

Ricardo Fernandes

**EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DE PREBIÓTICO OU  
SIMBIÓTICO SOBRE MARCADORES INFLAMATÓRIOS  
APÓS A DERIVAÇÃO GÁSTRICA EM Y DE ROUX**

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  
2014

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

Fernandes, Ricardo

Efeito da suplementação de prebiótico ou simbiótico sobre marcadores inflamatórios após a derivação gástrica em Y de Roux / Ricardo Fernandes ; orientador, Erasmo Benicio Santos de Moraes Trindade - Florianópolis, SC, 2014.  
140 p.

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

Inclui referências

1. Nutrição. 2. Cirurgia bariátrica. 3. Biomarcadores. 4. Prebiótico. 5. Simbiótico. I. Trindade, Erasmo Benicio Santos de Moraes. II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Nutrição. III. Título.

RICARDO FERNANDES

**EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DE PREBIÓTICO OU  
SIMBIÓTICO SOBRE MARCADORES INFLAMATÓRIOS  
APÓS A DERIVAÇÃO GÁSTRICA EM Y DE ROUX**

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

Florianópolis, 18 de julho de 2014.

---

Yara Maria Franco Moreno, Dr.<sup>a</sup>  
Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Nutrição

**Banca Examinadora:**

---

Erasmio Benicio Santos de Moraes Trindade, Dr.  
Orientador – Universidade Federal de Santa Catarina

---

Angélica Amorim Amato, Dr.<sup>a</sup>.  
Universidade de Brasília

---

Tânia Silvia Fröde, Dr.<sup>a</sup>.  
Universidade Federal de Santa Catarina

---

Sônia Maria de Medeiros Batista, Dr.<sup>a</sup>.  
Universidade Federal de Santa Catarina



**Dedico este trabalho...**

...**aos meus pais**, por todo o caminho ensinado para chegar até aqui...

...**à minha noiva**, por ser minha maior incentivadora e companheira de todas as horas...

...**e aos meus semelhantes chamados de “pacientes”**, sem os quais não seria possível realizar este trabalho.



## AGRADECIMENTOS

À Deus, pelo dom de mais uma vida, por me iluminar e dar força nos momentos mais difíceis, por colocar em meu caminho espíritos iluminados que me fazem crescer e evoluir intelectualmente e moralmente.

À Universidade Federal de Santa Catarina, por todo o conhecimento e oportunidades oferecidos a mim nos últimos nove anos e pelos desafios que estão por vir.

Ao meu orientador Prof. Dr. Erasmo Benício Santos de Moraes Trindade, por acreditar no meu potencial desde a graduação, por todas as oportunidades e desafios concedidos, por investir no meu aprimoramento profissional, por toda a amizade e preocupação com o bem estar de seus orientados, pelos seus grandes ensinamentos e disponibilidade para orientar este trabalho. Mais do que um competente profissional, um grande ser humano. Muito obrigado!

Ao Prof. Dr. Everson Araújo Nunes, por todos os momentos de contribuição científica ao meu trabalho nas reuniões do Grupo de Imunonutrição e Metabolismo e por disponibilizar o seu laboratório para o preparo das amostras.

À Prof<sup>ª</sup>. Dra. Tânia Silvia Fröde, por gentilmente disponibilizar seu laboratório, materiais e alunas para que se tornasse possível a realização das análises dos principais desfechos desta pesquisa.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Nutrição, por todos os ensinamentos durante esses dois anos e por me prepararem para a pesquisa e docência. Todas vocês de alguma forma contribuíram para tornar possível este momento.

Às minhas colegas de mestrado, em especial as da linha de pesquisa II, pela agradável convivência dentro e fora da sala de aula, pelas importantes contribuições científicas e por tornar mais leve e alegre toda essa caminhada.

À minha colega de mestrado e de orientação, Bruna Teles Soares Beserra, por participar do início ao fim de todo este estudo, desde a construção do projeto, passando pelas correções e ideias em todos os momentos da escrita, auxílio na coleta de dados e pelas discussões enriquecedoras. Sucesso na sua carreira, você merece!

Ao futuro colega de doutorado, Michel Carlos Mocellin, pela valiosa ajuda e tempo dispendidos para a determinação das citocinas e também pelo auxílio na construção de artigos científicos.

À colega de sala Dra. Marilyn Gonçalves Ferreira Kuntz, por tomar a frente no recrutamento dos indivíduos saudáveis, organizar o processo e também por compartilhar a construção de artigos científicos e resumos para congressos.

Às graduandas Sara Masiero e Suellen Dias pela enorme ajuda na coleta e análise dos dados, sem os quais este trabalho não se concluiria.

A todos os meus amigos, pelas grandes conversas, por tornar a vida mais alegre e pelos churrascos nos finais de semana.

Ao corpo clínico responsável pela cirurgia bariátrica no HU/UFSC, em especial a nutricionista Rafaella Cristina Dimbarre de Miranda, por abrir as portas da Unidade de Internação Cirúrgica I e permitir a realização deste trabalho, pela contribuição no recrutamento dos pacientes e por toda a força dada durante esta trajetória.

À equipe do Serviço de Análises Clínicas do HU/UFSC, pela coleta e realização dos exames.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão de uma bolsa de estudos, com a qual foi possível dedicação exclusiva ao mestrado.

À empresa Invictus<sup>®</sup> FarmaNutrição, por doar os suplementos e acreditar na pesquisa.

À minha família:

Aos meus pais, irmão, cunhada e sobrinha, Édio, Ivete, Hulisses, Simoni e Lívia, por me compreender nos momentos de ausência, pela paciência e pelo apoio inestimável em todos os momentos da minha vida. Com certeza, sem vocês eu não estaria aqui hoje. Essa vitória também é de vocês!

À minha querida avó Judith (ou vó Célia), por ajudar a moldar este homem que hoje sou, por me mostrar desde criança a tomar gosto pelas pequenas coisas da vida, como colher frutas no pé e fazer um belo café, suco, canjica, pinhão, doces e me mostrar, mesmo sem querer, que a Nutrição era o meu caminho.

À minha noiva, companheira, torcedora, incentivadora, amiga, colega, Martha Luisa Machado, por compartilhar todos (todos mesmo!) os momentos de angústia e de felicidade durante a nossa trajetória no mestrado. Obrigado por viver intensamente a pós-graduação e a vida comigo, por aturar o meu humor quando estava muito cansado, por todas as conversas sobre o nosso futuro, por me incentivar a seguir na carreira de pesquisador e, quem sabe um dia, professor. As minhas vitórias também são suas. Obrigado por tudo! Te amo!

À família de Rio do Sul, Cesar, Vera, Cesar Augusto, Olivia, Aristeu, Alvina, Luciene, Rogério, Isadora, que me acolhem tão bem todas as vezes que estou em Rio do Sul, com as ótimas risadas nos almoços de família e por estarem sempre disponíveis para me ajudar em todos os momentos.

A todos vocês, muito obrigado!



*"A dúvida é o princípio da sabedoria."*  
[Aristóteles]



## RESUMO

A derivação gástrica em Y de Roux (RYGB) é a cirurgia bariátrica mais realizada em todo o mundo, no entanto, existem poucas evidências sobre o papel da microbiota intestinal na melhora de parâmetros imunológicos após a RYGB, tampouco o impacto de prebióticos e simbióticos neste contexto. Evidências mostram que estas substâncias promovem efeitos positivos na saúde de indivíduos obesos, como a imunorregulação. Diante disso, o objetivo deste ensaio clínico randomizado, controlado e triplo-cego foi investigar os efeitos da suplementação de prebiótico e simbiótico em marcadores inflamatórios de indivíduos submetidos à RYGB. Nove indivíduos submetidos à RYGB e nove indivíduos saudáveis foram randomizados em três grupos cada: placebo, prebiótico e simbiótico. O grupo placebo recebeu 6 g/dia de maltodextrina, o grupo prebiótico recebeu 6 g/dia de fruto-oligossacarídeo (FOS) e o grupo simbiótico recebeu 6 g/dia de FOS +  $1 \times 10^9$  de *Lactobacillus rhamnosus* HN001,  $1 \times 10^9$  *Lactobacillus acidophilus* NCFM,  $1 \times 10^9$  *Lactobacillus paracasei* LPC-37 e  $1 \times 10^9$  *Bifidobacterium lactis* HN019, durante 15 dias. Para os indivíduos submetidos à RYGB, os desfechos foram avaliados 30 (basal) e 45 dias após a cirurgia (momento final). Para os indivíduos saudáveis, os desfechos foram avaliados antes (basal) e após a suplementação (momento final). Os desfechos primários foram a alteração das concentrações plasmáticas de interleucina-1 beta (IL-1 $\beta$ ), interleucina-6 (IL-6), fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) e das concentrações séricas de proteína C-reativa (PCR), albumina, além da relação PCR/albumina. Os desfechos secundários foram a alteração do peso, do índice de massa corporal (IMC) e da porcentagem da perda do excesso de peso. A IL-6, TNF- $\alpha$ , PCR, albumina e relação PCR/albumina não apresentaram alterações significativas na comparação entre os grupos após a suplementação, tanto entre os que foram submetidos à RYGB quanto entre os saudáveis, enquanto a IL-1 $\beta$  foi maior no grupo simbiótico que no grupo placebo entre os indivíduos saudáveis após a suplementação ( $p=0,049$ ). A redução no peso corporal dos indivíduos submetidos à RYGB foi significativamente maior no grupo prebiótico comparado ao placebo (-0,7 kg,  $p=0,001$ ) e ao simbiótico (-0,9 kg,  $p=0,001$ ). A redução média no IMC daqueles que receberam placebo e prebiótico foi significativamente maior comparado àqueles que foram suplementados com simbiótico (-0,4 kg/m<sup>2</sup>,  $p=0,037$ ; -0,6 kg/m<sup>2</sup>,  $p=0,003$ , respectivamente). Do mesmo modo, o aumento médio no percentual de perda de excesso de peso daqueles que receberam placebo

ou prebiótico foi significativamente maior comparado àqueles que foram suplementados com simbiótico (+2,4%,  $p=0,030$ ; +3,2%,  $p=0,007$ , respectivamente). Entre os indivíduos saudáveis, não houve alteração significativa no IMC e percentual de perda do excesso de peso após a suplementação, mas houve redução significativa do peso no grupo simbiótico (-0,3 kg,  $p=0,038$ ), embora a magnitude dessa redução não tenha sido significativamente maior que a perda de peso nos grupos placebo e prebiótico. Em conclusão, estes resultados sustentam a hipótese de que a administração oral de FOS após a RYGB promove redução significativa no peso corporal, embora não tenha havido melhora significativa nos marcadores inflamatórios com o uso de prebiótico e simbiótico. Baseado nos resultados apresentados, a utilização de FOS pode representar um potencial adjuvante no tratamento da obesidade.

**Palavras-chave:** Cirurgia bariátrica. Biomarcadores. Peso corporal. Prebiótico. Simbiótico.

## ABSTRACT

Roux-en-Y gastric bypass (RYGB) is the most commonly performed bariatric surgery around the world, however, there is little evidence on the role of gut microbiota in the improvement of immunological parameters after RYGB, nor the impact of prebiotics and synbiotics in this context. Evidences show that these substances promote positive health effects in obese individuals, such as immunoregulation. Therefore, the aim of this randomized, controlled, triple-blind study was to investigate the effects of prebiotic and synbiotic supplementation on inflammatory markers of subjects undergoing RYGB. Nine individuals undergoing RYGB and nine healthy individuals were randomized into three groups each: placebo, prebiotic and synbiotic. The placebo group received 6 g/day of maltodextrin, the prebiotic group receives 6 g/day of fructo-oligosaccharide (FOS) and the synbiotic group received 6 g/day of FOS +  $1 \times 10^9$  *Lactobacillus rhamnosus* HN001,  $1 \times 10^9$  *Lactobacillus acidophilus* NCFM,  $1 \times 10^9$  *Lactobacillus paracasei* LPC-37 and  $1 \times 10^9$  *Bifidobacterium lactis* HN019 for 15 days. For individuals who underwent RYGB, outcomes were assessed 30 (baseline) and 45 days after surgery (final time point). For healthy individuals, outcomes were assessed before (baseline) and after supplementation (final time point). The primary outcomes were change in plasma concentrations of interleukin-1 beta (IL-1 $\beta$ ), interleukin-6 (IL-6), tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ ) and changes in serum concentrations of C-reactive protein (CRP), albumin and CRP/albumin ratio. Secondary outcomes were the change of body weight, body mass index (BMI) and percentage of excess weight loss. IL-6, TNF- $\alpha$ , CRP, albumin and CRP/albumin ratio did not change significantly in the comparison between groups after supplementation, both among those who underwent surgery and among those who were healthy, while IL-1 $\beta$  was higher in the synbiotic group than in the placebo group among healthy individuals after supplementation ( $p=0.049$ ). The reduction in body weight of subjects undergoing RYGB was significantly higher in the prebiotic group compared to placebo (-0.7 kg,  $p=0.001$ ) and compared to synbiotic (-0.9 kg,  $p=0.001$ ). The mean reduction in BMI of those who received placebo and prebiotic was significantly higher compared to those who were supplemented with synbiotic (-0.4 kg/m $^2$ ,  $p=0.037$ ; -0.6 kg/m $^2$ ,  $p=0.003$ , respectively). Similarly, the average increase in the percentage of excess weight loss of those who received placebo or prebiotic was significantly higher compared to those who were supplemented with synbiotic (+ 2.4%,  $p=0.030$ ; + 3.2%,  $p=0.007$ , respectively). Among

healthy subjects, there was no significant change in BMI and percentage of excess weight loss after supplementation, but there was a significant reduction of body weight in the synbiotic group (-0.3 kg,  $p=0.038$ ), although the magnitude of this reduction not was significantly higher than the weight loss in the placebo and prebiotic groups. In conclusion, these results support the hypothesis that oral administration of FOS after RYGB promotes significant reduction in body weight, although there was no significant improvement in inflammatory markers with the use of prebiotic and synbiotic. Based on the results presented, the use of FOS may represent a potential adjuvant to surgical treatment of obesity.

