



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA – UFSC  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE – CCS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO – PPGN

CAMILA DANIELLE ALVES

**EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DE PREBIÓTICO OU SIMBIÓTICO NA  
ATIVIDADE DE ENZIMAS ANTIOXIDANTES EM INDIVÍDUOS COM  
OBESIDADE MÓRBIDA: UM ENSAIO CLÍNICO, RANDOMIZADO, PLACEBO-  
CONTROLADO E TRIPLO CEGO.**

FLORIANÓPOLIS

2020

CAMILA DANIELLE ALVES

**EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DE PREBIÓTICO OU SIMBIÓTICO NA  
ATIVIDADE DE ENZIMAS ANTIOXIDANTES EM INDIVÍDUOS COM  
OBESIDADE MÓRBIDA: UM ENSAIO CLÍNICO, RANDOMIZADO, PLACEBO-  
CONTROLADO E TRIPLO CEGO.**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição da Universidade Federal de Santa Catarina em cumprimento a requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Nutrição, sob a orientação do Prof. Dr. Erasmo Benicio Santos de Moraes Trindade.

FLORIANÓPOLIS

2020

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

Alves, Camila Danielle

EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DE PREBIÓTICO OU SIMBIÓTICO NA  
ATIVIDADE DE ENZIMAS ANTIOXIDANTES EM INDIVÍDUOS COM  
OBESIDADE MÓRBIDA: UM ENSAIO CLÍNICO, RANDOMIZADO, PLACEBO  
CONTROLADO E TRIPLO CEGO. / Camila Danielle Alves ;  
orientador, Erasmo Benício Santos de Moraes Trindade, 2020.  
142 p.

Dissertação (mestrado profissional) - Universidade  
Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências da Saúde,  
Programa de Pós-Graduação em Nutrição, Florianópolis, 2020.

Inclui referências.

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

CAMILA DANIELLE ALVES

**EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DE PREBIÓTICO OU SIMBIÓTICO NA  
ATIVIDADE DE ENZIMAS ANTIOXIDANTES EM INDIVÍDUOS COM  
OBESIDADE MÓRBIDA: UM ENSAIO CLÍNICO, RANDOMIZADO,  
PLACEBO-CONTROLADO E TRIPLO CEGO.**

O Presente trabalho em nível de Mestrado foi avaliado e aprovado por banca  
examinadora composta pelos seguintes membros:

Daniela Barbieri Haushild, Dr<sup>a</sup>.

Universidade Federal de Santa Catarina

Elisabeth Waslawik, Dr<sup>a</sup>.

Universidade Federal de Santa Catarina

Fernanda Hansen, Dr<sup>a</sup>.

Universidade Federal de Santa Catarina

Certificamos que esta é a **versão original e final** do trabalho de conclusão que foi  
julgado adequado para obtenção do título de Mestre em Nutrição.

---

Patrícia Faria Di Pietro, Dr.<sup>a</sup>

Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Nutrição

---

Erasmus Benicio Santos de Moraes Trindade, Dr.

Orientador – Universidade Federal de Santa Catarina

Florianópolis, 2020.

**Dedico este trabalho:**

Aos **meus pais**, pelos ensinamentos da vida e que, com muito amor, não mediram esforços para que eu pudesse chegar até aqui;

A **minha irmã**, por ser minha força e paz em todos os momentos;

Ao **meu noivo**, por sonhar comigo e ter se tornado o meu grande incentivador e companheiro de todas as horas.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço à **Deus** pela força e proteção em toda a minha vida, especialmente nos trajetos percorridos durante esta etapa.

Aos **meus pais, Amarildo e Christiane**, pelo amor recebido, pela presença constante em toda a minha vida, por terem me guiado durante minha formação, por acreditarem em mim e pelo incentivo e compreensão em mais esta etapa.

À **minha irmã, Bruna**, por sempre estar ao meu lado nesta vida, compartilhando comigo o verdadeiro sentido de amor e amizade.

Ao **meu noivo, Vinícius**, que de forma especial e amorosa, me deu suporte e coragem para continuar seguindo em frente e por construir comigo o sonho de um futuro melhor para nós dois.

Ao **meu orientador, Prof. Dr. Erasmo Benício Santos Moraes Trindade**, por ser um admirável mestre e por dividir comigo os seus ensinamentos, os meus sinceros agradecimentos pela sua dedicação, confiança e por me conduzir durante o mestrado e na realização deste trabalho.

A todos os **meus colegas do “Grupo de Pesquisa em Imunonutrição e Metabolismo”**, pelo auxílio, contribuições e companheirismo durante todas as fases deste Mestrado.

Ao **colega Dr. Ricardo Fernandes** e a todos que de alguma forma colaboraram na realização do projeto que originou e inspirou a presente dissertação.

A todos os **professores do “Programa de Pós-Graduação em Nutrição”**, pelo convívio e por contribuírem na minha formação profissional e pessoal.

À todas as **colegas da “Linha de Pesquisa II – Estudo Dietético e Bioquímico relacionado com o estado nutricional”**, por compartilharem as salas de aula e momentos de aprendizado comigo. Agradeço a especial parceria e amizade em todas as fases deste mestrado.

Às **colegas do laboratório de “Pesquisa em Lipídios, Antioxidantes e Aterosclerose”, Jéssica e Hanna**, pela disposição e cooperação em todos os momentos das minhas análises enzimáticas. Vocês dividiram horas e preocupações comigo e contribuíram para que esta dissertação fosse possível.

Ao **Prof. Dr. Edson Luiz da Silva** pelo apoio referente ao tema desta dissertação e por permitir a realização das análises enzimáticas em seu laboratório de pesquisa.

À **Prof. Dras. Yara M. F. Moreno e Daniela B. Haushilda**, membros da banca examinadora da fase de Qualificação, pelas importantes contribuições para a construção desta dissertação.

A **esta universidade, seu corpo docente, direção e administração** por contribuírem com seriedade e responsabilidade para minha a formação e capacitação profissional, assim como de tantas outras pessoas.

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

E a todos que direta, ou indiretamente, contribuíram para a concretização desta etapa.

## RESUMO

**Introdução:** O excesso de tecido adiposo está associado a níveis aumentados de citocinas pró-inflamatórias que promovem adaptações deletérias, interferindo em órgãos e sistemas, ativando processos inflamatórios e oxidativos ao organismo, aumentando a formação de espécies reativas. Outro fator comum em indivíduos com obesidade mórbida que está associado à hiperprodução de espécies reativa é a Disbiose, condição que compromete a integridade do epitélio intestinal, possibilitando maior passagem de toxinas para dentro dos tecidos. Quando em equilíbrio, o mecanismo de defesa dos antioxidantes é capaz de inibir ou reparar os danos causados por essas lesões oxidativas. **Objetivo:** Avaliar o efeito da modulação da microbiota intestinal por meio de suplementação de prebióticos ou simbióticos sobre o aumento da atividade de enzimas antioxidantes na obesidade mórbida. **Métodos:** Trata-se de um ensaio clínico randomizado, placebo-controlado, triplo cego, no qual 17 indivíduos adultos com diagnóstico de obesidade mórbida, assistidos pelo HU-UFSC (Florianópolis/SC), foram alocados em três grupos para intervenção de suplementos por 30 dias: O Grupo Placebo (maltodextrina 12g/dia), Grupo Prebiótico (12g/dia de FOS), e Grupo Simbiótico [12g/dia: FOS, *Lactobacillus paracasei* LPC-37 (2x10<sup>9</sup> UFC/dia), *Lactobacillus rhamnosus* HN001 (2x10<sup>9</sup> UFC/dia), *Lactobacillus acidophilus* NCFM (2x10<sup>9</sup> UFC/dia) e *Bifidobacterium lactis* HN019 (2x10<sup>9</sup> UFC/dia)]. Dois momentos do estudo foram considerados para as análises: momento inicial (M0) e momento após 30 dias de suplementação (M2). As atividades das enzimas Catalase (CAT) e Superóxido dismutase (SOD) foram avaliadas pelo método de leitura ELISA. A ingestão alimentar e a Capacidade Antioxidante Total da Dieta foram avaliadas a partir de Recordatórios alimentares de 24 horas (R24h). **Resultados:** As atividades enzimáticas não apresentaram aumento estatisticamente significante. A ingestão de antioxidantes alimentares apresentou aumento de Vitamina C no Grupo Placebo no M2 (p=0,04), e diferença significativa entre os três grupos para Vitamina E (p=0,05) e Magnésio (p=0,03) no M0. A avaliação intragrupo do estado nutricional nos Grupos Placebo e Grupo Prebiótico apresentou redução significativa de Peso (p=0,024 e p=0,019, respectivamente) e de IMC (p=0,018 e p=0,014, respectivamente). **Conclusão:** A suplementação e a ingestão de antioxidantes não tiveram impacto suficiente na ação enzimática desses indivíduos. Para refutar as hipóteses apresentadas, evidencia-se a necessidade da realização de novos ensaios clínicos.

**Palavras chave:** Nutrição. Obesidade. Prebiótico. Simbiótico. Estresse Oxidativo.

## ABSTRACT

**Introduction:** Excess adipose tissue is associated with increased levels of proinflammatory cytokines that promote deleterious adaptations, interfering with organs and systems, activating inflammatory and oxidative processes in the body, increasing the formation of reactive species. Another common factor in individuals with morbid obesity that is associated with reactive species overproduction is Dysbiosis, a condition that compromises the integrity of the intestinal epithelium, allowing greater passage of toxins into the tissues. When in balance, the defense mechanism of antioxidants is able to inhibit or repair the damage caused by these oxidative lesions. **Objective:** To evaluate the effect of modulation of the intestinal microbiota by means of supplementation of prebiotics or symbiotics on the increase in the activity of antioxidant enzymes in morbid obesity. **Methods:** This is a randomized, placebo-controlled, triple blind clinical trial, which 17 adult individuals diagnosed with morbid obesity, assisted by the HU-UFSC (Florianópolis/SC), were allocated in three groups for intervention by supplements by 30 days: The Placebo Group (maltodextrin 12g/day), Prebiotic Group (12g/day FOS), and Symbiotic Group [12g/day: FOS, *Lactobacillus paracasei* LPC-37 (2x10<sup>9</sup> CFU/day), *Lactobacillus rhamnosus* HN001 (2x10<sup>9</sup> CFU/day), *Lactobacillus acidophilus* NCFM (2x10<sup>9</sup> CFU/day) and *Bifidobacterium lactis* HN019 (2x10<sup>9</sup> CFU/day)]. Two moments of the study were considered for the analyzes: initial moment (M0) and moment after 30 days of supplementation (M2). The activities of the enzymes Catalase (CAT) and Superoxide dismutase (SOD) were evaluated by the ELISA reading method. Food intake and Total Antioxidant Capacity of the Diet were assessed using 24-hour food records (24hR). **Results:** Enzymatic activities did not show a statistically significant increase. The intake of food antioxidants showed an increase in Vitamin C in the Placebo Group in M2 (p=0.04), and a significant difference between the three groups for Vitamin E (p=0.05) and Magnesium (p=0.03) in M0. The intragroup assessment of nutritional status in the Placebo and Prebiotic Groups showed a significant reduction in weight (p=0.024 and p=0.019, respectively) and in BMI (p=0.018 and p=0.014, respectively). **Conclusion:** Supplementation and antioxidant intake did not have a sufficient impact on the enzymatic action of these individuals. To refute the hypotheses presented, the need to conduct new clinical trials is evident.

**Key-words:** Nutrition. Obesity. Prebiotic. Synbiotic. Oxidative stress.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Visão esquemática dos mecanismos complementares que explicam a mudança metabólica em direção ao armazenamento de energia e comprometimento da homeostase metabólica -----	22
Figura 2. Relação entre dieta e microbiota intestinal em doenças metabólicas -----	25
Figura 3. Redução tetravalente do oxigênio molecular na mitocôndria até a formação de água -----	33
Figura 4. Mecanismos de peroxidação lipídica em situação de obesidade -----	35
Figura 5. Sistema enzimático oxidante e antioxidante -----	40
Figura 6. Mecanismo de ação dos probióticos na permeabilidade intestinal -----	43
Figura 7. Fluxograma de inserção do projeto de pesquisa -----	46
Figura 8. Momentos analisados no presente estudo -----	53

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Informação da composição (FiberFOS <sup>®</sup> ) -----	49
Quadro 2 - Informações nutricionais do prebiótico (FiberFOS <sup>®</sup> ) -----	50
Quadro 3 - Informação da composição (Simbioflora <sup>®</sup> ) -----	50
Quadro 4 - Informações Nutricionais do Simbiótico (Simbioflora <sup>®</sup> ) -----	51
Quadro 5 - Classificação do estado nutricional segundo o Índice de Massa Corporal --	57
Quadro 6 - Variáveis de exposição, desfecho, controle e de caracterização da amostra, unidades de medida e respectiva classificação teórica que será utilizada para as análises estatísticas -----	61

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Ações e mecanismos de substâncias antioxidantes enzimáticas -----	37
Tabela 2. Ações e mecanismos de substâncias antioxidantes não enzimáticas -----	38

## LISTA DE ABREVIACOES E SIGLAS

AGCC	Ácido Graxo de Cadeia Curta
ANVISA	Agência Nacional da Vigilância Sanitária
Arg	Arginina
CAT	Catalase
CATd	Capacidade Antioxidante Total da dieta
CC	Circunferência da Cintura
CO	Carbonílicos
CO <sub>2</sub>	Gás carbônico
CONSORT	<i>Consolidated Standards of Reporting Trials</i>
Cu	Cobre
DCV	Doença Cardiovascular
DCNT	Doenças Crônica Não Transmissível
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
ELISA	<i>Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay</i>
ERN	Espécies Reativas ao Nitrogênio
ERRO	Espécies Reativas ao Oxigênio
Fe	Ferro
FOS	Frutooligossacarídeo
FTP	Ficha Técnica de Padronização
GLP2	Glucagon
GOS	Galactooligossacarídeo
G6PD	Glicose-6-fosfato desidrogenase
GPx	Glutathione peroxidase
GSH-Rd	Glutathione-reductase
GSH	Glutathione reduzida
GSSH	Glutathione oxidada
GpIM	Grupo de Pesquisa em Imunonutrição e Metabolismo
O <sub>2</sub> -•	Ânion superóxido
OH	Hidroxil
OH•	Íon hidroxila
H <sub>2</sub>	Hidrogênio
HO <sub>2</sub>	Hidroperóxil

H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Peróxido de hidrogênio
HOH•	Íon peroxil
HOCl	Ácido hipocloroso
HU/UFSC	Hospital Universitário Professor Polydoro Ernani de São Thiago da Universidade Federal de Santa Catarina
IMC	Índice de Massa Corporal
LDL	Lipoproteína de Baixa Densidade
LDL-ox	Lipoproteína de Baixa Densidade Oxidada
LIS	Lisina
LPO	Peroxidação Lipídica
MDA	Malondialdeído
Mg	Magnésio
NADPH	Nicotinamida-adenina-dinucleotídeo-fosforeduzida
NO	Óxido nítrico
O <sub>2</sub>	Oxigênio
OMS	Organização Mundial da Saúde
O <sub>2</sub> -	Radical superóxido
Pro	Prolina
R24h	Recordatório Alimentar de 24 horas
RL	Radicais Livres
Rpm	Rotação por minuto
Se	Selênio
-SH	Tiol
SOD	Superóxido dismutase
TBCA	Tabela Brasileira de Composição de Alimentos
Tre	Treonina
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
USDA	<i>United States Department of Agriculture</i>
VD	Valores Diários
VIGITEL	Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças crônicas por Inquérito Telefônico
XO	Xantina oxidase
WHO	<i>World Health Organization</i>
Zn	Zinco

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b>	17
1.2 Objetivos	20
1.2.1 Objetivo Geral	20
1.2.2 Objetivo Específico	20
<b>2 REFERENCIAL TEÓRICO</b>	21
2.1 OBESIDADE	21
2.1.1 Obesidade e microbiota	24
2.2 MICROBIOTA INTESTINAL	26
2.2.1 Disbiose	27
2.2.2 Modulação da microbiota intestinal	28
2.3 ESTRESSE OXIDATIVO	32
2.3.1 Biomarcadores antioxidantes	39
2.4 EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DE PREBIÓTICO, PROBIÓTICO OU SIMBIÓTICO NA ATIVIDADE DE ENZIMAS ANTIOXIDANTES NA SITUAÇÃO DE OBESIDADE	42
<b>3 MÉTODOS</b>	45
3.1 INSERÇÃO DO ESTUDO E PLANEJAMENTO	45
3.2 DELINEAMENTO DO ENSAIO CLÍNICO	47
3.3 POPULAÇÃO E AMOSTRA	47
3.4 AMOSTRAGEM E CÁLCULO DO TAMANHO AMOSTRAL	48
3.5 DESENHO DO ESTUDO	49
3.6 CARACTERÍSTICAS DAS INTERVENÇÕES	49
3.7 DESFECHOS	51
3.8 PROTOCOLOS DO ESTUDO	52
3.8.1 Momentos do estudo	52
3.8.2 Randomização e Cegamento	52
3.9 INSTRUMENTOS E TÉCNICA DE COLETA DE DADOS	52
3.9.1 Caracterização dos indivíduos	54
3.9.2 Coleta e preparo do material biológico	54
3.9.3 Determinação dos biomarcadores do estresse oxidativo	55
3.9.3.1 Catalase	55
3.9.3.2 Superóxido Dismutase	56

3.9.4 Avaliação de indicadores antropométricos do estado nutricional -----	56
3.9.5 Estimativa de ingestão dietética atual -----	57
3.9.6 Determinação da Capacidade Antioxidante Total da dieta -----	58
3.10 PROCEDIMENTOS ÉTICOS DA PESQUISA -----	59
3.11 RISCOS -----	60
3.12 TRATAMENTO E ANÁLISE DE DADOS -----	60
3.12.1 Variáveis de exposição, desfecho, controle e de caracterização -----	60
3.12.2 Análises estatísticas -----	61
<b>4 RESULTADOS</b> -----	<b>64</b>
4.1 ARTIGO ORIGINAL DA DISSERTAÇÃO DO MESTRADO -----	64
<b>5 CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> -----	<b>94</b>
<b>6 REFERÊNCIAS</b> -----	<b>94</b>
<b>APÊNDICES</b>	
<b>ANEXOS</b>	

## 1. INTRODUÇÃO

A obesidade é caracterizada pelo acúmulo excessivo de gordura corporal, na qual existe uma inflamação crônica e sistêmica de baixo grau e resulta de interações complexas entre genes e fatores ambientais, como dieta, componentes alimentares e estilo de vida (GREGOR e HOTAMISLIGIL, 2011). E embora a obesidade seja simplificada definida como *excesso de gordura corporal* (visceral e subcutânea), estudos científicos alertam que a obesidade deve ser entendida como uma condição patológica acompanhada por acúmulo de alterações adaptativas desencadeadoras de comorbidades potencialmente fatais (BRASIL, 2006; PAPPAS e KARAOULI, 2010; SARNO, CANELLA e BANDONI, 2014). Dentre as patologias associadas, destaca-se principalmente as doenças cardiovasculares e metabólicas, em especial as Doenças Crônicas Não Transmissíveis (DCNT) como o diabetes tipo 2, hipertensão, dislipidemia, além de diversos tipos de câncer (MONTAGUE e O'RAHILLY, 2000).

Esse problema de saúde pública promove um aumento substancial na utilização dos recursos de saúde com elevados custos econômicos, uma vez que contribui para a carga global de doenças crônicas e a incapacidade dos indivíduos. A projeção é que em 2025, 2,3 bilhões de adultos estarão com sobrepeso e 700 milhões de adultos serão obesos (WHO, 2016). No Brasil, a Pesquisa de Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças crônicas por Inquérito Telefônico (VIGITEL), de 2017, apontou que quase 1 em cada 5 (18,9%) são obesos e que mais da metade da população das capitais brasileiras (54,0%) estão com excesso de peso.

Em relação a fisiopatologia da obesidade, durante muito tempo foi atribuído ao tecido adiposo apenas a função de armazenador de gordura. Contudo, as crescentes taxas de sobrepeso e obesidade observadas na população, têm resultado na intensificação de estudos que buscam caracterizar as modificações do tecido adiposo durante a instalação e manutenção da obesidade, apresentando as alterações das funções metabólicas e endócrinas desse tecido. Estes estudos permitiram a identificação de fatores secretados pelos adipócitos que conferem uma função endócrina ao órgão. A importância da função endócrina do tecido adiposo é destacada pelas consequências metabólicas do seu excesso ou deficiência (ROSA et al., 2013c; SIPPELA et al., 2014; MACHADO, MONTEIRO e PINTO, 2015a).

O excesso de massa adiposa está associado a níveis aumentados de marcadores pró-inflamatórios. Os efeitos dessas substâncias relacionadas ao tecido adiposo são

mediadores de “reações” que promovem adaptações deletérias, interferindo em órgãos e sistemas e ativando processos inflamatórios e oxidativos com resultados devastadores para a homeostase do organismo (SARNO, CANELLA e BANDONI, 2014; LIMA et al., 2018). O desequilíbrio entre as citocinas pró e anti-inflamatórias está relacionado com a inflamação através de alguns mecanismos como: a hipóxia, infiltração e acúmulo de macrófagos e aumento na permeabilidade intestinal. Além disso, o ganho de peso exige uma maior necessidade metabólica do miocárdio, com conseqüente aumento de consumo de oxigênio, resultando em uma peroxidação lipídica por conta do aumento da formação de radicais livres (RL) (AGUILAR-VALLES *et al.*, 2015). Causando, então, uma cascata de lesões oxidativas em células e membranas e a partir daí, surgem diversos problemas relacionados a oxidação celular (HALLIWELL, 2000).

O conceito clássico de estresse oxidativo o define como um distúrbio no equilíbrio pró oxidante e antioxidante, em favor do primeiro, no qual ocorre a produção excessiva de espécies reativas de oxigênio (ERO) e nitrogênio (ERN) que não podem ser eliminadas pela ação dos antioxidantes (SIES, 1985). O conceito mais recente considera que esse desequilíbrio, que ocorre por uma superprodução de RL, por depleção de atividade antioxidante ou ambos os casos, leva a uma interrupção da sinalização redox, e controle e/ou dano molecular (SIES, 2000). Ou seja, ocorre oxidação de biomoléculas, assim, levando à um desequilíbrio na homeostase, o que provoca danos oxidativos contra células e tecidos (MATSUZAWA-NAGATA, et al., 2008). Os sistemas de defesa antioxidante existem sob a forma de compostos enzimáticos e não enzimáticos, consistem em uma série de enzimas antioxidantes além de numerosos compostos antioxidantes endógenos e de origem dietética que reagem com as ERO e ERN, neutralizando-as (BARBOSA, et al., 2010).

No indivíduo com obesidade, há outro fator característico dessa condição que está associado a hiperprodução de RL, conhecido como disbiose, pois está relacionado diretamente à condição de inflamação e imunidade do indivíduo. Compostos bioativos resultantes do crescimento de bactérias benéficas na microbiota intestinal atuam no metabolismo do hospedeiro, protegendo o epitélio intestinal, impedindo que patógenos e toxinas rompam sua barreira e entrem na circulação sistêmica, causando danos ao organismo. Evidências sugerem que a modulação da microbiota intestinal no quadro de obesidade pode contribuir para aumento na produção de Ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), para redução da inflamação, melhora do metabolismo lipídico, na regulação dos níveis de glicose, estimula a imunidade inata e também age na capacidade antioxidante e

no combate aos RL, tendo um papel importante na homeostase do organismo (MASHIMA, et al., 2000; BESERRA, et al., 2015; ROSHAN, et al., 2019).

Para promover o equilíbrio da população bacteriana no intestino e possibilitar o desempenho correto dos mecanismos fisiológicos do hospedeiro, além de uma alimentação balanceada, é possível utilizar suplementação com Prebióticos e Probióticos. Os Prebióticos são ingredientes seletivamente fermentáveis que resultam em mudanças específicas na composição e/ou atividade da microbiota intestinal, conferindo benefícios ao hospedeiro (ROBERFROID, 2010). Já os Probióticos são micro-organismos vivos que quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios à saúde do hospedeiro (HILL, et.al, 2014). O produto que soma ambos em sua suplementação é conhecido como Simbiótico, que proporciona a ação conjunta de prebióticos e probióticos (GUARNER, 2012).

Muitos estudos científicos recentes almejam elaborar medidas eficazes para controle dos efeitos deletérios e potencialmente prejudiciais a vida humana causados pela obesidade e outras doenças relacionadas. Porém, os estudos que avaliam a utilização de Prebióticos, Probióticos e/ou Simbióticos para a melhora da condição da microbiota intestinal em indivíduos com diagnóstico de obesidade mórbida são escassos. Também não foram encontrados na literatura nenhum estudo clínico que tenha avaliado os efeitos da suplementação de prebióticos ou simbióticos na atividade de enzimas antioxidantes em indivíduos com obesidade mórbida, evidenciando assim a relevância e originalidade deste trabalho.

Esse ensaio clínico, randomizado, placebo-controlado, triplo cego, está vinculado ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição da UFSC, inserido no Grupo de Pesquisa em Imunonutrição e Metabolismo (GpIM), sob a supervisão do Professor Doutor Erasmo Benício Santos de Moraes Trindade, originado a partir do projeto temático intitulado: *Efeito da suplementação de prebióticos ou simbióticos em marcadores inflamatórios e indicadores do estado nutricional em indivíduos com obesidade mórbida: um ensaio clínico randomizado, placebo-controlado e triplo cego.*

## 1.2 OBJETIVOS

### 1.2.1 Objetivo Geral

Avaliar o efeito da ingestão por trinta dias de suplementação com 12 g de prebiótico ou simbiótico na atividade de enzimas antioxidantes em indivíduos com diagnóstico de obesidade mórbida.

### 1.2.2 Objetivos Específicos

- Avaliar Capacidade Antioxidante Total da dieta (CATd) por meio do R24h dos grupos do estudo antes e após a suplementação;
- Avaliar a ingestão alimentar de antioxidantes (Vitamina A, Vitamina C, Vitamina E, Cobre, Magnésio, Selênio e Zinco) por meio do Recordatório Alimentar de 24 h (R24h) nos grupos do estudo antes e após a suplementação;
- Avaliar atividade das enzimas antioxidantes Superóxido dismutase (SOD) e Catalase (CAT) nos grupos do estudo antes e após a suplementação;
- Avaliar indicadores antropométricos do estado nutricional: peso, índice de massa corporal (IMC) e circunferência da cintura (CC) nos grupos do estudo antes e após a suplementação.

## 2. REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 OBESIDADE

A obesidade é definida como distúrbio do metabolismo energético, considerada uma doença crônica, complexa e de etiologia multifatorial. Está influenciada por fatores genéticos, metabólicos e fisiológicos, no entanto, é também determinada por fatores como: ambientais, psicológicos, comportamentais, entre outros (ABBES, 2011; PEREIRA, 2011; ROCHA e COSTA, 2012; SILVA, BARBIERI e SILVA, 2014). Os principais fatores causadores da obesidade apontados pela revisão de artigos científicos são: sedentarismo e alimentação inadequada; fatores genéticos; nível socioeconômico; fatores psicológicos e fatores demográficos (BARBIERI et al., 2012).

Embora seja simplificada definida como *excesso de gordura corporal*, estudos científicos alertam que a obesidade deve ser entendida como uma condição patológica acompanhada por acúmulo de alterações adaptativas desencadeadoras de comorbidades potencialmente fatais, particularmente as doenças cardiovasculares e metabólicas, em especial as Doenças Crônicas Não Transmissíveis (DCNT), como hipertensão, dislipidemia, infarto agudo do miocárdio e diabetes tipo II, além de diversos tipos de câncer em cólon, mama, rins, vesícula biliar e endométrio (BRASIL, 2006; PAPPAS e KARAOULI, 2010; SARNO, CANELLA e BANDONI, 2014).

Os diferentes depósitos de gordura, a saber: tecidos adiposos visceral, subcutâneo abdominal, subcutâneo glúteo-femural e intramuscular, possuem grau metabólico e endócrino diferenciados, podendo estar, portanto, interferindo de forma específica nos processos inerentes à adiposidade corporal em obesos (HERMSDORFF e MONTEIRO, 2004). As modificações observadas na obesidade são fortemente atribuídas às adipocinas, peptídeos que atuam de forma direta na gênese do acúmulo de tecido adiposo (LANDEIRO e QUARANTINI, 2011). Os efeitos dessas substâncias relacionadas ao tecido adiposo (as adipocinas) são mediadores de “reações” que promovem adaptações deletérias, interferindo em órgãos e sistemas e ativando processos inflamatórios e oxidativos com resultados devastadores para a homeostase do organismo (Figura 1) (SARNO, CANELLA e BANDONI, 2014; LIMA et al., 2018). Tendo isso em vista, mostra-se como uma ameaça para a saúde por propiciar o surgimento cada vez mais precoce de uma diversidade de doenças (BRASIL, 2011; BARBIERI, 2012; NISSEN,

2012; ROCHA e COSTA, 2012; WESCHENFELDER, 2012; SILVA, BARBIERI e SILVA, 2014).

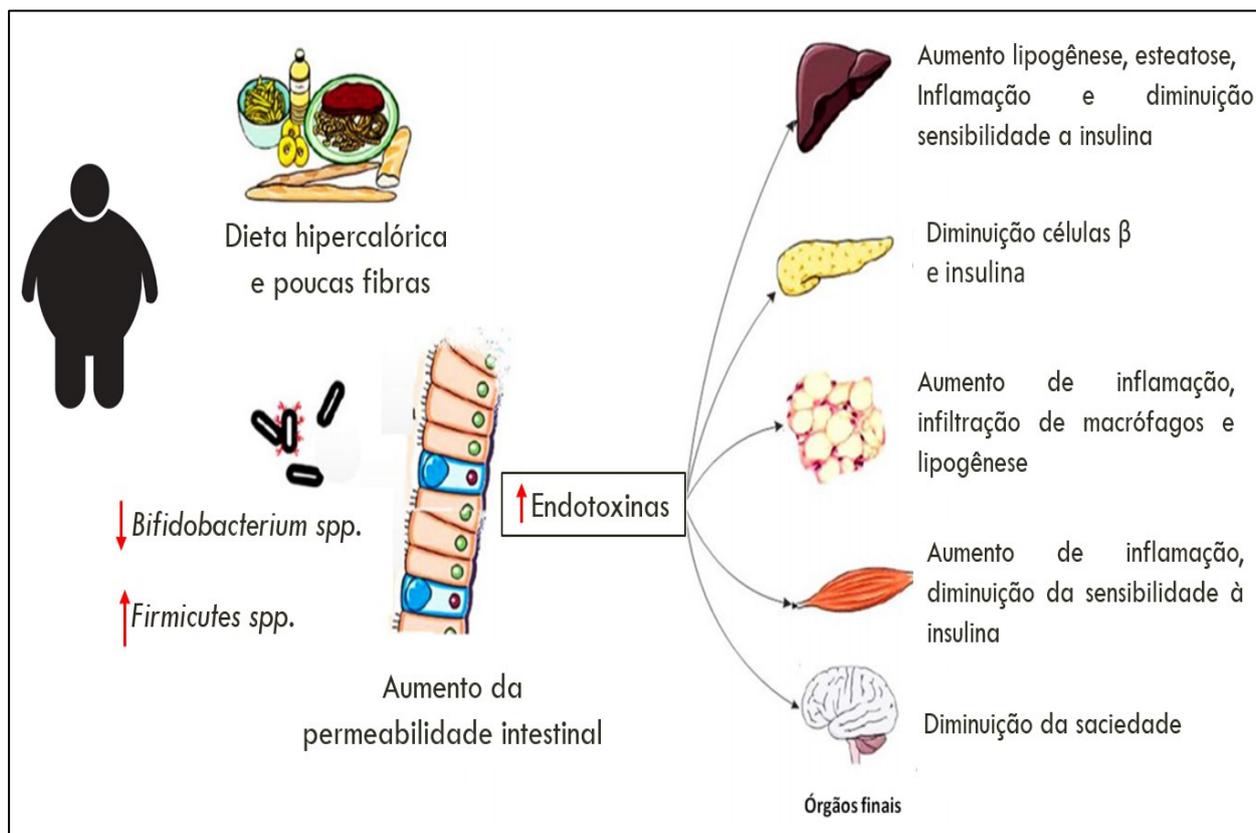


Figura 1. Visão esquemática dos mecanismos complementares que explicam a mudança metabólica em direção ao armazenamento de energia e comprometimento da homeostase metabólica. Adaptado de CANI e DELZENNE, 2009.

As substâncias sintetizadas pelos adipócitos são bastante diversificadas, atuando em alças metabólicas complexas e desenvolvendo ações fisiológicas necessárias ao balanço energético. As adipocinas (leptina, resistina, adiponectina, apelina, vaspina, omentina, proteína estimuladora de acilação etc.) são enfatizadas como “vilãs” da obesidade, capazes de desenvolver diversos mecanismos e estimular outras tantas vias metabólicas. Em excesso, essas substâncias promovem desarmonia da homeostase, desencadeando um processo de inflamação contínuo e controlado, característico da obesidade, interferindo em todos os sistemas do organismo (SOUZA e OLIVEIRA, 2010; FRANÇA et al., 2013)

No contexto da obesidade, algumas adipocinas têm seus mecanismos de ação desajustados, como por exemplo a grelina, sintetizada no estômago e diretamente relacionada à ingestão alimentar, pois atua no hipotálamo lateral e no núcleo arqueado gerando a sensação de fome, que tem seus mecanismos potencializados. Antagonista

natural da grelina, a leptina é conhecida como controladora da fome, atua no hipotálamo e estimula a saciedade (CHAVES e NAVARRO et al., 2011; YOUSSEF et al., 2013). No entanto, o obeso cursa com altas concentrações de grelina, e para reduzir os efeitos desse excesso, a leptina, ao ativar várias vias metabólicas, gera um misto de radicais livres (RL), produtos intermediários das múltiplas vias energéticas estimuladas, que progressivamente levam à oxidação do tecido nervoso no hipotálamo, desencadeando um processo inflamatório hipotalâmico irreversível com perda do controle dos mecanismos de fome e saciedade, promovendo ainda mais acúmulo de tecido adiposo (AREES e MAYER, 2010; HUKSHORN e PLATENGA, 2013; YOUSSEF et al., 2013).

