sabe-se que o consumo de folatos está associado à redução de homocisteína (CHMURZYNSKA; MALINOWSKA; RAJEWSKA; et al., 2012).

O folato é um fator chave para o metabolismo da homocisteína. Funciona como um cofator para a metionina sintetase, enzima que atua convertendo a homocisteína em metionina. Assim, uma dieta pobre em folato pode resultar em acúmulo de homocisteína no sangue (BLOM; SMULDERS, 2011).

Produtos lácteos fornecem de 20 a 50 μ g de folato por litro. Quando o leite é fermentado essa quantidade aumenta para 110 μ g. Esse acréscimo está diretamente relacionado com a ação de bactérias lácticas (SYBESMA; STARRENBURG; TIJSSELING; et al., 2003).

Algumas bactérias lácticas do gênero *Lactococcus*, *Leuconostoc* e *Streptococcus* são capazes de biossintetizar folato. Dentre o gênero *Lactobacillus*, apenas o *L. plantarum* possui essa atividade (LIN; YOUNG, 2000; SYBESMA; STARRENBURG; TIJSSELING, 2003, NOR; MOHAMAD; FOO, et al. 2010).

6.2.5.2 Gama glutamil transferase (GGT)

A redução de GGT foi verificada tanto no grupo que ingeriu a bebida fermentada ($p=0,018$) quanto no grupo controle ($p=0,036$). Não havendo diferença significativa entre os tratamentos ($p>0,05$).

Estudos que relatam a interferência de probióticos e/ou leite fermentado na concentração plasmática de GGT são escassos na literatura. Kirpich e colaboradores (2008) verificaram uma redução dos níveis de GGT após 5 dias de suplementação com *Bifidobacterium bifidum* (10^9 UFC) e *L. plantarum* (10^8 UFC), em um estudo realizado com 66 mulheres dependentes de álcool. Wakita (2010) e colaboradores acompanharam um grupo de 23 consumidores de bebidas alcoólicas, por 56 dias, obtendo redução de GGT no final do tratamento por ingestão *L. brevis* (10^{10} UFC).

6.2.5.3 Ácido úrico

Não houve redução significativa de ácido úrico ($p > 0,05$), nos dois grupos avaliados, tão pouco houve diferença significativa entre os tratamentos ($p>0,05$).

6.3 PARÂMETROS IMUNOLÓGICOS

Para avaliação dos parâmetros imunológicos foram dosados os teores de IL-6, TNF α , adiponectina e leptina. Houve redução significativa de IL-6 tanto no grupo que ingeriu a bebida fermentada ($p= 0,002$) quanto no que ingeriu a bebida sem fermentar ($p= 0,03$). Não havendo diferença significativa entre os tratamentos ($p>0,05$). Redução de adiponectina ($p= 0,011$) também foi verificada no grupo que ingeriu a bebida fermentada. Para os demais parâmetros não foi encontrada alteração significativa ($p> 0,05$) (Tabela 5).

Tabela 5 – Resultado da análise estatística dos parâmetros imunológicos

| Parâmetro | Grupo do leite não fermentado (n = 12) | | | Grupo do leite fermentado (n = 12) | | |
|---------------|---|-----------------------|-------|---------------------------------------|-----------------------|-------|
| | T0 | T90 | p | T0 | T90 | p |
| IL-6 | 78,2 (24,0 - 118,7) | 10,0 (5,2 - 60,0) | 0,032 | 53,4 (20,4 - 121,9) | 15,4 (7,8 - 30,1) | 0,002 |
| TNF- α | 92,4 (56,7 - 120,5) | 2,0 (2,0 - 58,9) | 0,175 | 98,4 (73,1 - 120,9) | 95,7 (2,0 - 111,8) | 0,622 |
| Adiponectina | 5,6 (4,4 - 9,5) | 4,6 (4,2 - 8,5) | 0,365 | 5,2 (3,2 - 8,9) | 3,1 (2,3 - 4,3) | 0,011 |
| Leptina | 22,8 (19,0 - 31,1) | 44,1 (22,4 - 53,4) | 0,123 | 23,5 (18,7 - 40,4) | 27,2 (23,9 - 42,8) | 0,970 |

Teste de Wilcoxon. Os dados são expressos como mediana (25%- 75%). IL-6: Interleucina - 6; α : Fator de necrose tumoral α .

Níveis elevados de IL-6 estão relacionados com a resistência à insulina. Essa substância atua fosforilando os receptores de insulina no músculo esquelético, diminuindo sua captação e aumentando a concentração de glicose no sangue (MAGGIO; GURALNIK; LONGO, et al., 2006).

Estudos em roedores mostraram resultados distintos em quatro semanas de tratamento para duas linhagens de lactobacilos. A administração de *L. acidophilus* não apresentou redução significativa (ANDREASEN; LARSEN; SKOVSGAARD; et al., 2010) enquanto que a ingestão de *L. gasseri* resultou em uma redução significativa dos níveis de IL-6 (SATO; UZU; YOSHIDA; et al., 2008).

A adiponectina possui ação protetora. Baixos teores são associados à obesidade e resistência a insulina (KO; SO; TONG; et al., 2010; ELISHA; KARELIS; IMBEAULT; LHORET, 2010).

Estudos com leite fermentado contendo *L. gasseri* apresentaram diferentes resultados em ratos e humanos. Sato e colaboradores (2008) avaliou adiponectina em ratos, não encontrando aumento significativo após 4 semanas de tratamento, Kakota e colaboradores (2010) estudou o comportamento dessa citocina em 45 humanos obesos. Após 12 semanas de tratamento foi relatado um aumento de adiponectina e redução da gordura abdominal no grupo tratado com *L. gasseri* em relação ao grupo controle.

O tempo de tratamento do leite fermentado com *L. plantarum* foi o mesmo de Kakota e colaboradores, porém não ocorreu redução significativa da circunferência abdominal e IMC e houve redução de adiponectina. Sabe-se que a concentração sérica é inversamente proporcional ao tecido adiposo visceral (HERMDORFF; MONTEIRO, 2004).

Não houve redução significativa ($p > 0,05$) dos teores de α nos voluntários tratados com o *L. plantarum* durante as 12 semanas de tratamento. Axling e colaboradores (2012) estudaram a ação desse probiótico (associado a chá verde em pó) em camundongos sobre o α durante 22 semanas. Análises feitas no tempo de 11 semanas não apresentou redução significativa, só podendo ser verificada no final das 22 semanas. Roedores suplementados apenas com o probiótico não apresentaram redução de marcadores inflamatórios. Outro estudo, também em camundongos, conseguiu resultados positivos em 8 semanas utilizando uma mistura de bactérias probióticas (*bifidobacteria*, *lactobacilli* e *S. thermophilus*) (MA; HUA; LI, 2008).