**Key words:** Bariatric surgery. Biomarkers. Body weight. Prebiotic. Synbiotic.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> – Número de referências encontradas e selecionadas para consulta em bases de dados e sites de órgãos oficiais nacionais e internacionais.....	30
<b>Figura 2</b> – Inflamação relacionada à obesidade.....	33
<b>Figura 3</b> – Derivação gástrica em Y de Roux .....	40
<b>Figura 4</b> – Estrutura do fruto-oligossacarídeo obtido por adição enzimática de frutose.....	45
<b>Figura 1 (manuscrito)</b> – Fluxograma do estudo. Florianópolis, SC, 2014 .....	97
<b>Figura 2 (manuscrito)</b> – Comportamento de marcadores inflamatórios e de proteínas de fase aguda de acordo com os grupos de estudo (n=18). Florianópolis, SC, 2014.....	99
<b>Figura 3 (manuscrito)</b> – Relação Proteína C-Reativa/Albumina nos diferentes momentos e grupos de estudo. Florianópolis, SC, 2014.....	100



## LISTA DE QUADROS

<b>Quadro 1</b> – Evolução do número de cirurgias bariátricas pela técnica <i>Y</i> de <i>Roux</i> na rede pública de saúde. Brasil e Região Sul, 2008-2013.....	41
<b>Quadro 2</b> – Principais gêneros e espécies bacterianas utilizadas como probióticos.....	47
<b>Quadro 3</b> – Efeito prebiótico do fruto-oligossacarídeo sobre citocinas e proteínas de fase aguda em modelos animais .....	54
<b>Quadro 4</b> – Efeito simbiótico do fruto-oligossacarídeo com espécies de bifidobactérias e/ou lactobacilos sobre citocinas e proteínas de fase aguda em humanos .....	57
<b>Quadro 5</b> – Efeito simbiótico do fruto-oligossacarídeo com espécies de bifidobactérias e/ou lactobacilos sobre citocinas e proteínas de fase aguda em modelos animais .....	58
<b>Quadro 6</b> – Informação da composição (FIBERFOS <sup>®</sup> ) .....	64
<b>Quadro 7</b> – Informações nutricionais do prebiótico (FIBERFOS <sup>®</sup> ) ....	64
<b>Quadro 8</b> – Informação da composição (LACTOFOS <sup>®</sup> ) .....	65
<b>Quadro 9</b> – Informações nutricionais do simbiótico (LACTOFOS <sup>®</sup> )..	65
<b>Quadro 10</b> – Classificação do estado nutricional segundo o Índice de Massa Corporal .....	69
<b>Quadro 11</b> – Descrição das variáveis .....	71



## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AGCC	Ácidos graxos de cadeia curta
ChREBP	Proteína ligadora de elementos responsivos a carboidratos
DM2	Diabetes mellitus tipo 2
FOS	Fruto-oligossacarídeo
GPR43	Receptor acoplado à proteína G 43
HU/UFSC	Hospital Universitário Polydoro Ernani de São Thiago
IFN- $\gamma$	Interferon-gama
IL-1 $\beta$	Interleucina-1 beta
IL-4	Interleucina-4
IL-5	Interleucina-5
IL-6	Interleucina-6
IL-8	Interleucina-8
IL-10	Interleucina-10
IL-12	Interleucina-12
IL-13	Interleucina-13
IL-17	Interleucina-17
IMC	Índice de massa corporal
L-PK	Piruvato quinase hepática
LPS	Lipopolissacarídeo
NF- $\kappa$ B	Fator de transcrição nuclear kappa B
PCR	Proteína C-reativa
RYGB	Derivação gástrica em Y de Roux
TNF- $\alpha$	Fator de necrose tumoral-alfa
TLR	Receptor do tipo Toll
Th	T helper
Treg	T regulador
WHO	World Health Organization



## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b>	25
<b>2 OBJETIVOS</b>	27
2.1 GERAL	27
2.2 ESPECÍFICOS	27
<b>3 REFERENCIAL TEÓRICO</b>	29
3.1 OBESIDADE	31
<b>3.1.1 Definição e epidemiologia</b>	31
<b>3.1.2 Inflamação e obesidade</b>	32
<b>3.1.3 Marcadores inflamatórios e obesidade</b>	35
<b>3.1.4 Microbiota intestinal e obesidade</b>	37
<b>3.1.5 Processo terapêutico</b>	39
3.2 DERIVAÇÃO GÁSTRICA EM Y DE ROUX	40
<b>3.2.1 Benefícios e complicações</b>	41
<b>3.2.2 Marcadores inflamatórios após a derivação gástrica em Y de Roux</b>	42
<b>3.2.3 Microbiota intestinal e derivação gástrica em Y de Roux</b>	42
3.3 PREBIÓTICOS E SIMBIÓTICOS	44
<b>3.3.1 Definição e caracterização</b>	44
<b>3.3.2 Doses utilizadas, segurança e efeitos adversos</b>	49
<b>3.3.3 Imunomodulação</b>	50
<b>4 MÉTODOS</b>	61
4.1 DELINEAMENTO DO ESTUDO	61
4.2 AMOSTRA DO ESTUDO	61
4.3 PROTOCOLO DO ESTUDO	63
<b>4.3.1 Momentos do estudo</b>	63
<b>4.3.2 Randomização e cegamento</b>	63
<b>4.3.3 Caracterização dos suplementos nutricionais</b>	64
<b>4.3.4 Desfechos</b>	66
<b>4.3.5 Instrumentos e técnicas de coleta de dados</b>	66
4.3.5.1 Caracterização dos indivíduos	66
4.3.5.2 Coleta e preparo do material biológico	66
4.3.5.3 Determinação de citocinas, proteína C-reativa e albumina	67
4.3.5.4 Determinação da relação proteína C-reativa/albumina	68
4.3.5.5 Avaliação do estado nutricional	68
4.3.5.6 Percentual da perda do excesso de peso	70
4.3.5.7 Parâmetros clínicos	70
4.4 MODELO DE ANÁLISE	70
4.5 TRATAMENTO E ANÁLISE DOS DADOS	72
4.6 PROCEDIMENTOS ÉTICOS DA PESQUISA	72

<b>5 RESULTADOS</b> .....	73
5.1 MANUSCRITO .....	73
<b>6 CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	103
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	105
<b>APÊNDICES</b> .....	123
<b>Apêndice A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido</b> .....	123
<b>Apêndice B – Delineamento do estudo com os momentos experimentais para os indivíduos submetidos à derivação gástrica em Y de Roux</b> .....	128
<b>Apêndice C – Delineamento do estudo com os momentos experimentais para os indivíduos saudáveis</b> .....	129
<b>Apêndice D – Caracterização dos indivíduos</b> .....	130
<b>Apêndice E – Avaliação antropométrica, laboratorial e de parâmetros clínicos</b> .....	131
<b>Apêndice F – Formulário para registro de ingestão do suplemento</b> .....	132
<b>ANEXOS</b> .....	133
<b>Anexo A – Orientação nutricional do HU/UFSC no pós-operatório de cirurgia bariátrica</b> .....	133
<b>Anexo B – Parecer substanciado do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de Santa Catarina</b> .....	140

## 1 INTRODUÇÃO

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

Evidências mostram que a obesidade está associada à inflamação crônica, caracterizada por concentrações alteradas de citocinas, aumento na produção de proteínas de fase aguda e outros mediadores, além da ativação de vias de sinalização inflamatórias (GALIC; OAKHILL; STEINBERG, 2010; JOHNSON; MILNER; MAKOWSKI, 2012). Esta condição inflamatória está associada com o desenvolvimento de comorbidades, como o diabetes mellitus tipo 2 (DM2), hipertensão, asma, dislipidemia, colelitíase, osteoartrite e câncer (WHO, 2013).

Adicionalmente, a microbiota intestinal tem sido associada com a obesidade e a inflamação. Ley et al. (2006) e Turnbaugh et al. (2009) compararam indivíduos obesos e eutróficos e observaram importante aumento de bactérias gram-positivas do filo bacteriano Firmicutes e diminuição de bactérias gram-negativas do filo bacteriano Bacteroidetes nos indivíduos obesos. O lipopolissacarídeo (LPS), um componente da parede celular de bactérias gram-negativas, tem sido apontado como um dos ativadores do processo inflamatório na obesidade. Esse componente é absorvido pelos capilares intestinais quando ocorre a morte das bactérias gram-negativas, promovendo a secreção de citocinas pró-inflamatórias. Portanto, a diminuição da relação Bacteroidetes/Firmicutes está relacionado com o desenvolvimento de um estado pró-inflamatório (KALLUS; BRANDT, 2012).

Neste contexto, devido às consequências negativas à saúde humana, cresce o número de intervenções cirúrgicas para o tratamento da obesidade. A derivação gástrica em Y de Roux (RYGB) é um dos procedimentos cirúrgicos mais realizados e mais efetivos devido aos seus benefícios quanto aos parâmetros clínicos, metabólicos e inflamatórios, além da segurança relacionada ao controle das complicações pós-cirúrgicas (BUCHWALD et al., 2004; NEFF; LE ROUX, 2012).

Entretanto, algumas complicações clínicas podem ocorrer devido às alterações anatômicas e fisiológicas, as quais são fatores de risco para alteração da microbiota intestinal. Entre elas citam-se refluxo, vômitos,

anormalidades eletrolíticas e nutricionais, dismotilidade intestinal, menor secreção de ácido gástrico e deslocamento de bactérias típicas do intestino delgado para o intestino grosso (ZHANG et al., 2009). Por outro lado, há evidências do aumento da relação Bacteroidetes/Firmicutes após a RYGB e, por conseguinte, das concentrações plasmáticas de mediadores anti-inflamatórios (MAGGARD et al., 2005; FURET et al., 2010).

Assim, visto a série de alterações que a microbiota intestinal pode apresentar tanto antes quanto após a RYGB, torna-se oportuno destacar o papel de potenciais moduladores da microbiota intestinal, como os prebióticos e simbióticos, suplementos considerados seguros por estarem naturalmente contidos em alimentos e na microbiota humana (PINEIRO et al, 2008; SANDERS et al, 2010). Estas substâncias exercem diversas funções benéficas, incluindo a inibição do crescimento de bactérias patogênicas, a preservação da função da barreira epitelial, regeneração do tecido epitelial, imunorregulação, regulação do metabolismo lipídico e glicêmico, bem como alívio da constipação, vômitos e diarreia, condições estas associadas às consequências da cirurgia bariátrica (CALDER et al, 2009).

Contudo, destaca-se a premente necessidade de experimentos acerca do impacto da suplementação com prebiótico ou simbiótico em marcadores inflamatórios após a RYGB, visto os potenciais benefícios que estas substâncias podem trazer para indivíduos submetidos a esta cirurgia, como a regularização da resposta inflamatória e da microbiota intestinal, além da falta de evidências científicas sobre a suplementação de prebióticos ou simbióticos após a RYGB.