Existem várias maneiras para realizar a avaliação da obesidade, dependendo dos recursos disponíveis, finalidade e precisão. O método mais útil para rastrear a obesidade é a antropometria por ser de baixo custo, não invasiva, universalmente aplicável, e com boa aceitação pela população (FIGUEIREDO et al., 2008).

Frequentemente, tanto na clínica quanto em pesquisa, é usada a relação entre o peso em quilograma e altura em metros quadrado para avaliação do índice de massa corporal [IMC = peso (kg)/altura(m<sup>2</sup>)]; sendo considerada a forma mais objetiva para classificar a obesidade. Segundo a *World Health Organization* (WHO), 2008, é necessário um IMC  $\geq 30$  kg/m<sup>2</sup> para considerar uma pessoa obesa (ROCHA e COSTA, 2012). Entretanto, como a relação entre o IMC e o risco de morbidades pode ser afetada pela distribuição da gordura corpórea, independentemente do peso corporal, estudos têm recomendado que esse índice seja combinado a outras medidas de adiposidade abdominal, com destaque para a Circunferência da Cintura (CC). Essa medida tem mostrado um melhor diagnóstico do excesso de peso e associação mais forte com fatores de risco para doenças cardiovasculares (DCV) do que o IMC (FIGUEIREDO et al., 2008; ROCHA e COSTA, 2012; CORRÊA et al., 2018). A WHO (2000) preconiza o uso da CC como medida de risco aumentado para doenças metabólicas tendo o ponto de corte de 94 cm para homens e 80 cm para mulheres.

Existem inúmeros métodos de tratamento para a obesidade. A mudança do estilo de vida envolve dietas, sendo aquela com restrição calórica a mais consagrada, e exercícios físicos, tanto aeróbicos como de resistência. O método farmacológico que atualmente está em maior evidência é a Sibutramina, sendo que as anfetaminas foram proibidas de serem comercializadas no Brasil em outubro de 2011 (ANVISA, 2011). As técnicas cirúrgicas mais conhecidas são as restritivas, disabsortivas e as mistas, que envolvem os dois métodos (ABESO, 2012; WHO, 2018).

Embora seja possível utilizar medicamentos e fazer o uso de técnicas cirúrgicas, as mudanças de estilo de vida e técnicas cognitivo-comportamentais são fundamentais para a perda e manutenção de peso. A escolha do tratamento deve basear-se na gravidade do problema e na presença de complicações associadas. Considera-se uma perda de peso eficaz quando a redução de peso é maior ou igual a 1% do peso corporal por mês, atingindo ao menos 5% entre 3 e 6 meses de tratamento (PAPPAS e KARAOULI, 2010).

O pleno conhecimento e controle da obesidade demanda muitos estudos no campo das ciências da saúde. Esse problema de saúde pública promove um aumento substancial na utilização dos recursos de saúde com elevados custos econômicos, uma vez que contribui para a carga global de doenças crônicas e incapacidade (GRIEF e MIRANDA, 2010). Os custos da obesidade e suas consequências negativas para a saúde foram estimados entre 0,7% e 7,0% dos gastos nacionais com saúde em todo o mundo (ABESO, 2012).

#### 2.1.1 Obesidade e microbiota

Devido à problemática da doença, novas investigações sobre a fisiopatologia e estratégias de controle da obesidade têm surgido. Considerando a influência de padrões alimentares no desenvolvimento dessa doença, tem sido mostrado que a quantidade e tipo de nutrientes da dieta são fatores que influenciam na rápida alteração da comunidade bacteriana intestinal (KOLOTKIN et al., 2001; JUMPERTZ et al., 2011).

A obesidade, sendo uma desordem metabólica, desencadeia uma resposta inflamatória persistente e de baixa intensidade que afeta diversos órgãos e sistemas no corpo humano. Especificamente no trato gastrointestinal, a obesidade se relaciona a vários fatores: redução dos movimentos intestinais, supercrescimento bacteriano, disbiose, perda de integridade da barreira intestinal, translocação bacteriana, refluxo gastroesofágico e alterações no eixo cérebro-intestino (TEIXEIRA et al., 2012).

A parede intestinal abriga tanto bactérias benéficas quanto patogênicas, e para que o intestino tenha um funcionamento ótimo é preciso que haja um equilíbrio entre estas populações (ROCHA, 2011). Os filos que colonizam o trato gastrointestinal humano são *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Proteobacteria* e *Actinobacteria*, os quais representam 98% da microbiota intestinal (LOPETUSO et al., 2014). Estima-se que 30 a 40 espécies de bactérias dominam o ecossistema da microbiota intestinal, nas quais compreendem os

gêneros *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Eubacterium*, *Fusobacterium*, *Clostridium* e *Lactobacillus* (MCCLOUGHLIN e MILLS, 2011).

Fatores internos ou externos ao hospedeiro dessas bactérias, incluindo o tipo de parto, a alimentação, o uso de antibióticos, de prebióticos e de probióticos, fatores genéticos, idade, estresse, entre outros se reflete em um desequilíbrio na modificação desta microbiota, ocorrendo diminuição de bactérias benéficas e aumento de patógenos, caracterizando um quadro de disbiose (ZHANG et al., 2015). (Figura 2)

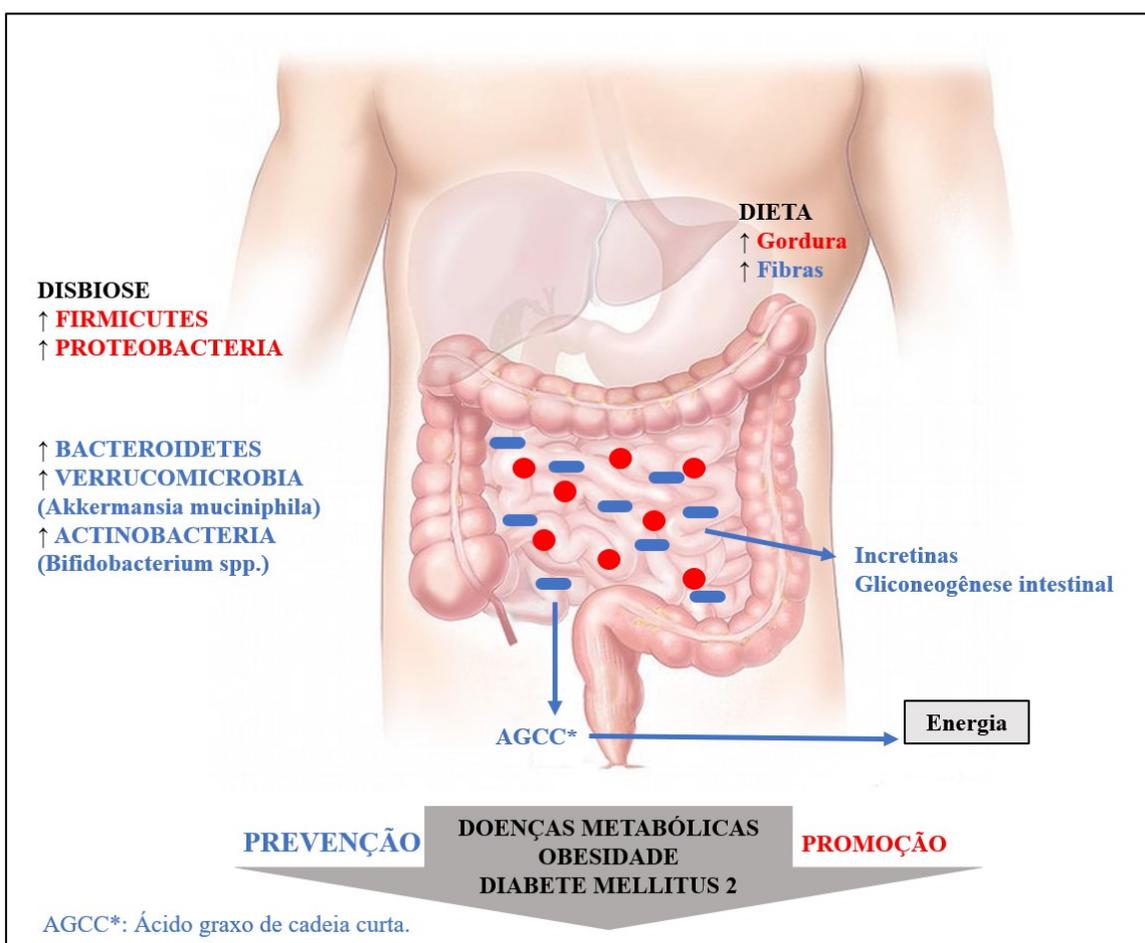


Figura 2. Relação entre dieta e microbiota intestinal em doenças metabólicas. Os escritos na cor azul representam como a ingestão de fibras dietéticas pode proporcionar o crescimento bacteriano benéfico no hospedeiro. Por outro lado, os escritos em vermelha representam como uma dieta rica em lipídeos pode favorecer o crescimento de bactérias patogênicas no hospedeiro. Adaptado de WOTING e BLAUT, 2016.

Estudos recentes têm associado a disbiose da microbiota intestinal ao estado inflamatório que ocorre na obesidade. A microbiota atualmente é considerada um órgão microbiótico e a evidência de que sua composição pode ser diferente em humanos magros e obesos reforçou a hipótese da influência da microbiota na fisiopatologia da obesidade (SANTOS e RICCI, 2016; SILVA JR et al., 2017).

Sabe-se que mais de 90% da composição bacteriana intestinal são representados por *Bacteroidetes* e *Firmicutes* (PENDERS et al., 2006). As *Bacteroidetes* são um dos filos predominantes no intestino humano e consistem principalmente de bactérias gram negativas, ou seja, possuem uma parede celular menos espessa. Possuem características fermentativas e que modulam o sistema imune intestinal de forma benéfica. Por outro lado, a grande maioria das *Firmicutes* possui como característica uma parede celular, ou seja, são gram positivas. Compreendem 274 gêneros de bactérias, tanto com atividade imunomodulatória benéfica (tais como *Clostridium* e *Lactobacillus*), como também espécies relacionadas a indução da inflamação, que estão diretamente associados a algumas doenças crônicas (FURUHASHI et al., 2007). Na situação de obesidade é associada uma diminuição na proporção de *Bacteroidetes* e aumento proporcional de *Firmicutes*, sendo a perda de peso o resultado da inversão dessa razão (LAU et al., 2016).

Bäckhed e colaboradores (2004) foram pioneiros na investigação da participação da microbiota intestinal no armazenamento de gordura, devido ao seu papel essencial no processamento de polissacarídeos alimentares. Desde então, investigações que apontam a modulação da microbiota em resposta a fatores dietéticos e distúrbios metabólicos têm sido alvo de diversos estudos, incluindo os que avaliam a correlação entre microbiota intestinal e obesidade (TURNBAUGH et al., 2009b; DE FELIPPO et al., 2010).

## 2.2 MICROBIOTA INTESTINAL

A colonização intestinal por microrganismos se inicia no momento do nascimento e tem continuidade nas primeiras fases da vida (SALMINEN e ISOLAURI, 2006). Diversos são os fatores que influenciam a essa colonização, como o tipo de parto, idade gestacional, hospitalização, uso de antibióticos, aleitamento e alimentação, assim como diferenças regionais geográficas e culturais (BENNO et al., 1984; TANNOCK et al., 1990; GRÖLUND et al., 1999; FANARO et al., 2003; HOPKINS et al., 2005; PENDERS et al., 2006; ADLERBERTH e WOLD, 2009). Dessa forma, há uma grande variabilidade da microbiota intestinal entre indivíduos, incluindo diferenças nas proporções relativas de filos dominantes e variação de gêneros e espécies (NICHOLSON et al., 2012; DE MORAES et al., 2014).

Quando a criança tem aproximadamente dois anos de idade, a microbiota torna-se relativamente estável, e semelhante à de um indivíduo adulto, compreendendo principalmente bactérias anaeróbias, adquiridas durante o nascimento e na primeira

infância. Após o estabelecimento da colonização, a quantidade e tipo de nutrientes ingeridos na dieta são fatores importantes que interferem na composição da comunidade bacteriana intestinal, e possuem relevância na modulação metabólica e balanço energético (LEY et al., 2005; DE MORAES et al., 2014).

As diversas funções do epitélio intestinal no organismo humano correspondem, desde a colonização inicial, a respostas imunológicas, antibacterianas e metabólicas/nutricionais (DE MORAES *et al.*, 2014). Dentre essas, destacam-se a proteção do hospedeiro contra a colonização por bactérias patogênicas, função denominada resistência à colonização; modulação da resposta imunológica, produção de vitaminas do complexo B e K e extração de energia de polissacarídeos provenientes da dieta (TANNOCK, 2001; PENNA e NICOLI, 2001; LEY et al., 2005; HOOPER, 2009; TADDEI et al., 2011; ROSENBAUM et al., 2015).

A microbiota pode promover o fortalecimento da barreira intestinal e a proteção contra patógenos por meio da exclusão competitiva na ocupação de locais de fixação. Por outro lado, a quebra da integridade da barreira intestinal promove a entrada de moléculas potencialmente envolvidas no início de resposta inflamatória (LUOTO et al., 2013).

A interação entre microbiota e permeabilidade intestinal tem sido relacionada ao desenvolvimento não apenas da obesidade, mas também de suas comorbidades (BISCHOFF et al., 2014; PERPÉTUO et al., 2015). A evidência de que a composição da microbiota pode ser diferente em humanos eutróficos e obesos reforçou a hipótese da sua influência na fisiopatologia da obesidade (LEY et al., 2006; TSUKUMO et al., 2009). Neste contexto, a microbiota intestinal tem sido alvo de diversos estudos que apontam a participação de bactérias intestinais no metabolismo energético e, conseqüentemente, no desenvolvimento de obesidade e outros distúrbios metabólicos (DELZENNE et al., 2011; JUMPERTZ et al., 2011; ZHANG et al., 2015).

### 2.2.1 Disbiose

O equilíbrio entre os fatores internos e externos ao hospedeiro, capazes de modificar a composição da microbiota, é atribuído a um estado de saúde adequado. Por outro lado, desequilíbrios provocam modificação na colonização intestinal com diminuição de bactérias protetoras ou benéficas e aumento de microrganismos patogênicos, estabelecendo um quadro de disbiose (PENDERS et al., 2006; ZHANG et al., 2015).

A disbiose além de provocar sintomas como gases, diarreia ou constipação também está relacionada com doenças cardiovasculares, síndromes metabólicas e distúrbios do sistema nervoso central (MILLION et al., 2012; PALAU-RODRIGUES et al., 2015).

Avanços significativos sobre a participação da microbiota no desenvolvimento de doenças foram obtidos a partir de estudos realizados em modelos animais (LEY et al., 2005; HILDEBRANDT et al., 2009; TURNBAUGH et al., 2009b), que possibilitaram a identificação de desequilíbrios da comunidade microbiana intestinal em doenças inflamatórias, infecciosas e crônicas.

Zhang e colaboradores (2015) demonstraram que a disbiose está presente em indivíduos com diversas patologias. Dentre elas, a colite ulcerativa (KAMADA et al., 2005; MACHIELS et al., 2014), a doença de Crohn (SEKSIK et al., 2003), o câncer colorretal (WEIR et al., 2013), o diabetes mellitus tipo I (MURRI et al., 2013), o diabetes mellitus tipo II (LARSEN et al., 2010) e a obesidade (THUNY et al., 2010; MILLION et al., 2013b). No entanto, embora esteja bem estabelecido que ocorram variações na microbiota intestinal de indivíduos acometidos por essas doenças, ainda permanecem desconhecidas se a disbiose seria a origem ou consequências das mesmas (ZHANG et al., 2015).

Novas estratégias têm surgido com o objetivo de identificar, diagnosticar e tratar essas doenças. Notoriamente, a dieta se torna um dos fatores primordiais para manter o equilíbrio microbiano, podendo trazer benefícios para o hospedeiro ou piorando a função intestinal, pois as bactérias intestinais utilizam principalmente processos fermentativos para gerar energia produzindo, conseqüentemente, ácidos graxos de cadeia curta (AGCC). Por isso, a nutrição funcional enfatiza a utilização de alimentos probióticos e prebióticos como forma promissora de prevenção de doenças relacionadas ao intestino, pois há uma interação benéfica em relação a sobrevivência e crescimento da microbiota intestinal (CUUMMINGS e MACFARLANE, 2002; QUIN et al., 2010; RODRIGUES, 2015; RAMIREZ, 2017).

### 2.2.2 Modulação da microbiota intestinal

É crescente a busca por uma alimentação equilibrada, baseada em componentes naturais biologicamente ativos, capazes de promover qualidade de vida em seres humanos (THAMER e PENNA, 2006). A preocupação dos consumidores com a incidência de

doenças do século XXI, como obesidade e diabetes, aumentou a sua conscientização e a busca por alimentos com propriedades funcionais que, além de oferecerem o benefício da nutrição básica, promovem a saúde humana, prevenindo o desenvolvimento de doenças. Os probióticos e prebióticos são reconhecidos como alimentos funcionais, capazes de promover benefícios de uma microbiota intestinal (MADIGAN et al., 2010).

Assim sendo, é importante destacar as definições de:

a) *Probióticos*

São micro-organismos vivos e viáveis, consumidos em número suficiente para alterar a microbiota, que afetam benéficamente e promovem o equilíbrio da microbiota intestinal dos indivíduos que os consomem (BIELECKA et al., 2002; SAAD, 2006; AMAR et al., 2011; ZAMBON, 2013; FERNANDES, 2018).

Os principais micro-organismos utilizados como suplementos probióticos são provenientes de mono ou multiculturas representadas principalmente por bactérias pertencentes aos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* (SAAD, 2006; STEFE et al., 2008; RAIZEL et al., 2011). Os probióticos atuam no organismo principalmente ao inibir a colonização intestinal por bactérias patogênicas. Destaca-se o estímulo ao sistema imune, que ocorre por meio do aumento dos níveis de anticorpos e da ativação dos macrófagos, proliferação de células T e a produção do interferon, proteína que produz resistência antivirais em células saudáveis (AMAR et al., 2011).

Os produtos com os probióticos resistem ao processo de digestão e chegam intactos ao intestino, onde atuam de maneira positiva reduzindo os gases, a constipação intestinal e diarreias. Estudos indicam os probióticos ainda podem beneficiar em dores musculares, problemas no estômago e doenças crônicas, entre outros (AMAR et al., 2011).

Para a obtenção dos efeitos desejados, as bactérias probióticas devem estar presentes em quantidades adequadas nos produtos, porém esse número ainda não é bem estabelecido. Em geral um consumo de bactérias probióticas entre  $10^8$  e  $10^{11}$  UFC (unidade formadora de colônias) dia é recomendado. Uma dose diária recomendada é de duas vezes ao dia de  $10^{10}$  *Lactobacillus* GG e cada dose corresponde a aproximadamente 80 mL de leite fermentado (BATISTA e OLIVEIRA, 2002; STEFE et al., 2008).

b) *Prebióticos*

O conceito de prebióticos é mais recente do que o de probióticos, e foi proposto inicialmente por Gibson e Roberfroid em 1995. São ingredientes seletivamente

fermentados, não digeríveis, utilizados como substrato por micro-organismos do hospedeiro (GIBSON et al., 2017). Permitem mudanças específicas na composição e/ou atividade da microbiota gastrointestinal, de tal forma que as bactérias com potencial de promoção de saúde tornam-se a maioria predominante (CAPRILES et al., 2005; SAAD, 2006; STEFE et al., 2008; WGO, 2017).

Os prebióticos são substâncias alimentares compostas basicamente por polissacarídeos não amido e oligossacarídeos. O desenvolvimento dos prebióticos veio da descoberta dos fatores *bifidus* oligossacarídeos, bactérias anaeróbicas e benéficas, presentes apenas no leite humano, que favorece a multiplicação de bífidobactérias do recém-nascidos amamentados ao seio (STEFE et al., 2008; SANTOS e RICCI, 2016; WGO, 2017).

O alimento deve atender à alguns requisitos para ser considerado um prebiótico, sendo eles: não ser hidrolisado nem ser absorvido na parte superior do trato gastrointestinal; ser um substrato seletivo para um pequeno número de bactérias benéficas para o cólon, que são estimuladas a crescer e/ou são metabolicamente ativadas; ser capaz de alterar a flora colônica em favor de uma composição mais saudável; induzir efeitos luminiais ou sistêmicos que são benéficos para a saúde do hospedeiro (GIBSON e ROBERFROID, 1995; GIBSON et al., 2017).

Dentre as características dos prebióticos temos a resistência às enzimas salivares, pancreáticas e intestinais, bem como ao ácido estomacal. Podem ser encontrados em fibras dietéticas solúveis (frutanos), outros açúcares não absorvíveis, álcoois do açúcar e oligossacarídeos. Entre as substâncias prebióticas podemos citar a lactulose, lactitol, xilitol, inulina e alguns oligossacarídeos não digeríveis como os Frutooligossacarídeos (FOS) e Galactooligossacarídeos (GOS) (CAPRILES et al., 2005; SANTOS et al., 2006; STEFE et al., 2008).

Em humanos, o prebiótico com maior destaque em estudos científicos é o FOS. Essa substância, pertencente à família dos frutanos, resiste à hidrólise enzimática no intestino delgado e entra no ceco com sua estrutura intacta. Entretanto, não é excretado nas fezes, o que indica sua completa fermentação no cólon. O FOS está presente em compostos de origem vegetal, tais como cebola, aspargos, alcachofra, alho, trigo, banana, tomate e mel (FERNANDES, 2014).

No cólon, as bactérias presentes produzem enzimas glicolíticas e hidrolisam a estrutura do FOS em mono ou dissacarídeos, e então são transportados pelos enterócitos e metabolizados em AGCC, lactato, CO<sub>2</sub> e H<sub>2</sub>. Todos os AGCC (particularmente o

acetato, propionato e butirato) são os principais produtos finais de reações de fermentação de bactérias que acidificam o cólon. Esta diminuição do pH favorece o desenvolvimento de bactérias de ação positiva (especialmente as *bifidobactérias* e os *lactobacilos*), e ao mesmo tempo, são capazes de suprimir a atividade das bactérias patogênicas (como a *Escherichia coli* e o *Clostridium perfringens*) (DENIPOTE, TRINDADE e BURINI, 2010; FERNANDES, 2014).

c) *Simbióticos*

Os simbióticos proporcionam a ação conjunta de prebióticos e probióticos, podendo ser classificados como componentes dietéticos funcionais que podem aumentar a sobrevivência dos probióticos durante a passagem pelo trato digestório superior, pelo fato de seu substrato específico estar disponível para fermentação (STEFE et al., 2008; SANTOS e RICCI, 2016).

O consumo de probióticos e de prebióticos selecionados apropriadamente pode aumentar os efeitos benéficos de cada um deles, uma vez que o estímulo de cepas probióticas conhecidas, leva a escolha dos pares simbióticos substrato–microrganismo ideais (SAAD, 2006; STEFE et al., 2008).

A suplementação com prebióticos e probióticos vêm sendo amplamente investigada, uma vez que eles podem apresentar funções importantes em condições de estresse oxidativo e inflamatório, a partir da redução da produção de mediadores inflamatórios por atuarem em vias de sinalização celular e serem capazes de alterar o padrão de expressão de determinados genes (LATVALA et al., 2011).

A modulação intestinal com uso de probióticos, prebióticos e simbióticos visa reestabelecer o equilíbrio da microbiota intestinal, bem como a integridade da barreira da mucosa intestinal e suas funções, que em situação de obesidade, encontra-se com sua permeabilidade alterada. Esses danos celulares na mucosa intestinal, também constituem uma reação em cadeia dos ácidos graxos poli-insaturados nas membranas celulares, gerando RL que alteram ainda mais a permeabilidade, fluidez e integridade das mesmas, resultando num processo de peroxidação lipídica (LPO) (MADIGAN et al., 2010; TEIXEIRA et al., 2012; FRANÇA et al., 2013). Tal processo conduz à oxidação de biomoléculas e/ou desequilíbrio homeostático, cuja manifestação é o dano potencial contra células e tecidos (HALLIWELL e WHITEMAN, 2004).

## 2.3 ESTRESSE OXIDATIVO

Os radicais livres (RL) são átomos ou moléculas que possuem pelo menos um elétron desemparelhado em seus orbitais externos. Isso permite a transferência de elétrons com moléculas vizinhas. Alguns exemplos são:  $\text{OH}\cdot$  (íon hidroxila),  $\text{HOH}\cdot$  (íon peroxil),  $\text{O}_2\cdot^-$  (ânion superóxido),  $\text{NO}$  (óxido nítrico) e  $\text{O}_2$  (oxigênio). Os RL são muito instáveis e têm alto poder reativo, podem agir como aceptores ou doadores de elétrons, criando alterações no ambiente molecular ao seu redor. Os compostos não radicalares, como  $\text{H}_2\text{O}_2$  (peróxido de hidrogênio) e  $\text{HOCl}$  (ácido hipocloroso), não possuem elétrons livres, sendo, portanto, menos instáveis que os RL, mas também podem reagir com moléculas na sua redondeza (MAGDER, 2006; CAROCHO e FERREIRA, 2013).

A geração de RL constitui um processo contínuo e fisiológico, atuando principalmente no sistema imunológico. Estes, induzidos por fatores internos são chamados de radicais livres de origem endógena e desencadeiam dois tipos de reações (enzimáticas ou não enzimáticas). Eles são necessários para que funções como a sinalização celular e a defesa contra micro-organismos ocorram de maneira adequada. Durante os processos metabólicos, esses radicais atuam como mediadores para a transferência de elétrons nas várias reações bioquímicas. Porém, a produção excessiva pode conduzir a lesões oxidativas (FERREIRA e MATSUBARA, 1997; HALLIWELL, 2000).

Há também os RL de origem exógena, que são originados a partir de fatores externos ao organismo (como poluição, radiação solar e outros tipos de radiação, consumo de tabaco e álcool, estresse, dietas inadequadas, genética) (FERREIRA e MATSUBARA, 1997; HALLIWELL, 2000).

Estes RL, cujo elétron desemparelhado se encontra centrado nos átomos de oxigênio ou nitrogênio são denominadas espécies reativas de oxigênio (ERO) e espécies reativas de nitrogênio (ERN), respectivamente (VISIOLI, KEANEY e HALLIWELL, 2000; PIETTA, 2000; BARBOSA et al., 2010).

As ERO são átomos ou moléculas que contém um número ímpar de elétrons em sua última camada eletrônica, o que confere uma alta reatividade a essas moléculas, e são encontradas em todos os sistemas biológicos. Em condições fisiológicas do metabolismo celular aeróbio, o oxigênio sofre redução, resultando na formação de água. Durante esse processo, cerca de 2 a 3% desse oxigênio molecular sofre redução incompleta, originando intermediários reativos, tais como o radical superóxido ( $\text{O}_2^-$ ), hidroperoxil ( $\text{HO}_2\cdot$ ),

hidroxil (OH) e peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). Normalmente essa redução ocorre na mitocôndria e, em condições normais, o organismo possui mecanismos compensatórios para sequestro das espécies reativas formadas nesse processo (Figura 3) (FERREIRA; MATSUBARA, 1997)

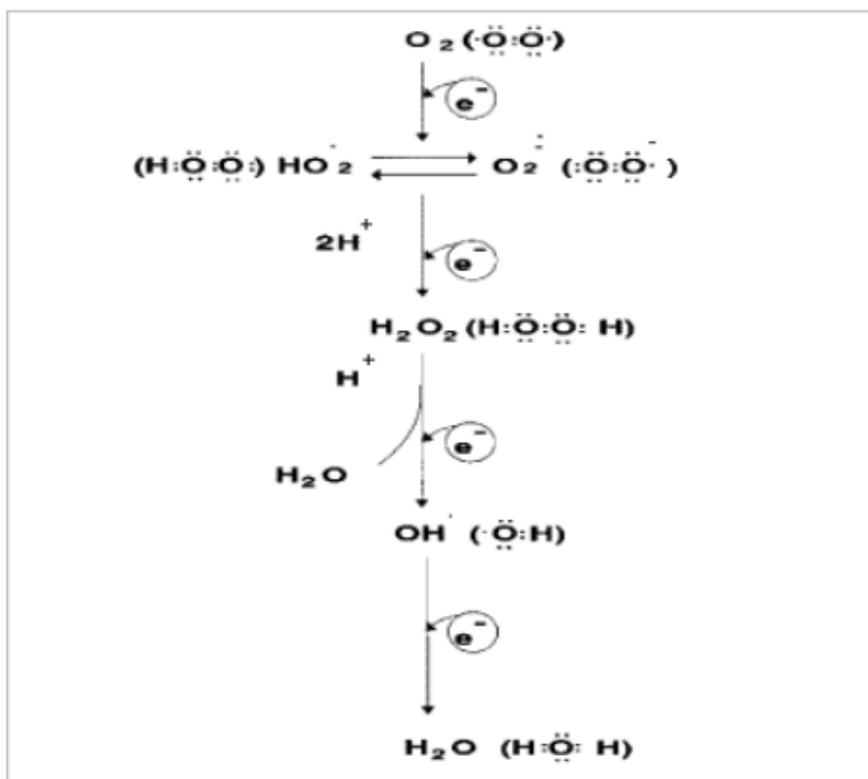


Figura 3. Redução tetraivalente do oxigênio molecular na mitocôndria até a formação de água. Várias espécies de ERO são formadas nesse processo (FERREIRA e MATSUBARA, 1997).

As ERO no organismo são neutralizadas por substâncias antioxidantes. Segundo HALLIWELL (2000), antioxidante é qualquer substância que, quando presente em baixa concentração comparada a do substrato oxidável, regenera o substrato ou previne significativamente a oxidação do mesmo. Os antioxidantes podem agir enzimaticamente detoxificando o agente oxidante antes que ele cause lesão, como a glutaciona peroxidase (GPx), a catalase (CAT) e a superóxido dismutase (SOD); ou não enzimaticamente, reparando a lesão ocorrida, como a glutaciona (FERREIRA e MATSUBARA, 1997 ; HALLIWELL, 2000).

Quando ocorre um desequilíbrio no balanço redox, onde a geração de ERO ultrapassa a capacidade de reparo das defesas antioxidantes do organismo, com a

potencialidade de exercer efeitos deletérios, cria-se um estado denominado de estresse oxidativo (HALLIWELL, 2006; VASCONCELOS et al, 2007).

O conceito de estresse oxidativo foi introduzido em 1985, como "um distúrbio no equilíbrio pró-oxidante-antioxidante em favor do primeiro", porém a ideia inicial tem sido questionada. Na época, o campo focou na caracterização de enzimas oxidantes e antioxidantes e compostos de pequena massa molecular. Com novos estudos feitos nas décadas subsequentes, houveram descobertas fundamentais no entendimento da regulação redox, sinalização redox e detecção de redox. Isso exigia uma atualização do conceito, levando à definição de estresse oxidativo como “um desequilíbrio entre oxidantes e antioxidantes em favor dos oxidantes, levando a uma interrupção da sinalização e controle redox e / ou danos moleculares” (SIES, 2018).

Os danos oxidativos causados pelos altos níveis de ERO ocasionam modificações importantes a biomoléculas conduzindo a danos celulares, nas membranas lipídicas, nas proteínas citosólicas e de membrana, e danos nas bases nitrogenadas do ácido desoxirribonucleico (DNA)(BIANCHI et al, 1999), e têm sido relacionados com a etiologia de várias doenças, tais como as cardiopatias e aterosclerose (BATLOUNI, 1997), diabetes tipo II (MANFREDINI et al, 2010), problemas pulmonares (FERREIRA; MATSUBARA, 1997), erros inatos do metabolismo (SITTA et al, 2009; RIBAS et al, 2010), envelhecimento cutâneo (HIRATA et al, 2004), carcinogênese (LOUREIRO et al, 2002), obesidade (FERREIRA; CAROCHO, 2013), entre outros.

As ERO podem desgastar as membranas celulares, as quais contêm uma grande quantidade de ácidos graxos poliinsaturados. A LPO dá-se pela reação dos RL com os lipídeos insaturados das membranas, resultando na formação de hidro ou lipoperóxidos, que são altamente reativos e podem dar início a uma cascata oxidativa, com severos danos a integridade da membrana. Nessa reação ocorre a liberação de produtos de degradação de ácidos graxos, como o malondialdeído (MDA), e a quantificação deste composto tem sido utilizada para avaliar a extensão do dano oxidativo (MARNETT, 1999; OHKAWA et al, 1979).