7 CONCLUSÃO

Houve redução significativa dos índices de glicose, homocisteína, colesterol total, GGT, IL-6 e uma tendência de redução de LDL-c nos indivíduos com SM, tratados por 90 dias, com o leite fermentado; indicando ação positiva do *Lactobacillus plantarum* sobre os mesmos.

Reduções de colesterol total, LDL-c, GGT e IL-6 também foram observadas no grupo que ingeriu o leite não fermentado.

Os dois tratamentos foram capazes de apresentar efeitos benéficos nos fatores de risco cardiovasculares associados a SM em humanos. Novos estudos deverão ser realizados incluindo um grupo controle sem qualquer intervenção para avaliar a ingestão alimentar.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALBERT, K.G.M.M.; ECKEL, R. H.; GRUND, S. M.; ZIMMET, P. Z.; CLEEMAN, J. I.; DONATO, K. A.; FRUCHART, J. C.; JAMES, W. P. T.; LORIA, C. M.; SMITH, C. J. Harmonizing the Metabolic Syndrome. A Joint Interim Statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity **Circulation**. v. 120, p. 1640-1645, 2009.
2. ALONSO, A. BEUNZA, J. J., RODRIGUÉZ, M. D.; MARTINÉZ, J. A.; GONZÁLEZ, M. A. M. Low-fat dairy consumption and reduced risk of hypertension: the seguimiento university de Navarra (SUN) cohort. **Am J Clin Nutr**, v. 82, p. 972-979, 2005.
3. ANDREASEN, A. S.; LARSEN, N.; SKOVSGAARD, T. P.; BERG, R. M. G.; MOLLER, K.; SVENDSEN, K. D.; JAKOBSEN, M. ; PEDERSEN, B. K. Effects of *Lactobacillus acidophilus* NCFM on insulin sensitivity and the systemic inflammatory response in human subjects. **Brit J Nutr**. v. 104, p. 1831- 1838, 2010.
4. ANDREASEN, A. S.; LARSEN, N. SKOVSGAARD, T. P.; BERG, R. M. G.; MOLLER, K.; SVENDSEN, K. D.; JAKOBSEN, M. PEDERSEN, B.K. Effects os *Lactobacillus acidophilus* NCFM on insulin resistance and the systemic inflammatory response in human subjects. **Brit J Nutr**. v.104, p. 1831- 1838, 2010.
5. ANTUNES, H.; SANTOS, C.; CARVALHO, S. Serum leptin levels in overweight children and adolescents. **Brit J Nutr**. v. 101, p. 1262-1266, 2009.
6. ANVISA - AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Legislação. VisaLegis. Resolução RDC n. 2, de 07 de janeiro de 2002. Aprova o regulamento técnico de substâncias bioativas e probióticos isolados com alegação de propriedades funcional e ou de saúde. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/2002/02_02rdc.htm>. Acesso em: 20 de fevereiro de 2013.
7. ANVISA- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Alimentos com alegações de propriedades funcionais e ou de saúde, novos alimentos/ ingredientes, substâncias bioativas e probióticos: lista de alegações de propriedade funcional aprovadas. Atualizado em julho, 2008. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno_lista_alega.htm>. Acesso em: 20 de fevereiro de 2013.
8. AZADBAKHT, L.; MIRMIRAN, P.; ESMAILLZADEH, A.; AZIZI, F. Dairy consumption is inversely associated with the prevalence of the metabolic syndrome in Tehranian adults. **Am J Clin Nutr**, v. 82, p. 523-530, 2005.
9. BARBA, G.; TROIANO, E.; RUSSO, P.; VENEZIA, A. SIANI, A. Inverse association between body mass and frequency of Milk consumption in children. **Brit J Nutr**. v. 93, p. 15-19, 2005.

10. BARBOSA, J. B. B.; LESSA, I.; FILHO, N. A.; MAGALHÃES, L. B. N. C.; ARAÚJO, J. Critério de obesidade central em população brasileira: impacto sobre a síndrome metabólica. **Arq. Bras. Cardiol.** p. 407-4014, 2006.
11. BEGLEY, M.; HILL, C.; GAHAN, C. G. M. Bile salt hydrolase activity in probiotics. **Appl. Environ. Microbiol.**, v.72, n°. 3, p. 1729-1738, 2006.
12. BELTOWSKI, J. Leptin and atherosclerosis. **Atherosclerosis.** v. 189, p. 47-60, 2006.
13. BLOM, J. H.; SMULDERS, Y. Overview of homocysteine and folate metabolism. With special references to cardiovascular disease and neural tubes defects. **J Inherit Metab Dis.** v.34, p. 75-81, 2011.
14. BOELSMA, E.; KLOEK, J. IIP-rich milk protein hydrolysate lowers blood pressure in subjects with stage 1 hypertension, a randomized controlled trial. **J Nutr.** v.52, no 9, p. 1-7, 2010.
15. BOGSAN, C. S. B.; FLORENCE, A. C. R.; PERINA, N.; BARBUTI, R. C.; RODRIGUEZ, T. N.; EISIG, J. N.; OLIVEIRA, M. N. Probiotics intake and metabolic syndrome: a proposal. **Fod sci technol.** p. 1-8, 2011.
16. BOURLIOUX, P.; KOLETZKO, B.; GUANER, F.; BRAESCO, V. The intestine and its microflora are partners for the protection of the host: report on the Danone Symposium “The intelligent intestine” held in Paris. June 14, 2002 **Am J Clin Nutr.** v. 78, p. 675-683, 2003.
17. BOVE, P.; GALLONE, A.; RUSSO, P.; CAPOZZI, V.; ALBENZIO, M. SPANO, G.; FIOCCO, D. Probiotic features of *Lactobacillus plantarum* mutant strains. **J Appl Microbiol.** v. 96, p. 431-441, 2012.
18. BRACKHED, F. DING, H. WANG, T. HOOPER, L. V.; KOH, G. Y.; NAGY, A.; SEMENKOVICH, C. F.; GORDON, J. I. The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. **Proc Natl Acad Sci.** v. 101, p. 15718- 15723, 2004.
19. BRANDT, K. G.; SAMPAIO, M. M. C.; MIUKI, C. J. Importância da microflora intestinal. **Pediatria (São Paulo)**, v. 28, p. 117-127, 2006.
20. BREE, A.; VERSCHUREN, W. M.; KROMHOUT, D.; KLUIJTMANS, L. A. J.; BLOM, H. J. Homocysteine determinants and the evidence to what extent homocysteine determines the risk of coronary heart disease. **Pharmacol Rev.** v. 54, p. 599-618, 2002.
21. BUJALANCE, C.; MORENO, E.; VALERA, M.; BRAVO, A. A probiotic strain of *Lactobacillus plantarum* stimulates lymphocyte responses in immunologically intact and immunocompromised mice. **Int J Food Microbiol.** v. 113, p. 28 -34, 2007.
22. CABELLO, I. R.; HERRERA, M. O.; ARTACHO, R. Possible role of Milk-derived bioactive peptides in the treatment and prevention of metabolic syndrome. **Nutrition Reviews.** v. 70, no 4, p. 241-255, 2011.
23. CARRUTH B. R; SKINNER, J.D. The role of dietary calcium and other nutrients in moderating body fat in preschool children. **Int J Obesity**, v. 25, p. 559-566, 2001.