Diante do exposto, acredita-se que estratégias terapêuticas para regularizar a microbiota intestinal e modular a resposta inflamatória devem ser exploradas na tentativa de melhorar a saúde após a RYGB. Assim, baseado na indicação de efeito positivo do prebiótico e simbiótico na microbiota intestinal e a carência de estudos sobre o impacto dessa suplementação na resposta inflamatória após a RYGB, propõe-se a realização deste estudo. Com base nestas considerações, as hipóteses da presente pesquisa são as seguintes:

$H_0$  - A suplementação com prebiótico ou simbiótico não diminuirá as concentrações plasmáticas de marcadores inflamatórios de indivíduos submetidos à derivação gástrica em Y de Roux.

$H_1$  - A suplementação com prebiótico ou simbiótico diminuirá as concentrações plasmáticas de marcadores inflamatórios de indivíduos submetidos à derivação gástrica em Y de Roux.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 GERAL

Avaliar o efeito da suplementação de prebiótico ou simbiótico sobre marcadores inflamatórios após a derivação gástrica em *Y* de *Roux*.

### 2.2 ESPECÍFICOS

- ✓ Verificar o peso corporal, índice de massa corporal e o percentual de perda do excesso de peso em indivíduos submetidos à derivação gástrica em *Y* de *Roux*, antes e após a suplementação com prebiótico ou simbiótico;
- ✓ Avaliar as concentrações séricas (proteína C-reativa e albumina) e plasmáticas (interleucina-1 beta, interleucina-6, fator de necrose tumoral alfa) de marcadores inflamatórios em indivíduos submetidos à derivação gástrica em *Y* de *Roux*, antes e após a suplementação com prebiótico ou simbiótico;
- ✓ Verificar o risco de complicações inflamatórias e nutricionais por meio da relação proteína C-reativa/albumina em indivíduos submetidos à derivação gástrica em *Y* de *Roux*, antes e após a suplementação com prebiótico ou simbiótico.



### 3 REFERENCIAL TEÓRICO

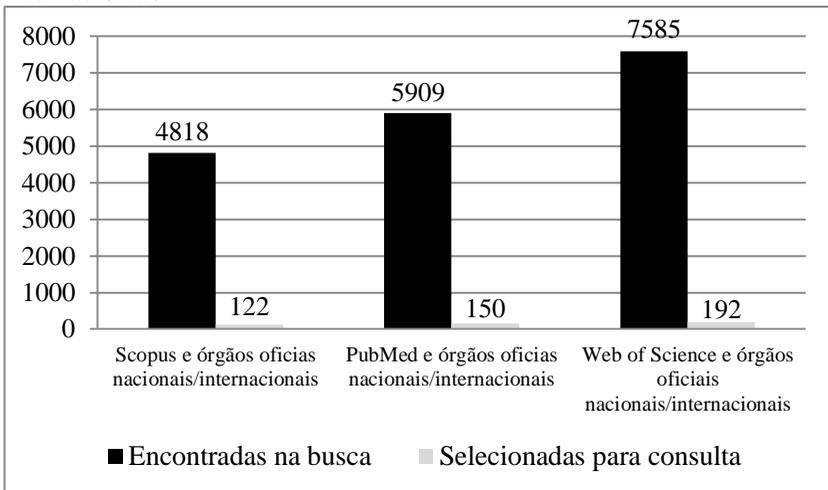
Para o levantamento bibliográfico foram consultadas bases de dados (PubMed, Scopus e Web of Science) e sites de órgãos oficiais nacionais/internacionais (sociedades científicas, Ministério da Saúde e Organização Mundial da Saúde). A busca ocorreu no período de setembro de 2012 a maio de 2014, sem filtros, contemplando a combinação de termos apresentados abaixo:

- ("gut microbiota" or "gut flora" or "gut microflora" or "gut microbiome" or "intestinal microbiota" or "intestinal flora" or "intestinal microflora" or "intestinal microbiome") and ("bariatric surgery" or "roux-en-y")
- ("gut microbiota" or "gut flora" or "gut microflora" or "gut microbiome" or "intestinal microbiota" or "intestinal flora" or "intestinal microflora" or "intestinal microbiome") and obesity
- ("gut microbiota" or "gut flora" or "gut microflora" or "gut microbiome" or "intestinal microbiota" or "intestinal flora" or "intestinal microflora" or "intestinal microbiome") and (crp or "c-reactive protein" or albumin or "IL-1 beta" or "interleukin-1 beta" or IL-6 or "interleukin-6" or "interleukin-8" or IL-8 or "interleukin-10" or IL-10 or "interleukin-12" or IL-12 or TNF-alpha or "Tumor Necrosis Factor-alpha" or Lipopolysaccharide\* or LPS)
- (prebiotic\* or synbiotic\*) and "bariatric surgery or roux-en-y"
- (prebiotic\* or synbiotic\*) and obesity
- (prebiotic\* or synbiotic\*) and (crp or "c-reactive protein" or albumin or "IL-1 beta" or "interleukin-1 beta" or IL-6 or "interleukin-6" or "interleukin-8" or IL-8 or "interleukin-10" or IL-10 or "interleukin-12" or IL-12 or TNF-alpha or "Tumor Necrosis Factor-alpha" or Lipopolysaccharide\* or LPS)
- (lactobacillus or bifidobacterium) and ("bariatric surgery" or "roux-en-y")
- (lactobacillus or bifidobacterium) and obesity
- (lactobacillus or bifidobacterium) and (crp or "c-reactive protein" or albumin or "IL-1 beta" or "interleukin-1 beta" or IL-6 or "interleukin-6" or "interleukin-8" or IL-8 or "interleukin-10" or IL-10 or "interleukin-12" or IL-12 or TNF-alpha or "Tumor Necrosis Factor-alpha" or Lipopolysaccharide\* or LPS)
- (fructooligosaccharide or FOS) and ("bariatric surgery" or "roux-en-y")
- (fructooligosaccharide or FOS) and obesity

- (fructooligosaccharide or FOS) and (crp or "c-reactive protein" or albumin or "IL-1 beta" or "interleukin-1 beta" or IL-6 or "interleukin-6" or "interleukin-8" or IL-8 or "interleukin-10" or IL-10 or "interleukin-12" or IL-12 or TNF-alpha or "Tumor Necrosis Factor-alpha" or Lipopolysaccharide\* or LPS)
- Probiotic\* and ("bariatric surgery" or "roux-en-y")
- Probiotic\* and obesity

Após a busca utilizando as combinações dos termos supracitados, documentos de órgãos oficiais nacionais/internacionais e títulos e resumos dos artigos encontrados foram lidos com o objetivo de selecionar aqueles que teriam seu texto completo consultado (Figura 1). Os critérios de seleção foram: estudos observacionais, de intervenção ou revisões; que versavam sobre o uso de prebióticos e/ou probióticos e/ou simbióticos no sobrepeso, obesidade ou cirurgia bariátrica; com amostra composta por indivíduos adultos (18 a 65 anos de idade); citocinas, proteínas de fase aguda e índices antropométricos avaliados como desfechos. Em seguida, duplicatas e/ou triplicatas (n=264) foram excluídas e as bibliografias restantes foram lidas em sua íntegra para possível inclusão na presente pesquisa.

Figura 1 - Número de referências encontradas e selecionadas para consulta em bases de dados e sites de órgãos oficiais nacionais e internacionais.



Fonte: Do autor.

## 3.1 OBESIDADE

### 3.1.1 Epidemiologia

A obesidade é considerada uma doença crônica de natureza multifatorial dentre os quais estão fatores ambientais, nutricionais e genéticos, caracterizada pelo acúmulo excessivo de gordura corporal, acarretando prejuízos à saúde (BRASIL, 2007). De acordo com a *World Health Organization* (WHO, 1995), um indivíduo adulto é considerado obeso quando o seu índice de massa corporal (IMC) é igual ou superior a  $30 \text{ kg/m}^2$ , independente do sexo.

Dados da WHO revelaram que a obesidade mais que dobrou desde a década de 1980, atingindo proporções epidêmicas (WHO, 2013). Em 2008, aproximadamente 1,5 bilhões de adultos em todo o mundo estavam acima do peso e, destes, pelo menos 200 milhões eram homens obesos e 300 milhões mulheres obesas. Atualmente, 65% de toda a população mundial vive em países onde o sobrepeso e a obesidade mata mais que a desnutrição. No Brasil, segundo estudo realizado por Oliveira (2013), em que foi estimada a prevalência de obesidade mórbida ( $\text{IMC} \geq 40 \text{ kg/m}^2$ ) com base nos dados da Pesquisa de Orçamentos Familiares 2008-2009, mais de 1,5 milhões de brasileiros tem obesidade mórbida, com maior prevalência na Região Sul (0,98%). Também entre adultos, a Região Sul foi a que apresentou a maior frequência de obesidade: 15,9% nos homens e 19,6% nas mulheres. De uma forma geral, a obesidade no Brasil quadriplicou entre os homens e duplicou entre as mulheres nos últimos 35 anos (BRASIL, 2010).

Como a obesidade é um fator de risco para outras comorbidades, torna-se importante conhecer o impacto econômico destas também. As estimativas da WHO apontam para uma redução entre 0,5% e 1% do produto interno bruto de países como Brasil, Índia, Canadá, China, Inglaterra, Paquistão e Nigéria, entre 2005 e 2015, se não forem adotadas medidas de cuidado integral das doenças crônicas não transmissíveis (WHO, 2008a). Em 2011, os custos atribuíveis à obesidade no Brasil totalizaram aproximadamente 488 milhões de reais, sendo 116 milhões atribuíveis somente à obesidade mórbida (OLIVEIRA, 2013). A maior parte desse custo foi relacionada às doenças isquêmicas do coração e ao diabetes, os quais são comorbidades associadas à obesidade.

### 3.1.2 Inflamação e obesidade

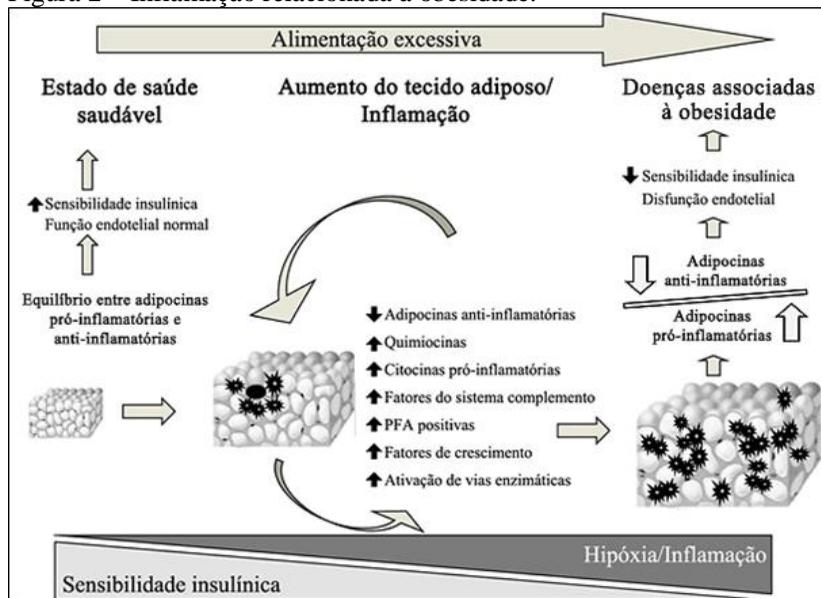
O tecido adiposo branco representa a maior parte do tecido adiposo em seres humanos, sendo o principal reservatório de energia, além de desempenhar função como isolante térmico e proteção de órgãos contra danos mecânicos (TRAYHURN, 2007). Contudo, o tecido adiposo branco é também reconhecido como importante órgão endócrino, parácrino e autócrino, apresentando alta atividade metabólica, sendo composto por adipócitos maduros, precursores (pré-adipócitos), células endoteliais e do sistema imunitário, vasos sanguíneos, nervos e tecidos linfático e conectivo (JOHNSON; MILNER; MAKOWSKI, 2012). Os adipócitos maduros, entre outras células desse tecido, secretam grande número de proteínas bioativas que controlam funções metabólicas, conhecidas como adipocinas. Estas incluem citocinas, quimiocinas, fatores de crescimento, proteínas de fase aguda, do sistema complemento e moléculas de adesão. As adipocinas estão envolvidas na regulação da pressão arterial, do apetite, metabolismo lipídico e glicídico, da angiogênese, resposta inflamatória e função reprodutiva (KARASTERGIOU; MOHAMED-ALI, 2010).