Em situação de obesidade, sabe-se que existem pelo menos três mecanismos através dos quais a LPO é produzida. A obesidade aumenta a necessidade metabólica do miocárdio, e conseqüentemente do consumo de oxigênio. Com isso, a produção de ERO (como os superóxidos e os peróxidos de hidrogênio) aumenta devido à maior respiração mitocondrial, e se essa produção exceder a capacidade antioxidante da célula, o estresse oxidativo pode ocorrer, resultando em LPO (TURRENS, 1997). O segundo mecanismo

se dá através da lesão celular progressiva e cumulativa ocasionada pela pressão devido à grande massa corporal. A injúria celular, por sua vez, libera toxinas como o Fator de Necrose Tumoral (TNF), gerando ERO (LECHIEEITNER et al., 2000). Como terceiro mecanismo proposto está a dieta hiperlipídica, capaz de alterar o mecanismo do oxigênio, pois as moléculas dos ácidos graxos com duplas ligações são vulneráveis a reações oxidativas e conseqüentemente podem levar a LPO (NEVES, 2010). (Figura 4)

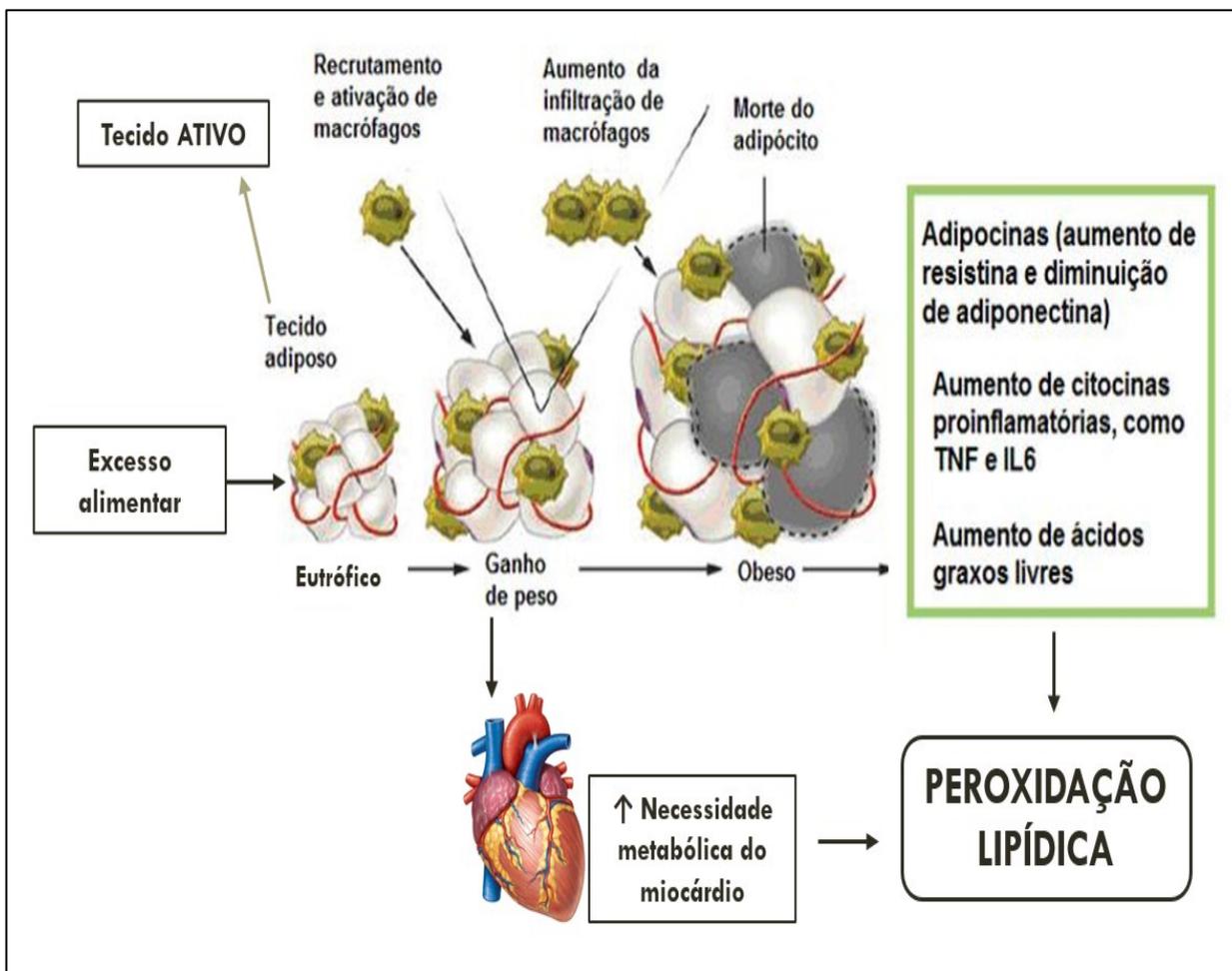


Figura 4. Mecanismos de peroxidação lipídica em situação de obesidade. Fonte: Adaptado de TURRENS, 1997; LECHIEEITNER et al., 2000; NEVES, 2010.

Para a modificação oxidativa ocasionada por ERO, as proteínas são os alvos imediatos, alterando sua estrutura e provocando perda de função e fragmentação das estruturas proteicas. A formação da proteína carbonil parece ser um fenômeno comum durante a oxidação, e sua quantificação pode ser usada para medir a extensão do dano oxidativo (BERLETT e STADMAN, 1997; BEAL, 2003; DALLE-DONNE et al., 2003).

Os grupamentos carbonílicos (CO) são produzidos pela oxidação da cadeia lateral de aminoácidos suscetíveis, como prolina (Pro), arginina (Arg), lisina (Lis) e treonina (Tre), ou pela clivagem oxidativa das proteínas. Também, os CO podem ser introduzidos nas proteínas por uma reação secundária das cadeias laterais com aldeídos produzidos durante a LPO, como o MDA. O conteúdo de proteína carbonil é atualmente o marcador de oxidação proteica mais usado e observa-se seu aumento em várias doenças humanas, tais como Doença de Alzheimer, Diabetes mellitus, processos inflamatórios e artrite reumatoide. Vale ressaltar que níveis elevados de proteína carbonil também são indicadores de doenças derivadas do metabolismo proteico, e não somente de estresse oxidativo (DALLE-DONNE et al., 2003). As proteínas modificadas oxidativamente são produtos quimicamente estáveis, sendo um fator importante para a sua detecção e armazenamento (RUTKOWSKA et al., 2005).

A hipótese de que a obesidade, por si, causa aumento de LPO e diminuição das enzimas citoprotetoras eritrocitárias também está em crescente discussão. A consequência de uma baixa atividade de enzimas citoprotetoras é o dano celular progressivo que pode resultar em outras doenças, como aterosclerose e o cancro (FRANÇA, 2013). Olusi (2002) apresentou um estudo que avaliou essa hipótese em pacientes com obesidade através da medida das concentrações plasmáticas de MDA e da atividade de enzimas antioxidantes como a SOD e a GPx. Esse estudo chegou à conclusão de que a obesidade, mesmo quando não associada ao tabagismo, à diabetes, à hipertensão arterial, à hiperlipidemia, a doenças renais ou hepáticas, reforça a hipótese citada anteriormente, e deve, portanto, receber a mesma atenção que a obesidade associada a complicações.

Para inibir e/ou reduzir os danos causados pela ação deletéria dos RL e/ou das ERO e ERN, age então o mecanismo de defesa do sistema antioxidante. Os antioxidantes são definidos como qualquer substância que, quando presente em maior concentração, comparada àquela do substrato oxidável, regenera o substrato ou previne significativamente a oxidação do mesmo (HALLIWELL e GUTTERIDGE, 1999). Tais ações podem ser alcançadas por meio de diferentes mecanismos de ação: impedindo a formação dos RL ou espécies não-radicaais (sistemas de prevenção), impedindo a ação desses (sistemas varredores) ou, ainda, favorecendo o reparo e a reconstituição das estruturas biológicas lesadas (sistemas de reparo) (BARBOSA et al., 2010).

Usualmente, esse sistema é dividido em enzimático (Tabela 1) e não-enzimático (Tabela 2). O segundo caso, é constituído por grande variedade de substâncias antioxidantes, que podem ter origem endógena ou dietética.

Tabela 1. Ações e Mecanismos de substâncias antioxidantes enzimáticos.

<i>Antioxidantes</i>	<i>Ação</i>	<i>Referências</i>
<i>Enzimáticos</i>		
Superóxido Dismutase (SOD)	SOD-Cu/Zn (citoplasma), SOD-Mn (mitocôndria). Catalisa a conversão do radical superóxido ( $O_2\bullet$ ) em peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ )	Vincent et al., 2007
Catalase (CAT)	Catalisa a conversão de $H_2O_2$ em $O_2$ e $H_2O$	Vincent et al., 2007
Glutathione Peroxidase (GPx)	Catalisa a redução do $H_2O_2$ a $H_2O$	Vincent et al., 2007

Legenda: CAT: Catalase; Cu: cobre;  $H_2O_2$ : peróxido de hidrogênio; Mn: manganês;  $O_2\bullet$ : radical superóxido; SOD: superóxido dismutase; Zn: zinco. Fonte: Adaptado de Barbosa et al, 2010.

Tabela 2. Ações e Mecanismos de substâncias antioxidantes não enzimáticas.

<i>Antioxidantes</i>	<i>Ação</i>	<i>Referências</i>
<i>Não enzimáticos (de origem dietética)</i>		
Vitamina A (β-caroteno)	Proteção contra a oxidação de lipídeos e DNA	Rodrigo et al., 2007
Vitamina C (ácido ascórbico)	Inibição das EROs (agente redutor). Estimula o poder antioxidante da vitamina E e selênio. Proteção contra danos causados pela LDL-ox	Rodrigo et al., 2007
Vitamina E (α-tocoferol)	Proteção contra a peroxidação dos ácidos graxos insaturados da membrana celular e das LDL. Converte O <sub>2</sub> • e H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> em formas menos reativas	Rodrigo et al., 2007
Cu, Zn, Mg, Mn, Se	Cofatores das enzimas antioxidantes SOD-Cu/Zn, SOD-Mn e GSH-Px	Vincent et al., 2007
Outros carotenóides (licopeno)	Proteção contra a oxidação de lipídeos, LDL, proteínas e DNA. Sequestra e inativa os radicais livres	Vincent et al., 2007
Fitoquímicos (resveratrol, catequinas, quercetinas, ácidos fenólicos e outros)	Proteção contra a oxidação de lipídeos e DNA	Fito et al., 2007

Legenda: DNA: ácido desoxirribonucléico; Cu: cobre; ERO's: espécies reativas de oxigênio; H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: peróxido de hidrogênio; LDL: lipoproteína de baixa densidade; LDL-ox: lipoproteína de baixa densidade oxidada; Mg: magnésio; Mn: manganês; O<sub>2</sub>•: radical superóxido; Se: selênio; SOD: superóxido dismutase; Zn: zinco. Fonte: Adaptado de Barbosa et al, 2010.

No que tange aos efeitos dos compostos antioxidantes advindos da dieta, acredita-se que eles possam proteger as células dos RL que induzem o dano oxidativo (WANG et al., 2012). Sendo assim, a dieta rica em substâncias antioxidantes pode ser considerada um dos principais contribuintes externos para a regulação do estado antioxidante sérico (LI et al., 2013).

A avaliação da capacidade antioxidante total da dieta (CATd), que considera todos os antioxidantes presente na dieta e os efeitos sinérgicos entre eles, está atraindo cada vez mais atenção por sua eficácia na investigação da associação entre o consumo de alimentos

e doenças de risco, e tem sido considerada como uma ferramenta útil para avaliar os benefícios da capacidade antioxidante acumulada dos alimentos para a saúde (HERMSDORFF et al., 2011, WANG et al., 2012; WANG, CHUN, SONG, 2013).

Vários estudos tem demonstrado associação negativa entre dietas com elevado valor de CATd e DCNT como a obesidade e suas comorbidades, uma vez que uma das patogêneses comuns entre elas é o estresse oxidativo (HERMSDORFF et al., 2011; PSALTOPOULOU et al., 2011; BAHADORAN et al., 2012; GIFKINS et al., 2012; LOPEZ-LEGARREA et al., 2012; PUCHAU et al., 2012; RAUTIANIAINEN et al., 2012; COSTANZO et al. 2014; OKUBO et al., 2014b;).

### 2.3.1 Biomarcadores antioxidantes

Em sistemas aeróbicos, é essencial o equilíbrio entre agentes óxido-redutores e o sistema de defesa antioxidante. Esses agentes são gerados endogenamente como consequência direta do metabolismo do oxigênio (O<sub>2</sub>) e também em situações não-fisiológicas, como a exposição da célula a xenobióticos que provocam a redução incompleta de O<sub>2</sub>. Para proteger-se, a célula possui um sistema de defesa que pode atuar em duas linhas. A primeira, como detoxificadora do agente antes que ele cause lesão, é constituída por glutathiona reduzida (GSH), SOD, CAT, GPx e vitamina E. A segunda linha é de defesa que tem a função de reparar a lesão ocorrida, sendo constituída pelo ácido ascórbico, pela glutathiona-redutase (GSH-Rd) e pela GPx. Com exceção da vitamina E ( $\alpha$ -tocoferol), que é um antioxidante estrutural da membrana, a maior parte dos agentes antioxidantes está no meio intracelular (HEBBEL, 1986; ROSS, MOLDEUS, 1991.). (Figura 5)

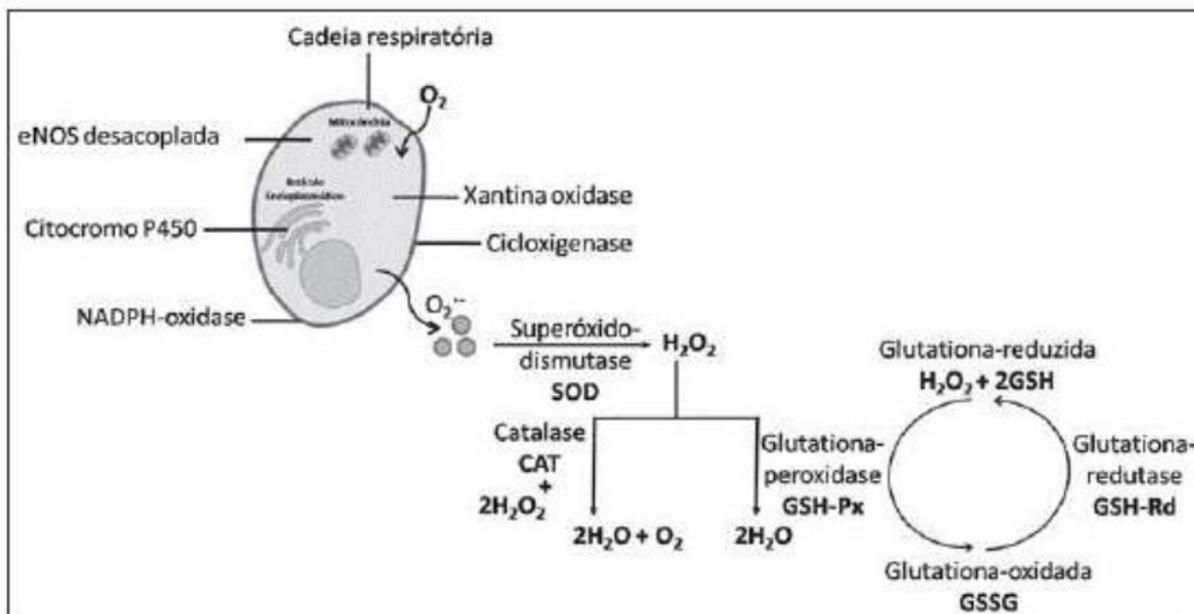


Figura 5. Sistema enzimático oxidante e antioxidante. eNOS = óxido nítrico sintetase endotelial;  $O_2^-$  = ânion superóxido;  $O_2$  = oxigênio. Fonte: DEBLIN et al., 2009.

Os compostos tiólicos são antioxidantes que contêm em sua estrutura o grupamento-SH, entre estes compostos estão a glutaciona, a cisteína e as proteínas tiólicas. Esses compostos estão envolvidos no sequestro de RL, e são capazes de quelar íons metálicos danosos, desempenhando assim um papel crucial na defesa antioxidante dos eritrócitos e no plasma (WLODEK et al., 2010).

### *Glutaciona reduzida (GSH)*

A glutaciona reduzida (GSH, L- $\gamma$ -glutamil-L-cis-teinil-glicina) está presente na maioria das células e é o tiol (-SH) mais abundante no meio intracelular (MEISTER, 1983). Sua capacidade redutora é determinada pelo grupamento -SH, presente na cisteína. A GSH pode ser considerada um dos agentes mais importantes do sistema de defesa antioxidante da célula, protegendo-a contra a lesão resultante da exposição a agentes como íons ferro, oxigênio hiperbárico, ozona, radiação e luz ultravioleta (DENEK, FANBURG, 1989; GALLEANO, PUNTARULO, 1995).

Além disto, atua como transportadora e reservatório da cisteína e participa da detoxificação de agentes químicos e da eliminação de produtos da lipoperoxidação. Ainda, é requerida para a síntese de DNA, de proteínas e de algumas prostaglandinas (DENEK, FANBURG, 1989).

### *Glutathione-reductase (GSH-Rd)*

Após exposição da GSH ao agente oxidante, ocorre sua oxidação a GSSG (HEBBEL, 1986). A recuperação da GSH é feita pela enzima GSH-Rd, uma etapa essencial para manter íntegro o sistema de proteção celular (GILBERT, MC LEAN, 1990). Habitualmente, a reserva intracelular de GSH-Rd é alta e somente uma grave deficiência desta enzima resultará em sinais clínicos. A GSH-Rd é uma flavoproteína dependente da nicotinamida-adenina-dinucleotídeo-fosforeduzida (NADPH) e, portanto, também dependente da integridade da via das pentoses (ROSS, MOLDEUS, 1991). Sob condições de diminuição do fornecimento de NADPH, como no jejum e na deficiência de glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PD), há prejuízo da função da GSH-Rd (SHAN et al., 1990).

### *Glutathione-peroxidase (GPx)*

A GPx catalisa a redução do peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) e peróxidos orgânicos para seus correspondentes alcoóis às custas da conversão da GSH a GSSG. Embora a GPx tenha ação fundamentalmente citosólica, *in vitro* ela é capaz de reduzir hidroperóxidos de membrana (HEBBEL, 1986).

### *Catalase*

A catalase é uma heme proteína citoplasmática que catalisa a redução do  $H_2O_2$  a  $H_2O$  e  $O_2$ . É encontrada no sangue, medula óssea, mucosas, rim e fígado. Sua atividade é dependente de NADPH (MAYES, 1990; SCOTT et al., 1991).

### *Superóxido-dismutase (SOD)*

A SOD corresponde a uma família de enzimas com diferentes grupos prostéticos em sua composição. Nos sistemas eucariontes existem duas formas de SOD. A forma SOD-cobre-zinco está presente principalmente no citosol, enquanto SOD-manganês está localizada primariamente na mitocôndria. Esta enzima também tem papel antioxidante, já que catalisa a dismutação do radical superóxido em  $H_2O_2$  e  $O_2$ , na presença do próton  $H^+$  (ROSS, MOLDEUS, 1991; ACHARYA, 1991).

2.4 EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DE PREBIÓTICO, PROBIÓTICO OU SIMBIÓTICO NA ATIVIDADE DE ENZIMAS ANTIOXIDANTES NA SITUAÇÃO DE OBESIDADE.

O epitélio intestinal está constantemente exposto a uma grande quantidade de materiais estranhos que podem ser prejudiciais ou benéficos para o organismo. Caso esse equilíbrio homeostático entre as respostas imunitárias que são induzidas após encontro com patógenos intestinais, e a tolerância a bactérias comensais seja rompido (situação característica da obesidade), uma resposta inapropriada é iniciada, causando danos ao hospedeiro. Os prebióticos, probióticos e simbióticos tem sido alvo de estudos em modelos animais e humanos quanto ao papel imunomodulador que podem exercer, haja vista a conhecida ação positiva desses na restauração do equilíbrio da microbiota e do epitélio intestinal (FERNANDES, 2018).

A administração de lactobacilos e bifidobactérias é segura, amplamente utilizada, e bem tolerável, uma vez que os mesmos já constituem a microbiota intestinal e apresentam baixo potencial patogênico (SALMINEN e ISOLAURI, 2006). Os prebióticos provenientes de uma dieta saudável e de suplementação, dão subsídios para a manutenção e crescimento bacteriano, que beneficia a microbiota intestinal. Como probióticos precisam dos substratos fornecidos pelos prebióticos para sobreviverem, os simbióticos resultam de uma combinação sinérgica de ambos, promovendo equilíbrio e saúde às bactérias gastrointestinais (ZHENG et al., 2019).

Parte dos mecanismos de ação que explicam os efeitos benéficos dos probióticos na microbiota intestinal já são estudados, e envolvem a modificação do pH intestinal, a produção de compostos antimicrobianos, competição com patógenos, nutrientes e fatores de crescimento, estímulo de células imunomoduladoras e produção de lactase (PARVEZ et al., 2006). A interação entre os microrganismos e o hospedeiro pode ocorrer a partir da adesão à mucosa e células epiteliais, o que estimula a secreção de muco e a produção de mucina, reforçando a barreira intestinal (Figura 6) (COLLADO et al., 2009).

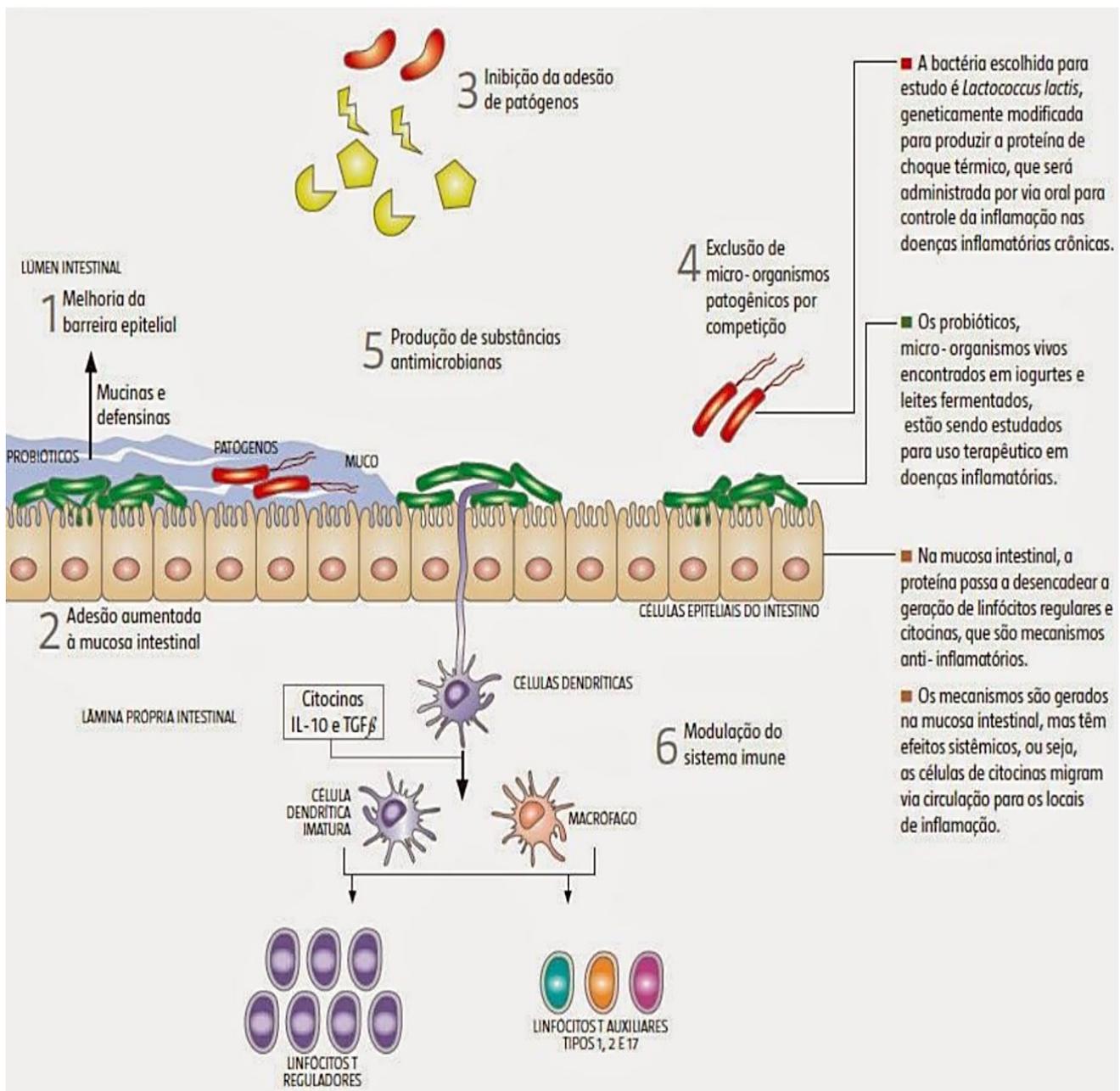


Figura 6. Mecanismo de ação dos probióticos na permeabilidade intestinal. Fonte: ALMEIDA, 2019.

Cani et al. (2009) propuseram que a maior produção endógena do peptídeo 2 semelhante ao glucagon (GLP-2) promovida pelo prebiótico oligofrutose seria a responsável pela melhora da função de barreira da mucosa intestinal, consequentemente pela redução da endotoxemia metabólica (diminuição dos níveis plasmáticos de lipopolissacarídeo – LPS) e, portanto, redução do tônus inflamatório e do estresse oxidativo no plasma e no tecido hepático. Osborn e Olefsky (2012) defendem que a alteração de uma ou mais etapas da fisiopatologia da obesidade já reflete positiva ou

negativamente em mediadores patogênicos como: adipocitocinas pró-inflamatórias, o estresse oxidativo; dislipidemia; a disfunção mitocondrial e outros.

Porém, artigos que avaliem os mecanismos de ação dos prebióticos, probióticos e simbióticos, estão geralmente relacionados aos processos inflamatórios de outras doenças, sem avaliarem especificamente indivíduos com diagnóstico de obesidade mórbida, e tão pouco fazem ligação com as lesões oxidativas. Quando há conexão entre pelo menos uma das intervenções e um dos desfechos, os resultados são escassos ou inconsistentes.

Ejtahed et al. (2012), realizou um estudo em adultos com Diabete mellitus tipo II e com classificação de IMC para sobrepeso, e verificaram que o Grupo Probiótico (consumo de 300g/d de iogurte probiótico contendo *Lactobacillus acidophilus* e *bifidobactérias*) apresentou efeitos benéficos em relação ao Grupo Controle (consumo de 300 g/d de iogurte convencional), tais como redução da glicose de jejum e hemoglobina glicada, maior atividade da SOD e GPx, melhora do estado antioxidante total e diminuição da concentração sérica de malondialdeído.

Um estudo randomizado, controlado, duplo cego, avaliou a atividade enzimática em 21 mulheres com IMC com classificação para sobrepeso, suplementados com *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium Bifidum* e *Lactis* por 8 semanas. O grupo suplementado apresentou redução da circunferência abdominal, redução de peso, e aumento significativo na atividade enzimática da GPX, quando comparado ao grupo placebo (recebiam maltodextrina 200mg/dia, n=22) (GOMES, 2017).

Embora muitos estudos científicos recentes almejam elaborar medidas eficazes para controle dos efeitos deletérios e potencialmente prejudiciais a vida humana causados pela obesidade e suas comorbidades, e considerando a influência da permeabilidade intestinal e do equilíbrio da microbiota intestinal na recuperação e manutenção da saúde, do perfil inflamatório e perfil oxidativo, não foram encontrados na literatura nenhum estudo clínico que tenha avaliado os efeitos da suplementação de prebióticos ou simbióticos na atividade de enzimas antioxidantes em indivíduos com obesidade mórbida, evidenciando assim, a relevância e originalidade deste trabalho.

Os conceitos e estudos referidos sustentam a hipótese estudada nesta pesquisa com intervenção de prebióticos e simbióticos e seu efeito na atividade de enzimas antioxidantes em indivíduos com obesidade mórbida.

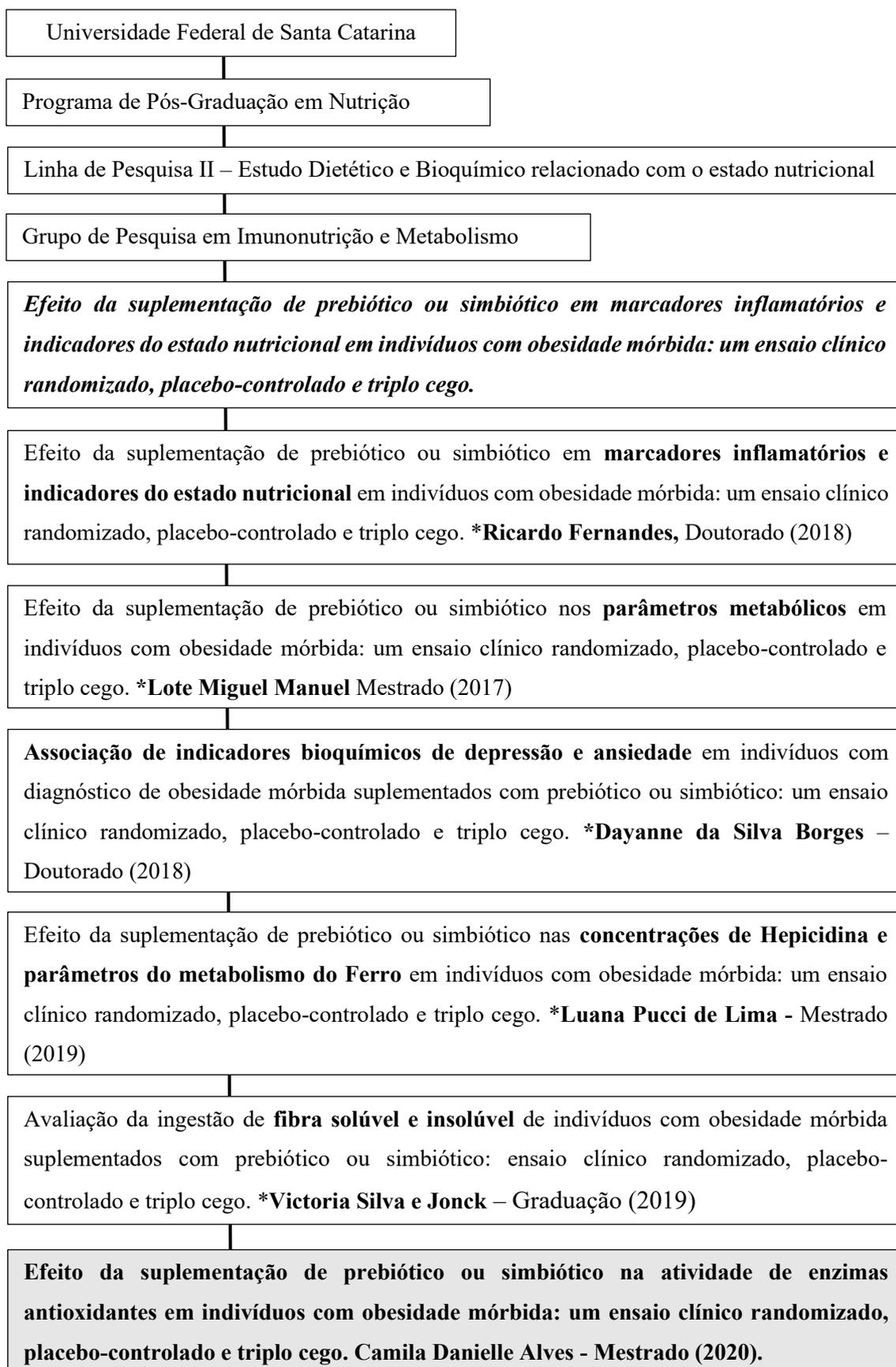
### 3. MÉTODOS

#### 3.1 INSERÇÃO DO ESTUDO E PLANEJAMENTO

O projeto temático que originou o presente estudo está vinculado a linha de pesquisa II (Estudo Dietético e Bioquímico relacionado com o estado nutricional) do Programa de Pós-Graduação em Nutrição da UFSC, inserido no Grupo de Pesquisa em Imunonutrição e Metabolismo (GpIM), sob a supervisão do Professor Doutor Erasmo Benício Santos de Moraes Trindade, intitulado: *Efeito da suplementação de prebióticos ou simbióticos em marcadores inflamatórios e indicadores do estado nutricional em indivíduos com obesidade mórbida: um ensaio clínico randomizado, placebo-controlado e triplo cego* (Figura 7).

O planejamento do projeto temático foi realizado com base em duas ferramentas que avaliam ensaios clínicos randomizados e controlados. Para avaliação da qualidade do relato, a ferramenta aplicada foi o *Consolidated Standards of Reporting Trials* (CONSORT). Essa ferramenta consiste em uma lista de 37 itens e subitens que formam um conjunto mínimo de recomendações para relatar apropriadamente o desenho, análise e resultados de ensaios clínicos randomizados (ANEXO A) (SHULZ, ALTMAN, MOHER, 2010). Para avaliação do risco de viés, aplicou-se a ferramenta de Colaboração da Cochrane, na qual o risco de ocorrência de seis domínios de viés é analisado (seleção, performance, detecção, atrito, relato, outros vieses (ANEXO B). (HIGGINS et al., 2011)

Figura 7. Fluxograma de inserção do projeto de pesquisa



Fonte: Autora. Legenda\* = Pesquisas concluídas

### 3.2 DELINEAMENTO DO ENSAIO CLÍNICO

O presente estudo caracteriza-se como um ensaio clínico randomizado, placebo-controlado, triplo cego, realizado entre Janeiro de 2016 a fevereiro de 2018, no Hospital Universitário Professor Polydoro Ernani de São Thiago da Universidade Federal de Santa Catarina (HU/UFSC), Florianópolis/SC.

O banco de dados coletado durante a realização do ensaio clínico foi utilizado para construção desta dissertação.

### 3.3 POPULAÇÃO E AMOSTRA DO ESTUDO

Foram avaliados indivíduos adultos com diagnóstico de obesidade mórbida cujo Índice de Massa Corporal (IMC)  $\geq 40 \text{ kg/m}^2$  assistidos pelo HU/UFSC.

A população do estudo foi representada por todos os indivíduos acompanhados no ambulatório de Obesidade e Cirurgia Bariátrica no Serviço de Endocrinologia do referido hospital. A amostra do estudo foi constituída por indivíduos adultos com diagnóstico de obesidade mórbida encaminhados para sua primeira consulta nesse ambulatório.