24. CHANG, B. J.; PARK, S. U.; JANG, Y. S.; KO, S. H.; JOO, N. M.; KIM, C. H.; CHANG, D. K. Effect of functional yogurt NY-YP901 in improving the trait of metabolic syndrome. **Euro J of Clin Nutr**. v. 65, p. 1250-1255, 2011
25. CHMURZYNKA, A.; MALINOWSKA, A. M.; RAJEWSKA, J. T. Elderly women: homocysteine reduction by short-term folic acid supplementation resulting in increased glucose concentrations and affecting lipid metabolism (C677T polymorphism) **Nutrition**. p. 1-4, 2012.
26. CHMURZYNSKA, A. MALINOWSKA, A. M.; RAJEWSKA, J. T.; GAWECKI, A. Elderly women: homocysteine reduction by short-term folic acid supplementation resulting in increase glucose concentration and affecting lipid metabolism. **Nutrition**. p.1-4, 2012.
27. CHUANG, S. Y.; CHEN, J. H.; YEH, W. T.; WU, C. C.; PAN, W. H. Hyperuricemia and increased risk of ischemic heart disease in a large Chinese cohort. **Int J Cardiol**. v. 154, p. 316- 321, 2012.
28. COLLINS, M. D; GIBSON, G. R. Probiotics, prebiotics and symbiotics: approaches for modulating the microbial ecology of the gut. **Am J Clin Nutr**, v. 69, p. 1052S-1057S, 1999.
29. COMBS, T. P.; BERG, A. H.; RAJALA, M.W.; KLEBANOV, S.; IYNGAR, P.; CHILLARON, J. C .J.; PATTI, M. E.; KLEIN, S. L. WEINSTEIN, R. S. SCHERER, P. E. Sexual differentiation, pregnancy, calorie restriction, and aging affect the adipocyte-specific secretory protein adiponectina. **Diabetes**. v. 52, p. 268 – 276, 2003.
30. CONNELLY, P. *Lactobacillus plantarum* – A literature review of therapeutic benefits. **J Austr Tradic Med Society**.v.14, p. 79 - 82, 2008.
31. CORREIA, M. L. G.; RAHMOUNI, K. Role of leptin in the cardiovascular and endocrine complications of metabolic syndrome. **Diabetes, Obes Metab** v. 8, p. 603-610, 2006.
32. DANDONA, P.; ALJADA, A.; CHAUDHURI, A. MOHANTY, P.; GARG, R. Metabolic syndrome. A comprehensive perspective based on interaction between obesity, diabetes, and inflammation. **Circulation**. v. 111, p. 1448-1454, 2005.
33. DANIELZIK, S. P.; LANDSBERG, B.; JOHANNSEN, M.; LANGE, D.; MULLER, M. J. Association of different obesity indices with blood pressure and blood lipids in children and adolescents. **Brit J Nutr**. v. 100, p. 208-218, 2008.
34. DEJONGH, E. D.; BINKLEY, T. L.; SPECHER, B. L. Fat mass gain is lower in calcium-supplemented than in unsupplement preschool children with low dietary calcium intakes. **Am J Clin Nutr**. v. 84, p. 1123-1127, 2006.
35. DIXON L. B.; PELLIZZON, M. A.; JAWAD, A. F.; TERSHAKOVEC, A. M.; Calcium and dairy intake and measures of obesity in hyper- and normocholesterolemic children. **Obes. Res**. v. 13, no 10, p. 1727- 1738, 2005.
36. DJOUSSÉ, L.; PANKOW, J. S.; HUNT, S. C.; HEISS, G.; PROVINCE, M. A.; KABAGAMBE, E. K; ELLISON, R. C. Influence of saturated fat and linolenic acid on

- the association between intake of dairy products and blood pressure. **Circulation**, v. 48, p. 335-341, 2006.
37. DONG,Z.; ZHANG, J.; LEE, B.; DU, G.; CHEN, J. A bile salt gene of *Lactobacillus plantarum* BBE7 with high cholesterol removing activity. **Eur Food Res Technol**. v. 235, p. 419 -127, 2012.
 38. DROGE, W. Free radicals in the physiological control of cell function. **Physiol Rev**. v.82, p. 47-95, 2002.
 39. ECKEL, R. H.; ALBERT, K. G. M. M.; GRUNDY, S. M.; ZIMMET, P. Z. The metabolic syndrome. **The Lancet**, v. 365, p. 181-183, 2010.
 40. ELINSON, N.; AMICHAY, D.; BIRK, R. Z. Leptin directly regulates exocrine pancreas lipase and two related proteins in the rat. **Brit J Nutr**. v. 96, p. 691-696, 2006.
 41. ELISHA, B.; KARELIS, A. D.; IMBEAULT, P.; LHORET R. R. Effects of acute hyperinsulinaemia on total and high-molecular-weight adiponectin concentration in metabolically healthy but obese postmenopausal women. **Diabetes and Metabolism**. v. 36, p. 319- 321, 2010.
 42. EL-ZAYADI, A. R. Insulin Resistance. **Arab Journal of Gastroenterology**. v.11, p. 66-69, 2010.
 43. ENGBERINK, M., F.; SCHOUTEN, E. G.; KOK, F. J.; MIERLO, L. A. J.; BROUWER, M.G. Lactotripeptides show no effect on human blood pressure. Results from a Double-blind randomized controlled trial. **Hypertension**. v. 51, p. 399-405, 2008.
 44. ESTEVE, E.; VILLEUENDAST, G.; MALLOLAS, J. VENDRELL, J. BERMEJO, A. L.; RODRIGUEZ, M. RECASENS, M. RICART, W. MILLAN, J. L. S. MORREALET, H. E.; RICHARD, C. REAL, J. M. F. Polymorphisms in the enterleukin-6 receptor gene are associated with body mass index and with characteristics of the metabolic syndrome. **Clin Endocrinol** . v. 65, p. 88-91, 2006.
 45. FILHO, G. B.; Bogliolo Patologia. 8ª edição, Editora Guanabara Koogan LTDA, Rio de Janeiro RJ, p. 90-96; 368-374; 500-504, 2011.
 46. FONSECA-ALANIZ M. H.; TAKADA, J.; ALONSO-VALE, M. I. C.; LIMA, F. B. Tecido adiposo como centro regulador do metabolismo. **Arq Bras de Endocrinol Metab**, v. 50, nº 2, p. 216-229, 2006.
 47. FRASER, A.; HARRIS, R.; SATTAR, N.; EBRAHIM, S.; SMITH, G. D.; LAWLOR, D. A. Gamma glutamyltransferase is associated with incident vascular events independently of alcohol intake. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**. v. 27, p. 2729 -2735, 2007.
 48. FRECE, J.; KOS, B.; BEGANOVIC, J.; VUKOVIC, S.; SUSKOVIV, J. In vivo testing of functional properties of three selected probiótico strains. **World J Microb Biot**, v. 21, p. 1401- 1408, 2005.
 49. FRIC, P. Probiotics and prebiotics – renaissance of a therapeutic principle. **Cen Eur J Med**, v. 2, p. 237-270, 2007.