O tamanho e a localização dos adipócitos são importantes fatores que estão relacionados com o equilíbrio da secreção de adipocinas. Na obesidade, os adipócitos maduros tornam-se hipertrofiados devido ao acúmulo excessivo de gordura, o que resulta na expressão e secreção desregulada de adipocinas devido ao quadro de hipóxia decorrente do aumento no diâmetro do adipócito, deslocando o equilíbrio imunológico para a produção de moléculas pró-inflamatórias (SKURK et al., 2007; JOHNSON; MILNER; MAKOWSKI, 2012). Adicionalmente, os efeitos negativos decorrentes da obesidade estão intimamente relacionados à deposição de gordura no compartimento visceral. Ao contrário do acúmulo de gordura no tecido adiposo subcutâneo (subjacente à pele), o aumento da deposição de gordura no tecido adiposo visceral (localizado na cavidade abdominal entre os órgãos) tem sido associado às complicações decorrentes da obesidade, como DM2, hipertensão arterial sistêmica e dislipidemia. O acúmulo progressivo de gordura visceral (comum em indivíduos obesos) resulta no desequilíbrio da secreção de adipocinas, contribuindo para uma resposta pró-inflamatória (FOSTER; PAGLIASSOTTI, 2012).

Evidências mostram alta secreção de adipocinas e mediadores inflamatórios em indivíduos obesos, tais como proteína C-reativa (PCR), fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) e interleucina-6 (IL-6), contribuindo para a formação de um estado subinflamatório crônico

(SOLÁ et al., 2009; BOESING et al., 2010; FERNANDES et al., 2013). A elevação das concentrações plasmáticas destes marcadores está associada a maiores concentrações de colesterol total, triglicerídeos e insulina, bem como da glicose sanguínea no jejum, comparado a indivíduos não obesos (SOLÁ et al., 2009; FAIN, 2010). Como consequência, há o desenvolvimento de comorbidades associadas à obesidade, como a hipertensão, resistência à insulina, hiperglicemia, doenças cardiovasculares, asma, dislipidemia, colelitíase, osteoartrite e cânceres, proporcionando o aumento da mortalidade (Figura 2) (GALIC; OAKHILL; STEINBERG, 2010; JOHNSON; MILNER; MAKOWSKI, 2012). É esperado, portanto, que as adipocinas circulantes sejam úteis como biomarcadores para avaliação do risco de desenvolvimento de doenças associadas à obesidade.

Figura 2 – Inflamação relacionada à obesidade.



Abreviações: PFA – Proteínas de fase aguda.

Fonte: Karastergiou; Mohamed-Ali, 2010 (adaptado).

(●) Adipócito morto e (★) Macrófagos.

Inicialmente, acreditava-se que os adipócitos eram a principal fonte de mediadores inflamatórios no tecido adiposo. No entanto, é observado grande número de macrófagos infiltrados no tecido adiposo de indivíduos obesos e, juntamente com outras células (ex: neutrófilos, linfócitos B e T, células Natural Killer e mastócitos), também contribuem para a produção e secreção de mediadores inflamatórios (WEISBERG et al., 2003; JOHNSON; MILNER; MAKOWSKI, 2012).

Os macrófagos desempenham funções fagocíticas, reconhecendo, englobando e realizando a digestão de micro-organismos patogênicos e/ou substâncias que desencadeiam respostas inflamatórias, como o LPS. Também secretam moléculas que atraem outras células imunitárias para áreas de infecção, atuam como mediadores primários da resposta imunitária inata, além de participar da imunidade adaptativa como células apresentadoras de antígenos para as células T (GORDON, 2007).

A principal função dos macrófagos que residem no tecido adiposo permanece pouco conhecida. Tem sido proposto que a necrose de adipócitos secundária à hipertrofia pode levar à ativação de macrófagos (com a liberação de mediadores inflamatórios) e a subsequente eliminação dos adipócitos mortos (CINTI et al., 2005). Nesse sentido, tem-se observado que o número de macrófagos aumenta proporcionalmente de acordo com a quantidade de tecido adiposo, e são mais abundantes no tecido adiposo visceral que no subcutâneo (WEISBERG, 2003; JOHNSON; MILNER; MAKOWSKI, 2012). O acúmulo de macrófagos no tecido adiposo pode contribuir para a disfunção vascular endotelial e resistência à insulina, sugerindo que os macrófagos são células efetoras envolvidas no desenvolvimento das comorbidades associadas à obesidade (APOVIAN et al., 2008).

Contudo, evidências sugerem que os macrófagos que se acumulam no tecido adiposo de seres humanos tenham uma variedade de fenótipos, desempenhando funções diferentes (GORDON, 2007; DALMAS; CLEMENT; GUERRE-MILLO, 2011; JOHNSON; MILNER; MAKOWSKI, 2012). De um modo geral, os macrófagos são caracterizados por dois subtipos: macrófagos do tipo I (ou M1 ou ativados pela via clássica) e do tipo II (ou M2 ou ativados pela via alternativa).

Macrófagos M1 são polarizados a partir de macrófagos precursoros (M0) por meio da via clássica, em que componentes de bactérias, tais como LPS, ácidos graxos saturados e citocinas produzidas pelas células T helper 1 (Th1), como interferon gama (IFN- $\gamma$ ), conduzem a expressão de citocinas pró-inflamatórias pelos macrófagos, tais como TNF- $\alpha$ , interleucina-1 beta (IL-1 $\beta$ ), interleucina-12 (IL-12) e

espécies reativas de oxigênio. Em contraste, os macrófagos M2 são ativados por meio da via alternativa, em que citocinas produzidas pelas células T reguladoras (Treg), como interleucina-10 (IL-10), e pelas células T helper 2 (Th2), como interleucina-4 (IL-4), e interleucina-13 (IL-13), promovem a expressão de citocinas anti-inflamatórias pelos macrófagos, tais como IL-10 (DALMAS; CLEMENT; GUERRE-MILLO, 2011; JOHNSON; MILNER; MAKOWSKI, 2012).

Estudos mostram relação direta entre o acúmulo de gordura e o fenótipo de macrófagos M1 no tecido adiposo. Enquanto o tecido adiposo de indivíduos obesos secreta adipocinas que favorecem o fenótipo M1, como TNF- $\alpha$ , IL-6, interleucina-8 (IL-8), IFN- $\gamma$  e inibidor do ativador do plasminogênio-1, os indivíduos eutróficos secretam adipocinas que favorecem o desenvolvimento do fenótipo M2, como adiponectina, fator de transformação do crescimento beta, IL-4, IL-10 e IL-13 (WEISBERG et al., 2003; OUCHI et al., 2011). Essas evidências sugerem que a alteração do balanço entre macrófagos M1 e M2 pode contribuir para o estado inflamatório crônico de indivíduos obesos.

Além das adipocinas, um potencial modulador do fenótipo de macrófagos é o LPS (endotoxina bacteriana), um potente fator bioativo derivado de bactérias gram-negativas que residem no intestino, o qual pode ser absorvido pelos capilares intestinais e entrar na circulação sistêmica, induzir a inflamação em diversos tecidos e promover a polarização do fenótipo M1. Em obesos, a microbiota intestinal apresenta-se alterada, com maiores proporções de bactérias de ação negativa e menores proporções de bactérias de ação positiva. Esta condição está associada a maior disponibilidade de LPS para ser absorvido pelos capilares intestinais e ao desenvolvimento de distúrbios metabólicos e inflamatórios (KALLUS; BRANDT, 2012).

Nesse sentido, uma vez que a resposta inflamatória na obesidade pode estar relacionada a fatores como o tipo de adipocina e a maior disponibilidade de LPS, compreender a relação entre as características de marcadores inflamatórios e da microbiota intestinal no indivíduo obeso torna-se essencial para esclarecer o papel desses fatores na inflamação associada à obesidade.

### **3.1.3 Marcadores inflamatórios e obesidade**

Dentre os marcadores inflamatórios serão abordados aqueles que foram incluídos no desenho do estudo (PCR, albumina, IL-1 $\beta$ , IL-6 e TNF- $\alpha$ ).

A PCR foi uma das primeiras proteínas de fase aguda positivas descritas na literatura e atualmente é extensivamente estudada, constituindo-se como um marcador não específico, mas extremamente sensível de inflamação sistêmica e dano tecidual. A PCR é sintetizada pelos hepatócitos e sua produção é estimulada, principalmente, pela IL-6. Entretanto, existem evidências de produção extra-hepática, como em macrófagos e tecido adiposo. Nos seres humanos, a concentração sérica de PCR pode aumentar em mais de mil vezes, dependendo da intensidade do processo de doença. A PCR compartilha propriedades semelhantes funcionais das imunoglobulinas, como a capacidade de promover a aglutinação, fixação de complemento, fagocitose e precipitação de compostos policatiônicos e polianiônicos, amplificando, dessa forma, a resposta imunitária (ANSAR; GHOSH, 2013). Boesing et al. (2010) verificaram que a PCR encontrava-se elevada em indivíduos obesos no pré-operatório de cirurgia bariátrica. Chen et al. (2009) encontraram altas concentrações séricas de PCR em obesos mórbidos, exibindo relação direta com IMC, circunferência da cintura, glicemia, insulina, peptídeo C, síndrome metabólica e contagem de leucócitos.

A albumina é a proteína mais abundante do plasma, representando cerca de 50% de todas as proteínas plasmáticas, sendo considerada uma proteína de fase aguda negativa (QUINLAN; MARTIN; EVANS, 2005). Exerce importantes funções fisiológicas e farmacológicas, dentre as quais se destacam o transporte de metais, ácidos graxos, colesterol, pigmentos biliares e fármacos, além de ser considerado o maior antioxidante plasmático e o principal regulador da pressão oncótica e da distribuição dos fluidos corporais entre os diferentes compartimentos. A síntese depende de uma interação complexa entre a pressão coloidosmótica no fluido extracelular hepático, hormônios que estimulam sua síntese (corticosteróides e esteróides anabólicos), citocinas pró-inflamatórias que inibem sua síntese (principalmente IL-6 e TNF- $\alpha$ ) e o estado nutricional (ROCHE et al., 2008). Em indivíduos obesos, Schweiger et al. (2010) encontraram concentrações de albumina dentro do valor de referência (3,5 – 5,0 g/dL), ao contrário de Ernst et al. (2009) que observaram um número significativo (>10%) de indivíduos obesos com baixas concentrações séricas de albumina.

O TNF- $\alpha$  é uma citocina pró-inflamatória produzida por diferentes tipos de células. É rapidamente produzida após o trauma, infecção e exposição ao LPS, sendo um dos mediadores mais abundantes no tecido inflamado. Entre as suas várias funções está o papel fundamental na orquestração da cascata de produção de citocinas.

O TNF- $\alpha$  é também considerado um “regulador mestre” na produção de citocinas pró-inflamatórias. (PARAMESWARAN; PATIAL, 2010). Em indivíduos obesos, maiores concentrações do receptor solúvel do TNF do tipo II têm sido correlacionados positivamente com o tecido adiposo visceral, IMC, circunferência da cintura, massa gorda e insulina plasmática (CARTIER et al., 2010).

A IL-1 $\beta$  inicia e potencializa respostas inflamatórias, sendo um dos mediadores responsáveis pela indução da produção de proteínas de fase aguda pelo fígado e pela síntese de quimiocinas, incluindo IL-8. Estes mediadores são produzidos por diversas células imunitárias, incluindo macrófagos, monócitos, linfócitos, neutrófilos, dentre outras (AKDIS et al., 2011). A IL-1 $\beta$  é fortemente associada ao DM2, pois inibe diretamente vias de sinalização da insulina (JAGER et al., 2007). Em um estudo transversal realizado com indivíduos obesos não foi observado diferenças significativas nas concentrações plasmáticas de IL-1 $\beta$  quando comparado a controles não obesos (MARQUES-VIDAL et al., 2012), embora uma outra investigação tenha encontrado correlação positiva entre a liberação de IL-1 $\beta$  e a massa total de gordura em amostras do tecido adiposo omental de mulheres obesas (FAIN, 2010).

A IL-6 é uma citocina pleiotrópica multifuncional envolvida na regulação de respostas imunitárias, respostas de fase aguda, hematopoiese e inflamação. É produzida por células endoteliais, fibroblastos, monócitos e macrófagos em resposta a diferentes estímulos (ex: LPS, IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ ) durante a inflamação sistêmica. Na imunidade inata, a IL-6 coordena a ativação de leucócitos e induz a produção de proteínas de fase aguda. Também promove a proliferação de células T, diferenciação de células B e a produção de imunoglobulinas (ADKIS et al., 2011). Em uma coorte de participantes *do Framingham Heart Study* (n=1.250), a IL-6 correlacionou-se positivamente e significativamente com o tecido adiposo visceral, mesmo após ajuste para IMC e circunferência da cintura (POU et al., 2007). Resultado semelhante foi encontrado por Cartier et al. (2010), em que associações positivas com a adiposidade e concentrações plasmáticas de insulina foram observadas.