Os critérios de inclusão foram: indivíduos adultos (18-60 anos) de ambos os sexos com índice de massa corporal (IMC)  $\geq 40 \text{ kg/m}^2$ . Foram excluídos aqueles com: doenças gastrointestinais prévias (ex: câncer e doenças inflamatórias intestinais); intolerâncias e/ou alergias alimentares (ex: intolerância à lactose e doença celíaca); dependência alcoólica e/ou de drogas ilícitas; uso de fármacos anti-inflamatórios e/ou antibióticos e/ou imunossupressores até três meses antes; uso regular de laxativos, analgésicos narcóticos opióides e inibidores de apetite; uso atual ou prévio (até um mês) de prebióticos, probióticos, simbióticos ou produtos enriquecidos com estes ingredientes; apresentar intolerância a prebióticos e/ou probióticos e/ou simbióticos; seguimento de uma dieta para perda ou ganho de peso nos últimos três meses; grávidas ou lactantes; seguimento atual de dietas não usuais (ex: vegetariana, macrobiótica, paleolítico) e fumantes. A elegibilidade foi confirmada mediante análise do prontuário do indivíduo na instituição e por questionamentos feitos ao paciente. Ainda para o presente estudo, também foram excluídos os participantes que tenham feito uso atual ou prévio (até um mês) de suplementos antioxidantes (vitamina A, vitamina C, vitamina E, Cobre, Magnésio, Selênio, Zinco, carotenoides, compostos fenólicos).

Os participantes que ficaram por dois dias consecutivos ou mais sem consumir o suplemento, foram descontinuados do estudo. O ponto de corte de dois dias foi baseado em uma pesquisa com seres humanos que mostrou uma mudança estrutural significativa da comunidade microbiana após dois dias de uma intervenção dietética (DAVID et al., 2014).

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

Para os indivíduos elegíveis, foi apresentada a proposta de pesquisa e efetuado o convite de participação. Para os que aceitaram o convite, foi lido e esclarecido o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) que foi assinado pelos participantes (Apêndice B).

### 3.4 AMOSTRAGEM E CÁLCULO DO TAMANHO AMOSTRAL

O método de amostragem do projeto temático foi não probabilístico por conveniência e saturação temporal, atendendo ao número de pacientes que frequentam o ambulatório de nutrição, obesidade e cirurgia bariátrica.

O tamanho da amostra deste estudo teve como base a amostra obtida pelo projeto temático, pois o desfecho primário do presente estudo ainda não foi avaliado em populações com obesidade mórbida suplementadas com prebióticos ou simbióticos. Porém optou-se por realizar o cálculo do tamanho amostral para verificar o número de indivíduos que seriam necessários para atingir um poder de estudo de 80% e um intervalo de confiança de 95%.

Para o cálculo, considerou-se:

- a) Dados do projeto temático que avaliou parâmetros nutricionais e inflamatórios em uma população com obesidade mórbida suplementadas com prebióticos ou simbióticos (FERNANDES et al., 2016);
- b) Poder do estudo de 80%;
- c) Intervalo de confiança de 95%
- d) Acréscimo de 10% referente possíveis perdas de seguimento;

e) Cálculos executados no software online OpenEpi®

O resultado obtido indicou um tamanho amostral mínimo de 56 indivíduos. Para adaptar no desenho proposto deste estudo, os indivíduos foram distribuídos entre os grupos Placebo (n=19), Prebiótico (n=19) e Simbiótico (n=18).

### 3.5 DESENHO DO ESTUDO

Os pacientes elegíveis e que aceitaram participar do estudo foram alocados randomicamente em três grupos de tratamento: Grupo Placebo (grupo 0), Prebiótico (grupo 1) ou Simbiótico (grupo 2). Os participantes do “grupo 0” foram orientados a consumir 12 gramas diárias de maltodextrina; o “grupo 1” foi orientado a consumir 12 gramas diárias de FOS (FiberFOS®, Invictus Farmanutrição, Brasil), e o “grupo 2” foi orientado a consumir 12 gramas diárias de FOS +  $2 \times 10^9$  UFC/dia de *Lactobacillus paracasei* LPC-37,  $2 \times 10^9$  UFC/dia de *Lactobacillus rhamnosus* HN001,  $2 \times 10^9$  UFC/dia de *Lactobacillus acidophilus* NCFM e  $2 \times 10^9$  UFC/dia de *Bifidobacterium lactis* HN019 (Simbioflora®, Invictus Farmanutrição, Brasil) durante 30 dias. Os indivíduos foram orientados a consumir dois sachês por dia (12 gramas) durante 30 dias em momentos distintos: um sachê (06 gramas) em jejum e um sachê (06 gramas) no intervalo das refeições. Cada sachê deveria ser diluído em 100 mL de água em temperatura ambiente até completa diluição.

### 3.6 CARACTERÍSTICAS DAS INTERVENÇÕES

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

Quadro 1 - Informação da composição (FiberFOS®).

FiberFOS® - 2 sachês	
Composição	Quantidade
Fruto-oligossacarídeos	12 gramas

Registro no Ministério da Saúde: 6.6637.0006.

Fonte: Invictus, 2015a.

Quadro 2 - Informações nutricionais do prebiótico (FiberFOS®).

Porção de 12 g de FiberFOS® - 2 sachês		
	Quantidade por porção	VD*
Valor Energético	19 kcal ou 40 kJ	1%
Carboidratos	0,6 g	0,2%
Proteínas	0 g	0%
Gorduras Totais	0 g	0%
Gorduras Saturadas	0 g	0%
Gorduras Trans	0 g	0%
Fibra Alimentar (Fruto-oligossacarídeos)	12 g	44%
Sódio	0 mg	0%
*% Valores Diários com base em uma dieta de 2000 kcal ou 8400 kJ. Seus valores diários podem ser maiores ou menores dependendo de suas necessidades energéticas. **VD não estabelecida.		

Registro no Ministério da Saúde: 6.6637.0006.

Fonte: Invictus, 2015a.

Quadro 3 - Informação da composição (Simbioflora®).

Simbioflora® - 2 sachês	
Composição	Quantidade
<i>Lactobacillus paracasei</i> LPC-37	2x10 <sup>9</sup> UFC
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> HN001	2x10 <sup>9</sup> UFC
<i>Lactobacillus acidophilus</i> NCFM	2x10 <sup>9</sup> UFC
<i>Bifidobacterium lactis</i> HN019	2x10 <sup>9</sup> UFC
Fruto-oligossacarídeos (FOS)	12 gramas

Registro no Ministério da Saúde: 6.6637.0001.

Fonte: Invictus, 2015b.

Quadro 4 – Informações Nutricionais do Simbiótico (Simbioflora®).

Porção de 12 g de Simbioflora® - 2 sachês		
	Quantidade por porção	VD*
Valor Energético	19 kcal ou 40 kJ	1%
Carboidratos	0,6 g	0,2%
Proteínas	0 g	0%
Gordura Totais	0 g	0%
Gorduras Saturadas	0 g	0%
Gorduras Trans	0 g	0%
Fibra Alimentar (Fruto-oligossacarídeos)	12 g	44%
Sódio	0 mg	0%
*% Valores Diários com base em uma dieta de 2000 kcal ou 8400 kJ. Seus valores diários podem ser maiores ou menores dependendo de suas necessidades energéticas. **VD não estabelecida.		

Registro no Ministério da Saúde: 6.6637.0001.

Fonte: Invictus, 2015b.

O placebo utilizado foi a maltodextrina, na mesma quantidade dos suplementos supracitados (12 gramas/dia).

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

A dose dos suplementos utilizados foi baseada em uma revisão sistemática com meta-análise que incluiu ensaios clínicos randomizados que avaliaram a suplementação de prebiótico ou simbiótico em indivíduos com excesso de peso e obesidade, onde observou que estudos que utilizaram prebiótico em indivíduos com obesidade a dose variou de 0,14g a 16g (FERNANDES et al., 2017).

### 3.7 DESFECHOS

No presente estudo foi considerado como desfecho primário os parâmetros de atividade enzimática dos biomarcadores enzimáticos de estresse oxidativo: SOD e CAT.

Os parâmetros antropométricos, tais como peso, IMC e circunferência da cintura, foram considerados como desfechos secundários.

### 3.8 PROTOCOLO DO ESTUDO

#### 3.8.1 Momentos do estudo

O estudo consistiu em quatro momentos experimentais: M0 - momento da primeira consulta ambulatorial, assinatura do TCLE, caracterização dos indivíduos (Apêndice C), coleta de dados, e início da suplementação com placebo, prebiótico ou simbiótico, orientações nutricionais padronizadas; M1 - momento após quinze dias da primeira consulta ambulatorial, coleta de dados; M2 – momento após trinta dias da primeira consulta ambulatorial, coleta de dados e o término da suplementação; M3 – momento após sessenta dias da primeira consulta ambulatorial e após trinta dias do término da suplementação, coleta de dados.

Nos quatro momentos do estudo também foram realizadas a coleta de sangue para avaliação bioquímica, avaliação antropométrica (Apêndice D), e a coleta de dados Clínicos (Apêndice E).

Os pesquisadores e colaboradores mantiveram contato presencial com os indivíduos em análise (quando eles se dirigiam ao HU/UFSC), ou por via telefônica uma vez por semana visando o registro da adesão ao tratamento. Para melhor controle da adesão ao tratamento todos participantes receberam uma folha de registro dos suplementos com as devidas orientações, para anotarem diariamente a quantidade de suplementos ingeridos durante os momentos do estudo, e no término da suplementação foram orientados a comparecer com a folha de registro dos suplementos ingeridos para verificar a ingestão dos mesmos (Apêndice F).

Para o presente estudo, os momentos analisados foram M0 e M2, conforme apresentado na Figura 8:

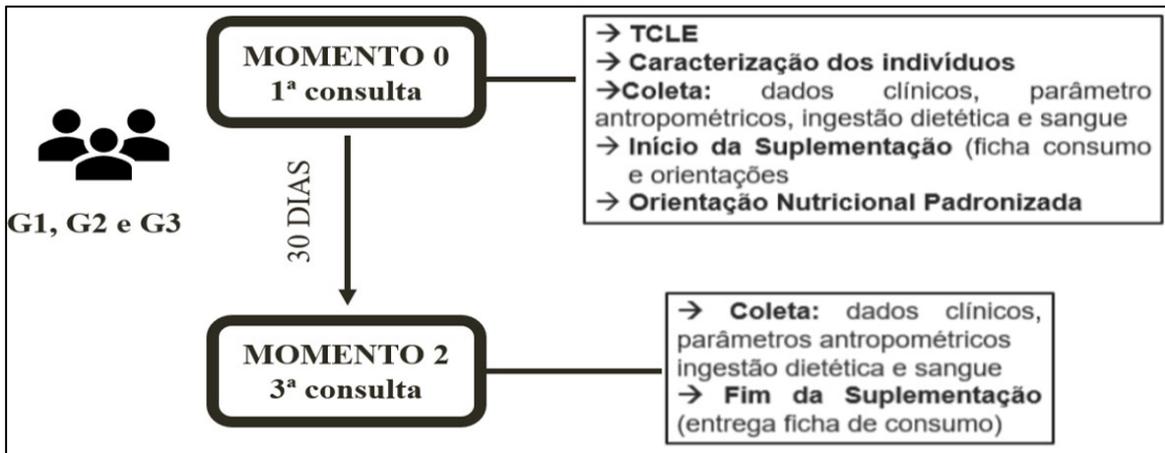


Figura 8. Momentos analisados no presente estudo. Fonte: Autora.

### 3.8.2 Randomização e Cegamento

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

Os participantes do estudo foram cegados, em relação à distribuição e consumo dos suplementos, assim como os pesquisadores e técnicos de laboratórios. A ocultação da alocação foi feita por um pesquisador independente ao estudo, os suplementos e placebo foram embalados pelo fornecedor com os códigos de randomização, sendo idênticos na aparência física, sabor e cor. Os códigos de identificação dos suplementos foram somente revelados pela empresa fornecedora após a análise estatística dos dados, caracterizando o estudo como triplo cego.

## 3.9 INSTRUMENTOS E TÉCNICAS DE COLETA DE DADOS

### 3.9.1 Caracterização dos indivíduos

Os participantes do estudo foram caracterizados de acordo com os dados de identificação: iniciais dos nomes, sexo, data de nascimento, telefone, e-mail, intervenção cirúrgica anterior no trato gastrointestinal, consumo de bebidas alcoólicas, número de randomização, data de início e término da suplementação, quantidade de suplementos ingeridos, número de prontuário, consistência e formato das fezes, estas informações foram coletadas diretamente do paciente e/ou no prontuário do paciente no HU/UFSC e a consistência e formato das fezes foi avaliada através da Escala de Bristol (LEWIS; HEATON, 1997).

### 3.9.2 Coleta e preparo do material biológico

Amostras de sangue venoso periférico foram coletadas em cada momento do estudo por um profissional capacitado na região cubital do antebraço, utilizando tubos contendo heparina (sistema de Vacutainer® BD Biosciences-Abingdon, UK), EDTA (sistema de Vacutainer® BD Biosciences-Abingdon, UK) ou gel separador (sistema Vacutainer® BD Biosciences-Abingdon, UK).

Um total de 20 mL de sangue foi coletado em cada momento do estudo (totalizando 40 mL no M0 e M2), em jejum prévio de 8 a 10 horas.

Todos os parâmetros avaliados no presente estudo fazem parte do protocolo de assistência aos indivíduos no ambulatório de Nutrição e Cirurgia Bariátrica bem como ambulatório de Endocrinologia do HU/UFSC; assim alguns dados de identificação foram coletados no prontuário e os dados bioquímicos foram determinados através de análises laboratoriais. Os profissionais que efetuaram a coleta de sangue foram cegados.

O tubo de sangue com heparina foi acondicionado em caixa térmica e transportado até o Laboratório de Investigação em Doenças Crônicas do Departamento de Ciências Fisiológicas da UFSC para preparação e armazenamento do plasma. As amostras foram centrifugadas no próprio tubo de coleta a 2500 rpm por 5 minutos a uma temperatura de 4°C para separação do plasma. Aliquotas de 500 µL foram transferidas para quatro criotubos com capacidade de 2 mL cada, devidamente identificados e armazenados a -80°C. As análises das amostras são realizadas no Laboratório de Pesquisa em Imunologia do Departamento de Análises Clínicas da UFSC.

O tubo de sangue com gel separador ficou retido no laboratório de Análises Clínicas do HU/UFSC. O sangue foi deixado em repouso por 10 minutos até completa

coagulação. Em seguida, foram centrifugados por um período de cinco minutos a 2500 rpm para a separação do soro.

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

Ressalta-se que os dados laboratoriais, com exceção das citocinas, fazem parte do protocolo de assistência dos indivíduos do ambulatório de Obesidade e Cirurgia Bariátrica do Serviço de Endocrinologia do HU/UFSC, sendo analisados por este hospital, assim, estes dados serão coletados do prontuário do paciente.

Para análise da atividade enzimática, realizadas em 2018 e 2019, as amostras foram utilizadas respeitando a ordem cronológica, das mais antigas para as mais recentes (primeiro as amostras congeladas de 2016, por segundo as 2017 e então as 2018). Ressalta-se que, no presente estudo, apenas as amostras do M0 e M2 foram analisadas.

### 3.9.3 Determinação dos biomarcadores de estresse oxidativo

Em ambos os protocolos para avaliação das atividades enzimáticas, as amostras devem passar por processo hemolisante, porém elas já se encontravam hemolisadas por conta do congelamento a  $-80^{\circ}\text{C}$ . A leitura das atividades foi realizada pelo método ELISA (*Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay*).

#### 3.9.3.1 Catalase

A CAT catalisa a conversão de duas moléculas de  $\text{H}_2\text{O}_2$  em oxigênio molecular e duas moléculas de água (atividade catalítica). A catalase possui também atividade peroxidativa na qual uma molécula de álcool pode servir como doadora de elétrons. Neste ensaio, a atividade enzimática da catalase será determinada através da sua função peroxidativa. O método se baseia na reação da enzima com metanol em presença de uma concentração ideal de  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Nessa reação é produzido formaldeído, o qual será medido colorimetricamente com Purpald. O reagente Purpald forma um heterociclo bicíclico com aldeídos que, ao oxidar, passa a ter cor roxa. Apesar de ser possível medir a atividade enzimática da catalase por este método em diferentes tipos de amostra, para o presente estudo foram utilizadas amostras de hemolisado de eritrócitos, diluída na proporção 1:1000, ou 1000 x, gradativamente. A absorvância da CAT é de 540 nm, e as

concentrações foram expressas em  $\mu\text{mg}$  de Hb (JOHANSSON, BORG, 1988. WHEELER, *et al.*, 1990).

### 3.9.3.2 Superóxido Dismutase

Para determinação da SOD foi utilizado o “SOD Assay Kit-WST”, utilizando o método de Dojindo’s sal de tetrazólio, que produz um corante formazana solúvel em água após redução com um ânion superóxido. A taxa de redução com o  $\text{O}_2$  está linearmente relacionada à atividade da xantina oxidase (XO) e é inibida pela SOD. A absorvância da SOD é de 450 nm, e as concentrações foram expressas em  $\mu\text{g}$  de Hb (Sigma-aldrich, 2014).

### 3.9.4 Avaliação de indicadores antropométricos do estado nutricional

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

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

A estatura foi medida por estadiômetro acoplado à plataforma com capacidade de 2,00 m e precisão de 0,5 cm. A estatura dos participantes foi aferida com o indivíduo descalço ou com meias finas e usando poucas roupas de modo que o posicionamento do corpo pudesse ser visto. Os indivíduos participantes ficaram sobre uma superfície plana, com o peso distribuído uniformemente em ambos os pés em posição ereta, braços pendentes ao lado do corpo, colocando as superfícies posteriores dos calcanhares, as nádegas e a região occipital em contato com a escala de medida. A posição da cabeça foi orientada de modo que a linha de visão permaneça perpendicular ao corpo e paralela ao solo. Os indivíduos foram orientados a inspirar profundamente e manter-se numa posição

totalmente ereta. A referência para a mensuração será o ponto mais alto da cabeça com pressão suficiente para comprimir o cabelo (WHO, 1995).

A classificação do estado nutricional foi realizada pelo IMC utilizando-se os pontos de corte definidos pela WHO (2008), conforme descrito no Quadro 6. O IMC é definido como uma relação do peso em quilogramas com o valor da estatura em metros ao quadrado ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ) (WHO, 1995).

Quadro 5 - Classificação do estado nutricional segundo o Índice de Massa Corporal.

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

Fonte: WHO (2008).

A circunferência da cintura (CC) também foi aferida, embora a WHO (2008) destaque que não há necessidade de se utilizar pontos de corte para indivíduos com IMC acima de  $35 \text{ kg}/\text{m}^2$ , como é o caso da amostra do presente projeto composta apenas por indivíduos com diagnóstico de obesidade mórbida ( $\text{IMC} \geq 40 \text{ kg}/\text{m}^2$ ).

Para a medida de CC, foi utilizada uma fita métrica (Sanny<sup>®</sup>, Califórnia, EUA) inextensível com precisão de 0,1 cm. Na verificação da circunferência da cintura, a fita foi colocada em plano horizontal ao nível do ponto médio entre a costela inferior e a crista ilíaca. O indivíduo foi orientado a permanecer em pé, ereto, com os pés juntos, braços estendidos ao lado do corpo e peso uniformemente distribuído, usando o mínimo de indumentária. As medidas foram aferidas no final de uma expiração normal. Cada medição foi repetida duas vezes; se as medições diferissem cerca de 1 cm, a média foi calculada. Se a diferença entre as duas medições excedeu 1 cm, as duas medidas deveriam ser repetidas (WHO, 2008).

Para avaliação dos parâmetros antropométricos, apenas os dados do M0 e M2 foram considerados neste estudo.

### 3.9.5 Estimativa da ingestão dietética atual

O consumo dietético atual dos indivíduos foi verificado por meio da aplicação de quatro Recordatórios Alimentares de 24 horas (R24h), sendo um em cada momento do ensaio clínico, mas para o presente estudo apenas os R24h do M0 e M2 foram avaliados. Para estimativa do quantitativo de energia e nutrientes da ingestão alimentar atual dos participantes do estudo, seguiu-se uma padronização adaptada da proposta do Manual de Avaliação do Consumo Alimentar em estudos populacionais (FISBERG; MARCHIONI, 2012).

Inicialmente todos os alimentos, bebidas e preparações relatados pelos indivíduos nos R24h aplicados em cada momento do estudo foram listados, e seus respectivos valores de energia e nutrientes foram determinados com base nos valores apresentados na Tabela de Composição de Alimentos do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (*United States Department of Agriculture - USDA*, 2018) e na Tabela Brasileira de Composição de Alimentos da USP (TBCA, 2017). Na ausência dos itens alimentares nas tabelas de base de dados citadas, procedeu-se a elaboração de fichas técnicas de preparações (FTP) ou consulta em rótulos de embalagens para determinação dos valores de energia e nutrientes.

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

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

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

### 3.9.6 Determinação da Capacidade Antioxidante Total da Dieta

A CATd foi feita por meio de soma da capacidade antioxidante total da quantidade consumida de cada alimento dos R24h nos momentos M0 e M2, após transformação dos alimentos em gramas consumidas por dia. Os valores de capacidade antioxidante total para cada alimento foram adquiridos a partir do estudo de CALRSEN et al., (2010), cuja capacidade antioxidante total foi gerada a partir do método FRAP, expressa em mmol/100g do alimento, calculados então por uma regra de três. Este método avalia a capacidade antioxidante pela redução de  $Fe^{3+}$  para  $Fe^{2+}$  e os valores, portanto, expressam o correspondente da concentração de antioxidantes doadores de elétrons. Todas as etapas descritas foram realizadas em planilhas do software Office Excel®, versão 2016.

Diferentemente dos micronutrientes, não existe recomendação para consumo de compostos fenólicos e carotenoides bem como para a capacidade antioxidante total da dieta. Porém, existem estudos epidemiológicos que correlacionam a ingestão de antioxidantes medida por CATd e benefícios à saúde e a calculam por meio de banco de dados como citado por Ferreira (2010).

### 3.10 PROCEDIMENTOS ÉTICOS DA PESQUISA

Todos os indivíduos convidados a participar do estudo receberam todas as explicações necessárias para o entendimento do protocolo experimental, assim como dos riscos e possíveis benefícios. Aceitando participar da pesquisa, foi feita a leitura do TCLE (Apêndice B) e sanadas dúvidas, caso houvesse. Em seguida, o TCLE foi assinado pelo participante.

Destaca-se que nenhum indivíduo foi obrigado a participar do estudo, assim como, poderia se retirar do mesmo a qualquer momento. Além disso, todas as informações coletadas são sigilosas, mas estavam disponíveis para o participante, caso houvesse interesse do mesmo. Os formulários preenchidos com as informações coletadas dos participantes ficaram de posse do coordenador deste estudo, Prof. Dr. Erasmo Benicio Santos de Moraes Trindade, armazenados em arquivo pessoal, localizado na sala 214, Bloco A, Departamento de Nutrição, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Santa Catarina.

O protocolo deste estudo segue os preceitos estabelecidos na declaração de Helsinki (RICKHAM, 1964) e na Resolução do Conselho Nacional de Saúde nº 466 de

2012 (BRASIL, 2013b).

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da UFSC sob parecer número 1.340.253 (ANEXO D) e pela plataforma de registro de ensaios clínicos *ClinicalTrials.gov* (<http://www.clinicaltrials.gov/>) sob o identificador NCT02660333 (ANEXO E). O comprovante de submissão do projeto edital Universal CNPq 2016 está anexado neste trabalho (ANEXO F).

### 3.11 RISCOS

As reações adversas que ofereciam riscos aos participantes do estudo estão relacionados aos efeitos adversos da suplementação, como por exemplo: flatulência, diarreia, constipação, inchaço e dor abdominal. Essas reações foram relatadas apenas nos primeiros dias e de baixa intensidade (FERNANDES et al., 2017). Como o presente estudo utilizou a dose de 12 g/dia durante 30 dias, esperou-se que não houvesse reações adversas ou que fossem de baixa intensidade, sem acarretar a desistência dos participantes.

O maior risco que o protocolo experimental possa oferecer ao participante foi atrelado ao acesso venoso para coleta de material biológico para a obtenção dos desfechos laboratoriais. No entanto, destaca-se que para a coleta de sangue, foi utilizado material estéril e descartável, evitando a transmissão de contaminantes químicos e biológicos, além de ser feito por profissional capacitado do Laboratório de Análises Clínicas do HU/UFSC.

### 3.12 TRATAMENTO E ANÁLISE DOS DADOS

#### 3.12.1 Variáveis de exposição, desfecho, controle e de caracterização.

No quadro a seguir estão descritas as variáveis de exposição, desfecho, além daquelas que serão utilizadas para controle e caracterização da amostra.

Quadro 6 - Variáveis de exposição, desfecho, controle e de caracterização da amostra, unidades de medida e respectiva classificação teórica que será utilizada para as análises estatísticas (Continua).

	<b>Variáveis</b>	<b>Unidades de medida/ categorias</b>	<b>Classificação teórica</b>
<b>Caracterização</b>	Idade	Anos	Independente, quantitativa, discreta
<b>Exposição</b>	Ingestão de prebiótico	Sim/Não	Independente, nominal, dicotômica
	Ingestão de simbiótico	Sim/Não	
	Ingestão de placebo	Sim/Não	
	Sexo	Masculino / Feminino	
	Cirurgia anterior no trato gastrointestinal	Sim/Não	
	Comorbidades prévias	Sim/Não	
	Uso prévio de medicações	Sim/Não	
<b>Controle</b>	CATd	mmol/g g	Controle, quantitativa, contínua
	Ingestão dietética (macro e micronutrientes)	Kcal, g, mg, $\mu$	
<b>Desfechos</b>	CAT	$\mu$ /mg	Dependente, quantitativa contínua
	SOD	$\mu$ /g	
	Peso corporal	kg	
	Índice de Massa Corporal	kg/m <sup>2</sup>	Dependente, quantitativa contínua
	Circunferência da cintura	cm	
	Consistência e formato das fezes	1 a 7	Dependente, quantitativa discreta

Legenda: CATd: Capacidade Antioxidante Total da dieta. CAT: Catalase. SOD: Superóxido dismutase. Fonte: Autora.

Quadro 6 - Variáveis de exposição, desfecho, controle e de caracterização da amostra, unidades de medida e respectiva classificação teórica que será utilizada para as análises estatísticas (Continuação).

	<b>Variáveis</b>	<b>Unidades de medida/ categorias</b>	<b>Classificação teórica</b>
<b>Desfecho</b>	Constipação	Sim/Não	Dependente, qualitativa nominal, dicotômica
	Alterações gastrointestinais	Sim/Não	

### 3.12.2 Análises estatísticas

Os dados foram organizados e registrados em banco de dados no programa Microsoft Office Excel 2010<sup>®</sup>. A análise estatística foi realizada no programa estatístico STATA<sup>®</sup> versão 11.0 para Windows<sup>®</sup> (StataCorp, Texas, EUA).

As variáveis contínuas (CAT, SOD, CATd, Hemoglobina glicada, Peso, IMC, CC e Ingestão dietética) foram sintetizadas em duas únicas medidas por grupo: média e desvio padrão se a distribuição fosse simétrica, ou mediana e intervalo interquartil se fosse assimétrica. As variáveis categóricas (Menopausa, Constipação e Alterações intestinais) foram descritas em categorias e frequência a partir do aparecimento nos grupos estabelecidos. Para avaliação da distribuição dos dados foi aplicado o teste de normalidade de Shapiro-Wilk; se o resultado fosse  $<0,05$ , a normalidade dos dados foi rejeitada. Para esses casos foram utilizados testes não paramétricos.

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

Para variáveis categóricas, as comparações entre os grupos (controle e suplementados) foram realizadas utilizando o teste de Fisher. Os valores de  $p < 0,05$  foram considerados significativos.

Para a análise das correlações entre as atividades enzimáticas e a CATd foram utilizadas as correlações de Spearman.

Para todos os testes, foi adotado o nível de significância de 95% ( $p < 0,05$ ).

A análise foi por protocolo, ou seja, fizeram parte destas análises somente os participantes que cumpriram a o protocolo de suplementação e que foram submetidos às avaliações nos momentos estabelecidos. Aqueles que ficaram por dois dias consecutivos ou mais sem consumir a dosagem esperada do suplemento foram excluídos.

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

## 4. RESULTADOS

Os resultados provenientes da pesquisa relativa à dissertação serão submetidos a um periódico de *Qualis* CAPES A1 Nutrição e será apresentado nesta sessão. O artigo foi redigido na língua portuguesa e posteriormente traduzido para a língua inglesa, respeitando o formato segundo as normas do periódico *Journal Academy of Nutrition and Dietetics* (Fator de impacto 4.14).

### 4.1 ARTIGO ORIGINAL DA DISSERTAÇÃO DO MESTRADO

**TÍTULO:** SUPLEMENTAÇÃO DE PREBIÓTICO OU SIMBIÓTICO NA ATIVIDADE DE ENZIMAS ANTIOXIDANTES EM INDIVÍDUOS COM OBESIDADE MÓRBIDA: UM ENSAIO CLÍNICO, RANDOMIZADO, PLACEBO-CONTROLADO E TRIPLO CEGO.

**Palavras chave:** Nutrição. Obesidade. Prebiótico. Simbiótico. Estresse oxidativo.

**Contagem de palavras:** resumo (297); texto (5000)

**Autores:** Camila Danielle Alves, Mestranda; Júlia Pessini, Doutoranda; Luana Pucci de Lima, Doutoranda; Ricardo Fernandes, Doutor; Jéssica Ramos, Graduanda; Francilene Gracieli Kunradi Vieira, Doutora; Patrícia Faria Di Pietro, Doutora; Erasmo Benício Santos de Moraes Trindade, Doutor.

**Contribuições dos autores:** Camila Danielle Alves participou da concepção da ideia, escreveu a primeira versão do artigo e realizou as análises estatísticas; Julia Pessini participou das análises estatísticas e da escrita do artigo. Luana Pucci de Lima, Ricardo

Fernandes e Jéssica Ramos participaram da coleta e análise dos dados que deram origem ao artigo. Francilene Gracieli Kunradi Vieira e Patrícia Faria Di Pietro colaboraram com a concepção da ideia e elaboração deste artigo. Erasmo Benício Santos de Moraes Trindade colaborou com a concepção da ideia e orientou a elaboração deste artigo. Todos os autores revisaram a redação completa do artigo.

**Autor correspondente:** Dr. Erasmo Benício Santos de Moraes Trindade. Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC. Centro de Ciências da Saúde – CCS. Departamento de Nutrição, sala 218. Av. Prof Henrique da Silva Fontes, 321. Bairro Trindade - Florianópolis / SC. CEP: 88040-900. Email: [erasmotrindade@gmail.com](mailto:erasmotrindade@gmail.com)

**Financiamento:** Programa de Pós-Graduação em Nutrição/UFSC – Programa de Bolsas Demanda Social / Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES): concessão de bolsa de estudo à autora principal.

**Conflitos de interesse:** Não há conflitos de interesse a declarar.

#### **“Research snapshot”**

- Questão de pesquisa: Qual é o efeito da suplementação de prebiótico ou simbiótico na atividade de enzimas antioxidantes em indivíduos adultos com diagnóstico de obesidade mórbida?

- Principais achados: Não houve diferença estatisticamente significativa para as enzimas antioxidantes nas análises entre os grupos de intervenção. Nas análises intragrupo houve redução significativa de peso e IMC após 30 dias de suplementação para os grupos que receberam placebo (Peso:  $p=0,024$ ; imc:  $p=0,018$ ) e prebiótico ( $p=0,019$ ;  $p=0,014$ ).

## Resumo

**Introdução:** Estudos mostram que o excesso de tecido adiposo e a disbiose, presentes em indivíduos com obesidade mórbida, estão associados a processos oxidativos no organismo, aumentando a formação de espécies reativas. **Objetivo:** O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da suplementação de prebióticos ou simbióticos na atividade de enzimas antioxidantes em indivíduos com obesidade mórbida. **Métodos:** Análise secundária, que utilizou dados de um ensaio clínico randomizado, placebo-controlado, triplo cego. Foram incluídos na amostra 17 indivíduos adultos, com IMC  $\geq 40\text{kg/m}^2$ , alocados em três grupo: Grupo Placebo - GPI (maltodextrina 12g/dia), Grupo Prebiótico - GPr (12g/dia de FOS), Grupo Simbióticos - GSi [12g/dia: FOS, *Lactobacillus paracasei* LPC-37 ( $2 \times 10^9$  UFC/dia), *Lactobacillus rhamnosus* HN001 ( $2 \times 10^9$  UFC/dia), *Lactobacillus acidophilus* NCFM ( $2 \times 10^9$  UFC/dia) e *Bifidobacterium lactis* HN01<sup>9</sup> ( $2 \times 10^9$  UFC/dia)]. Os participantes foram avaliados em dois momentos, sendo M0: momento inicial; e M1: momento após 30 dias de suplementação. Para avaliação do efeito das intervenções no estresse oxidativo, as enzimas antioxidantes catalase e da superóxido dismutase tiveram suas atividades analisadas e foram consideradas como desfecho primário deste estudo. A ingestão dietética de antioxidantes foi avaliada por meio de recordatório alimentar de 24 horas. Dados antropométricos foram avaliados como desfechos secundários (peso e IMC). **Resultados:** Não houve diferença estatisticamente significativa para as enzimas antioxidantes nas análises entre os grupos de intervenção. Nas análises intragrupo houve redução significativa de peso e IMC após 30 dias de suplementação para os grupos que receberam placebo (Peso:  $p=0,024$ ; imc:  $p=0,018$ ) e prebiótico ( $p=0,019$ ;  $p=0,014$ ). Houve diferença significativa de ingestão de Vitamina E ( $p=0,048$ ) e Magnésio ( $p=0,027$ ) entre os grupos no momento basal. Na análise intragrupo, houve aumento no consumo de Vitamina C no GPI ( $p=0,043$ ). **Conclusão:** A

suplementação e a ingestão de antioxidantes não tiveram impacto na ação de enzimas antioxidantes de indivíduos com obesidade mórbida.

## INTRODUÇÃO:

A obesidade é caracterizada pelo acúmulo excessivo de gordura corporal, na qual existe uma inflamação crônica e sistêmica de baixo grau e resulta de interações multifatoriais<sup>1</sup>. Embora a obesidade seja simplificada definida como *excesso de gordura corporal* (visceral e subcutânea), estudos científicos alertam que a obesidade deve ser entendida como uma condição patológica acompanhada por acúmulo de alterações adaptativas desencadeadoras de comorbidades potencialmente fatais, principalmente as doenças cardiovasculares e metabólicas<sup>2,3,4,5</sup>.