50. GIORGINO, F.; LAVIOLA, L.; ERIKSSON, J. W. Regional differences of insulin action in adipose tissue: insights from *in vivo* and *in vitro* studies. **Acta Physiol Scand**, v. 183, p. 13-30, 2005.
51. GRUNDY, S. M.; BREWER, H. B.; CLEEMAN, J. I.; SMITH, S. C.; LENFANT, C. Definition of metabolic syndrome. Report of the National heart, lung and blood institute/American Heart Association Conference on Scientific Issues Related to Definition. **Circulation**, v. 109, p. 433-438, 2004.
52. GRUNDY, S. M.; CLEEMAN, J. I.; DANIELS, S. R.; DONATO, K. A.; ECKEL, R. H.; FRANKLIN, B. A.; GORDON, D. J.; KRAUSS, R. M.; SAVAGE, P. J.; SMITH, S. C.; SPERTUS, J. A.; COSTA, F. Diagnosis and management of the metabolic syndrome an American heart association/ national, lung and blood institute scientific statement. **J Amer heart association**. v. 112, p. 285-290, 2005.
53. GUIMARÃES, D. E. D.; SARDINHA, F. L. C.; MIZURINI, D. M.; CARMO, M. G. T. Adipocitocinas: uma nova visão do tecido adiposo. **Rev Nutr**, v. 20 p. 549-559, 2007.
54. HAN, T. S.; LEAN, M. E. J. Metabolic syndrome. **Arq Bras Cardiol**. v. 39, no1, p. 24-31, 2010 SBC- Sociedade Brasileira de Cardiologia. IV Diretriz sobre dislipidemias e prevenção da arterosclerose. Departamento da arterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia. Arquivos Brasileiros de Cardiologia. v. 88, Supl. I, 2007.
55. HANSEL, B. H.; GIRAL, P.; NOBECOURT, E.; CHANTEPIE, S.; BRUCKERT, E.; CHAPMAN, M. J.; KONTUSH, A. Metabolic syndrome is associated with elevated oxidative stress and dysfunctional dense high density lipoprotein particles displaying impaired antioxidant activity. **J Clin Endocrinol Metab**. v. 89, p. 4963 – 4971, 2004.
56. HARNDEN, K. E.; FRAYN, K. N.; HODSON, L. Dietary approaches to stop hypertension (DASH) diet? Applicability and acceptability to a UK population. **J Nutr Diet**. v. 23, p. 3-10, 2009.
57. HERMANSEN, K. Diet, blood pressure and hypertension. **Brit J Nutr**, v. 83, p. 113-119, 2000.
58. HERMDORFF, H. H. M.; MONTEIRO, J. B. R. Gordura visceral, subcutânea ou intramuscular: Onde está o problema? **Arq Bras de Endocrinol**, v. 48, no. 6, p. 803-811, 2004.
59. Homocysteine Studies Collaboration. Homocysteine and risk of ischemic heart disease and stroke: a meta-analysis. **JAMA**. v. 288, p. 2015-2022, 2002.
60. HUMPHREY, L. L.; FU, R.; ROGERS, K.; FREEMAN, M.; HELFAND, M. Homocysteine level and coronary disease incidence: a systematic review and meta-analysis. **Mayo Clin Pro**. v. 83, p. 1203-1212, 2008.
61. HWANG, A.; LIN, Y.; LIU, P.; KAO, Y.; CHEN, J. Synergistic effect of gamma glutamyltransferase and obesity on metabolic syndrome, independent of hepatic steatosis. **Annals of Epidemiology**. v.22, p. 876 – 880, 2012.

62. HYDRIE, M. Z. I.; BASIT, A.; SHERA, A. S.; HAKEEN, R.; HUSSAIN, A. Dietary patterns associated with risk for metabolic syndrome in urban community of defined by cluster analysis. **Pakistan Journal of Nutrition**. v. 9, p. 93-99, 2010.
63. IDF- International Diabetes Federation. The IDF consensus worldwide definition of the metabolic syndrome, 2006.
64. JAUHAINEN, T.; RONNBACK, M.; VAPAALO, H.; WUOLLE, K.; KAUTIANINEM, H.; GROOP, P. Long-term intervention with *Lactobacillus helveticus* fermented milk reduces augmentation index in hypertensive subjects. **Euro J of Clin Nutr**. v. 64, p. 424-431, 2010.
65. JEUN, J.; KIM, S.; CHO, S.; JUN, H.; PARK, H.; SEO, J.; CHUNG, M.; LEE, S. Hypocholesterolemic effects of *Lactobacillus plantarum* KCTC3928 by increase bile acid excretion in C57BL/ mice. **Nutr**. v.26, p. 321- 330, 2010.
66. KADOOKA, Y. SATO, M. IMAIZUMI, K. OGAWA, A. IKUYAMA, K. AKAI, Y. OKANO, M. KAGOSHIMA, M. TSUCHIDA, T. Regulation of abdominal adiposity by probiotics (*Lactobacillus gassei* SBT2055) in adults with obese tendencies in randomized controlled trial. **Eur J Clin Nutr** v. 64, p. 636-643, 2010.
67. KADOOKA, Y.; IMAIZUMI, K. OGAWA, A.; IKUYAMA, K.; AKAI, Y.; OKANO, M.; KAGOSHIMA, M.; TSUCHIDA, T. Regulation os abdominal adiposity by probiotics (*Lactobacillus gassei* SBT2055) in adults with obese tendencies in a randomized controlled trial. **Eur J Clin Nutr**. v. 64, p. 636 -643, 2010.
68. KATZMARZYK, P. T.; JANSSEN, I.; ROSS, R.; CHURCH, T. S.; BLAIR, S. N. The importance of waist circumference in the definition of metabolic syndrome. **Diabetes Care**, v. 29, no 2, p. 404-409, 2006.
69. KIM, S. T.; KIM, H. B.; LEE, K. H.; CHOI, Y. R.; KIM, H. J.; SHIM, I. S.; GYOUNG, Y. S.; JOO, S. S. Steam dried ginseng berry fermented with *Lactobacillus plantarum* controls the increase of blood glucose and body weight in type 2 obese diabetic db/db mice. **J Agric Food Chem**. v. 60, p. 5438 -5445, 2012.
70. KIM, S. Y.; GUEVARA, J. P.; KIM, K. M.; CHOI, H. K.; HEITJAN, D. F.; ALBERT, D. A. Hypeuricemia and coronary heart disease: a systematic review and meta-analysis. **Arthritis Care**. v. 62, no2, p. 170-180, 2010.
71. KIM, S. Y.; GUEVARA, J. P.; KIM, K. M.; CHOI, H. K.; HEITJAN, D. F.; ALBERT, D. A. Hypeuricemia and risk of stroke: a systematic review and meta-analysis. **Arthritis Rheum**. v. 61, no7, p. 885 - 892, 2009.
72. KIMOTO, H.; OHMOMO, S.; OKAMOTO, T. Cholesterol removal from media by *Lactococci*. **J Dairy Sci**, v. 85, p. 3182-3188, 2002.
73. KIMOTO, H.; OHMOMO, S.; OKAMOTO, T. Cholesterol Removal from media by *Lactococci*. **J Dairy Sci**. v. 85, p. 3182-3188, 2002.
74. KING, G. A.; DEEMER, S. E.; THOMPSON, D. L. Adiponectine is associated with risk of the metabolic syndrome and insulin resistance in women. **Acta Diabetol.**, 2010.