### **3.1.4 Microbiota intestinal e obesidade**

Além dos fatores circulantes comumente envolvidos nas disfunções metabólicas presentes no indivíduo obeso, a microbiota intestinal parece estar relacionada com a patogênese e a progressão da obesidade. A terminologia “microbiota intestinal” refere-se aos micro-

organismos que residem no intestino, sendo composta por espécies nativas que colonizam permanentemente o trato gastrointestinal e por um número variável de microrganismos que vivem temporariamente no trato digestório. A microbiota intestinal humana compreende 10 a 100 trilhões de micro-organismos, pertencentes principalmente aos gêneros bacterianos *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Eubacterium*, *Clostridium*, *Lactobacillus*, *Fusobacterium* e cocos gram positivos. O núcleo filogenético da microbiota fecal de um adulto saudável é constituído por um conjunto de cinco filos: Firmicutes (79,4%), Bacteroidetes (16,9%), Actinobacteria (2,5%), Proteobacteria (1%) e Verrucomicrobia (0,1%) (TAP et al., 2009).

A microbiota intestinal tem muitas funções importantes no intestino humano, tais como a síntese, digestão e absorção de nutrientes, imunestimulação e controle de patógenos. Tanto no intestino humano quanto de camundongos, tem sido relatado que o aparecimento da obesidade está associado à diminuição da proporção Bacteroidetes/Firmicutes (LEY et al., 2006; TURNBAUGH et al., 2009). Outros estudos observaram o aumento de algumas espécies de bactérias na obesidade, como *Lactobacillus reuteri*, *Staphylococcus aureus* (ambos do filo bacteriano Firmicutes) e *Escherichia coli* (pertencente ao filo bacteriano Proteobacteria), enquanto que outros grupos de bactérias têm sido associados com a eutrofia, pertencentes, sobretudo as espécies de *Bifidobacterium* (filo bacteriano Actinobacteria) (TURNBAUGH et al., 2009; BENSON et al., 2010).

Adicionalmente, a microbiota intestinal parece estar envolvida na resposta inflamatória e na deterioração de parâmetros metabólicos. Ley et al. (2006) e Furet et al. (2010) compararam indivíduos obesos e eutróficos e observaram significativo aumento de bactérias gram-positivas (filo Firmicutes) e diminuição de bactérias gram-negativas (filo Bacteroidetes) nos indivíduos obesos.

O LPS, também conhecido como endotoxina, é um componente altamente tóxico derivado da membrana celular externa de bactérias gram-negativas, o qual tem sido apontado como um dos ativadores do processo inflamatório na obesidade. De fato, a inflamação foi induzida em humanos sem obesidade (TAUDORF et al., 2007) e com obesidade após injeção intravenosa de LPS (ROHRER et al., 2011), resultando em aumento da temperatura corporal, de batimentos cardíacos, das concentrações de TNF- $\alpha$  e IL-6, e de cortisol. O LPS é absorvido pelos capilares localizados na mucosa intestinal quando ocorre a morte das bactérias gram-negativas, resultando em grandes quantidades de LPS na circulação, uma condição conhecida como endotoxemia metabólica

(KALLUS; BRANDT, 2012). Mesmo em pequenas quantidades, esta substância pode promover respostas inflamatórias importantes.

Em conjunto, estes eventos mostram que a alteração da microbiota intestinal na obesidade pode promover e contribuir para a exacerbação de distúrbios metabólicos e inflamatórios.

### 3.1.5 Processo terapêutico

Diante de todas as consequências negativas da obesidade, cresce o número de intervenções cirúrgicas para o tratamento da obesidade. Segundo as Diretrizes Brasileiras de Obesidade (ABESO, 2009), há várias opções de tratamento, iniciando com as terapias não farmacológica (dieta, atividade física, modificação comportamental e envolvimento familiar) e farmacológica, contando com uma equipe multidisciplinar. Nos casos de obesidade severa com falha de tratamento não-farmacológico e farmacológico, a cirurgia bariátrica é um recurso terapêutico consistente, proporcionando redução nos índices de mortalidade e melhora de comorbidades clínicas, como desordens cardiovasculares, endocrinológicas e infecciosas (MAGGARD et al., 2005; SJÖSTROM et al., 2012).

As cirurgias bariátricas são classificadas em restritivas, disabsortivas ou mistas. Os procedimentos restritivos limitam o diâmetro luminal do estômago, mas não excluem segmentos intestinais. Os procedimentos disabsortivos reduzem a área da mucosa intestinal disponível para a absorção de nutrientes por meio da exclusão de segmentos intestinais. As cirurgias mistas envolvem tanto procedimentos restritivos quanto disabsortivos (ex: RYGB) (NEFF; LE ROUX, 2012).

No mundo, o número de cirurgias bariátricas saltou de 146 mil em 2003 para 340 mil em 2011. A técnica cirúrgica mais realizada é a RYGB (46,6%), seguida da gastrectomia vertical (27,8%), banda gástrica ajustável (17,8%), derivação biliopancreática com ou sem desvio duodenal (2,2%) e outras cirurgias (5,6%). O Brasil é o país com maior número de cirurgias bariátricas em todo o mundo ( $n = 2.750$ ). Apesar disso, ficou na vice-liderança em número de cirurgias realizadas em 2011 ( $n = 65.000$ ), atrás dos Estados Unidos (101.645) (BUCHWALD; OIEN, 2013).

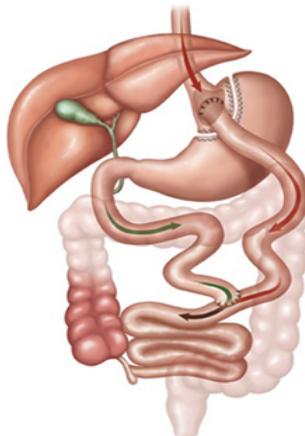
De acordo com a Sociedade Brasileira de Cirurgia Bariátrica e Metabólica (SBCBM, 2014), são aprovadas, no Brasil, quatro modalidades diferentes de cirurgia bariátrica e metabólica: 1) RYGB; 2) banda gástrica ajustável; 3) gastrectomia vertical (*sleeve*) e 4) derivação

biliopancreática com desvio duodenal. A RYGB é o procedimento mais realizado no Brasil, tanto na rede privada quanto na rede pública, correspondendo a 70% das cirurgias bariátricas, devido a sua segurança e, principalmente, sua eficácia. Entretanto, complicações pós-cirúrgicas podem ocorrer, como anormalidades nutricionais e eletrolíticas, refluxo, vômitos, e outras complicações gastrointestinais (MAGGARD et al., 2005; NEFF; LE ROUX, 2012) as quais podem estar relacionadas à alteração da homeostase imunológica e metabólica.

### 3.2 DERIVAÇÃO GÁSTRICA EM Y DE ROUX

Esta cirurgia, que é irreversível, envolve a criação de uma pequena bolsa gástrica (aproximadamente 30 mL) diretamente ligado ao jejuno distal (após ser dividido em 30-75 cm do ligamento de Treitz) formando uma alça em forma de Y, denominada alça alimentar do Y de Roux. A alça biliar, composta pelo estômago, duodeno e a parte proximal do jejuno remanescentes, é subsequentemente anastomosada 75 a 150 cm abaixo da anastomose gastrojejunal. Assim, apenas o alimento passa através da alça alimentar do Y de Roux. A bile e as secreções gástricas e pancreáticas transitam, inicialmente, pela alça biliar até entrar em contato com o alimento na altura da anastomose jejuno-jejunal. Dessa forma, o processo funciona tanto por restringir a ingestão como por retardar a digestão e absorção de alimentos (Figura 3) (NEFF; LE ROUX, 2012).

Figura 3 – Derivação gástrica em Y de Roux.



Entre 2008 e 2013, aumentou em 218,4% o número de RYGB realizadas na rede pública de saúde, com destaque para a Região Sul que responde por mais da metade dessas cirurgias (Quadro 1).

Quadro 1 – Evolução do número de cirurgias bariátricas pela técnica Y de Roux na rede pública de saúde. Brasil e Região Sul, 2008-2013.

Ano	Quantidade de cirurgias bariátricas pela técnica Y de Roux	
	Brasil	Região Sul
2008	2.963	1.295
2009	3.489	1.672
2010	4.251	2.281
2011	5.026	2.669
2012	5.748	3.078
2013	6.471	3.525

Fonte: Brasil, 2014.

### 3.2.1 Benefícios e complicações

O *Swedish Obesity Study* é o maior e mais antigo estudo de intervenção prospectivo, não randomizado, que examinou os efeitos da cirurgia bariátrica em 4047 pacientes obesos com controles tratados convencionalmente. Os resultados demonstraram a perda de peso total no grupo que realizou a RYGB foi de 32% em 1-2 anos, 25% em 10 anos e 27% em 15 anos de cirurgia. Ainda, a cirurgia bariátrica foi associada com a redução de mortes por doenças cardiovasculares (RR 0,47; 95% IC, 0,29-0,76; p=0,002) e menor incidência de eventos cardiovasculares (RR 0,67; 95% IC, 0,54-0,83; p=0,001) (SJÖSTROM et al., 2012). Na meta-análise realizada por Buchwald et al. (2004) a porcentagem da perda de excesso de peso foi de 61,6% após dois anos de RYGB. Outros benefícios incluem a melhora nas concentrações plasmáticas de glicose, hemoglobina glicada e insulina (HERRON; TONG, 2009) e melhora do perfil lipídico (BRETHAUER et al., 2011; DALMAS et al., 2011; SJÖSTROM et al., 2012).

Apesar desses benefícios, um número importante de complicações pode ocorrer após a cirurgia, embora seja considerado um procedimento cirúrgico seguro. Maggard et al. (2005) em uma meta-análise constataram que a taxa de mortalidade precoce foi de 1,0% (IC95%, 0,5% – 1,9%) em ensaios clínicos controlados. O mesmo

estudo observou uma taxa relevante de efeitos adversos após a RYGB (16,9%). Refluxo (10,9%), vômitos (15,7%), anormalidades eletrolíticas e nutricionais (16,9%), e eventos relacionados à cirurgia (fístulas, sangramento) (18,7%) foram as complicações mais comuns. Deficiência de ferro, vitamina B<sub>12</sub>, folato e vitaminas lipossolúveis ocorrem frequentemente após a RYGB, sendo agravada pelo consumo de glicose (ZIEGLER et al., 2009). Complicações relacionadas à microbiota intestinal incluem a menor secreção de ácido gástrico, que pode favorecer a hiperproliferação bacteriana, dismotilidade intestinal, e deslocamento de bactérias típicas do intestino delgado para o intestino grosso (ZHANG et al., 2009).

### **3.2.2 Marcadores inflamatórios após a derivação gástrica em Y de Roux**

Muitos dos benefícios citados têm sido relacionados à redução significativa nas concentrações plasmáticas de marcadores inflamatórios, tais como PCR, IL-1 $\beta$  e IL-6 (ALVEHUS et al., 2012; BOESING et al., 2010; DALMAS et al., 2011; ILLÁN-GOMEZ et al., 2012; PÉREZ-ROMERO et al., 2010). Em uma meta-análise, foi encontrada redução significativa das concentrações séricas ou plasmáticas de PCR (66%) e IL-6 (27%) após a cirurgia bariátrica, sem redução significativa para o TNF- $\alpha$  (RAO, 2012). Estes marcadores inflamatórios assumem elevada importância tendo em vista o papel dos mesmos na patogênese de comorbidades associadas à obesidade. Contudo, não está claro se a diminuição nas concentrações desses marcadores após a cirurgia tem um efeito positivo importante na saúde dos indivíduos (RAO, 2012).

### **3.2.3 Microbiota intestinal e derivação gástrica em Y de Roux**

Número limitado de estudos tem avaliado a microbiota intestinal após a cirurgia bariátrica, incluindo a RYGB. Apenas quatro estudos em humanos foram realizados, com diferentes metodologias. Em ambos os estudos, não se pode decifrar se as alterações na microbiota intestinal ocorrem devido a alterações na ingestão e digestão de alimentos, a modificações específicas do procedimento cirúrgico ou a melhorias no perfil metabólico (ARON-WISNEWSKI; DORÉ; CLEMENT, 2012).

Zhang et al. (2009) verificaram que o filo *Firmicutes* é dominante em indivíduos eutróficos ou obesos, diminuindo significativamente após a RYGB, ao contrário da classe *Gammaproteobacteria* (96,2% são

membros da família *Enterobacteriaceae*, sendo o LPS o principal antígeno dessa família) que aumentou significativamente.