O excesso de tecido adiposo está associado a níveis aumentados de marcadores pró-inflamatórios, os quais são mediadores de “reações” que promovem adaptações deletérias, interferindo em órgãos e sistemas e ativando processos oxidativos com resultados devastadores para a homeostase do organismo como: a hipóxia, infiltração e acúmulo de macrófagos e aumento na permeabilidade intestinal<sup>5,6</sup>. Além disso, o ganho de peso exige uma maior necessidade metabólica do miocárdio, com consequente aumento de consumo de oxigênio, resultando em uma peroxidação lipídica por conta do aumento da formação de radicais livres (RL)<sup>7</sup>. Tais processos causam, então, uma cascata de lesões oxidativas em células e membranas, resultando em estresse oxidativo<sup>8</sup>.

O conceito clássico de estresse oxidativo o define como um distúrbio no equilíbrio pró oxidante e antioxidante, em favor do primeiro, no qual ocorre a produção excessiva de espécies reativas de oxigênio (ERO) e nitrogênio (ERN) que não podem ser eliminadas pela ação dos antioxidantes<sup>9</sup>. Esse desequilíbrio provoca danos oxidativos contra células e tecidos<sup>10,11</sup>. Os sistemas de defesa antioxidante existem sob a forma de compostos enzimáticos e não enzimáticos, consistem em uma série de enzimas antioxidantes além

de numerosos compostos antioxidantes endógenos e de origem dietética que reagem com as ERO e ERN, neutralizando-as<sup>12</sup>.

Outro fator comum no quadro de obesidade, que está associado a hiperprodução de RL, é a disbiose, um desequilíbrio da microbiota intestinal que reduz a capacidade de absorção dos nutrientes, causa carência de vitaminas e está relacionada diretamente à condição de inflamação e imunidade. Compostos bioativos, resultantes do crescimento de bactérias benéficas na microbiota intestinal, atuam no metabolismo do hospedeiro, e protegem o epitélio intestinal, impedindo que patógenos e toxinas rompam sua barreira e entrem na circulação sistêmica, causando danos ao organismo.

Evidências sugerem que a modulação da microbiota intestinal no quadro de obesidade, com uso de Prebióticos, Probióticos e/ou Simbióticos, pode contribuir para aumento na produção de Ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), para redução da inflamação, melhora do metabolismo lipídico, na regulação dos níveis de glicose, no estímulo da imunidade inata e também age na capacidade antioxidante e no combate aos RL, tendo um papel importante na homeostase do organismo<sup>13,14,15</sup>.

Sendo assim, este estudo tem por objetivo avaliar o efeito da suplementação de prebióticos ou simbióticos na atividade antioxidante de indivíduos com diagnóstico de obesidade mórbida.

## **MATERIAIS E MÉTODOS**

### *Delineamento do ensaio clínico*

Este estudo caracteriza-se como uma análise secundária, realizada a partir de dados de um ensaio clínico randomizado, placebo-controlado, triplo cego, realizado entre Janeiro de 2016 a Fevereiro de 2018, no Hospital Universitário Professor Polydoro Ernani

de São Thiago da Universidade Federal de Santa Catarina (HU/UFSC), Florianópolis/SC. Seu delineamento foi realizado com base em duas ferramentas que avaliam ensaios clínicos randomizados e controlados: *Consolidated Standards of Reporting Trials* (CONSORT) e ferramenta para avaliação de risco de viés da Cochrane<sup>16,17</sup>.

#### *Dados de caracterização*

O método de amostragem foi não probabilístico por conveniência e saturação temporal, representada por todos os indivíduos encaminhados para sua primeira consulta no ambulatório de Obesidade e Cirurgia Bariátrica no Serviço de Endocrinologia do referido hospital.

Os critérios de inclusão foram: indivíduos adultos (18-60 anos) de ambos os sexos com índice de massa corporal (IMC)  $\geq 40\text{kg/m}^2$ . Foram excluídos aqueles com: doenças gastrointestinais prévias (ex: câncer e doenças inflamatórias intestinais); intolerâncias e/ou alergias alimentares (ex: intolerância à lactose e doença celíaca); dependência alcoólica e/ou de drogas ilícitas; uso de fármacos anti-inflamatórios e/ou antibióticos e/ou imunossupressores até três meses antes; uso regular de laxativos, analgésicos narcóticos opióides e inibidores de apetite; uso atual ou prévio (até um mês) de prebióticos, probióticos, simbióticos ou produtos enriquecidos com estes ingredientes; apresentar intolerância a prebióticos e/ou probióticos e/ou simbióticos; seguimento de uma dieta para perda ou ganho de peso nos últimos três meses; grávidas ou lactantes; seguimento atual de dietas não usuais (ex: vegetariana, macrobiótica, paleolítico) e fumantes. Ainda, para o presente estudo, também foram excluídos os participantes que tenham feito uso atual ou prévio (até um mês) de suplementos antioxidantes (vitamina C, vitamina E, selênio, zinco, carotenoides, compostos fenólicos).

Todo os participantes receberam esclarecimento padronizado sobre o tratamento nutricional para perda de peso, visando respeitar critérios éticos quanto à participação no estudo sem impossibilitar acesso ao tratamento nutricional. Os indivíduos foram orientados que durante o período de suplementação evitassem: praticar atividade física intensa; consumir bebida alcoólica e alimentos enriquecidos com prebióticos, probióticos ou simbióticos.

#### *Procedimentos éticos da pesquisa*

Todos os indivíduos convidados a participar do estudo receberam todas as explicações necessárias para o entendimento do protocolo experimental, assim como dos riscos e possíveis benefícios. Aceitando participar da pesquisa, o Termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) foi assinado pelo participante. Destaca-se que nenhum indivíduo foi obrigado a participar do estudo, assim como, poderia se retirar do mesmo a qualquer momento. O protocolo deste estudo segue os preceitos estabelecidos na declaração de Helsinki<sup>18</sup> e na Resolução do Conselho Nacional de Saúde nº 466 de 2012<sup>19</sup>. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da UFSC sob parecer número 1.340.253 e pela plataforma de registro de ensaios clínicos *ClinicalTrials.gov* (<http://www.clinicaltrials.gov/>) sob o identificador NCT02660333.

#### *Desenho do estudo*

Os pacientes elegíveis e que aceitaram participar do estudo foram alocados randomicamente em três grupos de tratamento, nos quais foram orientados a consumir diariamente o conteúdo dos sachês que receberam, sendo um em jejum e outro no intervalo das refeições, por 30 dias. Os grupos eram: Grupo Placebo - GPI (receberam maltodextrina - 12g/dia), Grupo Prebiótico – GPr (suplementados com 12g/dia de FOS -

FiberFOS®, Invictus Farmanutrição, Brasil), e Grupo Simbióticos - GSi [suplementados com 12g/dia de FOS, *Lactobacillus paracasei* LPC-37 ( $2 \times 10^9$  UFC/dia), *Lactobacillus rhamnosus* HN001 ( $2 \times 10^9$  UFC/dia), *Lactobacillus acidophilus* NCFM ( $2 \times 10^9$  UFC/dia) e *Bifidobacterium lactis* HN019 ( $2 \times 10^9$  UFC/dia), Simbioflora®, Invictus Farmanutrição, Brasil]. Cada sachê deveria ser diluído em 100 mL de água em temperatura ambiente até completa diluição.

Os suplementos utilizados neste estudo foram doados pela empresa Invictus Farmanutrição®, sem nenhum conflito de interesse com os pesquisadores. Estes suplementos estão registrados na Agência Nacional da Vigilância Sanitária (ANVISA)<sup>20</sup>.

O estudo consistiu em dois momentos experimentais: M0 - momento da primeira consulta ambulatorial, caracterização dos indivíduos, e início da suplementação com placebo, prebiótico ou simbiótico, orientações nutricionais padronizadas; e M1 – momento após trinta dias da primeira consulta ambulatorial e o término da suplementação. Nos dois momentos do estudo também foram realizadas a coleta de sangue para avaliação bioquímica, avaliação antropométrica, e a coleta de dados clínicos.

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

#### *Randomização, ocultamento da alocação e cegamento*

Os participantes foram distribuídos aleatoriamente nos grupos de tratamento através de uma lista de randomização gerada software estatístico Stata® v.13.1 para Windows (StataCorps, Texas, USA), considerando em blocos permutados de forma

aleatória, com três pacientes cada (1:1:1). Após, os grupos de tratamento foram substituídos por códigos numéricos aleatórios com três dígitos, gerados por meio de uma tabela de números aleatórios, para que houvesse o ocultamento da alocação. Esta etapa foi realizada por um pesquisador não envolvido com a pesquisa. Os pesquisadores que recrutaram e acompanharam os participantes apenas tiveram acesso à lista contendo os blocos e os códigos numéricos de randomização, não havendo como prever para qual grupo o indivíduo seria alocado. Todos pacientes foram designados ao grupo tratamento de acordo com o número de randomização.

Os participantes do estudo foram cegados em relação à distribuição e consumo dos suplementos, assim como os pesquisadores e técnicos de laboratórios. A ocultação da alocação foi feita por um pesquisador independente ao estudo, os suplementos e placebo foram embalados pelo fornecedor com os códigos de randomização, sendo idênticos na aparência física, sabor e cor. Os códigos de identificação dos suplementos foram somente revelados pela empresa fornecedora após a análise estatística dos dados, caracterizando o estudo como triplo cego.

#### *Instrumentos e técnicas de coleta de dados*

Os participantes do estudo foram caracterizados de acordo com os dados de identificação: sexo, idade, intervenção cirúrgica no trato gastrointestinal, consumo de bebidas alcoólicas, quantidade de suplementos ingeridos, consistência e formato das fezes através da Escala de Bristol<sup>21</sup>. As amostras de sangue venoso periférico foram coletadas na região cubital do antebraço, no momentos M0 e M1 por um profissional capacitado, utilizando tubos contendo heparina (sistema de Vacutainer® BD Biosciences-Abingdon,UK), EDTA (sistema de vacutainer® BD Biosciences-Abingdon,UK) ou gel separador (sistema Vacutainer® BD Biosciences-Abingdon,UK). Um total de 20 mL de

sangue foi coletado em cada momento do estudo (totalizando 40 mL no M0 e M1), em jejum prévio de 8 a 10 horas.

#### *Determinação dos biomarcadores de estresse oxidativo*

No presente artigo foram avaliados os parâmetros de atividade enzimática dos seguintes biomarcadores de estresse oxidativo: Catalase (CAT) e Superóxido dismutase (SOD). Em ambos os protocolos para avaliação das atividades enzimáticas, as amostras devem passar por processo hemolisante, porém elas já se encontravam hemolisadas por conta do congelamento a  $-80^{\circ}\text{C}$ . A leitura das atividades foi realizada pelo método ELISA (*Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay*).

Neste ensaio, a atividade enzimática da CAT foi determinada através da sua função peroxidativa, baseado na reação da enzima com metanol em presença de uma concentração ideal de  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Nessa reação é produzido formaldeído, o qual foi medido colorimetricamente com Purpald, que ao oxidar, passa a ter a cor roxa. Para o presente estudo foram utilizadas amostras de hemolisado de eritrócitos, diluída na proporção 1:1000, ou 1000 x, gradativamente. A absorvância da CAT é de 540 nm, e as concentrações foram expressas em  $\mu/\text{mg}$  de Hb<sup>22</sup>.

Para determinação da SOD foi utilizado o “SOD Assay Kit-WST”, utilizando o método de Dojindo’s sal de tetrazólio, que produz um corante formazana solúvel em água após redução com um ânion superóxido. A absorvância da SOD é de 450 nm, e as concentrações foram expressas em  $\mu/\text{g}$  de Hb<sup>23</sup>.

#### *Estimativa da ingestão dietética atual*

Os indivíduos foram encorajados a relatar, com o máximo de detalhes (tipo, forma de preparo, ingredientes, quantidades em medidas caseiras), todos os alimentos e

bebidas consumidos no dia anterior, em cada refeição. Ao final da entrevista, o pesquisador realizou a revisão dos alimentos e das quantidades relatadas e registradas com o entrevistado<sup>24</sup>. O relato foi registrado em um Recordatório Alimentar de 24 horas (R24h) para cada um dos momentos da pesquisa. Para a transformação das medidas caseiras em gramaturas de alimentos, foi utilizada a tabela de equivalências de Pinheiro et al. (2002) e Fisberg et al. (2002). Para a análise estimada do quantitativo de energia e nutrientes (carboidratos, proteínas, gorduras total, gordura trans; fibra alimentar; vitamina A, vitamina C, vitamina E, cobre, magnésio, selênio e zinco) foi utilizada a Tabela Brasileira de Composição de Alimentos da USP<sup>27</sup> e a tabela proposta pela *United States Department of Agriculture*<sup>28</sup>. Todas as etapas descritas foram realizadas em planilhas do software Office Excel®, versão 2016.

O R24h é provavelmente a técnica mais amplamente empregada em pesquisas, porém, não representa a ingestão habitual do entrevistado, pois pode haver grande variabilidade na ingestão diária dos alimentos. Por causa da diversidade na ingestão dietética diária, propõe-se que pelo menos dois ou mais recordatórios sejam efetuados para minimizar os erros<sup>29</sup>. Apesar disso, após a conclusão da entrada de dados dos relatos de consumo para cada momento do estudo, realizou-se uma análise para avaliar a consistência das informações digitadas e a presença de valores extremos de ingestão diária (<500 ou > 4000 kcal). Essa etapa permitiu verificar possíveis erros de digitação ou a ocorrência de sub ou super relatos da ingestão diária relatada pelos indivíduos<sup>30</sup>.

#### *Determinação da Capacidade Antioxidante Total da Dieta*

A CATd foi feita por meio de soma da capacidade antioxidante total da quantidade consumida de cada alimento dos R24h nos momentos M0 e M1, após transformação dos alimentos em gramas consumidas por dia. Os valores de capacidade

antioxidante total para cada alimento foram adquiridos a partir do estudo de Calrsen et al., (2010), cuja CAT é expressa em mmol/100g do alimento. Todas as etapas descritas foram realizadas em planilhas do software Office Excel®, versão 2016.

#### *Avaliação dos indicadores antropométricos do estado nutricional*

Para a avaliação do estado nutricional foram realizadas aferições antropométricas de peso e estatura por profissional capacitado, seguindo técnicas propostas pela *World Health Organization* – WHO (1995) e de circunferência da cintura, seguindo técnicas também propostas pela WHO, 2008. O peso atual foi aferido em balança de plataforma calibrada com capacidade máxima de 150 kg e escala de 100 g, da marca Toledo® (Toledo do Brasil®, São Bernardo do Campo, SP, Brasil). Para aqueles com mais de 150 kg, foi utilizada uma balança eletrônica calibrada (Welmy®, Santa Bárbara do Oeste, SP), com capacidade de 300 kg e precisão de 50 g.

A estatura foi medida por estadiômetro acoplado à plataforma com capacidade de 2 m e precisão de 0,5 cm. A classificação do estado nutricional foi realizada pelo IMC utilizando-se os pontos de corte definidos pela WHO (1995). Para a medida de circunferência da cintura, foi utilizada uma fita métrica inextensível (Sanny®, Califórnia, EUA) com precisão de 0,1 cm.

#### *Riscos*

As reações adversas que ofereciam riscos aos participantes do estudo estão relacionados aos efeitos adversos da suplementação, como por exemplo: flatulência, diarreia, constipação, inchaço e dor abdominal<sup>34</sup>.

#### *Análises estatísticas*

Os dados foram organizados e registrados em banco de dados no programa Microsoft Office Excel 2010<sup>®</sup>. A análise estatística foi realizada no programa estatístico STATA<sup>®</sup> versão 11.0 para Windows<sup>®</sup> (StataCorp, Texas, EUA).

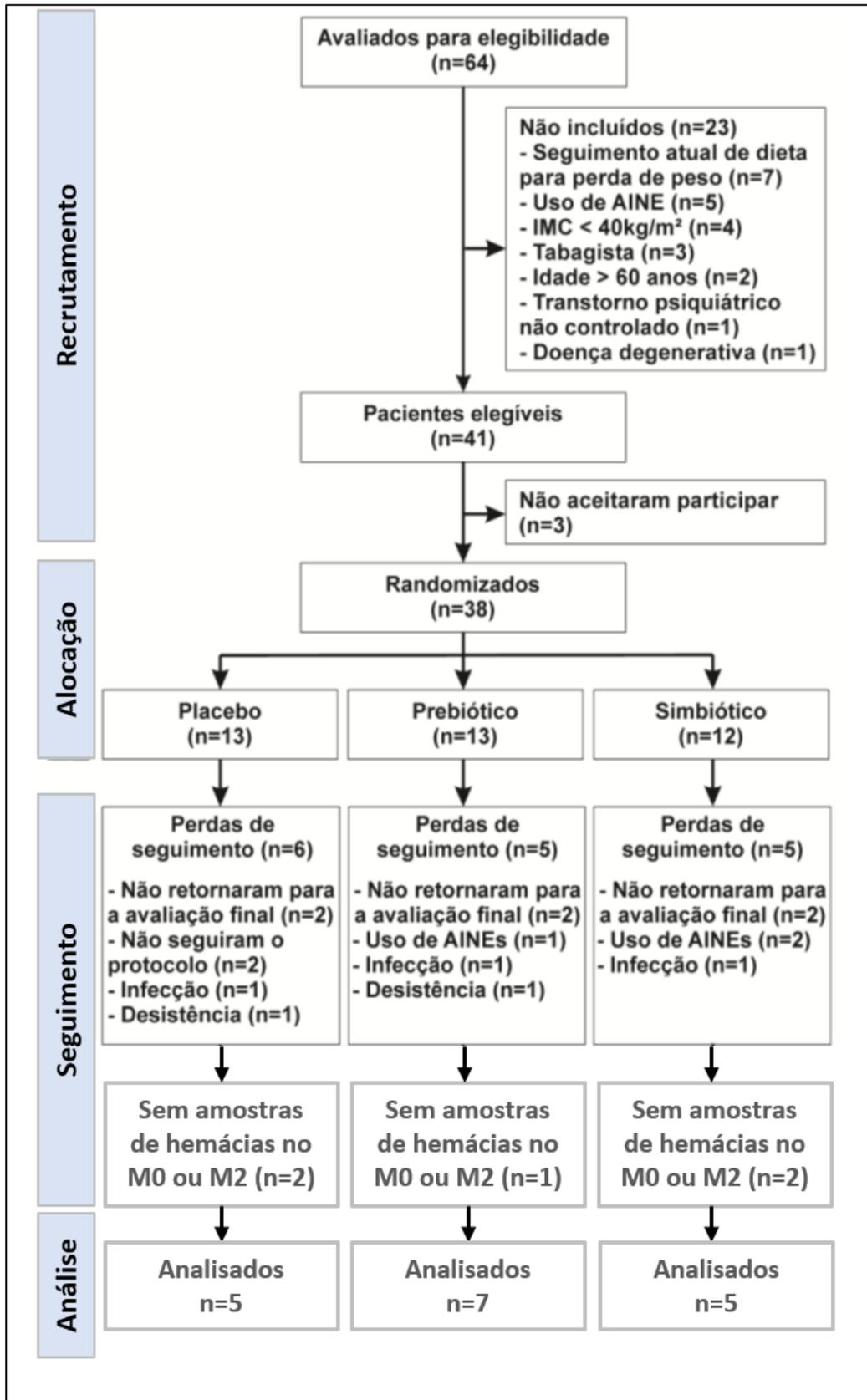
As variáveis contínuas (CAT, SOD, CATd, Peso, IMC, CC e Ingestão dietética) foram sintetizadas em duas únicas medidas por grupo: média e desvio padrão se a distribuição fosse simétrica, ou mediana e intervalo interquartil se fosse assimétrica. As variáveis categóricas (constipação e alterações gastrointestinais) foram descritas em categorias e frequência a partir do aparecimento nos grupos estabelecidos. Para avaliação da distribuição dos dados foi aplicado o teste de normalidade de Shapiro-Wilk. Para as variáveis contínuas, as comparações entre os grupos (controle e suplementados) foram realizadas utilizando o teste de ANOVA de uma via (dados paramétricos) ou o Teste de Kruskal Wallis (dados não paramétricos). Nas comparações intra-grupo foi aplicado o teste T pareado ou o teste de Wilcoxon para dados pareados, para distribuições simétricas e assimétricas, respectivamente. Para variáveis categóricas, as comparações entre os grupos foram realizadas utilizando o teste de Fisher. Para a análise das correlações entre as atividades enzimáticas e a CATd foram utilizadas as correlações de Spearman. Para todos os testes, foi adotado o nível de significância de 95% ( $p < 0,05$ ).

A análise foi realizada por protocolo, ou seja, fizeram parte destas análises somente os participantes que cumpriram ao protocolo de suplementação e que foram submetidos às avaliações nos momentos estabelecidos. Aqueles que ficaram por dois dias consecutivos ou mais sem consumir a dosagem esperada do suplemento foram excluídos.

## **RESULTADOS**

### *Recrutamento, randomização e características basais dos participantes*

Durante o período da pesquisa foram avaliados sessenta e quatro indivíduos na primeira consulta ambulatorial. Destes, vinte e três indivíduos não foram elegíveis e três indivíduos não aceitaram participar. Assim, trinta e oito indivíduos foram randomizados para os três grupos de tratamento (placebo, prebiótico ou simbiótico). Ao longo do estudo, ocorreram 16 perdas de seguimento por motivos diversos, não relacionados à intervenção (Figura 1). Além disso, para as análises do presente estudo, amostras de sangue de 5 indivíduos que concluíram o protocolo de pesquisa estavam inviáveis para análise em pelo menos um dos momentos de estudo. Nenhum destes participantes relatou efeitos adversos ou que haviam desistido de ingerir a suplementação. Por fim, 17 indivíduos foram analisados.



1 Figural. Fluxograma do estudo. Fonte: FERNANDES, 2017 e Autora. Legenda: AINE – Anti-  
2 inflamatórios não esteroidais. IMC – Índice de Massa Corporal. M0 – Momento inicial. M2 – Momento  
3 após 30 dias de suplementação.

1 *Características dos participantes do estudo*

2 Dados demográficos, antropométricos e clínicos dos participantes no momento  
3 basal estão apresentados na Tabela 1.

4 Tabela 1 – Características basais dos participantes do estudo

<b>Característica</b>	<b>Placebo (n=5)</b>	<b>Prebiótico (n=7)</b>	<b>Simbiótico (n=5)</b>	<b>Valor- p</b>
Idade (anos)	40,4 (9,4)	39,8 (10,9)	42,2 (5,6)	0,907 <sup>1</sup>
Sexo (n masculino/ n feminino)	2/3	0/7	2/3	0,162 <sup>2</sup>
Peso corporal (kg)	146,2 (24,6)	117,7 (18,2)	125,6 (30,2)	0,159 <sup>1</sup>
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	53,4 (9,8)	45,9 (5,3)	45,9 (6,2)	0,179 <sup>1</sup>
Circunferência da cintura (cm)	143 (9,8)	124,4 (11,2)	135,8 (17,6)	0,077 <sup>1</sup>
Constipação funcional* n (%)	0 (0)	2 (28,6)	0 (0)	0,162 <sup>2</sup>
Escala de Bristol n (%)				1,000 <sup>2</sup>
Tipos 1-3	1 (20,0)	3 (42,8)	2 (40,0)	
Tipo 4	2 (40,0)	2 (28,6)	1 (20,0)	
Tipo 5-7	2 (40,0)	2 (28,6)	2 (40,0)	
Comorbidades associadas n (%)				
Hipertensão arterial	3 (60,0)	1 (14,3)	1 (20,0)	0,406 <sup>2</sup>
Diabetes mellitus tipo 2	1 (20,0)	0 (0)	2 (40,0)	0,228 <sup>2</sup>
Dislipidemia	0 (0)	0 (0)	2 (40,0)	0,147 <sup>2</sup>
Ansiedade/depressão	3 (60,0)	1 (14,3)	1 (20,0)	0,406 <sup>2</sup>
Outros**	1 (20,0)	2 (28,6)	2 (40,0)	1,000 <sup>2</sup>
Medicamentos de uso contínuo n (%)				
Anti-hipertensivos	3 (60,0)	1 (14,3)	1 (20,0)	0,406 <sup>2</sup>
Hipoglicemiantes orais	1 (20,0)	0 (0)	1 (20,0)	0,485 <sup>2</sup>
Estatinas	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1,000 <sup>2</sup>
Antidepressivos	3 (60,0)	1 (14,3)	1 (20,0)	0,406 <sup>2</sup>
Outros***	1 (20,0)	1 (14,3)	0 (0)	1,000 <sup>2</sup>

5 Legenda: IMC – Índice de Massa Corporal. As variáveis contínuas foram expressas em média e desvio  
6 padrão. <sup>1</sup> Teste de ANOVA. <sup>2</sup> Teste exato de Fisher. \*De acordo com os critérios de ROMA IV (Lacy et  
7 al.23). \*\*Psoríase, osteoartrite, hipotireoidismo, refluxo gastroesofágico, apneia do sono, síndrome do  
8 pânico, insuficiência cardíaca congestiva e varizes nos membros inferiores. \*\*\*Antiácidos, hormônio  
9 tireoidiano, venotônicos e inibidores de gordura.

10

1           As características basais dos participantes não foram significativamente diferentes  
2 entre os grupos de tratamento. A maioria dos participantes era do sexo feminino (76,5%),  
3 com idade entre 20-55 anos, apresentava comorbidades associadas à obesidade e utilizava  
4 ao menos um tipo de medicamento. O IMC médio no momento basal foi 48,4 kg/m<sup>2</sup>.  
5 Apenas dois indivíduos cumpriram os critérios para constipação funcional. As reações  
6 adversas foram relatadas apenas nos primeiros dias e de baixa intensidade.

7

### 8 *Ingestão Dietética*

9           Quando avaliada a CATd, não houve diferença significativa entre os grupos, nem  
10 intragrupo no M0 e M1.

11           Quanto a ingestão de energia e de macronutrientes, apenas o Grupo Prebiótico  
12 apresentou alteração significativa no M1 com aumento da ingestão de Fibras (p=0,018),  
13 e redução na ingestão de Gordura trans (p=0,018) (Tabela 2). Em relação aos  
14 micronutrientes, houve aumento significativo na ingestão de Vitamina C no M1 pelo  
15 Grupo Placebo (p=0,043); houve também diferença significativa na análise entre grupos  
16 em relação a ingestão de Vitamina E (p=0,048) no M0, e na ingestão de Magnésio no M1  
17 (p=0,027) (Tabela 2). Ressalta-se que nenhum participante fez uso de suplementos  
18 vitamínicos e minerais durante o estudo.

1 Tabela 2. Ingestão dietética dos participantes antes e após a suplementação (Continua)

<b>Desfecho</b>	<b>Placebo (n=5)</b>	<b>Prebiótico (n=7)</b>	<b>Simbiótico (n=5)</b>	<b>Valor-p<sup>1</sup></b>	<b>VR H; M SR</b>
<b>CATD</b>					
Basal	6,3 (4,3; 8,5)	4,3 (2,5; 10,6)	13,7 (4,0; 14,6)	0,506	
30 dias	9,8 (7,5; 12,4)	7,6 (2,3; 9,5)	8,4 (3,4; 8,6)	0,379	
Valor-p <sup>2</sup>	0,138	0,932	0,686		
Diferença	6,6 (3,5; 8,1)	-0,0 (-1,1; 0,3)	-5,1 (-11,2; 4,4)	0,272	
<b>Energia (kcal/dia)</b>					
Basal	2022,5 (1845,3; 2083,7)	1938,1 (924,5; 1998,8)	1608,4 (1238,7; 2041,5)	0,414	2000 kcal/dia
30 dias	1103,8 (1016,1; 2846,2)	1682,1 (885,5; 2019,9)	1759,0 (1573,7; 2042,2)	0,863	
Valor-p <sup>2</sup>	0,345	0,612	0,500		
Diferença	-688,3 (-741,5; -210,2)	-28,6 (-125,9; 81,8)	-158,3 (-282,5; -34,7)	0,220	
<b>Carboidratos (g/dia)</b>					
Basal	157,4 (101,9; 250,9)	168,1 (76,9; 275,9)	227,4 (126,7; 247,6)	0,912	130 g/dia
30 dias	139,0 (118,6; 160,4)	146,8 (130,5; 324,6)	92,6 (87,5; 150,8)	0,488	
Valor p <sup>2</sup>	0,345	0,398	0,225		
Diferença	-70,8 (-111,9; 2,9)	50,7 (-13,8; 86,4)	-134,8 (-160,1; -51,8)	0,229	
<b>Proteínas (g/dia)</b>					
Basal	110,8 (74,2; 168,0)	54,9 (27,4; 86,5)	66,4 (64,8; 85,7)	0,101	56 g/dia; 46 g/dia
30 dias	73,7 (36,7; 118,5)	43,1 (30,2; 79,4)	78,9 (42,2; 92,9)	0,602	
Valor p <sup>2</sup>	0,225	0,237	0,685		
Diferença	-25,0 (-49,5; -0,43)	-11,7 (-28,9; -2,9)	-8,6 (-22,5; 7,2)	0,640	

2 Legenda: VR – Valores de Referência; SR – Sem Referência; H – Homens; M – Mulheres. CATd – Capacidade antioxidante total da dieta. As variáveis contínuas foram  
3 expressas em mediana e intervalo inter-quartil. <sup>1</sup> Teste de Kruskal-Wallis. <sup>2</sup> Teste de Willcoxon para dados pareados. Diferença: valor final (30 dias) – valor basal. Valores de  
4 Referências de acordo com as DRIs para Homens e Mulheres adultos (19 a 70 anos) <sup>35,36,37,38</sup>.

1 Tabela 2. Ingestão dietética dos participantes antes e após a suplementação (Continua).

Desfecho	Placebo (n=5)	Prebiótico (n=7)	Simbiótico (n=5)	Valor-p <sup>1</sup>	VR H; M
<b>Gordura Total (g/dia)</b>					ND
Basal	58,3 (56,0; 102,5)	44,4 (40,5; 94,9)	45,0 (42,9; 60,7)	0,277	
30 dias	25,9 (14,0; 118,2)	23,5 (16,3; 54,4)	72,2 (66,3; 76,1)	0,321	
Valor p <sup>2</sup>	0,500	0,063	0,686		
Diferença	-31,3 (-32,4; -0,6)	-20,8 (-40,5; 6,8)	-11,5 (-20,4; 21,3)	0,195	
<b>Gordura Trans (g/dia)</b>					SR
Basal	0,8 (0,6; 1,6)	0,8 (0,4; 1,0)	0,7 (0,6; 0,7)	0,714	
30 dias	0,5 (0,4; 1,7)	0,2 (0,0; 0,4)	0,7 (0,5; 0,7)	0,139	
Valor p <sup>2</sup>	0,893	<b>0,018</b>	0,686		
Diferença	-0,8 (-1,2; 1,1)	-0,5 (-0,80; -0,2)	0,2 (-0,2; 0,1)	0,220	
<b>Fibra Dietética (g/dia)</b>					30–38 g/dia; 21-25 g/dia
Basal	26,7 (14,5; 30,3)	11,7 (9,2; 15,8)	17,0 (15,5; 17,6)	0,162	
30 dias	21,3 (16,7; 25,3)	27,3 (24,3; 37)*	24,0 (23,9; 30,1)*	0,479	
Valor p <sup>2</sup>	0,345	<b>0,018</b>	0,080		
Diferença	-5,4 (-6,3; -5,0)	19,1 (6,2; 23,0)*	8,3 (6,3; 13,1)*	0,095	

2 Legenda: VR – Valores de Referência; SR – Sem Referência; H – Homens; M – Mulheres. As variáveis contínuas foram expressas em mediana e intervalo inter-quartil. <sup>1</sup> Teste

3 de Kruskal-Wallis. <sup>2</sup> Teste de Willcoxon para dados pareados. \*Considerando 12g de fibra proveniente da suplementação ofertada. Diferença: valor final (30 dias) – valor basal.

4 Valores de Referências de acordo com as DRIs para Homens e Mulheres adultos (19 a 70 anos) <sup>35,36,37,38</sup>.

1 Tabela 2. Ingestão dietética dos participantes antes e após a suplementação (Continua).

<b>Desfecho</b>	<b>Placebo (n=5)</b>	<b>Prebiótico (n=7)</b>	<b>Simbiótico (n=5)</b>	<b>Valor-p<sup>1</sup></b>	<b>VR H; M</b>
<b>Vitamina A (μ RE/dia)</b>					900 μg/dia; 700 μg/dia
Basal	207,4 (90,7 ; 253,5)	131,0 (59,7 ; 351,2)	252,5 (165,3 ; 828,8)	0,578	
30 dias	323,9 (304,2 ; 360,6)	188,3 (34,5 ; 442,5)	540,9 (357,0 ; 583,9)	0,353	
Valor p <sup>2</sup>	0,345	0,735	0,686		
Diferença	213,6 (116,6 ; 234,6)	-66,5 (-316,7 ; 437,6)	104,5 (-287,8 ; 418,6)	0,978	
<b>Vitamina C (mg/dia)</b>					90 mg/dia; 75 mg/dia
Basal	80,7 (29,2 ; 92,8)	44,5 (8,45 ; 137,2)	27,4 (12,5 ; 28,7)	0,283	
30 dias	245,4 (110,6 ; 320,8)	119 (76,0 ; 168,3)	40,7 (26,8 ; 89,3)	0,261	
Valor p <sup>2</sup>	<b>0,043</b>	0,237	0,345		
Diferença	152,6 (81,4 ; 219,2)	43,4 (-35,8 ; 120,2)	14,2 (-8,0 ; 61,9)	0,230	
<b>Vitamina E (mg/dia)</b>					15 mg/dia
Basal	4,6 (2,4 ; 6,6)	2,4 (1,8 ; 2,8)	4,1 (3,6 ; 5,5)	<b>0,048</b>	
30 dias	3,5 (1,3 ; 9,3)	2,7 (1,6 ; 3,0)	1,4 (1,1 ; 7,2)	0,806	
Valor p <sup>2</sup>	0,893	0,499	0,686		
Diferença	152,6 (81,4 ; 219,2)	43,4 (-35,8 ; 120,2)	14,2 (-8,0 ; 61,9)	0,230	
<b>Cobre (μ/dia)</b>					900 μg/dia
Basal	0,3 (0,0 ; 0,1)	0,2 (0,1 ; 0,2)	0,3 (0,1 ; 0,4)	0,069	
30 dias	0,2 (0,0 ; 0,7)	0,2 (0,0 ; 0,2)	0,2 (0,2 ; 0,5)	0,654	
Valor p <sup>2</sup>	0,225	0,735	0,893		
Diferença	0,0 (0,0 ; 0,7)	-0,2 (-0,1 ; 0,1)	0,0 (-0,2 ; 0,2)	0,599	

2 Legenda: VR – Valores de Referência; SR – Sem Referência; H – Homens; M – Mulheres. As variáveis contínuas foram expressas em mediana e intervalo inter-quartil. <sup>1</sup> Teste  
3 de Kruskal-Wallis. <sup>2</sup> Teste de Willcoxon para dados pareados. Diferença: valor final (30 dias) – valor basal. Valores de Referências de acordo com as DRIs para Homens e  
4 Mulheres adultos (19 a 70 anos) <sup>35,36,37,38</sup>.