75. KIRPICH, I. A.; SOLOVIERA, N. V.; LEIKHTER, S. N.; SHIDAKOVA, N. A.; LEBEDEVA, O. V.; SIDOROV, P. I.; BAZHUKOVA, T. A.; SOLOVIEV, A. G.; BRAVE, S. S.; MCCLAIN, C. J.; CAVE, M. Probiotics restore bowel flora and improve liver enzymes in human alcohol induced liver injury: a pilot study. **Alcohol**. v. 42, p. 675 – 682, 2008.
76. KLEIN, S.; ALLISON, D. B.; HEYMSFIELD, S. B.; KELLEY, D. E.; LEIBEL, R. L.; NONAS, C.; KAHN, R. Waist circumference and cardiometabolic risk: a consensus statement from shaping America's health: association for weight management and obesity prevention; NAASO, the Obesity society; the American Society for Nutrition; and the American Diabetes Association. **Obesity**, v. 15, no 5, p.1061- 1067, 2005.
77. KO, C. T. C.; SO, W. Y.; TONG, P.; MA, R. C.; KONG, A. P.; OZAKI, R.; YANG, X.; HO, C. S.; LAM, C. W.; CHAM, J. C. Hypoadiponetaemia enhances waist circumference as a predictor of glucose intolerance and clustering of risk factors in Chinese men. **Diabetes and Metabolism**. v. 36, p. 192 – 197, 2010.
78. KONSTANTINOVA, S. V.; VOLLSET, S. E.; BERSTAD, P. UELAND, P. M.; DREVON, C. A.; REFSUM, H. TELL, G. S. Dietary predictors of plasma total homocysteine in the Hordaland Homocysteine Study. **Br J Nutr**. v. 98, p. 201-210, 2007.
79. KUMAR, R. GROVER, S. BATISH, V. K. Hypocolesterolaemic effect of dietary inclusion of two putative probiotic bile salt hidrolases-producing *Lactobacillus plantarum* strains in Sprague-dawley rats. **Brit J Nutr**. v. 105, p. 561-573, 2011.
80. LAZZERU, C.; VALENTE, S. CHIOSRTI, M. PICARIELL, C. GENSINI, G. F. Uric acid in the early risk stratification of AT-elevation myocardial infarction. **Internal and Emergengy Medicine**. v. 7, p.33- 39, 2010.
81. LEE, D. S.; EVANS, J. C.; ROBINS, S. J.; WILSON, P. W.; ALBANO, I.; FOX, C. S.; WANG, T. J.; BENJAMIN, E. J. AGOSTINHO, R. B.; VASAN, R. S. Gamma glutamyl transferase and metabolic syndrome, cardiovascular disease, and mortality risk. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**. v. 27, p. 127- 133, 2007.
82. LEE, K.; PAK, K. LEE, H. Y.; PARK, J.H.; LEE, Y. Antiobesity effect of trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid-induced obese mice. **J Appl Microbiol**. v. 103, p. 1140-1146, 2007.
83. LEITE, C. C.; HALPERN, A. Síndrome metabólica e diabetes melito. **Rev Bras Hipertens**, v. 12, no 3, p. 165-168, 2005.
84. LEY, R. E.; BACKHED, F.; TURNBAUGU, P.; LOZUPONE, C. A.; KNIGHT, R. D.; GORDON, J. I. Obesity alters gut microbial ecology. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, v. 102, no 31, p. 11070-11075, 2005.
85. LIN, M. Y.; YOUNG, C. M. Folate levels in cultures of lactic acid bacteria. **Int Dairy J** v.10, p. 409-413, 2000.
86. LIN, Y. C., LYLE, R. M.; MCCABE L, D.; MCCABE G, P.; WEAVER, C. M.; TEEGARDEN, D. Dairy calcium is related to changes in body composition during a