Furet et al. (2010) verificaram que a razão Bacteroides/Prevotella (gêneros de bactérias pertencentes ao filo Bacteroidetes) foi menor em indivíduos obesos e maior após três meses de RYGB, correlacionando-se negativamente com o peso corporal, IMC, massa corporal gorda e leptina sérica. No mesmo estudo, o aumento na razão referida teve associação negativa com alguns parâmetros, como o ganho de peso corporal, desenvolvimento de massa gorda, inflamação, hipercolesterolemia, resistência à insulina e lipólise. Por outro lado, foram encontradas quantidades aumentadas de espécies de *Faecalibacterium prausnitzii* após a RYGB, a qual foi diretamente associada à atenuação da inflamação. De fato, a *Faecalibacterium prausnitzii* apresenta propriedades anti-inflamatórias, sendo associada a menores concentrações de IL-12 e INF- $\gamma$  e maiores concentrações de IL-10 (HANSEN et al., 2012).

Graessler et al. (2013) caracterizaram mudanças na composição da microbiota intestinal de indivíduos obesos com DM2 antes e após três meses de RYGB. Eles verificaram alta diversidade da microbiota intestinal após a RYGB, com redução de bactérias pertencentes aos filos Bacteroidetes e Firmicutes e aumento do filo Proteobacteria. A diminuição de bactérias do filo bacteriano Firmicutes esteve associada ao aumento das concentrações séricas de PCR.

Kong et al. (2013) encontraram maior diversificação da microbiota após a RYGB. Além disso, associações entre a composição da microbiota intestinal e a expressão de genes do tecido adiposo branco aumentaram após a RYGB. Os genes mais expressados pertenciam a vias anti-inflamatórias, enquanto os genes menos expressados pertenciam a vias metabólicas relacionadas, principalmente, a homeostase energética, glicêmica e enzimática e a vias pró-inflamatórias.

Neste sentido, visto a gama de alterações que a microbiota intestinal pode apresentar tanto antes quanto após a RYGB, e o quanto estas mudanças podem conduzir a diferentes perfis imunológicos e metabólicos, torna-se oportuno estudar o papel de potenciais moduladores da microbiota intestinal que promovem a restauração da homeostase microbiana e a relação do efeito desses em parâmetros imunológicos e metabólicos (PINEIRO et al., 2008; SANDERS et al., 2010).

### 3.3 PREBIÓTICOS E SIMBIÓTICOS

#### 3.3.1 Definição e caracterização

Dentre os moduladores da microbiota intestinal, destacam-se os prebióticos e simbióticos, suplementos considerados seguros por estarem naturalmente contidos em alimentos e na microbiota intestinal humana (PINEIRO et al., 2008; SANDERS et al., 2010). Prebióticos são ingredientes seletivamente fermentados que permitem alterações específicas tanto na composição e/ou atividade da microbiota gastrointestinal, conferindo benefícios sobre a saúde e bem estar do hospedeiro (GIBSON et al., 2004). Probióticos são micro-organismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios à saúde do hospedeiro. Já os simbióticos são combinações apropriadas de prebióticos e probióticos. Um produto simbiótico exerce um efeito tanto prebiótico como probiótico (WGO, 2011).

Para o alimento ser considerado prebiótico, devem ser atendidos alguns requisitos (GIBSON; ROBERFROID, 1995):

- 1) Não ser hidrolisado nem ser absorvido na parte superior do trato gastrointestinal;
- 2) Ser um substrato seletivo para um pequeno número de bactérias benéficas para o cólon, que são estimuladas a crescer e/ou são metabolicamente ativadas;
- 3) Ser capaz de alterar a flora colônica em favor de uma composição mais saudável;
- 4) Induzir efeitos luminiais ou sistêmicos que são benéficos para a saúde do hospedeiro.

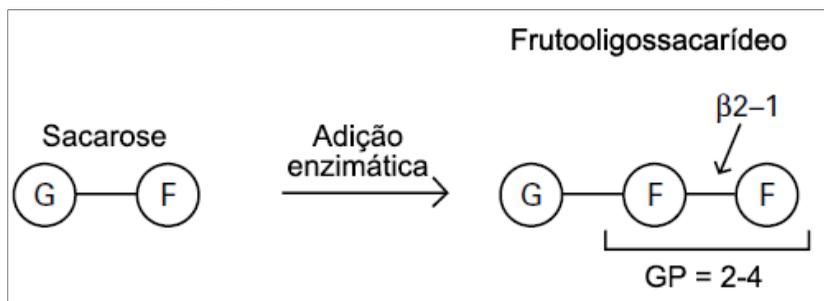
Existe uma gama de substâncias consideradas prebióticas, porém as mais comuns são: inulina, fruto-oligossacarídeos (FOS), oligofrutose e galacto-oligossacarídeos. A maioria dos estudos tem focado na inulina, FOS e galacto-oligossacarídeos (PINEIRO et al., 2008).

No presente trabalho será dado enfoque ao FOS, pois é um dos prebióticos mais estudados em humanos, juntamente com a inulina e a oligofrutose, com relação ao potencial de modular o sistema imunitário e de alterar a composição da microbiota intestinal após curto período de suplementação. Além disso, poucas evidências na literatura estão disponíveis sobre as propriedades imunomoduladoras de outras substâncias com atividade prebiótica.

Os FOS são carboidratos não-digeríveis pertencentes à família dos frutanos, que são oligo ou polissacarídeos encontrados em compostos de origem vegetal, como cebola, aspargos, alcachofra, alho,

trigo, banana, tomate e mel. A sua estrutura química é composta por uma cadeia de unidades de frutose com uma unidade terminal de glicose unida por ligações glicosídicas  $\beta$ -(2-1), o que significa que eles não podem ser hidrolisados por enzimas digestivas humanas (LOMAX; CALDER, 2009). A forma comercial de FOS é obtida por meio da adição enzimática de resíduos de frutose à sacarose (Figura 4).

Figura 4 – Estrutura do fruto-oligossacarídeo obtido por adição enzimática de frutose.



Abreviações: G – Glicose; F – Frutose; GP – Grau de polimerização.

Fonte: Lomax; Calder, 2009.

O FOS resiste à hidrólise enzimática no intestino delgado e entra no ceco com sua estrutura intacta. Entretanto, não é excretado nas fezes, o que indica sua completa fermentação no cólon. A utilização do FOS é mediada pelas hidrolases bacterianas do cólon, já que as bactérias produzem enzimas glicolíticas que hidrolisam a estrutura do FOS em mono ou dissacarídeos, os quais são transportados pelos enterócitos e metabolizados em ácidos graxos de cadeia curta (absorvidos e utilizados por diferentes tecidos), lactato,  $\text{CO}_2$  e hidrogênio. Todos os ácidos graxos de cadeia curta (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, além de impedir o crescimento de bactérias potencialmente patogênicas. O FOS também exerce outros efeitos positivos à saúde humana, como alívio da constipação, efeitos positivos na absorção de minerais, regulação do metabolismo lipídico e glicídico, diminuição do risco de câncer de cólon e imunorregulação (SABATER-MOLINA et al., 2009). É importante salientar que, após

extensa revisão de literatura, não foram encontrados estudos que avaliaram a suplementação de FOS após a RYGB.

Outra possibilidade de modular a microbiota intestinal é a utilização de simbióticos. O conceito de simbiótico foi definido em 1995 como “misturas de probióticos e prebióticos que afetam benéficamente o hospedeiro, melhorando a sobrevivência e implantação de micróbios vivos no trato gastrointestinal, por meio do estímulo seletivo ao crescimento e/ou por ativação do metabolismo de um ou de um número limitado de bactérias promotoras da saúde, melhorando, assim, o bem-estar do hospedeiro” (GIBSON; ROBERFROID, 1995). Como a definição de simbiótico está intrinsicamente ligada às definições de prebiótico e probiótico, é importante mencionar alguns aspectos dos prebióticos (já discutido acima) e dos probióticos, com destaque para aqueles que serão utilizados no presente estudo, as bifidobactérias e os lactobacilos.

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

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

Em particular, espécies bacterianas pertencentes aos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* têm sido extensivamente estudados e utilizados como probióticos (Quadro 2) (BERNARDEAU et al., 2008; RUSSELL et al., 2011; WILLIAMS, 2012).

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

<b>Filos</b>	<b>Gêneros</b>	<b>Espécies</b>
Firmicutes	<i>Lactobacillus</i>	<i>acidophilus</i>
		<i>bulgaricus</i>
		<i>casei</i>
		<i>crispatus</i>
		<i>fermentum</i>
		<i>gasserii</i>
		<i>johnsonii</i>
		<i>lactis</i>
		<i>paracasei</i>
		<i>plantarum</i>
		<i>reuteri</i>
Actinobacteria	<i>Bifidobacterium</i>	<i>rhamnosus</i>
		<i>adolescentes</i>
		<i>animalis</i>
		<i>bifidum</i>
		<i>breve</i>
		<i>infantis</i>
		<i>lactis</i>
		<i>longum</i>

Fonte: Williams, 2012.

Bifidobactérias são bactérias probióticas gram-positivas e anaeróbias, pertencentes ao filo Actinobacteria. Estes são encontradas ao longo de todo o trato gastrointestinal, mas compõem apenas 3% de toda a microbiota intestinal de adultos (RUSSELL et al., 2011). Cani et al. (2007) verificaram que entre diferentes bactérias intestinais de camundongos, as espécies de bifidobactérias correlacionaram-se negativamente com as concentrações plasmáticas de LPS e positivamente com a melhora da tolerância à glicose, a secreção de insulina induzida por glicose e diminuição das citocinas pró-inflamatórias no plasma e no tecido adiposo. As bifidobactérias são encontradas no trato gastrointestinal em uma correlação inversa com as bactérias de ação negativa, o que poderia sugerir que as bifidobactérias podem prevenir o crescimento de micro-organismos indesejáveis (ÁLVARO et al., 2007). Outros benefícios incluem: imunorregulação (menores concentrações de mediadores pró-inflamatórios e maiores

concentrações de mediadores anti-inflamatórios), melhora do perfil lipídico, redução da intolerância à lactose, prevenção da diarreia infecciosa, prevenção do câncer e de infecções (RUSSELL et al., 2011).

O gênero *Lactobacillus* é amplamente distribuído no meio ambiente, especialmente em vegetais e nos tratos gastrointestinal e genital. Sua ocorrência é influenciada por diversos fatores ambientais, tais como pH, presença de oxigênio, temperatura e interações com outras bactérias. São bactérias probióticas gram-positivas, anaeróbias facultativas ou microaerófilas (requer menor quantidade de oxigênio), pertencentes ao filo Firmicutes. Estes são amplamente encontrados em lácteos, como leite fermentado, iogurte e queijo. No trato gastrointestinal de humanos saudáveis estão normalmente presentes na cavidade oral, no íleo e no cólon (BERNARDEAU et al., 2008). Em indivíduos submetidos à RYGB, um ensaio clínico randomizado mostrou que, seis meses após a realização do procedimento, o grupo suplementado ininterruptamente com lactobacilos apresentou redução significativa da hiperproliferação bacteriana quando comparado ao grupo pré-operatório e maiores concentrações de vitamina B<sub>12</sub> que o grupo controle. Além disso, o grupo suplementado atingiu, após três meses, maior perda de peso (WOODARD et al., 2009). Outros benefícios incluem: controle da inflamação intestinal, manutenção da remissão da doença de Crohn, prevenção da diarreia relacionada a antibióticos e prevenção de infecções e alergias (BERNARDEAU et al., 2008).

Complementarmente, outra condição deve ser atendida para ser considerado um produto simbiótico: o prebiótico favorecer seletivamente o crescimento do probiótico. Baseado na corrente definição, existem dois tipos de simbiótico: complementar, em que o prebiótico escolhido pode promover o crescimento e a atividade do probiótico, mas de forma indireta; e sinérgica, em que o prebiótico escolhido deve estimular especificamente o crescimento e a atividade do probiótico selecionado (KOLIDA; GIBSON, 2011). Em geral, estudos que investigaram o impacto da FOS na microbiota intestinal humana relataram que a FOS tem efeito bifidogênico, ou seja, promove diretamente o crescimento de bifidobactérias (BOUHNİK et al., 2004; BOUHNİK et al., 2006). De modo similar, estudos verificaram que o FOS foi capaz de promover diretamente o crescimento de lactobacilos, mas em menor proporção que as bifidobactérias (ENDO et al., 2012). Igualmente ao FOS, ressalta-se que também não foram encontrados estudos que avaliaram a suplementação de simbióticos após a RYGB.