1 Tabela 2. Ingestão dietética dos participantes antes e após a suplementação (Continuação).

<b>Desfecho</b>	<b>Placebo (n=5)</b>	<b>Prebiótico (n=7)</b>	<b>Simbiótico (n=5)</b>	<b>Valor-p<sup>1</sup></b>	<b>VR H; M</b>
<b>Magnésio (mg/dia)</b>					400-420 mg/dia; 310-320 mg/dia
Basal	243,6 (158,5 ; 264,3)	102,7 (81,0 ; 149,2)	198,4 (188,9 ; 206,4)	<b>0,027</b>	
30 dias	228,1 (134,2 ; 251,2)	149,0 (130,5 ; 154,9)	169,0 (128,4 ; 224,3)	0,647	
Valor p <sup>2</sup>	0,500	0,091	0,686		
Diferença	-76,5 (-80,6 ; -36,2)	50,6 (-22,8 ; 84,2)	-37,4 (-70,1 ; 35,5)	0,189	
<b>Selênio (µ/dia)</b>					55µg/dia
Basal	0,0 (0,0 ; 14,6)	0,1 (0,0 ; 6,2)	7,3 (3,7 ; 14,6)	0,526	
30 dias	0,7 (0,1 ; 1,0)	0,0 (0,0 ; 6,2)	0,0 (0,0 ; 3,2)	0,658	
Valor p <sup>2</sup>	0,586	0,270	0,586		
Diferença	0,0 (-11,3 ; 0,0)	0,0 (-6,2 ; 0,2)	-3,7 (-4,1 ; 0,0)	0,970	
<b>Zinco (mg/dia)</b>					11 mg/dia; 8 mg/dia
Basal	11,2 (7,2 ; 18,9)	4,5 (3,0 ; 9,2)	8,3 (5,2 ; 9,0)	0,157	
30 dias	4,3 (2,8 ; 14,5)	3,7 (3,5 ; 4,6)	5,0 (4,5 ; 6,0)	0,580	
Valor p <sup>2</sup>	0,500	0,310	0,686		
Diferença	-4,3 (-6,9 ; -3,3)	-1,0 (-5,5 ; 0,8)	-3,0 (-6,2 ; 1,3)	0,635	

- 2 Legenda: VR – Valores de Referência; SR – Sem Referência; H – Homens; M – Mulheres. As variáveis contínuas foram expressas em mediana e intervalo inter-quartil. <sup>1</sup> Teste de Kruskal-Wallis. <sup>2</sup> Teste de Willcoxon para dados pareados. Diferença: valor final (30 dias) – valor basal. Valores de Referências de acordo com as DRIs para Homens e Mulheres adultos (19 a 70 anos) <sup>35,36,37,38</sup>.

1           As atividades enzimáticas avaliadas da CAT e SOD não apresentaram alterações  
2 estatisticamente significantes na análise intragrupos, nem entre grupos.

3           Em relação aos indicadores antropométricos do estado nutricional, houve  
4 alteração estatisticamente significante nos Grupos Placebo e Probiótico, com redução de  
5 Peso ( $p=0,024$  e  $p=0,019$ , respectivamente) e de IMC ( $p=0,018$  e  $p=0,014$ ,  
6 respectivamente).

1 Tabela 3 – Parâmetros bioquímicos do estresse oxidativo e indicadores antropométricos do estado nutricional (Continua).

Característica	Placebo (n=5)	Prebiótico (n=7)	Simbiótico (n=5)	Valor-p <sup>1</sup>	Valores de Referência
<b>Catalase (mU/mg)</b>					SR
Basal	871,8 (379,8; 1070,6)	187,0 (47,0; 945,2)	605,8 (340,3; 745,5)	0,321	
30 dias	350,2 (349,4; 871,3)	607,7 (181,4; 878,4)	387,2 (329,1; 773,6)	0,941	
Valor-p <sup>2</sup>	0,345	0,237	0,893		
Diferença	-59,0 (-199,3; -29,6)	137,4 (117,7; 420,7)	-3,5 (-276,7; 46,9)	0,261	
<b>Superóxido Dismutase (mU/mg)</b>					SR
Basal	27,9 (25,7; 30,8)	14,4 (7,2; 38,2)	29,8 (26,9; 40,6)	0,500	
30 dias	45,3 (37,7; 55,2)	40,2 (7,5; 56,4)	8,7 (7,1; 40,6)	0,490	
Valor p <sup>2</sup>	0,345	0,398	0,138		
Diferença	14,5 (-10,9; 29,5)	2,0 (-8,8; 30,2)	-19,8 (-21,1; -10,5)	0,163	
<b>Peso (kg)</b>					SR
Basal <sup>a</sup>	146,2 (24,6)	117,8 (18,2)	125,7 (30,2)	0,159	
30 dias <sup>a</sup>	142,2 (24,5)	115,4 (18,8)	123,7 (27,7)	0,169	
Valor p	<b>0,024</b>	<b>0,019</b>	0,238		
Diferença	-3,5 (2,2)	-2,3 (1,9)	-1,9 (3,1)	0,449	

2 Legenda: IMC – Índice de Massa Corporal. As variáveis contínuas foram expressas em mediana e intervalo inter-quartil. <sup>1</sup> Teste de Kruskal-Wallis. <sup>2</sup> Teste de Willcoxon para  
3 dados pareados. <sup>3</sup> Teste ANOVA. Diferença de médias: Valor final (30 dias) – Valor basal. Valor de referência de acordo com a WHO (1995). SR: Sem valor de referência. <sup>a</sup>

4 Valores expressos em média e desvio padrão.

5

1 Tabela 3 – Parâmetros bioquímicos do estresse oxidativo e indicadores antropométricos do estado nutricional (Continua).

Característica	Placebo (n=5)	Prebiótico (n=7)	Simbiótico (n=5)	Valor-p <sup>1</sup>	Valores de Referência
<b>IMC (kg/m<sup>2</sup>)</b>					<24,9 kg/m <sup>2</sup>
Basal <sup>a</sup>	53,4 (9,8)	45,9 (5,3)	45,9 (6,2)	0,179	
30 dias <sup>a</sup>	52,1 (9,8)	45,0 (5,9)	45,3 (5,7)	0,227	
Valor p	<b>0,018</b>	<b>0,014</b>	0,274		
Diferença	-1,3 (0,7)	-0,8 (0,7)	-0,7 (1,1)	0,423	
<b>Circunferência da Cintura (CC)</b>					SR
Basal	143 (9,9)	124,4 (11,2)	135,8 (17,6)	0,077	
30 dias	139,6 (11,7)	122,7 (14,3)	133,8 (18,9)	0,108	
Valor p	0,105	0,398	0,166		
Diferença	-3,4 (3,6)	-1,7 (5,0)	-2,0 (2,6)	0,830	

2 Legenda: IMC – Índice de Massa Corporal. As variáveis contínuas foram expressas em mediana e intervalo inter-quartil. <sup>1</sup> Teste de Kruskal-Wallis. <sup>2</sup> Teste de Willcoxon para  
3 dados pareados. <sup>3</sup> Teste ANOVA. Diferença de médias: Valor final (30 dias) – Valor basal. Valor de referência de acordo com a WHO (1995). SR: Sem valor de referência. <sup>a</sup>  
4 Valores expressos em média e desvio padrão.

5  
6  
7

1 Correlações também foram testadas (teste de Spearman) entre as atividades  
2 enzimáticas da CAT e da SOD com a CATd, como medida de controle, mas nenhuma das  
3 correlações foi estatisticamente significativa ( $p=0,474$  e  $p=0,108$ , respectivamente).

## 4 **DISCUSSÃO**

6  
7 Uma busca sistemática nas principais bases de dados (Biblioteca Virtual em  
8 Saúde, Cochrane, Embase, Google Acadêmico, PubMed, Scopus, Web of Science),  
9 realizada em julho de 2019, identificou a ausência de estudos que avaliassem o efeito da  
10 suplementação de prebióticos e simbióticos na atividade enzimática da CAT ou SOD em  
11 indivíduos com obesidade mórbida. Portanto, o ensaio clínico realizado se destaca pela  
12 originalidade dos desfechos avaliados no modelo do estudo. Além disso, a avaliação a  
13 ingestão alimentar de macronutrientes e micronutrientes, em particular os antioxidantes,  
14 corroboram com as hipóteses de que a dieta pode impactar no quadro de estresse  
15 oxidativo, a partir da eliminação de RL de forma direta, como no caso das vitaminas, ou  
16 de forma indireta, pelos minerais que atuam como cofatores de enzimas antioxidantes<sup>39,40</sup>.

17 Para avaliar a ingestão alimentar dos participantes deste estudo, destaca-se que as  
18 DRIs utilizadas como valores de referência são utilizadas para planejar e avaliar dietas  
19 para pessoas saudáveis, não considerando indivíduos com obesidade. Embora estes  
20 valores de referência estejam baseados em dados frequentemente escassos ou tirados de  
21 estudos que possuem limitações, as recomendações são amplamente utilizadas para todos  
22 os tipos de população<sup>41,42</sup>.

23 Dados da Pesquisa de Orçamento Familiar (POF)<sup>43</sup> 2008-2009 mostram que a  
24 ingestão energética é maior que o recomendado para homens adultos, que ingerem cerca  
25 2.163,0 Kcal/dia, valor próximo ao encontrado neste trabalho no Grupo Placebo no M0

1 (2022,5 kcal/dia), representado por 40% homens. Porém, o mesmo grupo apresenta uma  
2 queda de 45,5% na ingestão calórica no M1, o que pode justificar a redução significativa  
3 de Peso ( $p=0,024$ ) e IMC ( $p=0,018$ ) apresentada.

4 O consumo de ácidos graxos da dieta tem sido associado ao aumento da  
5 prevalência de obesidade e ao desenvolvimento de uma série de fatores de risco que  
6 podem causar doenças crônicas<sup>44,45</sup> e prejuízos à saúde, impactando na concentrações de  
7 colesterol, enfraquecendo o sistema imunológico e contribuindo para a formação  
8 ateromas<sup>46</sup>. Um ponto forte e significativo encontrado neste estudo foi a redução do  
9 consumo de gordura trans pelo Grupo Prebiótico ( $p=0,018$ ).

10 As fibras dietéticas têm grande influência sobre a composição, diversidade e  
11 riqueza da microbiota intestinal, pois são consideradas compostos "prebióticos" por  
12 exercerem benefícios sobre a saúde e a imunidade, induzindo seletivamente populações  
13 bacterianas benéficas no intestino<sup>47,48</sup>. Nesta pesquisa, o único aumento significativo na  
14 ingestão de fibras foi encontrado no Grupo Prebiótico, levando em consideração o  
15 conteúdo de fibras presente na suplementação. No M0, esse grupo atingia apenas 55,7%  
16 das recomendações mínimas dessa ingestão (21-25g/dia), considerando a formação  
17 apenas por participantes mulheres.

18 Embora o organismo possua defesas antioxidantes endógenas efetivas para o  
19 combate ao excesso de RL, como exemplo as enzimas CAT e SOD, acredita-se que elas  
20 não são infalíveis<sup>49</sup>. Dessa forma, os antioxidantes dietéticos são indispensáveis para a  
21 defesa apropriada contra a oxidação<sup>50</sup>, e destacam-se as vitaminas A, C e E e os minerais  
22 cobre, magnésio, manganês, selênio e zinco<sup>51,52</sup>. Porém, nesta pesquisa, as análises  
23 mostraram que os participantes ingeriam valores abaixo das recomendações diárias,  
24 principalmente para Vitamina A, cobre e selênio.

1 O consumo de vitamina A pelos participantes deste estudo, embora tenha  
2 aumentado em números absolutos entre M0 e M1 em todos os grupos, foi insuficiente  
3 quanto a recomendação diária para mulheres (700µg/dia) e para homens (900µg/dia). Um  
4 estudo realizado com 154 mulheres atendidas no Ambulatório de Saúde da Mulher  
5 Climatérica (ASMUC) da Universidade de São Paulo identificou 82,8% das participantes  
6 com consumo insuficiente de vitamina A associado à alta frequência de excesso de peso,  
7 75%<sup>53</sup>, situação semelhante ao presente estudo. Considerando que os carotenoides são  
8 importantes sequestradores de radicais oxigênio *singlet*, capazes de inativa-los e destruí-  
9 los, inibindo, assim, a peroxidação lipídica, o estudo CARDIA/YALTA, que acompanhou  
10 4.580 indivíduos brancos e negros (18-30 anos) por 15 anos, encontrou associação inversa  
11 entre a concentração sérica dos carotenoides e marcadores de estresse oxidativo<sup>54</sup>.

12 O cobre é um cofator essencial para uma série de enzimas envolvidas em reações  
13 metabólicas de integridade do DNA, diferenciação e divisão celular, de transporte de  
14 oxigênio e proteção antioxidante. Juntamente com o zinco, é importante cofator da  
15 enzima SOD (Cu/Zn-SOD), prejudicando seu completo funcionamento quando em  
16 carência no organismo<sup>55</sup>. Neste estudo, a média da ingestão de cobre apresentou-se 99,9%  
17 abaixo da recomendação (900µg/dia) no M0 e M1.

18 No Brasil, estudos revelam baixa biodisponibilidade de selênio na dieta  
19 consumida pela população de baixa renda do Estado de São Paulo e também do Mato  
20 Grosso<sup>56,57</sup>. No entanto, não estão publicados estudos que tenham avaliado se a  
21 suplementação de selênio teria efeitos protetores em relação a obesidade e suas  
22 comorbidades na população brasileira. Porém, é importante destacar que o selênio atua  
23 como cofator da enzima glutathione peroxidase (Se-GPX) e, quando em falta, acarreta em  
24 maior suscetibilidade a lesões oxidativas<sup>58</sup>. A ingestão média desse mineral no presente

1 estudo foi muito abaixo da recomendação ( $55\mu/\text{dia}$ ), atingindo apenas 12% das DRIs no  
2 M0 e 7% no M1.

3 Quanto a ingestão de Vitamina C, Canoy et al.<sup>59</sup> avaliou uma população europeia  
4 ( $n=19.068$ ), com idade entre 45-79 anos, e as baixas concentrações plasmáticas de ácido  
5 ascórbico foram inversamente relacionadas com aumento no IMC em mulheres  
6 ( $p<0,001$ ). Além da possível associação com o excesso de peso, estudo prospectivo  
7 europeu, com duração de 12 anos, verificou associação inversa entre a concentração  
8 sérica de vitamina C e o risco de diabetes mellitus tipo 2<sup>60</sup>. Um aumento significativo da  
9 ingestão de Vitamina C foi encontrado no Grupo Placebo ( $p=0,043$ ), o qual também  
10 apresentou redução significativa de IMC ( $p=0,018$ ).

11 A ingestão média de vitamina E, embora tenha apresentado diferença significativa  
12 entre as medianas os grupos no M0 ( $p=0,048$ ), foi insuficiente em todos os grupos,  
13 atingindo apenas 24% da recomendação diária ( $15\text{mg}/\text{dia}$ ) no M0 e 28,4% no M1. Essa é  
14 a principal vitamina lipossolúvel, e é responsável pela conversão de RL em espécies mais  
15 estáveis ou menos reativos. A ingestão insuficiente dessa vitamina pode ser explicada  
16 pelo consumo reduzido de oleaginosas, gérmen de trigo, sementes e grãos integrais<sup>61,62,63</sup>.

17 A deficiência de Magnésio é correlacionada ao aumento da peroxidação lipídica,  
18 resposta inflamatória e à diminuição da atividade antioxidante<sup>57</sup>. Neste estudo, a ingestão  
19 desse mineral apresentou diferença significativa entre os grupos no M0 ( $p=0,027$ ), porém,  
20 a média da ingestão ficou abaixo das DRIs para homens (59% insuficiente no M0; 47%  
21 no M1) e mulheres (47% insuficiente no M0; 31% no M1).

22 O Zinco, um importante componente na estrutura da enzima SOD (Cu/ZnSOD),  
23 participa de reações no combate aos RL e é cofator na absorção de vitaminas  
24 lipossolúveis, além de ser um potente antioxidante. Sua insuficiência está associada a  
25 maior concentração de componentes pró-inflamatórios e menor capacidade de defesa

1 imunológica, além de estresse oxidativo aumentado por conta da atividade enzimática  
2 reduzida<sup>64</sup>. Sánchez et al.<sup>65</sup> avaliaram uma população adulta do sul da Espanha e  
3 verificaram inadequação de zinco em 56,45% da amostra e foram relacionadas de maneira  
4 inversa com IMC ( $p < 0,001$ ). Nesta pesquisa, os valores médios da ingestão de Zinco  
5 reduziram no M1 e atingiram 96% das recomendações diárias para mulheres e 70% para  
6 homens.

7 O consumo insuficiente de micronutrientes está entre os dez principais fatores de  
8 risco para a carga total global de doenças em todo o mundo, sendo considerado o terceiro  
9 fator de risco prevenível de DCNT, e a associação com a adiposidade também parece  
10 existir<sup>64</sup>. Além disso, um sistema antioxidante não enzimático de origem dietética, quando  
11 em desequilíbrio em relação ao substrato oxidável, compromete a estrutura, a regulação  
12 e a ação de enzimas antioxidantes dependentes desses micronutrientes, não participando  
13 de forma sinérgica no impedimento da formação de RL, ou ainda como neutralizadores  
14 ou reparadores de lesões oxidativas<sup>66</sup>.

15 Associação inversa entre a CATd e estresse oxidativo em DCNT como a  
16 obesidade e suas comorbidades, são demonstradas em vários estudos<sup>67,68,69,70,71,72,73</sup>. A  
17 CATd no presente estudo aumentou em números absolutos na ingestão alimentar dos  
18 Grupos Placebo e Prebiótico, porém não de forma estatisticamente significativa e sem  
19 impacto na atividade enzimática da CAT e SOD.

20 Um estudo observou em adultos com IMC entre 24,2 e 30,7 kg/m<sup>2</sup> que receberam  
21 10x10<sup>10</sup>UFC/dia de *Lactobacillus gasseri* SBT2055 em leite fermentado por 12 semanas,  
22 diminuição significativa na gordura visceral e subcutânea, no peso corporal, IMC e CC  
23 comparando com indivíduos que receberam apenas leite fermentado<sup>74</sup>. Em outro estudo,  
24 os mesmos pesquisadores observaram que os mesmos efeitos, com exceção da redução

1 na gordura subcutânea, podem ser obtidos com doses de  $10^6$  e  $10^7$  UFC/dia de  
2 *Lactobacillus gasser* SBT2055 por 12 semanas<sup>75</sup>.

3 Em estudo feito com diabéticos com IMC de sobrepeso, verificaram que o grupo  
4 probiótico (consumo de 300g/d de iogurte probiótico contendo *Lactobacillus acidophilus*  
5 e *bifidobactérias*) apresentou efeitos benéficos em relação ao grupo controle (consumo  
6 de 300 g/d de iogurte convencional), tais como redução da glicose basal e hemoglobina  
7 glicada, maior atividade da SOD e GPx e melhora do estado antioxidante total, em  
8 pacientes diabéticos tipo 2<sup>76</sup>.

9 Um estudo randomizado, controlado, duplo cego, avaliou a atividade enzimática  
10 em 21 mulheres com sobrepeso, suplementados com *Lactobacillus acidophilus* e *casei*;  
11 *Bifidobacterium bifidum* e *lactis* por 8 semanas. O grupo suplementado apresentou  
12 redução da CC, redução de peso, e aumento significativo na atividade enzimática da GPX,  
13 quando comparado ao grupo placebo (recebiam maltodextrina 200mg/dia, n=22)<sup>77</sup>.

14 Os estudos supracitados reforçam a diversidade nas características dos estudos  
15 que propõem a modulação da microbiota intestinal como forma de promover a atividade  
16 de enzimas antioxidantes. A partir do conjunto de informações, pode-se propor que um  
17 tempo de suplementação de 8 semanas pode ser necessário para observação de resultados  
18 da intervenção proposta nesse estudo, apesar dos ensaios prévios terem sido realizados  
19 com probióticos e com indivíduos sem diagnóstico de obesidade.

20

## 21 **CONCLUSÃO**

22

23 Ao avaliar o efeito da suplementação de prebiótico ou simbiótico na atividade das  
24 enzimas CAT e SOD em indivíduos com obesidade mórbida, observa-se que não teve  
25 diferença significativa entre os grupos e momentos do estudo. Evidencia-se,

1 adicionalmente, uma ingestão insuficiente quantitativamente de nutrientes com potencial  
2 ação antioxidante e de fibra alimentar, sugerindo, portanto, cuidado e assistência quanto  
3 ao comportamento alimentar e nutricional dessa população, para possível mudança  
4 positiva da sua capacidade oxidativa. Nesse sentido, estudos futuros com universo  
5 amostral maior e associações de intervenções nutricionais com a suplementação de  
6 prebiótico ou simbiótico são fundamentais para contribuir no cuidado terapêutica dessa  
7 população.

8 Como possíveis limitações podem ser citadas a aplicação de apenas um R24h para  
9 cada momento do estudo; os participantes não estavam em um ambiente controlado  
10 durante o período da pesquisa, tornando-os susceptíveis a mudanças no hábito de vida, as  
11 diferentes comorbidades e medicamentos utilizados pelos indivíduos com obesidade.

12

## 13 **REFERÊNCIAS**

14

- 15 1. GREGOR; HOTAMISLIGIL. Mecanismos inflamatórios na obesidade. *Annu*  
16 *Rev Immunol*: 29. 2011. p. 415-445
- 17 2. MONTAGUE; O'RAHILLY S. Os perigos da linha de porto: causas e  
18 consequências da adiposidade visceral. *Diabetes*: 49. 2008. p. 83-888
- 19 3. Brasil. Ministério da Saúde. *Cadernos de Cuidados Básicos*, nº 12. A obesidade.  
20 Brasília (DF); 2006.
- 21 4. PAPPAS; O KARAOULI. Estratégias de política de saúde para o tratamento da  
22 obesidade: uma revisão sistemática. *Int J Caring Sci*; 3(3). 2010. p. 98-105
- 23 5. SARNO; CANELLA; O BANDONI. Saúde móvel e excesso de peso: uma revisão  
24 sistemática. *Rev Panam Saúde Pública*. 2014

- 1 6. LIMA, et al. Principais alterações fisiológicas resultantes da obesidade: um estudo  
2 teórico. *Sanare, Sobral* – v.17 n.02, jul/dez 2018. p.56-65
- 3 7. AGUILAR-VALLES, etc. Obesidade, adipokines e neuroinflamação.  
4 *Neuropharmacol vs.* 96, parte A. 2015. p. 124-134
- 5 8. ATIVIDADE HALLIWELL, B. Atividade antioxidante e outros efeitos  
6 biológicos dos flavonoides. In: Rice-Evans C, ed. *Acorde com flavonoides.*  
7 Londres: Royal Society of Medicine Press. 2000. p. 13-23
- 8 9. SIES, H. *Stress Oxidativo.* Imprensa Académica, Londres. 1985.. p. 1-507
- 9 10. SEIES; STAHL;; SEVANIAN. Stress nutricional, dietético e oxidativo pós-  
10 prandial. *J Nutr*;135(5). 2005. p.72-969
- 11 11. MATSUZAWA-NAGATA, etc. O aumento do stress oxidativo precede o  
12 aparecimento da resistência à insulina induzida pela dieta de gordura alta e da  
13 obesidade. *O metabolismo.* ago;57(8). 2008. p. 7-1071
- 14 12. BARBOSA, etc. Stress oxidativo: conceitos, implicações e fatores modulares. *Ver*  
15 *Nutr.*, Campinas, 23(4). 2010. p. 629-643
- 16 13. MASHIMA, etc. A distribuição regioisomericana de hidrooleato de linoleato de  
17 cholesteryl ans hydroxides de plasma de humanos saudáveis fornece evidências  
18 de peroxidação lipídico radicalmente livre in vivo. *J Lip Res*: 41. 2000. p. 115-  
19 109
- 20 14. BESERRA, etc. Uma revisão sistemática e meta-análise dos prebióticos e dos  
21 efeitos simbióticos na glicemia, concentrações de insulina e parâmetros lipídicos  
22 em doentes adultos com excesso de peso ou obesidade. *Nutrição Clínica*, n 34.  
23 2015. p.845-858

- 1 15. ROSHAN, etc. Efeitos dos probióticos e da suplementação simbiótica no estado  
2 antioxidante: uma meta-análise de ensaios clínicos aleatórios. Nutrition clínico.  
3 ESPEN, 2019
- 4 16. SCHULZ; ALTMAN; Moher. Declaração CONSORT 2010: orientações  
5 atualizadas para reportar ensaios paralelos em grupo aleatório. Anais de Medicina  
6 Interna, v. 152, n. 11. 2010. p. 726-732
- 7 17. HIGGINS; VERDE, VERDE. Manual de Cochrane para Análises Sistemáticas de  
8 Intervenções Versão 5.1.0. A Cochrane Collaboration, 2011. Disponível em:  
9 [www.cochrane-handbook.org](http://www.cochrane-handbook.org). Acesso: fevereiro 2016
- 10 18. O RICKHAM. Experimentação humana. Código de Ética da Associação Médica  
11 Mundial. Declaração de Helsínquia. British Medical Journal, v. 2, n. 5402. 1964..  
12 p. 177
- 13 19. Brasil. Resolução nº 466, de 12 de dezembro de 2012. Aprova orientações e  
14 normas regulamentares para a investigação envolvendo seres humanos. Brasília:  
15 Diário Oficial, Brasília, DF. 2013b
- 16 20. Brasil. Resolução-RE nº 35 de 4 de janeiro de 2013. Concede mudança de unidade  
17 de fabrico e inclusão de marca. Diário Oficial, Brasília,DF. 2013a
- 18 21. LEWIS; O HEATON. Balança de fezes como um guia útil para o tempo de  
19 trânsito intestinal. Jornal Escandinavo de Gastroenterologia, v. 32, n. 9. 1997.. p.  
20 920-924
- 21 22. WHEELER, etc. Ensaios automatizados para a dismutase de superóxido, catalase,  
22 peroxidase de glutatião e glutatião redutase. Bioquímica Anal. Vol 184. 1990.. p.  
23 193-199

- 1 23. JOHANSSON; O BORG. Um método espectrofotométrico para a determinação da  
2 atividade da catalase em amostras de pequenos tecidos. *Bioquímica Anal.* Vol  
3 174. 1988. p. 331-336
- 4 24. THOMPSON; Byers. Manual de recursos de avaliação dietética. *Revista de*  
5 *Nutrição*, v. 124, n. 11. 1994.. p. 2245S-2317S
- 6 25. PINHEIRO, etc. Tabela de Avaliação do Consumo Alimentar em Medidas  
7 Domiciliárias. 4º Ed. São Paulo: Atheneu. 2002. p. 75º
- 8 26. FISBERG; VILLAR. Manual de receitas e medidas caseiras para o cálculo dos  
9 inquéritos alimentares. São Paulo: Signo, 2002
- 10 27. USP - Universidade de São Paulo. Faculdade de Ciências Farmacêuticas.  
11 Departamento de Alimentação e Nutrição Experimental. Tabela de Composição  
12 Alimentar Brasileira - USP. Versão 4.1. No ar desde 1998. Acesso: 2018.  
13 Obtenha-o em: URL: <http://www.fcf.usp.br/tabela>.
- 14 28. USDA. SAÍDA DOS ESTADOS UNIDOS DA AGRICULTURA. Base de Dados  
15 de Nutrientes para Referência Padrão. 2001. Disponível:<http://ndb.nal.usda.gov/>.  
16 Accessed: fev2016
- 17 29. O ABUTRE. 24 horas de recolha dietética e métodos de registo alimentar. In:  
18 Willet W, editor. *Epidemiologia nutricional*. 2 ed. Nova Iorque: Oxford  
19 University Press. 1998. p. 51-67
- 20 30. WILLETT; HOWE; O KUSHI. Ajustamento para a ingestão total de energia em  
21 estudos epidemiológicos. *The American Journal of Clinical Nutrition*, v. 65, n. 4.  
22 1997. p. 1220S-1228S
- 23 31. CARLSEN, etc. O teor total antioxidante de mais de 3100 alimentos, bebidas,  
24 especiarias, ervas e suplementos utilizados em todo o mundo. *Springer Nature,*  
25 *Nutrition Journal*, [s.l.], v. 9, n. 1. 2010. p. 1-11

- 1 32. ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE (OMS). Comitê de Peritos em Estado  
2 Físico: utilização e interpretação da antropometria. Estado físico: utilização e  
3 interpretação da antropometria. Relatório de um comitê de peritos da OMS. Série  
4 técnica da OMS, 854. Genebra: WHO, 1995
- 5 33. ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE (OMS). Circunferência da Cintura e  
6 Relação Cintura-Anca: Relatório de uma Consulta de Peritos da OMS. Genebra:  
7 WHO, 2008
- 8 34. FERNADES, R et al. Efeitos dos frutos do tipo inulina, galacto-oligossacáridos e  
9 sinbióticos conexos em marcadores inflamatórios em paciente adulto com  
10 sobrecarga ou obesidade: Uma revisão sistemática. *Nutrição Clínica*, v. 36, n.5.  
11 2017. p. 1197-1206
- 12 35. INSTITUTO DE MEDICINA. Ingestão de referência dietética para cálcio,  
13 fósforo, magnésio, vitamina D e flúor. Washington (DC): National Academy  
14 Press; 1997.
- 15 36. INSTITUTO DE MEDICINA. Ingestão de referência dietética para vitamina C,  
16 vitamina E, selênio e carotenóides. Washington (DC): National Academy Press;  
17 2000.
- 18 37. INSTITUTO DE MEDICINA. Ingestão dietética de referência para vitamina A,  
19 vitamina K, arsênio, boro, crômio, cobre, iodo, ferro, manganês, molibdênio,  
20 níquel, silício, vanádio e zinco. Washington (DC): National Academy Press;  
21 2002.
- 22 38. INSTITUTO DE MEDICINA. Ingestão de referência dietética para energia,  
23 hidratos de carbono, fibra, gordura, ácidos gordos, colesterol, proteínas e  
24 aminoácidos. Washington (DC): National Academy Press; 2005

- 1 39. VASCONCELOS, etc. Hipótese oxidativa da hipertensão arterial: uma mini-  
2 previsão. Rev Bras Hypertension, 14(4). 2007. p. 74-269
- 3 40. ALISSA, FERNS. Alimentos funcionais e nutracêuticos na prevenção primária de  
4 doenças cardiovasculares. J Nutr Metab 2012; artigo ID 569486.
- 5 41. SOUZA, etc. Ingestão alimentar e equilíbrio energético na população adulta em  
6 Niterói, Estado do Rio de Janeiro, Brasil: o Inquérito à Nutrição, Atividade Física  
7 e Saúde (PNAFS). O Cad. Saúde Pública, Rio de Janeiro, 26(5). 2010p. 879-890
- 8 42. ILSI - Instituto Internacional de Ciências da Vida.. Uses e aplicações de ingestão  
9 de referência dietética - Dris. São Paulo, SP novembro/2001.
- 10 43. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) – Pesquisa de Orçamento  
11 Familiar (POF). Rio de Janeiro, 2010.
- 12 44. RENDEIRO, etc. Consumo alimentar e aptidão nutricional para adultos com  
13 obesidade. Jornal Brasileiro de Obesidade, Nutrição e Perda de Peso, São Paulo.  
14 v. 12. 76. Suplementar 2. 2018. p.996-1008
- 15 45. VAZ, et al. Ácidos gordos como marcadores biológicos de gorduras dietéticas de  
16 ingestão. Revista de Nutrição, Campinas, SP, 2006. p. 489-500.
- 17 46. O LAMOUNIER. Gordura trans, os seus riscos e a proibição em Nova Iorque:  
18 paranoia ou prevenção? Disponível em: <<http://www.diabetes.org.br>>. Acesso em  
19 29/05/2020.
- 20 47. WHITNEY; O ROLFES. Nutrição 1: compreensão de nutrientes. São Paulo:  
21 Cengage Learning, 2008.
- 22 48. BINDELS, etc. Para um conceito mais abrangente para os prebióticos. Nature  
23 Reviews Gastroenterology Hepatology. v.12. 2015. p.303-310
- 24 49. BARBOSA, et al. Stress oxidativo: conceito, implicações e fatores modulares.  
25 Rev. Nutr. vol.23 no.4 Campinas julho/ago 2010