- two-year exercise intervention in young women. **J Am Coll Nutr**, v. 19, no 6, p. 754-760, 2000.
87. LOPES, H. F. Hipertensão arterial e síndrome metabólica: além da associação. **Rev Soc Cardiol**. Estado de São Paulo, v. 13 p. 64-77, 2003.
88. LUSIS, A. J.; ATTIE, A. D.; REUE, K. Metabolic syndrome: from epidemiology to systems biology. **Nat Rev Genet**. v. 9, p. 819- 830, 2008
89. MA, X.; HUA, J.; LI, Z. Probiotics improve high fat diet-induced hepatic steatosis and insulin resistance by increasing hepatic NKT cells. **Journal of Hepatology**. v.49, p. 821 – 830, 2008.
90. MAGGIO, M.; GURALNIK, J. M.; LONGO, D. L.; FERRUCCI, L. Interleukin-6 in aging and chronic disease: a magnificent pathway. **J Gerontol**. v. 61A, nº6, p 575-584, 2006.
91. MAHAN L. K.; SLEEMP, S. E. Alimentos, nutrição e dietoterapia. 9 e. Editora Roca, São Paulo, p. 569-582, 1998.
92. MALAGO, J. J.; KONINKX, J. F. J. G.; MARINSEK-LOGAR, R. Probiotic Bacteria and Enteric Infectiona. London: Springer, 2011.
93. MALINOWSKA, A.; CHMURZYNSKA, A. Polymorphism of genes encoding homocysteine metabolism-related enzymes and risk for a cardiovascular disease. **Nutrition**. v. 29, p.685-695, 2009.
94. MANNA, T. D.; DAMIANI, D.; SETIAN, N. Síndrome metabólica: uma revisão. **Pediatria (São Paulo)**, v. 28, p. 272-277, 2006.
95. MANZONI, M. S. J.; CAVALLINI, D. C. U.; ROSSI, E. A. Efeitos do consumo de probióticos nos lípidos sanguíneos. **Alim. Nutr.**, v. 19, no 3, p. 351-360, 2008.
96. MAPA- Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Sislegis. Instrução Normativa no 16, de 23 de agosto de 2005. Regulamento técnico de identidade e qualidade de bebida láctea. Disponível em <http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=12792>. Acesso em 21 de fevereiro de 2013.
97. MASON, J. E.; STARKE, R. D.; KIRK, J. E. V. Gamma-glutamyl transferase: a novel cardiovascular risk biomarker. **Prev Cardiol**. v.13, p. 36-41, 2010.
98. MCGRANE, M. M.; ESSEY, E. OBBAGY, J. LYON, J. MACNEIL, P. SPAHN, J. HORN, L. V. Dairy consumption, blood pressure, and risk of hypertension: an evidence-based review of recent literature. **Curr Cardiovasc Risk Rep**. v. 5, p. 287-298, 2011.
99. MELÉNDEZ, G. V.; GAZZINELLI, A.; OLIVEIRA, R. C.; PEMENTA, A. M.; KAC, G. Prevalence of metabolic syndrome in a rural área of Brazil. **São Paulo Med J**. v. 125, p. 155- 162, 2007.
100. NAITO, E.; YOSHIDA, Y. MAKINO, K. KOUNOSHI, Y. KUNIHIRO, S. TAKAHASHI, R, MATSUZAKI, T. MIYAZAKI, K. ISHUIKANA, F. Beneficial effect

- of oral administration of *Lactobacillus casei* strain Shirota on insulin resistance in diet-induced obesity mice. **J Appl Microbiol.** v. 110, p. 650-657, 2011.
101. 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 n°02-5215, 2002.
 102. NGUYEN, T. D. T.; KANG, J. H.; LEE, M. S. Characterization of *Lactobacillus plantarum* PH04, a potential probiotic bacterium with cholesterol-lowering effects. **Int J Food Microbiol.** v. 113, p. 358- 361, 2007.
 103. NOR, N. M.; MOHAMAD, R.; FOO, H. L.; RAHIM, R. A. Improvement of folate biosynthesis by lactic acid bacteria using response surface methodology. **Food Technol Biotechnol.** v. 48, p. 243-250, 2010.
 104. OIKONEM, M. SAARENHOVI, M. W.; LYYTITAINEN, L. SIITONEN, N. LOO, B. M.; JULA, A.; SEPPALA, I.; SAARIKOSKI, L.; LETIMAKI, T.; KAHONEN, N. H.; JUONALA, M. KAHONEN, M. HUUPPONEN, R.; VIKARI, J. S. A.; RAITAKARI, O. T. Association between serum uric acid and markers of subclinical atherosclerosis in young adults. The cardiovascular risk in young finns study. **Atherosclerosis.** v.223, p. 497 – 503, 2012.
 105. OLIVEIRA, C.; MATTOS, M. B. M.; BIZ, C.; OYAMA, L. M.; RIBEIRO, E. B.; NASCIMENTO, C. M. O. High-fat diet and glucocorticoid treatment cause hyperglycemia associated with adiponectin receptor alterations. **Lipids Health Dis** v. 10 p. 1-14, 2011.
 106. OLIVEIRA, E. P.; SOUZA, M. L. A.; LIMA, M. D. A. Prevalência de síndrome metabólica em uma área rural do semi-árido baiano. **Arq Bras Endocrinol Metab.** v.50, p. 456 – 465, 2006.
 107. OLIVEIRA, M. N.; SIVIERI, K.; ALEGRO, J. H. A.; SAAD, S. M. I. Aspectos tecnológicos de alimentos funcionais contendo probióticos. **Rev Bras Cienc Farm,** v. 38, no 1, p.1-21, 2002.
 108. PAN, D.; LUO, Y.; TANOKURA, M. Antihypertensive peptides from skimmed milk hydrolysate digested by cell-free extract of *Lactobacillus helveticus* JCM1004. **Food chem.** v. 91, p. 123-129, 2005.
 109. PARK, D.; AHN, Y.; HUH, C.; JEON, S. CHOI, M. The inhibitory effect of *Lactobacillus plantarum* KY1032 cell extract on the adipogenesis of 3T3-L1 cells. **J Med Food.** v.14, p. 670-675, 2011.
 110. PARVEZ, S.; MALIK, K. A.; KANG, S. A.; KIM, H. Y. Probiotic and their fermented food products are beneficial for health. **J Appl Microbiol,** v. 100, p. 1171-1185, 2006.
 111. PATEL, A. K.; SINGHANIA, R. R.; PANDEY, A.; CHINCHOLKAR, S. B. Probiotic bile salt hydrolase: current developments and perspectives. **Appl Biochem Biotech,** v. 162, p. 166-180, 2010.