### 3.3.2 Doses utilizadas, segurança e efeitos adversos

Com relação à dose adequada de FOS para promover efeito bifidogênico, Bouhnik et al., (1999) avaliaram a capacidade de diferentes doses de FOS em estimular o crescimento de bifidobactérias em indivíduos adultos saudáveis. Foram suplementados 40 indivíduos com diferentes doses de FOS durante sete dias ( $G_0$ : 0 g/dia;  $G_{2,5}$ : 2,5 g/dia;  $G_5$ : 5 g/dia;  $G_{10}$ : 10 g/dia;  $G_{20}$ : 20 g/dia). Após sete dias, o número de bifidobactérias aumentou significativamente nos grupos  $G_5$ ,  $G_{10}$  e  $G_{20}$ . Os grupos  $G_{10}$  e  $G_{20}$  apresentaram quantidade significativamente maior de bifidobactérias comparado aos grupos  $G_0$  e  $G_{2,5}$ . Nenhum dos participantes relatou eventos diarreicos ou náusea, embora nos grupos  $G_{10}$  e  $G_{20}$  os efeitos adversos tenham sido significativamente maiores, sugerindo uma dose máxima tolerável de 10 g/dia.

Apesar da carência de ensaios clínicos em humanos que permitam inferir a dose adequada de FOS para promover o crescimento de lactobacilos, estudos *in vitro* revelaram a capacidade dos lactobacilos em utilizar o FOS como substrato energético (BAÑUELOS et al., 2008; ENDO et al., 2012).

Sobre a dose adequada de bactérias probióticas, Hempel et al. (2011) relataram que as recomendações de consumo variam amplamente, mas que os produtos são eficazes quando apresentam entre  $1 \times 10^8$  a  $1 \times 10^9$  Unidades Formadoras de Colônia.

Estudos que avaliaram a relação entre consumo de prebióticos/probióticos/simbióticos e efeitos adversos são limitados. O risco de infecção de lactobacilos é estimado em cerca de um caso a cada 10 milhões de pessoas (BERNARDEAU et al., 2006). Além disso, o risco de bacteremia causado por lactobacilos ou bifidobactérias não é considerado significativo, com menos de um caso a cada milhão de indivíduos (BORRIELLO et al., 2003). Hempel et al. (2011) reuniram estudos experimentais que avaliaram a segurança da suplementação de *Lactobacillus spp.*, *Bifidobacterium spp.* e outras espécies bacterianas, com o objetivo de reduzir, prevenir ou tratar doenças. Após compilação dos resultados de todas as investigações avaliadas, foi verificado que o risco relativo para ocorrência de efeitos adversos após a suplementação de *Lactobacillus spp.* foi de 0,98 (IC95%: 0,87-1,11,  $p=0,785$ ) e após a suplementação de *Bifidobacterium spp.* foi de 0,90 (IC95%: 0,01-1,10,  $p=0,302$ ) quando comparados com indivíduos sem doenças, e após suplementação com simbióticos o risco relativo foi de 1,08 (IC95%: 0,83-1,39;  $p=0,582$ ), quando comparados com indivíduos que consumiram probióticos. Os raros casos relatados de bacteremia ou

sepses causados por bifidobactérias e lactobacilos ocorreram apenas em indivíduos imunocomprometidos ou com doenças graves.

### 3.3.3 Imunomodulação

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

Como discutido anteriormente, os prebióticos são fermentados pelas bactérias presentes no cólon, gerando AGCC. Estes ácidos graxos são absorvidos pela mucosa intestinal e exercem efeitos anti-inflamatórios (TEDELIND et al., 2007) e da integridade da barreira intestinal, regulando o sistema imunitário em várias direções: ativação do receptor acoplado a proteína G 43 (GPR43); inibição de histonas desacetilases e regulação da autofagia (DONOHOE et al., 2011; MASLOWSKI et al., 2009; WALDECKER et al., 2008). GPR43 é uma proteína que reconhece AGCC em tecidos periféricos, incluindo butirato, propionato e acetato, sendo altamente expressa por neutrófilos, macrófagos e monócitos. Maslowski et al. (2009) verificaram que camundongos deficientes em GPR43 apresentaram inflamação exacerbada em colite, artrite e asma. Segundo os autores, este fato estaria relacionado com o aumento da produção de mediadores inflamatórios, como TNF- $\alpha$  e espécies reativas de oxigênio. Após tratamento com acetato, os valores destes mediadores se aproximaram dos valores observados no grupo controle.

Outros tipos de células que têm emergido como alvo para os AGCC incluem monócitos, células dendríticas, células T e células do epitélio intestinal. As células mononucleares do sangue periférico humano expressam GPR43, e o tratamento destas células com AGCC diminuiu a expressão da proteína quimiotática de monócitos-1 e a produção de TNF- $\alpha$  e IFN- $\gamma$  em resposta ao tratamento com LPS (COX et al., 2009). Em células dendríticas, o tratamento com butirato está

relacionado à diminuição na expressão de células T e de citocinas pró-inflamatórias, como IL-12 e IFN- $\gamma$ , e aumento na expressão de IL-10 (LIU et al., 2012). Além disso, os AGCC podem inibir a proliferação e promovem a apoptose de células T CD4<sup>+</sup>, sendo este efeito dose-dependente (BAILON et al., 2010). Em células epiteliais colônicas, a deficiência de AGCC promoveu a ativação da autofagia, fato relacionado à integridade da barreira intestinal (DONOHOE et al., 2011). De fato, tem sido observado em culturas de enterócitos que o butirato reforça a barreira intestinal, regulando o conjunto das proteínas de junção oclusivas (“*tight junctions*”), impedindo, desta forma, a passagem de componentes bacterianos, como o LPS (PENG et al., 2009). Apesar destas ações positivas, novos estudos são necessários para elucidar os mecanismos moleculares pelos quais os AGCC regulam o sistema imunitário.

Em particular, ensaios que investigaram apenas o efeito do FOS (sem outro prebiótico ou imunomodulador associado) sobre citocinas e proteínas de fase aguda estão apresentados no quadro 3. Os nove estudos foram conduzidos no Japão, Suíça, Estados Unidos, Espanha, Brasil ou México com diferentes modelos animais e todos apresentavam grupo controle. O tempo de suplementação variou entre dois e doze semanas com doses variadas. Quatro estudos não observaram diferenças significativas nas concentrações dos marcadores inflamatórios avaliados (IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-10 e albumina), enquanto cinco estudos obtiveram resultados controversos, sendo observado tanto aumento (IFN- $\gamma$ , IL-1 $\beta$ , IL-5, IL-6 e IL-10) quanto diminuição (TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-10, IL-12 e IL-17) de marcadores inflamatórios. Entretanto, ressalta-se a heterogeneidade entre os estudos, com diferentes modelos animais, condições de saúde, doses e tempo de suplementação, o que reforça a necessidade de maior número de estudos para elucidar o papel do FOS na imunomodulação. Importante destacar que não foram encontrados estudos em humanos que utilizaram apenas FOS e que tinham como desfechos as concentrações plasmáticas de citocinas e/ou proteínas de fase aguda.

Com relação aos simbióticos, devido ao fato dos mesmos conterem probióticos em sua composição, torna-se relevante trazer evidências que destaquem o papel dos probióticos na imunomodulação. Os probióticos interagem com uma ampla variedade de células (enterócitos, células dendríticas, Th<sub>1</sub>, Th<sub>2</sub>, Treg) no intestino e pode modular a resposta imunitária em direção à ação pró ou anti-inflamatória. No entanto, devem-se evitar generalizações sobre potenciais benefícios dos probióticos para a saúde, pois os efeitos

probióticos são específicos para cada cepa, assim, o benefício à saúde atribuído a uma cepa não se aplica necessariamente a outra cepa, mesmo dentro de uma mesma espécie (WILLIAMS, 2012).

Haller et al. (2000) observaram que em uma cultura de células Caco-2 a cepa bacteriana *Lactobacillus sakei* LTH 681 induziu a expressão do RNAm de IL-1 $\beta$ , IL-8 e TNF- $\alpha$  (pró-inflamatórias), ao passo que a cepa *Lactobacillus johnsonii* La 1 estimulou a expressão do RNAm do TGF- $\beta$  (marcador anti-inflamatório). Tem sido observado em modelos animais e em humanos que cepas probióticas podem modular o balanço Th<sub>1</sub>/Th<sub>2</sub> em direção à ativação ou inibição de células Th<sub>1</sub>. Shida et al. (2002) utilizaram um modelo experimental de alergia alimentar para avaliar a resposta Th<sub>2</sub> em camundongos e observaram que a injeção da cepa *Lactobacillus casei* Shirota promoveu o aumento nas concentrações séricas de IL-12 e uma mudança no perfil de citocinas de Th<sub>2</sub> para Th<sub>1</sub>. Em contrapartida, estudo com humanos mostrou que a ingestão de um produto contendo cepas de *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* e *Streptococcus* durante oito semanas em indivíduos com colite ulcerativa foi capaz de suprimir a produção de IL-12 e aumentar a produção de IL-10 (SC et al., 2010).

Ensaio que investigaram o efeito de simbióticos (contendo apenas FOS e bifidobactérias/lactobacilos, sem outros imunomoduladores) sobre citocinas e proteínas de fase aguda estão apresentados nos quadros 4 e 5. Os estudos com humanos foram conduzidos na Itália, no Brasil e no Reino Unido, com diferentes indivíduos, condições de saúde e apenas um estudo não apresentava grupo controle. O tempo de suplementação variou entre 12 a 24 semanas, com doses de FOS e espécies bacterianas diferentes. Enquanto dois estudos obtiveram redução significativa de marcadores pró-inflamatórios (PCR, TNF- $\alpha$ , IL-6 e IL-1 $\beta$ ) e aumento significativo de IL-10 (marcador anti-inflamatório), um estudo não observou diferenças significativas nas concentrações dos marcadores inflamatórios avaliados (TNF- $\alpha$  e IL-6). De forma semelhante aos humanos, os estudos com animais apresentaram grupo controle e diferentes modelos animais. O tempo de suplementação variou de duas a três semanas com doses variadas. Metade dos estudos não observaram diferenças significativas nas concentrações dos marcadores inflamatórios avaliados (IFN- $\gamma$  e IL-10), enquanto a outra metade obteve resultados controversos, sendo observado tanto aumento (IL-4 e IL-10) quanto diminuição (TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$  e IL-6) de marcadores inflamatórios.

Apesar dos resultados positivos com a suplementação de prebióticos e simbióticos, destacam-se: as grandes diferenças

metodológicas entre os estudos, o que dificulta a comparação entre eles e pode explicar a divergência dos resultados encontrados; a carência de evidências científicas sobre a suplementação dessas substâncias após a RYGB; as possíveis funções benéficas que estas podem exercer, tais como o auxílio na perda de peso, a modulação das concentrações de marcadores inflamatórios e a regularização da microbiota intestinal.

Com base no exposto, estratégias terapêuticas adjuvantes para regularizar a microbiota intestinal e melhorar o perfil imunológico devem ser exploradas na tentativa de promover melhora no bem estar de pacientes após a RYGB. Assim, com base na indicação do efeito positivo de prebióticos e simbióticos na saúde humana, além da carência de estudos sobre o impacto da suplementação dessas substâncias após a RYGB, propõe-se a realização deste estudo.

Quadro 3 - Efeito prebiótico do fruto-oligossacarídeo sobre citocinas e proteínas de fase aguda em modelos animais.

Estudo (País)	Modelo animal	Grupos	Nº de animais	Duração	Resultados
KAUFHOLD; HAMMON; BLUM, 2000 (Suíça)	Vitelos	(a) Controle	(a) 7	3 semanas	(b) ↔ Albumina.
		(b) 10 g FOS/dia	(b) 7		
HOSONO et al., 2003 (Japão)	Camundongos fêmeas BALB/c	(a) Controle	(a) 4	6 semanas	(b) e (c) ↑ IFN- $\gamma$ ; IL-5 e IL-10. (c) ↓ IL-6.
		(b) 25 g FOS/kg de dieta/dia	(b) 4		
		(c) 75 g FOS/kg de dieta/dia	(c) 4		
MILO et al., 2004 (Estados Unidos)	Porcos	(a) Controle	(a) 12	2 semanas	(c) ↔ RNAm de TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ e IL-6 em amostras de jejuno e fêo. ↓ IL-6 após incubação com LPS.
		(b) 7,5 g Polissacarídeo de soja/ litro de dieta/dia	(b) 12		
		(c) 7,5 g FOS/litro de dieta/dia	(c) 12		
SASAJIMA et al., 2009 (Japão)	Camundongos fêmeas BALB/c	(a) Controle	(a) 5	2 semanas	(d) ↔ IFN- $\gamma$ e IL-10.
		(b) <i>B.pseudolongum</i> spp. 2x10 <sup>7</sup> UFC	(b) 6		
		(c) 50 g FOS/kg de dieta/dia + <i>B.pseudolongum</i> spp. 2x10 <sup>7</sup> UFC	(c) 5		
		(d) 50 g FOS/kg de dieta/dia	(d) 6		

Abreviações: ↔ Sem diferença significativa comparado ao grupo controle; ↓ Diminuição significativa comparado ao grupo controle; ↑ Aumento significativo comparado ao grupo controle; FOS – Fruto-oligossacarídeo; IL-1 $\beta$  – Interleucina-1 beta; IL-4 – Interleucina-4; IL-5 – Interleucina-5; IL-6 – Interleucina-6; IL-10 – Interleucina-10; IL-12 – Interleucina-12; IL-17 – Interleucina-17; IFN- $\gamma$  – Interferon gama; TNF- $\alpha$  – Fator de necrose tumoral alfa; UFC – Unidades Formadoras de Colônia. Fonte: Do autor.