- 1 50. CERQUEIRA; MEDEIROS;; O AUGUSTO. Antioxidantes dietéticos:  
2 controvérsias e perspectivas. Quím Nova; 30(2). 2007. p.9-441
- 3 51. ZIMMERMANN; A KIRSTEN. Alimentos com função antioxidante em doenças  
4 crônicas: uma abordagem clínica. Disc Scientia; 9(1). 2008. p. 51-68
- 5 52. PANZIERAF, etc. Avaliação da ingestão de minerais antioxidantes nos idosos.  
6 Rev Bras Geriatr Gerontol; 14(1).). 2011. p. 49-58
- 7 53. MONTILLA; MARUCCI;; O ALDRIGHI. Avaliação do estado nutricional e  
8 ingestão de alimentos das mulheres nos climatéricos. Soutiens De Med Rev  
9 Assoc; 49(1). 2003. p. 5-9191
- 10 54. HOZAWA, et al. Relações de concentrações de carotenóides circulantes com  
11 vários marcadores de inflamação, stress oxidativo e disfunção endotelial: o estudo  
12 do risco coronário em jovens adultos (CARDIA)/Young Adult Longitudinal  
13 Trends in Antioxidants (YALTA). Clin Chem;53(3). 2007. p. 55-447447
- 14 55. ALBION NUTRIÇÃO HUMANA. Minerais antioxidantes na fortificação  
15 alimentar. Ingredientes alimentares, Brasil nº 33, 2015
- 16 56. CINTRA; O COZZOLINO. Biodisponibilidade de selênio numa dieta regional de  
17 São Paulo. Int J Food Sci Nutr; 44(3). 1993. p. 73-167
- 18 57. BOAVENTURA; O COZZOLINO. Biodisponibilidade de selênio na dieta urbana  
19 regional de Mato Grosso, Brasil. Int J Food Sci Nutr; 43(4). 1993. p. 9-223
- 20 58. ROVER Jr, et al. Sistema antioxidante que envolve o ciclo metabólico da glutatião  
21 associado aos métodos electroaníticos na avaliação do stress oxidativo. O Quím.  
22 Nova vol.24 no.1;; São Paulo.. 2001
- 23 59. CANOY e outros. Concentrações de ácido ascórbico de plasma e distribuição de  
24 gordura em 19.068 homens e mulheres britânicos no estudo da coorte De

- 1           Prospetiva Europeia sobre Cancro e Nutrição Norfolk. *Sou J Clin Nutr*; 82. 2005.  
2           p. 9-1203
- 3           60. HARDING, etc. Nível de vitamina C do plasma, consumo de frutas e vegetais, e  
4           o risco de diabetes mellitus tipo 2. A Investigação Prospetiva Europeia do Estudo  
5           Prospetivo Do Cancro-Norfolk. *Arch Intern Med*; 168(14). 2008. p. 9-1493
- 6           61. IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística.. Inquérito ao Orçamento  
7           Familiar 2008-2009: análise do consumo de alimentos pessoais no Brasil. Rio de  
8           janeiro: IBGE; 2011.
- 9           62. FREITAS; FILIPI;; O RIBEIRO. Listas alimentares relacionadas com o consumo  
10           alimentar de um grupo de idosos: análises e perspetivas. *Rev Bras Epidemiol*;  
11           14(1). 2011. p.77-161
- 12           63. AROUCA. Avaliação da qualidade da dieta em participantes de base do estudo  
13           longitudinal de saúde de adultos - ELSA – Brasil.. Rio de janeiro: Escola  
14           Nacional de Saúde Pública.. 2014
- 15           64. LEO; SANTOS. Ingestão de micronutrientes e excesso de peso: existe uma  
16           relação? *Rev Bras Epidemiol*; 15(1). 2012. p. 85-95
- 17           65. SÁNCHEZ, etc. Avaliação da ingestão de ferro e zinco e parâmetros bioquímicos  
18           relacionados numa população mediterrânica adulta do sul de Espanha: influência  
19           do fator estilo de vida. *J Nutr Biochem*; 20. 2009. p. 31-125
- 20           66. HALLIWELL; GUTTERIDGE. *Radicais Livres em Biologia e Medicina*,  
21           Claredon Press, Oxford, 1991, p 543.
- 22           67. RAUTIAINEN S. et al. Capacidade antioxidante total da dieta e risco de enfarte  
23           do miocárdio: Uma prospetiva coorte de mulheres *the American Journal of*  
24           *Medicine*, 125. 2012. p. 974-980

- 1 68. PSALTOPOULOU, etc. A capacidade antioxidante dietética está inversamente  
2 associada aos biomarcadores da diabetes: O estudo attica. *Nutrição, Metabolismo*  
3 *e Doenças Cardiovasculares* 21. 2011. p. 561-567
- 4 69. GIFKINS, etc. Ingestão total e individual de antioxidantes e risco de câncer do  
5 ovário epitelial. *BMC Câncer* 12(1):211. 2012
- 6 70. OKUBO, etc. A capacidade antioxidante total da dieta está relacionada com a  
7 tolerância à glicose em pessoas mais velhas: o Estudo Hertfordshire Cohort. *Nutr*  
8 *Metab Cardiovasc Dis.* março; 24(3). 2014b. p. 301-308
- 9 71. HERMSDORFF, etc. A capacidade antioxidante total da dieta está inversamente  
10 relacionada com a adiposidade central, bem como com marcadores de stress  
11 metabólico e oxidativo em jovens adultos saudáveis. *Nutrição e Metabolismo,*  
12 *v.8, n.59.* 2011. p.1-8
- 13 72. LOPEZ-LEGARREA, et al. Papel a curto prazo da capacidade dietética total  
14 antioxidante em dois regimes hipocalóricos sobre obesos com sintomas de  
15 síndrome metabólica: o ensaio controlado aleatório RESMENA. *Nutrição e*  
16 *Metabolismo,* 2013
- 17 73. PUCHAU, B. et al. A. Dietary Total Antioxidante Capacidade: Um novo indicador  
18 de qualidade da dieta em adultos jovens saudáveis. *Journal of the American*  
19 *College of Nutrition,* v.28, n.6. 2009. p.648-656
- 20 74. KADOOKA, etc. Efeito do *Lactobacillus gasseri* SBT2055 em leite fermentado  
21 sobre adiposidade abdominal em adultos num ensaio controlado aleatório. *British*  
22 *Journal of Nutrition,*v. 110, p. 1696-1703 , 2013
- 23 75. KADOOKA, et al. Regulação da adiposidade abdominal por probióticos  
24 (*Lactobacillus gasseri* SBT2055) em adultos com tendências obesas num ensaio  
25 controlado aleatório.. *Revista Europeia de Nutrição Clínica;* 64. 2010. p. 636-643

- 1 76. EJTAHED et al. O iogurte probiótico melhora o estatuto antioxidante em doentes  
2 diabéticos do tipo 2. *Nutrição*; 28(5). 2012. p. 43-539539
- 3 77. GOMES, etc. Os efeitos adicionais de uma mistura probiótica na adiposidade  
4 abdominal e no estatuto antioxidante: Um ensaio duplo-cego e aleatório. *A*  
5 *obesidade*. V 25, edição 1. 2017

## 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

De acordo com as informações já disponíveis na literatura científica, sugere-se uma relação entre obesidade, microbiota intestinal e perfil oxidativo. O presente estudo clínico randomizado, triplo cego, placebo-controlado respeitou as exigências desse desenho metodológico, colaborando para sua relevância científica; e observou que o uso de prebióticos ou simbióticos não impactou significativamente nas atividades da CAT e SOD. A ingestão de antioxidantes alimentares apresentou-se abaixo das recomendações para todas as vitaminas e minerais avaliados. A partir disso, cria-se a hipótese de que a ingestão insuficiente de antioxidantes, em todos os grupos, pode ter interferido na ausência de efeito dos prebióticos e simbióticos na atividade de enzimas. Houve redução significativa no peso e IMC do grupo placebo e do grupo suplementado com prebiótico. Considerando as características da presente pesquisa, é possível que os resultados não foram mais expressivos devido ao número limitado de indivíduos incluídos nos grupos de seguimento, bem como pelo tempo de intervenção realizado. Nesse sentido, o desenvolvimento de estudos que investiguem os mesmos desfechos primários aqui apresentados, com maior tamanho amostral, mais tempo de seguimento e também maior controle da ingestão de antioxidantes dietéticos podem colaborar para a compreensão das hipóteses testadas neste artigo.

## 6. REFERÊNCIAS (DISSERTAÇÃO)

ABESO - Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica - Custos da obesidade no Brasil e no mundo [online], 2012. Disponível em: <http://www.abeso.org.br/>. Acesso em: abril, 2019

ABESO - Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica - Atualização das diretrizes para o tratamento farmacológico da obesidade e do sobrepeso [online], 2016. Disponível em: <http://www.abeso.org.br/>. Acesso em: abril, 2019

ABBES, et al. Sedentarismo e variáveis clínico-metabólicas associadas à obesidade em adolescentes. *Rev. Nutr.*, Campinas, v. 24, n. 4, Aug 2011

ADLERBERTH; WOLD. Formação da microbiota intestinal em bebês ocidentais. *Acta Paediatrica*. v.98 n:2: 229–238, 2009

AGUILAR-VALLES, et al. Obesidade, adipocinas and neuroinflamação. *Neurofarmacol* v. 96, part A, p. 124-134, 2015

AMAR, et al. Adesão mucosa intestinal e translocação de bactérias comensais no início precoce do diabetes tipo 2: mecanismos moleculares e tratamento probiótico. *EMBO Mol Med.*; 3:559-572, 2011

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Anvisa mantém registro de Sibutramina e cancela anfetamínicos [online], 2011. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/>. Acesso em: junho, 2019

AREES; MAYER. Conexões anatômicas entre regiões medial e lateral do hipotálamo preocupadas com a ingestão de alimentos. *Science*. 1967(157/796):1574-5, 2010

BÄCKHED, et al. A microbiota intestinal como fator ambiental que regula o armazenamento de gordura. *Procedimentos da Academia Nacional de Ciências dos Estados Unidos da América*, v. 101, n. 44, p. 15718-15723, 2004

BARBIERI, et al. As causas da obesidade: uma análise sob a perspectiva materialista histórica. Rev. da Faculdade de Educação Física da UNICAMP, Campinas, v. 10, n. 1, jan./abr. 2012

BARBOSA, et al. Estresse oxidativo: conceitos, implicações e fatores modulatórios. Ver Nutr., Campinas, 23(4): 629-643, 2010

BATISTA; OLIVEIRA. A atuação dos probióticos na resposta imunológica. Nutrição em pauta, São Paulo, 2002

BENNO, et al. A microflora intestinal dos bebês: composição da flora fecal em bebês amamentados e alimentados com mamadeira. Microbiologia e Imunologia. v. 28, n.9: 975–986, 1984

BESERRA, et al. Revisão sistemática e meta-análise dos prebióticos e efeitos simbióticos sobre glicemia, concentrações de insulina e parâmetros lipídicos em pacientes adultos com sobrepeso ou obesidade. Clinical Nutrition, n 34, p.845-858, 2015

BENGMARK; URBINA. Simbióticos: uma nova estratégia no tratamento de pacientes críticos. Nutrición Hospitalaria.; 20(2): 147-156. 2005

BIELECKA, et al. Seleção de probióticos e prebióticos para simbióticos e confirmação de sua eficácia. Food Res. Int Amsterdam; 35(2):125-131, 2002

BISCHOFF, et al. Permeabilidade intestinal - um novo alvo para prevenção e terapia de doenças. BMC Gastroenterol; 14(1):189, 2014

BRASIL. Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Pesquisa de orçamentos familiares 2008-2009. Antropometria e Estado Nutricional de Crianças, adolescentes e adultos no Brasil. Rio de Janeiro: IBGE, 2010

BRASIL. Ministério da Saúde. Dia Nacional Alerta Para Risco da Obesidade. 2011. Disponível em: <http://portalsaude.saude.gov.br/portalsaude/noticia/2679/162/dia-nacional-alerta-para-risco-da-obesidade.html>. Acesso em: maio, 2019

BRASIL. Ministério da Saúde. Cadernos de Atenção Básica, n. 12. Obesidade. Brasília (DF); 2006

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

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

BRASIL. Resolução nº 466, de 12 de dezembro de 2012. Aprova diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos. Brasília: Diário Oficial da União, Brasília, DF, 2013b

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Vigitel Brasil 2014: Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico. Brasília - DF: Ministério da Saúde, 2015

BUZZARD, M. Recordatório alimentar de 24 horas e métodos de registro alimentar. In: Willet W, editor. Nutritional epidemiology. 2 ed. New York: Oxford University Press; p. 51-67, 1998.

CANI, et al. A fermentação de microbiota intestinal de prebióticos aumenta a produção de peptídeos cetietogênicos e incretinos com consequências para a sensação de apetite e resposta à glicose após uma refeição. Am J Clin Nutr;90(5):1236-43, 2009.

CANI; DELZENNE. O Papel da Microbiota Intestinal no Metabolismo Energético e Na Doença Metabólica. *Current Pharmaceutical Design*, v. 15 n.13. 2009

CAROCHO; FERREIRA. Revisão sobre antioxidantes, prooxidantes e controvérsias relacionadas: Compostos naturais e sintéticos, metodologias de triagem e análise e perspectivas futuras. *Food and Chemical Toxicology*, 51, 15. 2013

CARLSEN, et al. O teor antioxidante total de mais de 3100 alimentos, bebidas, especiarias, ervas e suplementos utilizados em todo o mundo. *Springer Nature, Nutrition Journal*, [s.l.], v. 9, n. 1, p.1-11, 22 jan. 2010

CAPRILES, et al. Prebióticos, probióticos e simbióticos: nova tendência no mercado de alimentos funcionais. *Nutrição Brasil, Rio de Janeiro*. 4(6):327-35, 2005

CHAVES; NAVARRO. Compulsão alimentar, obesidade e emagrecimento. *Revista Brasileira de Obesidade, Nutrição e Emagrecimento*. 2011

COLLADO, et al. Desenvolvimento de novos probióticos por combinação de cepas: É possível melhorar a adesão ao muco intestinal? *Journal of Dairy Science*, v. 90, n. 6, p. 2710-2716, 2007

CORRÊA, et al. Habilidade da razão cintura-estatura na identificação de risco à saúde. *Rev Saude Publica*; 53:66. 2019

CUUMMINGS; MACFARLANE. Efeitos gastrointestinais de prebióticos. *British Journal of Nutrition*. Wallingford, v.87, suppl.2, p. S145-S151, 2002

DAVID, et al. A dieta rapidamente e reprodutiva altera o microbioma intestinal humano. *Nature*, v. 505, n. 7484, p. 559-563, 2014

DELZENNE, et. al. Mirar microbiota intestinal na obesidade: efeitos de prebióticos e probióticos. *Nature Reviews Endocrinology*, v. 7, n. 11, p. 639-646, 2011

DENIPOTE; TRINDADE; BURINI. Probióticos e prebióticos na atenção primária ao câncer de cólon. *Arquivos de Gastroenterologia*. 47, n. 1, p.93-97. São Paulo, 2010

DEWULF, et al. Frutos do tipo inulina com propriedades prebióticas neutralizam a superexpressão *gpr43* e  $\gamma$  adipogênese relacionada à doença no tecido adiposo branco de camundongos alimentados com dieta rica em gordura. *J Nutr Biochem*;22(8):712-22, 2011

DE FILIPPO, et al. Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. v.107, n.33:14691-14696, 2010

DE MORAES, et al. Microbiota intestinal e risco cardiometabólico: mecanismos e modulação dietética. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia*, 2014

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

EJTAHED et al. O iogurte probiótico melhora o estado antioxidante em pacientes diabéticos tipo 2. *Nutrition*; 28(5): 539 e 43. 2012

FANARO, S. et al. Microflora intestinal na primeira infância: composição e desenvolvimento. *Acta paediatrica*, v. 92, n. s441, p. 48-55, 2003

FERNANDES, R. Efeito da suplementação de prebiótico ou simbiótico sobre marcadores inflamatórios após a derivação gástrica em *y de roux*. Florianópolis, 201

FISBERG; VILLAR. Manual de receitas e medidas caseiras para cálculo de inquéritos alimentares. São Paulo: Signus, 2002

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

FERNADES, R et al. Efeitos de frutos do tipo inulina, galacto-oligosacarídeos e simbióticos relacionados em marcadores inflamatórios em paciente adulto com sobrepeso ou obesidade: Uma revisão sistemática. *Clinical Nutrition*, v. 36, n.5, p. 1197-1206, 2017

FERNANDES, R. Efeito da suplementação de prebiótico ou simbiótico em marcadores inflamatórios e indicadores do estado nutricional em indivíduos com obesidade mórbida: um ensaio clínico randomizado, placebo-controlado e triplo cego. Florianópolis, 2018

FERREIRA; CAROCHO. Revisão sobre antioxidantes, prooxidantes e controvérsias relacionadas: Compostos naturais e sintéticos, metodologias de triagem e análise e perspectivas futuras. *Food and Chemical Toxicology* 51: 15–25, 2013

FERREIRA; MATSUBARA. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. *Assistência Médica Brasil*. 43(1):61-68. 1997

FIGUEIREDO, et al. Obesidade e sua relação com fatores de risco para doenças cardiovasculares em uma população nipo-brasileira. *Arq Bras Endocrinol Metab*, São Paulo, v. 52, n. 9, dez. 2008

FRANÇA, B.K. et al. Peroxidação lipídica e obesidade: métodos para aferição do estresse oxidativo em obesos. *GE, J Por t Gastreterol*. 2013

FROTA, et al. Efeito de prebióticos e probióticos na microbiota intestinal e nas alterações metabólicas de indivíduos obesos. *Nutrire*. Aug;40(2):173-187, 2015

FURUHASHI, M. et al. Tratamento de diabetes e aterosclerose inibindo proteína de ligação de ácidos graxos aP2. Massachusetts: *Nature International Journal of Science*.v. 486, n. 21, p: 959–965, jun. 2007

GIBSON; ROBERFROID. Modulação dietética da microbiota colônica humana: introdução do conceito de prebióticos. *The Journal of Nutrition*, v. 125, n. 6, p. 1401-1412, 1995

GIBSON, et al. Documento de consenso de especialistas: A declaração de consenso da Associação Científica Internacional de Probióticos e Prebióticos (ISAPP) sobre a definição e o escopo dos prebióticos. *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology*, v. 14, n. 8, p. 491-502, 2017

GIFKINS, et al. Ingestão antioxidante total e individual e risco de câncer ovariano epitelial. *BMC Cancer* 12(1):211. 2012

GOMES, et al. Os efeitos adicionais de uma mistura probiótica na adiposidade abdominal e status antioxidante: um ensaio duplo-cego e randomizado. *Obesity*. V 25, Issue 1. 2017

GREGOR; HOTAMISLIGIL. Mecanismos inflamatórios na obesidade. *Annu Rev Immunol*: 29:415–445, 2011

GRIEF; MIRANDA. Manutenção de Perda de Peso. *Am Fam Physician*. 82(6): 630-634, 2010

GRÖLUND, et al. Microflora fecal em bebês saudáveis nascidos por diferentes métodos de parto: alterações permanentes na flora intestinal após o parto cesáreo. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*, v. 28, n. 1, p. 19-25, 1999

HALLIWELL, B. Atividade antioxidante e outros efeitos biológicos de flavonoides. In: Rice-Evans C, ed. *Wake up to flavonoids*. London: Royal Society of Medicine Press:13–23, 2000

HALLIWELL, B. Espécies reativas e antioxidantes. A biologia redox é fundamental tema da vida aeróbica, *Plant Physiol*. 141 312–322, 2006

HALLIWELL; WHITEMANN. Medição de espécies reativas e danos oxidativos in vivo e na cultura celular: Como você deve fazê-lo e o que os resultados significam? *Br J Pharmacol* – 142:231 - 55. 2004

HEBBEL, RP. Antioxidantes eritrócitos e vulnerabilidade de membrana. *J Lab Clin Med*; 107: 401-4, 1986.

HERMSDORFF, et al. A capacidade antioxidante total dietética está inversamente relacionada à adiposidade central, bem como aos marcadores de estresse metabólico e oxidativo em adultos jovens saudáveis. *Nutrition & Metabolism*, v.8, n.59, p.1-8. 2011

HERMSDORFF; MONTEIRO. Gordura visceral, subcutânea ou intra-muscular: onde está o problema? *Arq Bras Endocrinol Metab*, v48, n. 6. 2004

HIGGINS; GREEN. Manual cochrane para revisões sistemáticas de intervenções versão 5.1.0. The Cochrane Collaboration, 2011. Disponível em: [www.cochrane-handbook.org](http://www.cochrane-handbook.org). Acesso em: fevereiro 2016

HILDEBRANDT, et al. A dieta rica em gordura determina a composição do microbioma intestinal murina independentemente da obesidade. *Gastroenterology*. v.137, n.5: 1716–1724, 2009

HOOPER, L. V. Do symbiotic bacteria subvert host immunity? *Nature Reviews Microbiology*, v. 7, n. 5, p. 367-374, 2009

HOPKINS, et al. Caracterização de bactérias intestinais em fezes infantis usando análises de PCR em tempo real e hibridização do norte. *FEMS Microbiology Ecology*. v. 54, n. 1: 77 – 85, 2005.

HUKSHORN; PLATENGA. A leptina recombinante humana pegylated (PEG OB) causa perda adicional de peso em homens severamente restritos à energia, com excesso de peso. *Am J Clin Nutr*;(77):771-6. 2013.

JOHANSSON; BORG. Um método espectrofotométrico para determinação da atividade catalase em pequenas amostras de tecido. *Anal. Biochem*. v174, p331-336, 1988.

JUMPERTZ, et al. Estudos de equilíbrio energético revelam associações entre micróbios intestinais, carga calórica e absorção de nutrientes em humanos. *The American Journal of Clinical Nutrition*. v.94, n.1: 58–65, 2011.

KADOOKA, et al. Regulação da adiposidade abdominal por probióticos (*Lactobacillus gasseri* SBT2055) em adultos com tendências obesas em um ensaio controlado randomizado. *European Journal of Clinical Nutrition*, v. 64, p. 636-643, jun. 2010

KADOOKA, et al. Efeito de *Lactobacillus gasseri* SBT2055 em leite fermentado na adiposidade abdominal em adultos em um ensaio controlado randomizado. *British Journal of Nutrition*, v. 110, p. 1696–1703, 2013

KAMADA, et al. Subconjuntos anormalmente diferenciados do macrófago intestinal desempenham um papel fundamental na colite crônica dominante th1 através da produção excessiva de IL-12 e IL-23 em resposta a bactérias. *J. Immunol.* v. 175, n.10: 6900–6908, 2005

KANG, et al. Efeito antiobesidade de *Lactobacillus gasseri* BNR17 em camundongos obesos induzidos pela dieta de alta sacarose. *PLOS ONE*, v. 8, n. 1, p. E54617, jan. 2013

KOLOTKIN, et al. Desenvolvimento de uma breve medida para avaliar a qualidade de vida na obesidade. *Obesity Research*, v. 9, n. 2, p. 102-111, 2001

KRUSE, et al. Saúde e obesidade: discursos de enfermeiras. *Rev. Aquichan, Chia, Colombia*, v. 12, n. 2, 2012. Disponível em: [www.scielo.org.co/pdf/aqui/v12n2/v12n2a03](http://www.scielo.org.co/pdf/aqui/v12n2/v12n2a03). Acesso em: maio, 2019

LANDEIRO; QUARANTINI. Obesidade: controle neural e hormonal do comportamento alimentar. *Rev Ciênc Méd Biol.* 2011

LARSEN, et al. Microbiota intestinal em adultos humanos com diabetes tipo 2 difere de adultos não diabéticos. *PLoS ONE* 5(2), e 9085. 2010

LATVALA, S. et al. *Lactobacillus rhamnosus* GG e *Streptococcus thermophilus* induzem supressor de citocinas sinalizando 3 (SOCS3) expressão genética direta e indiretamente via interleucina-10 em macrófagos primários humanos. *Clinical & Experimental Immunology, UK*, v.165, n. 1, p. 94–103, 2011

LAU, et al. O papel do I-FABP como biomarcador da disfunção da barreira intestinal impulsionada por alterações de microbiota intestinal na obesidade. *Londres: Nutrition & Metabolism*, v. 30, n. 13, p: 31. 2016.

LECHIEITNER, et al. Nível de plasma fator de necrose tumorais-alfa em pacientes com diabetes mellitus tipo 1 e sua associação com controle glicêmico e fatores de risco cardiovascular. *J Intern Med*; 248:67-76. 2000.

LEE, S.J. et al. Os efeitos da coadministração de probióticos com fitoterápicos sobre obesidade, endotoxemia metabólica e disbiose: Um ensaio clínico randomizado duplo-cego controlado. *Clinical Nutrition*, v. XXX, p. 1-9, 2014.

LEWIS; HEATON. Escala de forma de fezes como um guia útil para o tempo de trânsito intestinal. *Revista Escandinava de Gastroenterologia*, v. 32, n. 9, p. 920–924, 1997.

LEY, R.E. et al. Ecologia microbiana: micróbios intestinais humanos associados à obesidade. *Nature*.[s.l.], v. 444, n. 7122, p. 1022-1023. 2006.

LEY, R.E. et al. A obesidade altera a ecologia microbiana intestinal. *Procedimentos da Academia Nacional de Ciências dos Estados Unidos da América*. v. 102, n.31: 11070–11075, 2005.

LI, Y. et al. O estado antioxidante sérico e dietético está associado à menor prevalência da síndrome metabólica em um estudo em Xangai, China. *Asia Pac J Clin Nutr.*, v. 22, n. 1, p. 60-68, 2013.

LIMA, R.C.A. et al. Principais alterações fisiológicas decorrentes da obesidade: um estudo teórico. *Sanare, Sobral – v.17 n.02, p.56-65, Jul/Dez. 2018.*

LOPEZ-LEGARREA, P. et al. Papel de curto prazo da capacidade antioxidante total dietética em dois regimes hipocalóricos sobre obesos com sintomas de síndrome metabólica: o ensaio controlado randomizado RESMENA. *Nutrition & Metabolism*, 2013.

LOPETUSO, L.R. et al. Microbiota Intestinal em Saúde, Doença Diverticular, Síndrome do Intestino Irritável e Doenças Inflamatórias Intestinais: Tempo para Marcador Microbiano de Distúrbios Gastrointestinais. *Digestive diseases*. Vol.36, n. 1. 2018

LUOTO, R. et al. Remodelar a microbiota intestinal desde cedo: impacto funcional no risco de obesidade? *Ann Nutr Metab.*;63(Suppl 2):17-26, 2013

MACHADO; MONTEIRO; PINTO. Leptina e exercício físico: Mecanismos para o controle do peso corporal. *Revista Brasileira de prescrição e fisiologia do exercício*. v.9, n.54 p.471-480, 2015

MACHIELS, K. et al. Uma diminuição das espécies produtoras de butiratos *Roseburia hominis* e *Faecalibacterium prausnitzii* define disbiose em pacientes com colite ulcerativa. *Gut*. v. 63, n.8: 1275–1283, 2014

MADIGAN, M.T. et al. *Microbiologia De Brock*. 12ª edição, editora Artmed. Porto Alegre, 2010

MAGDER, S. Espécies reativas de oxigênio: moléculas tóxicas ou faísca de vida? *Critical Care*, 10, 208. 2006

MARTELLI, F; NUNES, F.M.F. Radicais livres: em busca do equilíbrio. *Cienc. Cult.* vol.66 no.3 São Paulo Sept. 2014

MASHIMA, R. et al. A distribuição regioisomérica de hidroperóxidos de linoleato de clitónitos de cholesteryl and hydroxides de plasma de humanos saudáveis fornece evidências para peroxidação lipídica mediada por radicais livres in vivo. *J Lip Res*: 41: 109 – 115, 2000

MATSUZAWA-NAGATA, N. et al. O aumento do estresse oxidativo precede o aparecimento da resistência à insulina induzida pela dieta de alta gordura e a obesidade. *Metabolism*. Aug;57(8):1071-7, 2008

MCCLOUGHLIN; MILLS. Influência de bactérias gastrointestinais commensais nas respostas imunológicas que mediam alergia e asma. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, [s.l.], v. 127, n. 5, p. 1097-1107, 2011

MILLION, et al. A microbiota intestinal associada à obesidade é enriquecida em *Lactobacillus reuteri* e esgotada em *Bifidobacterium animalis* e *Methanobrevibacter smithii*. *International Journal Of Obesity*, v. 36, n. 6, p.817-825. França, 2012

MILLION, M. et al. Microbiota bacteriana intestinal e obesidade. *Clinical Microbiology and Infection*, v. 19, n. 4, p. 305-313, 2013b

MILLS, G. C. *J. Biol Chem.* 229:189-197, 1957

MILLS, G. C. *Arch. Biochem. Biophys.* 86: 1-5, 1960

MONTAGUE; O'RAHILLY. Os perigos da portabilidade: causas e consequências da adiposidade visceral. *Diabetes*: 49:883-888, 2000

MURRI, M. et al. Microbiota intestinal em crianças com diabetes tipo 1 difere da de crianças saudáveis: Um estudo de caso-controle. *BMC Med.* v. 11, n.46, 2013

NEPA-UNICAMP. Tabela brasileira de composição de alimentos. Núcleo de estudos e pesquisas em alimentação; Universidade Estadual De Campinas. 4. ed. Campinas: NEPA/Unicamp, 2011. 161

NEVES, CF. Avaliação de biomarcadores de estresse oxidativo e estado inflamatório em pacientes no pré e pós-operatório de cirurgia da obesidade (dissertação). Brasília: Universidade de Brasília; 2010

NICHOLSON, J.K. et al. Interações metabólicas de microbiota hospedeira. *Science*, v. 336, n. 6086, p. 1262-1267, 2012

NISSEN, L. et al. Intervenções para tratamento da obesidade: revisão sistemática. Rev. bras. med. fam. Comunidade, Florianópolis, v. 7, n. 24, jul/set, 2012. Disponível em: <http://www.rbmf.org.br/rbmfc/article/view/472>. Acesso em: abril, 2019

OKUBO H, et al. A capacidade antioxidante total da dieta está relacionada à tolerância à glicose em pessoas mais velhas: The Hertfordshire Coort Study. Nutr Metab Cardiovasc Dis. March ; 24(3): 301–308. 2014b

OLUSI, S.O. A obesidade é um fator de risco independente para peroxidação lipídica plasmática e esgotamento de enzimas eritrócitos em humanos. Int J Obes Relat Metab Disord; 26:1159-64. 2002

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE (OMS). World Health Statistics. p.35-36, 2012

OSBORN; OLEFSKY. As redes celulares e de sinalização ligando o sistema imunológico e o metabolismo em doenças. Nature Medicine, v. 18, n. 3, p. 363–374, 2012

PALAU-RODRIGUEZ, M. et al. Insights metabolômicos sobre a intrincada interação microbiana-hospedeira intestinal no desenvolvimento da obesidade e diabetes tipo 2. Front microbiol, v. 6, p. 1151, 2015

PAPPAS; KARAOULI. Estratégias de política de saúde para o tratamento da obesidade: uma revisão sistemática. Int J Caring Sci; 3(3): 98-105, 2010

PARK.; OH; CHA. Lactobacillus plantarum LG42 isolado de gajami sik-hae diminui os pesos do corpo e da almofada de gordura em camundongos obesos induzidos pela dieta. Journal of Applied Microbiology, v. 116, p. 145--156, 2013

PARNELL; REIMER. A perda de peso durante a suplementação de oligofructose está associada à diminuição da grelina e ao aumento do peptídeo YY em adultos com sobrepeso e obesos. Am J Clin Nutr. 89(6):1751-9, 2009

PARVEZ, S. et al. Os probióticos e seus produtos alimentícios fermentados são benéficos para a saúde. *Journal of Applied Microbiology*. Oxford, v. 100, n. 6, p. 1171-1185, 2006

PENNA; NICOLI. Influência do colostro na colonização bacteriana normal do trato digestivo do recém-nascido. *Jornal da Pediatria (Rio J)*, v. 77, n. 4, 2001

PENDERS, J. et al. Fatores que influenciam a composição da microbiota intestinal na primeira infância. *Pediatrics*. v.118, n.2: 511–521, 2006

PEREIRA, C.M.; SILVA, A.L. Obesidade e Estilos de Vida Saudáveis: Questões Relevantes para a Intervenção. *Psic., Saúde & Doenças*, Lisboa, v. 12, n. 2, 2011. Disponível em: [http://www.scielo.gpeari.mctes.pt/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1645-00862011000200001&lng=pt&nrm=iso](http://www.scielo.gpeari.mctes.pt/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1645-00862011000200001&lng=pt&nrm=iso). Acesso em: abril, 2019

PERPÉTUO, J.P. et al. O papel da microbiota intestinal no metabolismo energético: novas perspectivas no combate à obesidade. *Clin Biomed Res*;35(4):196-9, 2015

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

POUTAHIDIS, T. et al. Reprogramação microbiana inibe a obesidade associada à dieta ocidental. *PLOS ONE*, v. 8, n. 7, p. E68596, jan. 2013

PSALTOPOULOU, T. et al. A capacidade antioxidante dietética está inversamente associada aos biomarcadores de diabetes: o estudo attica. *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases* 21, 561e567, 2011

PUCHAU, B. et al. A Capacidade Antioxidante Total Dietética: Um novo indicador de qualidade da dieta em adultos jovens saudáveis. *Journal of the American College of Nutrition*, v.28, n.6, p.648–656. 2009

QUIN, Junjie et al. Um catálogo de genes microbianos intestinais humanos estabelecido por sequenciamento metagenômico. *Nature*, v. 464, n. 7285, p. 59–65. 2010

RAUTIAINEN S. et al. Capacidade antioxidante total da dieta e risco de infarto do miocárdio: uma coorte prospectiva de mulheres. *The American Journal of Medicine*, 125:974-980. 2012

RAIZEL, R. et al. Efeitos do consumo de probióticos, prebióticos e simbióticos para o organismo humano. *Revista Ciência & Saúde*, v. 4, n. 2, p. 66-74. Porto Alegre, 2011

RAMIREZ, A.V.G. A importância da microbiota no organismo humano e sua relação com a obesidade. *International Journal Of Nutrology*, v. 10, n. 4, p.153-160. São José do Rio Preto, 2017