112. PICKERING, T. G.; HALL, J. E.; APPEL, L. J.; FALKNER, B. E.; GRAVES, J.; HILL, M. N.; JONES, D. W.; KURTZ, T.; SHEPS, S. G.; ROCCELLA, E. J. Recommendations for blood pressure measurement in humans and experimental animals. **Circulation**. v.111. p. 697- 716, 2005.
113. POCOCK, G.; RICHARDS, C. D.; Fisiologia Humana_ a base da medicina. 2 ed. Editora Guanabara. Rio de Janeiro, 2005.
114. RAJALA, M. W.; SCHERER, P. E. The adipocyte at the crossroads of energy homeostasis, inflammation, and atherosclerosis. **Endocrinology**, v. 144, p. 3765-3773, 2003.
115. REILLY, M. P.; RADER, D. J. Metabolic syndrome: more than the sum its parts? **Circulation**. v. 108, p. 1546-1551, 2003.
116. ROSADO, E. L.; MONTEIRO, J. B.; CHAIA, V.; LAGO, M. F.; Efecto de la leptina en el tratamiento de la obesidad e influencia de la dieta em la secreción y acción de la hormona. **Nutr Hosp**, v. 21, no6, p. 686-693, 2006.
117. ROSS, R. P.; DESMOND, C.; FITZGERALD, G. F.; STANTON, C. overcoming the technological hurdles in the development of probiótico foods. **J Appl Microbiol**, v. 98, p. 1410-1417, 2005.
118. RUTTER, M. K.; MEIGS, J.B.; SULLIVAN, L. M.; DÀGOSTINHO, R. B.; WILSON, P. W. F. C- reative protein, the methabolic syndrome, and prediction of cardiovascular events in the Framingham Offspring Study. **Circulation**. v. 111, p. 380-385, 2004.
119. RYU, S.; CHANG, Y.; WOO, H.; YOO, S.; CHOI, N. LEE, W. KIM, I.; SONG, J. Longitudinal increase in δ glutamyltransferase within the reference interval predicts metabolic syndrome in middle-age Korean men. **Metabol Clinic Exper**. v. 59, p. 683 – 689, 2010.
120. SAARELA, M.; MOGENSEN, G.; FONDÉN, R.; MÄTTÖ, J.; MATTILA-SANDHOLM, T. Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties. **J Biotechnol**, v.84, p.197–215, 2000.
121. SAHA, N. P. Functional cultures and health benefits. **Int Dairy J**, v. 17, p. 1262-1277, 2007.
122. SATO, M.; UZU, K.; YOSHIDA, T.; HAMAD, E. M.; KAWAKAMI, H.; MATSUYAMA, H.; GAWAD, I. A. A.; IMAIZUMI, K. Effects of milk fermented by *Lactobacillus gasei* SBT2055 on adipocyte size in rats. **Brit J Nutr**. v. 99, p. 1013-1017, 2008.
123. SCHIFFRIN, E. J.; BLUM, S. Interactions between the microbiota and the intestinal mucosa. **Eur J Clin Nutr**, v. 56, p. S60-S64, 2002
124. SEPO, L.; JUAHAINEM, T. POUSSA, T.; KORPELA, R. A fermented Milk high in bioactive peptides has a blood pressure-lowering effect in hypertensive subjects. **Am j Clin Nutr**. v. 77, p. 326-330, 2003.

125. SHIMIZU, Y., IMANO, H.; OHIRA, T. KITAMURA, A.; KIYAMA, M. OKADA, T. SATO, S.; SHIMAMOTO, T. YAMAGISHI, K. TANIGAWA, T.; ISSO, H. δ Glutamyltranspeptidase and incident stroke among Japanese men and women. **Circulation**. v. 41, p. 385 -388, 2010.
126. SINAIKO, A. R.; CAPRIO, S. C. Insulin resistance. **The Journal of Pediatrics**. v.16, no 1, p. 11-15, 2012.
127. SOUZA, J. R. M.; OLIVEIRA, R. T.; BLOTTA, M. H. S. L.; COELHO, O. R. Níveis séricos de Interleucina-6 (IL-6), Interleucina-18 (IL-18) e proteína C reativa (PCR) na síndrome coronariana aguda sem supradesnívelamento do ST em pacientes com diabetes tipo 2. **Arq Bras de Cardiol**, v. 90, no2, p. 94-99, 2008.
128. SOUZA, L. J.; NETO, C. G.; CHALITA, F. E. B.; REIS, A. F. F.; BASTOS, D. A.; FILHO, J. D S.; SOUZA, T. F.; CORTÊZ, V. A. Prevalência de Obesidade e fatores de risco cardiovascular em Campos, Rio de Janeiro. **Arq Bras Endocrinol Metab**. v. 47, p. 669- 676, 2003.
129. SPLAVER, A. S.; LAMAS, G. A.; HENNEKENS, C. H. Homocysteine and cardiovascular disease: biological mechanisms, observational epidemiology, and the need for a randomized Trial. **American Heart Journal**. v. 148, p. 34 – 40, 2004.
130. STRASAK, A. M.; KELLEHER, C. C.; BRANT, L. J.; RAPP, K. RUTTMANN, E.; CONCIN, H.; DIEM, G.; PFEIFFER, K. P.; ULMER, H. Serum uric acid is an independent predictor for all major forms of cardiovascular death in 28,613 elderly women: a prospective 21-year follow-up study. **Internacional J of Cardiology**. v. 125, p. 232- 239, 2008.
131. SYBESMA, W.; STARRENBURG, M. TIJSSELING, L. HOEFNAGEL, M. H. N.; HUGENHOLTZ, J. Effects of Conditions on folate production by lactic acid bacteria. **Appl Environ Microbiol**. v. 69, no8, p. 4543-4548, 2003.
132. TAKANO, T. Anti-hypertensive activity of fermented dairy products containing biogenic peptides. **Antonie Van Leeuwenhoek**. v.82, p. 333-340, 2002.
133. TAKANO, T. Anti-hypertensive activity of fermented dairy products containing biogenic peptides. **Antonie Van Leeuwenhoek**. v.82, p. 333-340, 2002.
134. TOLEDO, E.; RODRIGUÉA, M. D.; ESTRUCH, R.; SALVADÓ, J. S.; CORELLA, D.; GARCIA, E. G.; FIOL, M.; RAVENTÓS, R. M. L; SCHRODER, H.; ARÓS, F.; ROS, E.; GUTIÉRREZ, V. R.; LAPETRA, J.; HERRERA, M. C.; SÁEZ, G.; VINYOLES, E.; GONZÁLES, M. A. M. Low-fat dairy products and blood pressure: follow-up of 2290 older persons at high cardiovascular risk participating in the predimed study. **Brit J Nutr**, v. 101, p. 59-67, 2009.
135. USINGER, L.; JENSEN, L. T.; FLAMBARD, B.; LINNEBERG, A.; IBSEN H. The -antihypertensive effect of fermented milk In individuals with prehypertension or borderline hypertension. **J Hum Hyperten**. v.24, p. 678-683, 2010.
136. VASKONEM, T. Dietary minerals and modification of cardiovascular risk factors. **J Nutrl Biochem**. v. 14, p. 492-506, 2003.

137. VEERANNA, V.; ZALAWADIYA, S. K.; NIRAJ, A.; PRADHAN, J.; FERENGE, B. BURACK, R. C.; JACOB, S.; AFONSO, L. Homocysteine and reclassification of cardiovascular disease risk. **J Am Coll Cardiol.** v. 58, no10, p.1025 - 1033 , 2011.
138. VERDENELLI, M. C.; CHELFI, F.; SILVI, S.; ORPIANESI, C.; CUCCHINI, C.; CRESCI, A. Probiotic properties of *Lactobacillus rhamnosus* and *Lactobacillus paracasei* isolated from human faeces. **Eur J Nutr**, v. 48, p. 355-363, 2009.
139. VERHOEF, P.; MELEADY, R.; DALY, L. E.; GRAHAM, I. M.; ROBINSON, K.; BOERS, G. H. J. Homocysteine, vitamin status and risk of vascular disease. **Europ Heart J.** v. 20, p. 1234-1244, 1999.
140. VIDAL, P. M.; GONÇALVES, A.; DIAS, C. M. Milk intake is inversely related to obesity in men and in Young women: data from the Portuguese Health Interview Survey 1998-1999. **Int J of Obes.** v. 30, p. 88-93, 2006.
141. WAKITA, Y.; KANDA, H.; SHIMIZU, C.; NAKAKITA, Y.; KANEDA, H.; SEGAWA, S.; OZAKI, M. SHIGYO, T.; OHTAKE, T.; FUJIYA, M.; KOHGO, Y. Effect of *Lactobacillus brevis* SBC8803 on gamma-glutamyl transferase in Japanese habitual drinkers: a double-blind, placebo- controlled study. **Food Nutr Sci.** v. 3, p. 678 - 684, 2012.
142. WHO -WORLD HEALTH ORGANIZATION. Obesity and overweight. Fact sheet no311, 2002. Disponível em:
<<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/index.html>> Acesso em: 20 de fevereiro de 2013.
143. 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.
144. WHO-WORLD HEALTH ORGANIZATION. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complication, report of a WHO Consultation, 1999.
145. WORLD HEALTH ORGANIZATION. Definition, diagnosis of diabetes mellitus and intermediate hyperglycemia, report of a WHO Consultation, 2006.
146. WORLD HEALTH ORGANIZATION. Waist circumference and waist-hip ratio. Report of a WHO expert Consultation, 2008.
147. XIE, N.; CUI, Y.; YIN, Z.; ZHAO, X.; YANG, J.; WANG, Z.; FU, N.; TANG, Y.; WANG, X.; LIU, X.; WANG, C.; LU, F. Effects of two *Lactobacillus plantarum* strains on lipid metabolism and intestinal microflora in rats fed a high cholesterol diet. **Bio Med.** v. 11, 2011.
148. XU, J.; BJUSELL, M. K.; HIMROD J.; DENG, S.; CARMICHAEL, L. K.; CHIANG, H. C.; HOOPER, L. V.; GORDON, J. I. A genoma view of the human – Bacterioides thetaiotaomicron symbiosis. **Science.** v. 299, p. 2074- 2076, 2003.
149. YU, Z.; ZHANG, X.; LI, S.; LI, C.; YANG Z. Evaluation of probiotic properties of *Lactobacillus plantarum* strains isolated from Chinese sauerkraut. **J Microbiol biotech.** v. 29, p. 489- 498, 2012.

150. ZEMEL, M. B.; MILLER, S. L. Dietary calcium and dairy modulation of adiposity and obesity risk. . **Nutrition Reviews**. v. 62, no 4, p. 125-131, 2004.
151. ZEMEL, M. B.; Role of calcium and dairy products in energy partitioning and weight management. **Am J Clin Nutr**. v. 79, p. 907S-912S, 2004.

ANEXO



Universidade
Estadual de Londrina



COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA ENVOLVENDO SERES HUMANOS
Universidade Estadual de Londrina
Registro CONEP 268

| | |
|-------------------------|--|
| Parecer CEP/UEL: | 324/2011 |
| CAAE: | 0280.0.268.000-11 |
| Processo: | 31055/2011 |
| Folha de Rosto: | 463879 |
| Pesquisador(a): | Lucia Helena da Silva Miglioranza |
| Unidade/Órgão: | CCA – Programa de Mestrado em Ciência de Alimentos |

Prezado(a) Senhor(a):

O "Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da Universidade Estadual de Londrina" (Registro CONEP 268) – de acordo com as orientações da Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde/MS e Resoluções Complementares, avaliou o projeto:

"EFEITO DA INGESTÃO DE LEITE FERMENTADO CONTENDO *LACTOBACILLUS PLANTARUM* SOBRE PORTADORES DE SÍNDROME METABÓLICA."

Situação do Projeto: **Aprovado**

Informamos que deverá ser comunicada, por escrito, qualquer modificação que ocorra no desenvolvimento da pesquisa, bem como deverá apresentar ao CEP/UEL relatório final da pesquisa.

Londrina, 24 de novembro de 2011.

Prof. Dra. Alexandrina Aparecida Maciel Cardelli
Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos
Universidade Estadual de Londrina

ANEXO III

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Título da pesquisa:

“Efeito da ingestão de leite fermentado contendo *Lactobacillus plantarum* sobre portadores de síndrome metabólica.”

Prezado(a) Senhor(a):

Gostaríamos de convidá-lo (a) a participar da pesquisa **“Efeito da ingestão de leite fermentado contendo *Lactobacillus plantarum* sobre portadores de síndrome metabólica”**, realizada na Universidade Estadual de Londrina. O objetivo da pesquisa é avaliar a influência da ingestão de leite fermentado contendo *Lactobacillus plantarum* sobre a dislipidemia, hiperglicemia, obesidade e hipertensão em pacientes humanos, portadores de síndrome metabólica. A sua participação é muito importante e ela se daria através da ingestão do leite fermentado contendo *L. plantarum* por um período de três meses e da coleta de sangue para avaliação dos parâmetros observados (as amostras de sangue serão coletadas na Unidade Básica de Saúde do seu Bairro, por um profissional treinado e com experiência na área. As coletas serão realizadas uma vez por mes durante um período de 3 meses. Gostaríamos de esclarecer que sua participação é totalmente voluntária, podendo você: recusar-se a participar, ou mesmo desistir a qualquer momento sem que isto acarrete qualquer ônus ou prejuízo à sua pessoa. Informamos ainda que as informações serão utilizadas somente para os fins desta pesquisa e serão tratadas com o mais absoluto sigilo e confidencialidade, de modo a preservar a sua identidade.

(Após as análises as amostras de sangue serão devidamente descartadas).

Os benefícios esperados são: redução do colesterol total, triglicerídeos e LDL, redução da circunferência abdominal e da pressão arterial e melhora no quadro glicêmico.

Informamos que o senhor(a) não pagará nem será remunerado por sua participação. Garantimos, no entanto, que todas as despesas decorrentes da pesquisa serão ressarcidas, quando devidas e decorrentes especificamente de sua participação na pesquisa.

Caso você tenha dúvidas ou necessite de maiores esclarecimentos pode nos contactar (**Fabiola Málaga Barreto, Rua Bernardo Sayão, 296 Londrina, 9956-7818, ffabiolamb@hotmail.com**), ou procurar o Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da Universidade Estadual de Londrina, na Avenida Robert Kock, nº 60, ou no

telefone 33712490. Este termo deverá ser preenchido em duas vias de igual teor, sendo uma delas, devidamente preenchida e assinada entregue a você.

Londrina, ____ de _____ de 2011.

Pesquisador Responsável

_____, tendo sido devidamente esclarecido sobre os procedimentos da pesquisa, concordo em participar **voluntariamente** da pesquisa descrita acima.

Assinatura (ou impressão dactiloscópica): _____

Data: _____