RICKHAM, P. P. Experimentação Humana. Código de Ética da Associação Médica Mundial. Declaração de Helsinki. *British Medical Journal*, v. 2, n. 5402, p. 177, 1964

ROBERTS; SINDHU. Estresse oxidativo e síndrome metabólica. *Life Sci*. May 22;84(21-22):705-12. Epub, 2009

ROCHA; COSTA. Aspectos psicológicos na obesidade mórbida: Avaliação dos níveis de ansiedade, depressão e do auto-conceito em obesos que vão ser submetidos à cirurgia bariátrica. *Aná. Psicológica*, Lisboa, v. 30, n. 4, out. 2012. Disponível em: [http://www.scielo.gpeari.mctes.pt/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0870-82312012000300007&lng=pt&nrm=iso](http://www.scielo.gpeari.mctes.pt/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0870-82312012000300007&lng=pt&nrm=iso). Acesso em: abril, 2019

ROCHA, L.P. Benefícios dos probióticos à saúde humana. Monografia (Especialização) - Curso de Nutrição, Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul, Ijuí, 2011

RODRIGUES, T.P. Possível relação entre microbiota intestinal e depressão em humanos: uma revisão de literatura. 2015. 23 f. TCC (Graduação em Nutrição), Universidade Católica de Brasília, Brasília, 2015

ROSA, G. et al. Tecido adiposo, hormônios metabólicos e exercício físico. Revista Andaluza de Medicina del Deporte. v.6, n.2, p. 78-84, 2013

ROSENBAUM, M. et al. A microbiota intestinal na homeostase de energia humana e obesidade. Trends Endocrinol Metab. v.26, n.9: 493-501, 2015

ROSHAN, H. et al. Efeitos de probióticos e suplementação simbiótica sobre o estado antioxidante: uma meta-análise de ensaios clínicos randomizados. Clinical Nutricion. ESPEN, 2019

ROSS; MOLDEUS. Sistemas de defesa antioxidantes e estresse oxidativo. In Vigo-Pelfrey C (ed): Membrane lipid oxidation. 1thed. Boca Raton, CRC Press;151-70, 1991

SAAD, S.M.I. Probióticos e prebióticos: o estado da arte. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas.v.42:1-16, 2006

SALMINEN; ISOLAURI. Colonização intestinal, microbiota e probióticos. The Journal of Pediatrics. v. 149, n. 5: S115–S120, 2006

SANTOS, E.F. et al. Alimentos funcionais. Revista de pesquisa biológicas da UNIFEV, São Paulo; 1:13-19, 2006

SANTOS; RICCI. Microbiota intestinal e a obesidade. Maringá, Master editora: Vol.26,n.1,pp.74-82, 2016

SANZ; SANTACRUZ; DALMAU. Influencia de la microbiota intestinal em la obesidade y las alteraciones del metabolismo. Acta Pediatr Esp. 67(9): 437-442, 2009

SARNO; CANEL; BANDONI. Mobile health e excesso de peso: uma revisão sistemática. Rev Panam Salud Pública. 2014

SCHULZ; ALTMAN; MOHER. Declaração do CONSORT 2010: diretrizes atualizadas para relatar ensaios randomizados de grupo paralelo. *Annals of Internal Medicine*, v. 152, n. 11, p. 726-732, 2010

SEKSIK, P. et al. Alterações dos grupos bacterianos fecais dominantes em pacientes com a doença de Crohn do cólon. *Gut*. v. 52, n.2: 237–242, 2003

SIES, H. Sobre a História do Estresse Oxidativo: Conceito e Alguns Aspectos do Desenvolvimento Atual, Opinião Atual em Toxicologia. Doi: 10.1016/j.cotox.2018.01.002. 2018

SIES, H. Estresse Oxidativo. Academic Press, London, pp. 1-507. 1985

SILVA; BARBIERI; SILVA. Estudo dos principais fatores de risco relacionados à obesidade infantil, segundo a opinião de seus responsáveis. *Rev. Científica do ITPAC*, Araguaína, v.7, n. 2, abr, 2014. Disponível em: <http://www.itpac.br/arquivos/Revistas/72/2.pdf>. Acesso em: abril, 2019

SILVA Jr. et al. Obesidade e microbiota intestinal - o que sabemos até agora? *MedicalExpress* (São Paulo, online): 4(4):M170401, 2017

SILVEIRA, A.K. Alterações na Microbiota Intestinal de ratos Wistar Obesos e Não-Obesos através da administração do extrato comercial de Guaraná (*Paullinia cupana*). Porto Alegre, 2018

SIPPELA, C. et al. Processos inflamatórios da obesidade. *Revista de Atenção à Saúde*. v.12, n.42, p.48-56, 2014

SOUZA, C.L.; OLIVEIRA, M.R.M. Fatores associados ao metabolismo energético na obesidade. *Nutrire*. 2010

STEFE, C.A. et al. Probióticos, prebióticos e simbióticos. *Saúde e amenine-te em revista*, Duque de Caxias; 3(1):13-33, 2008

TADDEI, C. et al. Microbiota fecal humana. SBM in Foco, Revista da Sociedade Brasileira de Microbiologia. Ano 4, nº 14, pag. 18. São Paulo: SBM, 2011

TANNOCK, G. W. et al. Perfil plasmídeo de membros da família Enterobacteriaceae, lactobacilos e bifidobactérias para estudar a transmissão de bactérias de mãe para bebê. Journal of Clinical Microbiology, v. 28, n. 6, p. 1225-1228, 1990

TANNOCK, G. W. Avaliação molecular da microflora intestinal. The American journal of clinical nutrition, v. 73, n. 2, p. 410s-414s, 2001

TEIXEIRA, T.F. et al. Mecanismos potenciais para a ligação emergente entre obesidade e aumento da permeabilidade intestinal. Nutr Res; 32(9):637-47, 2012

THAMER, K.G.; PENNA, A.L.B. Caracterização de bebidas lácteas funcionais fermentadas por probióticos e acrescidas de prebiótico. Ciência e Tecnologia de Alimentos, v. 26, n. 3, p. 589-595, 2006

THOMPSON, F. E.; BYERS, T. Manual de recursos de avaliação dietética. Journal of Nutrition, v. 124, n. 11, p. 2245S-2317S, 1994

THUNY, N. et al. Microbiota intestinal em adultos humanos com diabetes tipo 2 difere de adultos não diabéticos. PLoS ONE. v. 5, n.2: e90852, 2010.

TSUKUMO, D.M. et al. Pesquisa translacional sobre microbiota intestinal: novos horizontes no tratamento da obesidade. Arq Bras Endocrinol Metabol.;53(2):139-44, 2009.

TURNBAUGH, P.J. et al. O Efeito da Dieta no Microbioma Intestinal Humano: Uma Análise Metagenômica em Camundongos Gnotobióticos Humanizados. Science translational medicine. v.1, n.6: 6-14, 2009b.

TURRENS, JF. Produção de superóxido pela cadeia respiratória mitocondrial. Biosci Rep. 17:3-8. 1997.

USDA. UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. Banco de dados de nutrientes para referência padrão. 2001. Disponível em: <http://ndb.nal.usda.gov/>. Acesso em: fev 2016

VASCONCELOS, S.M.L. et al. Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano Oxidativo em sangue humano: principais métodos analíticos para sua determinação. *Quim. Nova*, Vol. 30, No. 5, 1323-1338, 2007

VISIOLI, F.; KEANEY JR., J. F.; HALLIWELL, B. *Cardiovasc. Res* 47, 409. 2000.

WANG, Y. et al. Capacidade antioxidante total dietética está associada ao status de dieta e plasma antioxidante em adultos jovens saudáveis. *J Acad Nutr Diet.*, v. 112, p. 1626-1635, 2012

WANG, Y.; CHUN, O. K.; SONG, W. O. Plasma and Dietary Antioxidant Status as Cardiovascular Disease Risk Factors: A Review of Human Studies. *Nutrients*, v. 5, p. 2969-3004, 2013

WEIR, T.L. et al. Diferenças de microbioma e metabolome entre pacientes com câncer colorretal e adultos saudáveis. *PLoS ONE* v. 8, n.8: e70803, 2013

WENDEL, A. *Meth. Enzymol.* 77:325-333, 1981

WESCHENFELDER, et al. Hipertensão arterial: principais fatores de risco modificáveis na estratégia saúde da família. *Enferm. Glob. Murcia*, v.11, n. 26, abr, 2012. Disponível em: [http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1695-61412012000200022&lng=es&nrm=iso](http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1695-61412012000200022&lng=es&nrm=iso). Acesso em: maio, 2019

WILLETT; HOWE; KUSHI. Ajuste para o consumo total de energia em estudos epidemiológicos. *The American Journal of Clinical Nutrition*, v. 65, n. 4, p. 1220S-1228S, 1997

WHEELER, C.R. et al. Ensaios automatizados para dismutase de superóxido, catalase, glutationa peroxidase e atividade de redutiase de glutationa. Anal. Biochem. V184, p193-199, 1990

WORLD GASTROENTEROLOGY ORGANIZATION – WGO. Diretriz Mundial da Organização Mundial de Gastroenterologia: Probióticos e prebióticos. Fevereiro de 2017

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Requisitos de energia e proteína. WHO Technical Report Series, 724. Geneva: WHO, 1985

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Comissão especializada em estado físico: o uso e interpretação da antropometria. Estado físico: uso e interpretação da antropometria. Report of a WHO expert committee. WHO technical report series, 854. Geneva: WHO, 1995

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Sobrepeso e obesidade, prevalência de sobrepeso entre adultos. 2016. Disponível em: <[http://www.who.int/gho/ncd/risk\\_factors/overweight/en/](http://www.who.int/gho/ncd/risk_factors/overweight/en/)>. Acesso em: 2018

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Obesidade: prevenção e manejo da epidemia global. Relatório de uma Consulta da Organização Mundial da Saúde, 1998. WHO Technical Report Series, n. 284. Geneva: WHO, 2000

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Obesidade e sobrepeso [online], 2018. Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/>. Acesso: maio, 2019

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Circunferência da Cintura e Relação Cintura-Quadril: Relatório de uma Consulta Especializada da OMS. Geneva: WHO, 2008

WOTING, A. e BLAUT, M. A microbiota intestinal na doença metabólica. Nutrients 8(4):202. 2016.

YOUSSEF, D.M. et al. A influência da leptina no equilíbrio th1/th2 em crianças obesas com asma. *J Bras Pneumol*. 2013

ZAMBON, R. Efeitos de suplementação de probióticos na prevenção da obesidade e suas complicações em camundongos swiss [tese]. Campinas: Universidade Estadual de Campinas. 2013

ZHANG, Y.J. et al. Impactos das bactérias intestinais na saúde humana e doenças. *International Journal of Molecular Sciences*. v. 16, n.4: 7493–7519, 2015

ZHANG, Y.J. et al. Estado antioxidante e microbiota intestinal mudam em um modelo de camundongo envelhecido como influenciado pela exopolysaccharide produzida por *Lactobacillus plantarum* YW11 isolado do kefir tibetano. *J Dairy Sci*, v. 100, n. 8, p. 6025-6041, Aug 2017. ISSN 0022-0302. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2016-12480>. Acesso em: julho, 2019

## 7. APÊNDICES

### Apêndice A – Orientações aos pacientes durante o período da suplementação

#### **Durante o período da pesquisa (60 dias), evitar:**

- Praticar atividade física intensa, ou seja, correr rapidamente, caminhada veloz em colina/montanha (por exemplo, em trilhas), pedalada rápida, ginástica aeróbica, natação rápida, carregar cargas pesadas (> 20 kg).
- Consumir bebida alcoólica.
- Consumir alimentos enriquecidos com prebióticos, probióticos ou simbióticos, tais como:
  - Kefir
  - Kimchi
  - Missoshiro
  - Chucrute
  - Coalhada
  - Molho shoyu (ou molho de soja)
  - Alguns tipos de iogurtes (Activia<sup>®</sup>, Actimel<sup>®</sup>, Pense Bio Fibras<sup>®</sup>, Sofyl<sup>®</sup>, Piá Essence<sup>®</sup>, Biociclos<sup>®</sup>, entre outros)
  - Leite fermentado (Yakult<sup>®</sup>, Chamyto<sup>®</sup>, Danito<sup>®</sup>, Batavito<sup>®</sup>, entre outros).

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

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

## Apêndice B – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

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

### INFORMAÇÕES SOBRE A PESQUISA

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

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

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

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

**5. Descrição do estudo:** A pesquisa acontecerá no Hospital Universitário Polydoro Ernani de São Thiago, localizado no Campus Universitário, município de Florianópolis, estado de Santa Catarina. Serão convidados a participar do estudo pessoas com diagnóstico de obesidade mórbida. Neste estudo, pretende-se avaliar se a suplementação de prebiótico ou simbiótico apresenta benefícios à saúde humana. *Prebióticos* são produtos alimentares não digeridos pelo corpo e que estimulam o crescimento de bactérias benéficas no intestino. *Probióticos* são micróbios vivos (ou bactérias vivas) que, quando ingeridos em quantidades adequadas, produzem benefícios à saúde humana. Essas bactérias são consideradas seguras para o consumo, desde que consumidas na dose correta. Já os simbióticos são produtos que contêm tanto prebióticos quanto probióticos.

Entre os benefícios que estes suplementos podem trazer, destaca-se a melhora da saúde do intestino e a melhora da defesa do organismo, além de auxiliar na perda de peso. Apesar disso, é importante destacar que todos estes benefícios foram observados em indivíduos sem obesidade ou com outras doenças. Em seres humanos com obesidade, ainda existe dúvida se estes suplementos podem trazer todos estes benefícios. Assim, o resultado da pesquisa pode trazer informações importantes para indivíduos que tem esta condição de saúde (obesidade).

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

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

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

É importante deixar claro que o(a) Senhor(a) não poderá escolher qual suplemento quer receber. Durante o período da pesquisa, nem o(a) Senhor(a), nem os pesquisadores terão conhecimento de qual suplemento o(a) Senhor(a) recebeu, apenas ao término do estudo será revelado qual suplemento foi fornecido. Em todos os quatro momentos do estudo será necessário que o(a) Senhor(a) forneça 20 mL de sangue (totalizando 80 mL na soma dos quatro momentos) que serão coletados pela equipe do laboratório de análises clínicas do HU. Essas amostras de sangue serão usadas para dosagem de substâncias e células que servirão de indicadores para os possíveis efeitos do prebiótico e simbiótico. Além disso, haverá contatos telefônicos uma vez por semana, a fim de acompanhar o andamento do estudo.

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

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

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

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

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

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

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

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

#### CONSENTIMENTO DO SUJEITO DA PESQUISA

Eu ....., portador do RG: ..... Fone para contato:..... concordo de maneira livre e esclarecida em participar da pesquisa: **Efeito da suplementação de prebiótico e simbiótico sobre a resposta inflamatória e indicadores do estado nutricional em indivíduos com obesidade mórbida: um ensaio clínico, randomizado, placebo-controlado e triplo cego.** Além de ter lido e entendido todas as informações fornecidas sobre minha participação na pesquisa, tive oportunidade de discuti-las e fazer perguntas. Todas as minhas dúvidas foram esclarecidas satisfatoriamente. Foi-me garantido que posso retirar meu consentimento a qualquer momento, sem que isto leve a qualquer penalidade ou interrupção de meu acompanhamento, assistência e/ou tratamento.

Florianópolis, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 201\_\_.

---

Nome e assinatura do paciente

---

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

---

Ricardo Fernandes

### Apêndice C – Caracterização dos indivíduos

Nº prontuário HU/UFSC: \_\_\_\_\_ Nº da randomização:

\_\_\_\_\_

Nome:

\_\_\_\_\_

E-mail:

\_\_\_\_\_

Telefones:

\_\_\_\_\_

Procedência/Endereço:

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Sexo: ( ) Masculino ( ) Feminino

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

Se \_\_\_\_\_ sim,

qual: \_\_\_\_\_

Comorbidades: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Medicamentos previamente utilizados (antes da inclusão no estudo): \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Data de nascimento: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Data de início da suplementação: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Data do término da suplementação: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Número de suplementos ingeridos: \_\_\_\_\_

## Apêndice D – Avaliação antropométrica e laboratorial

### AVALIAÇÃO ANTROPOMÉTRICA

Estatura: \_\_\_\_\_

<b>Marcador</b>	<b>M<sub>0</sub> (Basal)</b>	<b>M<sub>1</sub> (15 dias)</b>	<b>M<sub>2</sub> (30 dias)</b>	<b>M<sub>3</sub> (60 dias)</b>
Peso atual (kg)				
IMC (kg/m <sup>2</sup> )				
Circunferência da cintura (cm)				

### AVALIAÇÃO LABORATORIAL

<b>Marcador</b>	<b>M<sub>0</sub> (Basal)</b>	<b>M<sub>1</sub> (15 dias)</b>	<b>M<sub>2</sub> (30 dias)</b>	<b>M<sub>3</sub> (60 dias)</b>
PCR (mg/L)				
Albumina (g/dL)				
Sódio (mEq/L)				
Potássio (mEq/L)				
Fósforo (mg/dL)				
Vitamina D (ng/mL)				
Vitamina B <sub>12</sub> (pg/mL)				
Ácido fólico (ng/mL)				
Ferro sérico (mg/dL)				
Cálcio sérico (mg/dL)				
Insulina (IU/mL)				
Glicemia de jejum (mg/dL)				
Hemoglobina glicada (%)				
Colesterol total (mg/dL)				
HDL-c (mg/dL)				
LDL-c (mg/dL)				
Triglicerídeos (mg/dL)				
IL-1 (pg/mL)				
IL-6 (pg/mL)				
IL-10 (pg/mL)				
TNF- $\alpha$ (pg/mL)				

## Apêndice E – Parâmetros clínicos

Fármacos utilizados:	
M <sub>0</sub> –	
M <sub>1</sub> –	
M <sub>2</sub> –	
M <sub>3</sub> –	
Alterações gastrointestinais:	
M <sub>0</sub> - ( ) Não	( ) Sim Quais:
M <sub>1</sub> - ( ) Não	( ) Sim Quais:
M <sub>2</sub> - ( ) Não	( ) Sim Quais:
M <sub>3</sub> - ( ) Não	( ) Sim Quais:
Presença de constipação (segundo critérios do ROMA III, 2006):	
M <sub>0</sub> –	
M <sub>1</sub> –	
M <sub>2</sub> –	
M <sub>3</sub> –	
Consistência e formato das fezes (segundo critérios da Escala de Bristol, 1997):	
M <sub>0</sub> – ( ) 1	( ) 2 ( ) 3 ( ) 4 ( ) 5 ( ) 6 ( ) 7
M <sub>1</sub> – ( ) 1	( ) 2 ( ) 3 ( ) 4 ( ) 5 ( ) 6 ( ) 7
M <sub>2</sub> – ( ) 1	( ) 2 ( ) 3 ( ) 4 ( ) 5 ( ) 6 ( ) 7
M <sub>3</sub> – ( ) 1	( ) 2 ( ) 3 ( ) 4 ( ) 5 ( ) 6 ( ) 7
Uso de suplementos vitamínicos e minerais: ( ) Não ( ) Sim	
Qual:	
Dose:	
Prática de atividade física:	
( ) Não ( ) Sim	
Quantas vezes por semana:	
Tipo de atividade:	
Duração da atividade:	
<i>*Somente para o sexo feminino:</i>	
Período menstrual regular: ( ) Sim ( ) Não	
Data da última menstruação: ____ / ____ / _____	
Menopausa: ( ) Sim ( ) Não	
Ausência de ovulação por contraceção hormonal contínua: ( ) Sim ( ) Não	

**Apêndice F – Formulário para registro de ingestão do suplemento**

## FORMULÁRIO PARA REGISTRO DE INGESTÃO DO SUPLEMENTO

Nome: \_\_\_\_\_

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

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

Em caso de problemas com o consumo, entre em contato com o nutricionista Ricardo Fernandes pelo telefone (48) 9997-9941 ou (48) 9681-0452 ou ainda pelo e-mail: ricardontr@gmail.com. A ligação pode ser feita a cobrar.

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

Dia ____ / ____ / ____ <input type="checkbox"/>	Dia ____ / ____ / ____ <input type="checkbox"/>
Dia ____ / ____ / ____ <input type="checkbox"/>	Dia ____ / ____ / ____ <input type="checkbox"/>
Dia ____ / ____ / ____ <input type="checkbox"/>	Dia ____ / ____ / ____ <input type="checkbox"/>
Dia ____ / ____ / ____ <input type="checkbox"/>	Dia ____ / ____ / ____ <input type="checkbox"/>
Dia ____ / ____ / ____ <input type="checkbox"/>	Dia ____ / ____ / ____ <input type="checkbox"/>
Dia ____ / ____ / ____ <input type="checkbox"/>	Dia ____ / ____ / ____ <input type="checkbox"/>
Dia ____ / ____ / ____ <input type="checkbox"/>	Dia ____ / ____ / ____ <input type="checkbox"/>
Dia ____ / ____ / ____ <input type="checkbox"/>	Dia ____ / ____ / ____ <input type="checkbox"/>
Dia ____ / ____ / ____ <input type="checkbox"/>	Dia ____ / ____ / ____ <input type="checkbox"/>
Dia ____ / ____ / ____ <input type="checkbox"/>	Dia ____ / ____ / ____ <input type="checkbox"/>
Dia ____ / ____ / ____ <input type="checkbox"/>	Dia ____ / ____ / ____ <input type="checkbox"/>
Dia ____ / ____ / ____ <input type="checkbox"/>	Dia ____ / ____ / ____ <input type="checkbox"/>
Dia ____ / ____ / ____ <input type="checkbox"/>	Dia ____ / ____ / ____ <input type="checkbox"/>
Dia ____ / ____ / ____ <input type="checkbox"/>	Dia ____ / ____ / ____ <input type="checkbox"/>
Dia ____ / ____ / ____ <input type="checkbox"/>	Dia ____ / ____ / ____ <input type="checkbox"/>

## ANEXO A – Lista de checagem do CONSORT



### Lista de informações CONSORT 2010 para incluir no relatório de um estudo randomizado

Seção/Tópico	Item No	Itens da Lista	Relatado na pg No
<b>Título e Resumo</b>			
	1a	Identificar no título como um estudo clínico randomizado	_____
	1b	Resumo estruturado de um desenho de estudo, métodos, resultados e conclusões para orientação específica, consulte CONSORT para resumos	_____
<b>Introdução</b>			
Fundamentação e objetivos	2a	Fundamentação científica e explicação do raciocínio	_____
	2b	Objetivos específicos ou hipóteses	_____
<b>Métodos</b>			
Desenho do estudo	3a	Descrição do estudo clínico (como paralelo, factorial) incluindo a taxa de alocação	_____
	3b	Alterações importantes nos métodos após ter iniciado o estudo clínico (como critérios de elegibilidade), com as razões	_____
Participantes	4a	Crítérios de elegibilidade para participantes	_____
	4b	Informações e locais de onde foram coletados os dados	_____
Intervenções	5	As intervenções de cada grupo com detalhes suficientes que permitam a replicação, incluindo como e quando eles foram realmente administrados	_____
Desfechos	6a	Medidas completamente pré-especificadas definidas de desfechos primários e secundários, incluindo como e quando elas foram avaliadas	_____
	6b	Quaisquer alterações nos desfechos após o estudo clínico ter sido iniciado, com as razões	_____
Tamanho da amostra	7a	Como foi determinado o tamanho da amostra	_____
	7b	Quando aplicável, deve haver uma explicação de qualquer análise de interim e diretrizes de encerramento	_____
Randomização:			
Seqüência geração	8a	Método utilizado para geração de seqüência randomizada de alocação	_____
	8b	Tipos de randomização, detalhes de qualquer restrição (tais como randomização por blocos e tamanho do bloco)	_____
Alocação mecanismo de ocultação	9	Mecanismo utilizado para implementar a seqüência de alocação randomizada (como recipientes numerados seqüencialmente), descrevendo os passos seguidos para a ocultação da seqüência até as intervenções serem atribuídas	_____
Implementação	10	Quem gerou a seqüência de alocação randomizada, quem inscreveu os participantes e quem atribuiu as intervenções aos participantes	_____
Cegamento	11a	Se realizado, quem foi cegado após as intervenções serem atribuídas (ex. Participantes, cuidadores, assessores de resultado) e como	_____
	11b	Se relevante, descrever a semelhança das intervenções	_____
Métodos estatísticos	12a	Métodos estatísticos utilizados para comparar os grupos para desfechos primários e secundários	_____
	12b	Métodos para análises adicionais, como análises de subgrupo e análises ajustadas	_____
<b>Resultados</b>			
Fluxo de participantes (é fortemente recomendado a utilização de um diagrama)	13a	Para cada grupo, o número de participantes que foram randomicamente atribuídos, que receberam o tratamento pretendido e que foram analisados para o desfecho primário	_____
	13b	Para cada grupo, perdas e exclusões após a randomização, junto com as razões	_____
Recrutamento	14a	Definição das datas de recrutamento e períodos de acompanhamento	_____
	14b	Dizer os motivos de o estudo ter sido finalizado ou interrompido	_____
Dados de Base	15	Tabela apresentando os dados de base demográficos e características clínicas de cada grupo	_____
Números analisados	16	Para cada grupo, número de participantes (denominador) incluídos em cada análise e se a análise foi realizada pela atribuição original dos grupos	_____
Desfechos e estimativa	17a	Para cada desfecho primário e secundário, resultados de cada grupo e o tamanho efetivo estimado e sua precisão (como intervalo de confiança de 95%)	_____
	17b	Para desfechos binários, é recomendada a apresentação de ambos os tamanhos de efeito, absolutos e relativos	_____
Análises auxiliares	18	Resultados de quaisquer análises realizadas, incluindo análises de subgrupos e análises ajustadas, distinguindo-se as pré-especificadas das exploratórias	_____
Danos	19	Todos os importantes danos ou efeitos indesejados em cada grupo (observar a orientação específica CONSORT para danos)	_____
<b>Discussão</b>			
Limitações	20	Limitações do estudo clínico, abordando as fontes dos potenciais vieses, imprecisão, e, se relevante, relevância das análises	_____
Generalização	21	Generalização (validade externa, aplicabilidade) dos achados do estudo clínico	_____
Interpretação	22	Interpretação consistente dos resultados, balanço dos benefícios e danos, considerando outras evidências relevantes	_____
<b>Outras informações</b>			
Registro	23	Número de inscrição e nome do estudo clínico registrado	_____
Protocolo	24	Onde o protocolo completo do estudo clínico pode ser acessado, se disponível	_____
Fomento	25	Fontes de financiamento e outros apoios (como abastecimento de drogas), papel dos financiadores	_____

\* Recomendamos fortemente a leitura desta norma em conjunto com o CONSORT 2010. Explicação e Elaboração de esclarecimentos importantes de todos os itens. Se relevante, também recomendamos a leitura das extensões do CONSORT para estudos cluster randomizados, estudos de não-inferioridade e de equivalência, tratamentos não-farmacológicos, intervenções de ervas e estudos pragmáticos. Extensões adicionais estão por vir: para aquelas e até dados de referências relevantes a esta lista de informações, ver [www.consort-statement.org](http://www.consort-statement.org).

## ANEXO B – Ferramenta da Colaboração Cochrane para avaliação do risco de viés.

Domínio	Suporte para o julgamento	Julgamento do autor da Revisão
<b>VIÉS DE SELEÇÃO</b>		
<b>Geração de sequência aleatória</b>	Descrever em detalhes o método utilizado para gerar a sequência aleatória, para permitir avaliar se foi possível produzir grupos comparáveis.	Viés de seleção (Alocação enviesada para as intervenções devido a geração inadequada de uma sequência aleatória).
<b>Ocultamento de alocação</b>	Descrever em detalhes o método utilizado para ocultar a sequência aleatória, para determinarmos se a alocação das intervenções pôde ser prevista antes ou durante o recrutamento dos participantes.	Viés de seleção (Alocação enviesada para as intervenções devido ao ocultamento inadequado da alocação antes da atribuição aos grupos).
<b>VIÉS DE PERFORMANCE</b>		
<b>Mascaramento de participantes e profissionais</b> – Avaliação deve ser feita para cada desfecho principal	Descrever todas as medidas utilizadas para mascarar participantes e profissionais envolvidos em relação a qual intervenção foi fornecida ao participante. Fornecer informações se realmente o mascaramento foi efetivo.	Viés de performance devido ao conhecimento das intervenções pelos participantes e profissionais durante o estudo.
<b>VIÉS DE DETECÇÃO</b>		
<b>Mascaramento dos avaliadores de desfecho</b> – Avaliação deve ser feita para cada desfecho principal	Descrever todas as medidas utilizadas para mascarar os avaliadores de desfecho em relação ao conhecimento da intervenção fornecida a cada participante. Fornecer informações se o mascaramento pretendido foi efetivo.	Viés de detecção devido ao conhecimento das intervenções pelos avaliadores do desfecho.
<b>VIÉS DE ATRITO</b>		
<b>Desfechos incompletos</b> – Avaliação deve ser feita para cada desfecho principal	Descrever se os dados relacionados aos desfechos estão completos, incluindo perdas e exclusão da análise. Descrever se perdas e exclusões foram informadas no estudo, assim como suas respectivas razões. Descrever se houve reinclusão de algum participante.	Viés de atrito devido à quantidade, natureza ou manipulação de dados de resultados incompletos.
<b>VIÉS DE RELATO</b>		
<b>Relato de desfecho seletivo</b>	Indicar a possibilidade dos ensaios clínicos randomizados terem selecionado os desfechos ao descrever os resultados do estudo e o que foi identificado.	Viés de informação devido a relato de desfecho seletivo.
<b>OUTROS VIESES</b>		
<b>Outras fontes de viés</b>	Declarar outro viés que não se enquadra em outro domínio prévio da ferramenta.	Viés devido a problemas não abrangidos na ferramenta.

Fonte: HIGGINS e GREEN, 2011.

## **ANEXO C - Orientação nutricional oferecida aos pacientes durante a pesquisa.**

### **ORIENTAÇÕES NUTRICIONAIS**

#### **Retirar/Evitar na alimentação:**

- Embutidos (salsicha, linguiça, bacon, mortadela, salame, etc.)
- Enlatados e conservas
- Temperos industrializados (caldo Knorr, Sazon, Ajinomoto e similares)
- Chocolate
- Bebida alcoólica e refrigerante
- Açúcar refinado
- Evitar adoçar os alimentos. Em caso de extrema necessidade: adoçante à base de Stévia.

#### **Incluir na alimentação:**

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

### **DICAS**

- Não pule nenhuma refeição. Faça 3 grandes refeições (café da manhã, almoço e janta) e 2-3 pequenos lanches entre as grandes refeições.
- Prepare todo e qualquer tipo de carne retirando toda a gordura aparente e/ou peles.
- Alimentos como: azeite de oliva, sementes de linhaça, de girassol, peixes, aveia, farinha de mandioca, soja e leite de soja auxiliam no combate ao colesterol elevado.

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



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

UNIVERSIDADE FEDERAL DE  
SANTA CATARINA - UFSC



**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP**

**DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

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

**Pesquisador:** Erasmo Benício Santos de Moraes Trindade

**Área Temática:**

**Versão:** 2

**CAAE:** 49274715.9.0000.0121

**Instituição Proponente:** Universidade Federal de Santa Catarina

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

**DADOS DO PARECER**

**Número do Parecer:** 1.340.253

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

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

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

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

**Recomendações:**

sem recomendações.

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

conclusão: aprovado.

## ANEXO E – Registro do estudo na plataforma de registro de ensaios clínicos.

<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02660333>

**ClinicalTrials.gov**  
A service of the U.S. National Institutes of Health

Example: "Heart attack" AND "Los Angeles"  
Search for studies:  Search  
Advanced Search | Help | Studies by Topic | Glossary

Find Studies ▾ About Clinical Studies ▾ Submit Studies ▾ Resources ▾ About This Site ▾  
Home > Find Studies > Study Record Detail

### Effect of Prebiotic or Synbiotic on Inflammatory Response and Indicators of Nutritional Status in Obesity

**This study is currently recruiting participants. (see Contacts and Locations)**  
*Verified January 2016 by Universidade Federal de Santa Catarina*

**Sponsor:**  
Universidade Federal de Santa Catarina  
**Information provided by (Responsible Party):**  
Erasmo Benicio Santos de Moraes Trindade, Universidade Federal de Santa Catarina

**ClinicalTrials.gov Identifier:**  
NCT02660333  
First received: January 14, 2016  
Last updated: January 18, 2016  
Last verified: January 2016  
History of Changes

**Full Text View** | **Tabular View** | **No Study Results Posted** | **Disclaimer** | **How to Read a Study Record**

**Purpose**  
The purpose of this study is to evaluate the effect of prebiotic or synbiotic supplementation on inflammatory response and indicators of nutritional status in patients with morbid obesity. Study hypothesis: Supplementation of 12 g/day of fructooligosaccharides (prebiotic) or 12 g/day of fructooligosaccharides + strains of lactobacilli and bifidobacteria (synbiotic) during 30 days promotes reduction of plasma serum levels of acute phase proteins, cytokines, metabolic and anthropometric parameters in individuals with BMI ≥ 40kg/m<sup>2</sup>.

## ANEXO F – Comprovante de submissão do projeto ao edital Universal CNPq 2016.



### RECIBO DE ENVIO DE FORMULÁRIOS ELETRÔNICOS

Número do protocolo	9397955986218238
Solicitante	Erasmó Benício Santos de Moraes Trindade
CPF/CGC	24035076368
Formulário	Formulário de Propostas Web (1.0.0)
Edital / Chamada	Universal 01/2016 - Faixa B - até R\$ 60.000,00

O sistema de recepção de formulários eletrônicos do CNPq registra que em 19/02/2016, às 20:08:36 horas, o formulário identificado acima foi recebido e reconhecido no CNPq, recebendo o número de protocolo 9397955986218238

Acompanhe o andamento de sua solicitação no site do CNPq (<http://www.cnpq.br>) em 'PLATAFORMA CARLOS CHAGAS'.