Quadro 3 - Efeito prebiótico do fruto-oligossacarídeo sobre citocinas e proteínas de fase aguda em modelos animais. Continuação.

Estudo (País)	Modelo animal	Grupos	Nº de animais	Duração	Resultados
ARRIBAS et al., 2010 (Espanha)	Ratos fêmeas Wistar	(a) e (b) Controle (b) 1 g caramelo com diacetilato de frutose/dia (d) 1 g FOS/dia (e) 1 g caramelo comercial/dia Após duas semanas, foi induzida a colite nos ratos. Uma semana depois da presença de colite os desfechos foram avaliados.	(a) 10 (b) 10 (c) 10 (d) 10 (e) 10	3 semanas	(d) ↔ TNF- $\alpha$ e IL-1 $\beta$ .
FUJIWARA et al., 2010 (Japão)	Camundongos fêmeas NC/Nga	(a) Controle (b) 50 g FOS/kg de dieta/dia	(a) 6 (b) 6	3 semanas	(b) ↓ RNAm de IL-10, IL-12 e IL-17.
SHINOKI; HARA, 2011 (Japão)	Ratos machos Sprague-Dawley	(a) Controle (5 semanas) (b) 50 g FOS/kg de dieta/dia - 5 semanas (c) 50 g FOS/kg de dieta/dia - 3 semanas	(a) 8/9 (b) 8/9 (c) 8/9	3 e 5 semanas	(b) e (c) ↔ TNF- $\alpha$ .

Abreviações: ↔ Sem diferença significativa comparado ao grupo controle; ↓ Diminuição significativa comparado ao grupo controle; ↑ Aumento significativo comparado ao grupo controle; FOS – Fruto-oligossacarídeo; IL-1 $\beta$  – Interleucina-1 beta; IL-4 – Interleucina-4; IL-5 – Interleucina-5; IL-6 – Interleucina-6; IL-10 – Interleucina-10; IL-12 – Interleucina-12; IL-17- Interleucina-17; IFN- $\gamma$  – Interferon gama; TNF- $\alpha$  – Fator de necrose tumoral alfa; UFC – Unidades Formadoras de Colônia. Fonte: Do autor.

Quadro 3 - Efeito prebiótico do fruto-oligossacarídeo sobre citocinas e proteínas de fase aguda em modelos animais. Continuação.

Estudo (País)	Modelo animal	Grupos	Nº de animais	Duração	Resultados
CHOQUE DELGADO et al., 2012 (Brasil)	Camundongos fêmeas BALB/c	(a) Controle (b) Dieta padrão enriquecida com 5% de FOS comercial. (c) Dieta padrão enriquecida com 3% de FOS provenientes da Yacon. (d) Dieta padrão enriquecida com 5% de FOS provenientes da Yacon.	(a) 15- 18 (b) 15- 18 (c) 15- 18 (d) 15- 18	4 semanas	(b), (c) e (d) ↔ IL-4, IL-10 e TNF-α. ↓ IL-1β. (c) ↑ IFN-γ.
MERINO- AGUILAR et al., 2014 (México)	Ratos machos Wistar obesos	(a) Controle (sem obesidade) (b) Dieta padrão + 20% de frutose + solução de salina isotônica (grupo controle positivo) (c) Dieta padrão + 20% de frutose + bezafibrato (30 mg/kg/dia) (d) Dieta padrão + 20% de frutose + FOS (150 mg/kg/dia)	(a) 6 (b) 6 (c) 6 (d) 6	12 semanas	(d) ↓ TNF-α, IFN-γ, IL-1α, IL-1β e IL-6 comparado ao grupo controle positivo.

Abreviações: ↔ Sem diferença significativa comparado ao grupo controle; ↓ Diminuição significativa comparado ao grupo controle; ↑ Aumento significativo comparado ao grupo controle; FOS – Fruto-oligossacarídeo; IL-1β – Interleucina-1 beta; IL-4 – Interleucina-4; IL-5 – Interleucina-5; IL-6 – Interleucina-6; IL-10 – Interleucina-10; IL-12 – Interleucina-12; IL-17 – Interleucina-17; IFN-γ – Interferon gama; TNF-α – Fator de necrose tumoral alfa; UFC – Unidades Formadoras de Colônia. Fonte: Do autor.

Quadro 4 – Efeito simbiótico do fruto-oligossacarídeo com espécies de bifidobactérias e/ou lactobacilos sobre citocinas e proteínas de fase aguda em humanos.

Estudo (País)	Modelo animal	Grupos	Nº de animal	Duração	Resultados
MALAGUAR- NERA et al., 2012 (Itália)	Adultos com esteato-hepatite não alcoólica	(a) 2,5 g FOS/dia + <i>B. longum</i> spp. 5x10 <sup>9</sup> UFC (b) Controle.	(a) 34 (b) 32	24 semanas	(a) ↓ PCR e TNF- $\alpha$ .
NETO; MELO; RIBEIRO, 2013 (Brasil)	Idosos sem doenças	(a) 6 g FOS/dia + <i>L. paracasei</i> spp., <i>L.</i> <i>rhamnosus</i> spp., <i>L.</i> <i>acidophilus</i> spp., <i>B.</i> <i>lactis</i> spp. 1x10 <sup>8</sup> a 1x10 <sup>9</sup> UFC (b) Controle	(a) 9 (b) 8	24 semanas	(a) ↔ TNF- $\alpha$ e IL-6.
HEPBURN et al., 2013 (Reino Unido)	Adultos sem doenças	(a) 2 g FOS/dia + <i>L.</i> <i>acidophilus</i> CUL21 e CUL60 + <i>B. bifidum</i> CUL20 + <i>B. lactis</i> CUL 34 (total: 25 x 10 <sup>9</sup> )	(a) 20	12 semanas	(a) ↑ IL-10. ↓ IL-6 e IL-1 $\beta$ .

Abreviações: ↔ Sem diferença significativa comparado ao grupo controle; ↓ Diminuição significativa comparado ao grupo controle; ↑ Aumento significativo comparado ao grupo controle; FOS – Fruto-oligossacarídeo; IL-1 $\beta$  – Interleucina-1 beta; IL-4 – Interleucina-4; IL-5 – Interleucina-5; IL-6 – Interleucina-6; IL-10 – Interleucina-10; IL-12 – Interleucina-12; IL-17- Interleucina-17; IFN- $\gamma$  – Interferon gama; TNF- $\alpha$  – Fator de necrose tumoral alfa; UFC – Unidades Formadoras de Colônia. Fonte: Do autor.

Quadro 5 – Efeito simbiótico do fruto-oligossacarídeo com espécies de bifidobactérias e/ou lactobacilos sobre citocinas e proteínas de fase aguda em modelos animais.

Estudo (País)	Modelo animal	Grupos	Nº de animais	Duração	Resultados
TREVISI et al., 2008 (Itália)	Porcos	(a) Controle (b) Controle (c) e (d) <i>B.animalis</i> 10 <sup>7</sup> UFC + FOS (e) e (f) <i>B.animalis</i> 10 <sup>9</sup> UFC + FOS (g) e (h) <i>B.animalis</i> 10 <sup>11</sup> UFC + FOS	(a) a (h) 8 em cada grupo	3 semanas	(c) a (h) Correlação negativa entre o gene codificador de TNF- $\alpha$ e bifidobactérias nos linfonodos mesentéricos.
SASAJIMA et al., 2009 (Japão)	Camundongos fêmeas BALB/c	(a) Controle (b) <i>B.pseudolongum</i> spp. 2x10 <sup>7</sup> UFC (c) 50 g FOS/kg de dieta/dia + <i>B.pseudolongum</i> spp. 2x10 <sup>7</sup> UFC (d) 50 g FOS/kg de dieta/dia	(a) 5 (b) 6 (c) 5 (d) 6	6 semanas	(c) $\leftrightarrow$ IFN- $\gamma$ e IL-10.

Abreviações:  $\leftrightarrow$  Sem diferença significativa comparado ao grupo controle;  $\downarrow$  Diminuição significativa comparado ao grupo controle;  $\uparrow$  Aumento significativo comparado ao grupo controle; FOS – Fruto-oligossacarídeo; IL-1 $\beta$  – Interleucina-1 beta; IL-4 – Interleucina-4; IL-5 – Interleucina-5; IL-6 – Interleucina-6; IL-10 – Interleucina-10; IL-12 – Interleucina-12; IL-17 – Interleucina-17; IFN- $\gamma$  – Interferon gama; TNF- $\alpha$  – Fator de necrose tumoral alfa; UFC – Unidades Formadoras de Colônia. Fonte: Do autor.

Quadro 5 – Efeito simbiótico do fruto-oligossacarídeo com espécies de bifidobactérias e/ou lactobacilos sobre citocinas e proteínas de fase aguda em modelos animais. Continuação.

Estudo (País)	Modelo animal	Grupos	Nº de animais	Duração	Resultados
CAZZOLA; TOMPKINS; MATERA, 2010 (Itália)	Ratos machos Wistar	(a) Salina fisiológica - Controle (b) Salina fisiológica + <i>E. coli</i> spp. (c) Salina fisiológica + <i>E. coli</i> spp. + 750 mg FOS + <i>L. helveticus</i> spp., <i>B. longum</i> , <i>B. bifidum</i> spp. 5x10 <sup>9</sup> UFC	(a) 6 (b) 6 (c) 6	2 semanas	(c) ↓ IL-1α, IL-1β, IL-6, IFN-γ e TNF-α. ↑ IL-4 e IL-10.
RIBEIRO et al., 2011 (Brasil)	Ratos fêmeas Wistar	(a) e (c) 50 mg FOS + <i>B. animalis</i> spp. 2x10 <sup>9</sup> UFC (b) e (d) Controle	(a) 4 (b) 4 (c) 4 (d) 4	3 semanas	(a) e (c) ↔ IL-10 e IFN-γ.

Abreviações: ↔ Sem diferença significativa comparado ao grupo controle; ↓ Diminuição significativa comparado ao grupo controle; ↑ Aumento significativo comparado ao grupo controle; FOS – Fruto-oligossacarídeo; IL-1β – Interleucina-1 beta; IL-4 – Interleucina-4; IL-5 – Interleucina-5; IL-6 – Interleucina-6; IL-10 – Interleucina-10; IL-12 – Interleucina-12; IL-17 – Interleucina-17; IFN-γ – Interferon gama; TNF-α – Fator de necrose tumoral alfa; UFC – Unidades Formadoras de Colônia. Fonte: Do autor.



## 4 MÉTODOS

### 4.1 DELINEAMENTO DO ESTUDO

Ensaio clínico randomizado<sup>1</sup>, controlado, triplo cego, realizado no Hospital Universitário Polydoro Ernani de São Thiago (HU/UFSC), Florianópolis, SC.

### 4.2 AMOSTRA DO ESTUDO

A amostra do estudo foi constituída por indivíduos adultos de 18 a 65 anos de ambos os sexos submetidos à RYGB no referido hospital e por indivíduos adultos saudáveis para efeito de comparação. O método de amostragem foi não probabilístico por conveniência, devido ao fato de, após extensa pesquisa em base de dados, não ter sido encontrado estudos com desenho metodológico e desfechos semelhantes ao proposto que possibilitasse a realização do cálculo amostral.

É importante destacar que o HU/UFSC é um centro de referência de cirurgia bariátrica cadastrado no Sistema Único de Saúde no estado de Santa Catarina, localizado no município de Florianópolis.

Os critérios de inclusão dos indivíduos obesos seguiram os critérios da Sociedade Brasileira de Cirurgia Bariátrica e Metabólica: indivíduos de ambos os sexos com idade entre 18 e 65 anos, IMC  $\geq 40$  kg/m<sup>2</sup> ou  $\geq 35$ kg/m<sup>2</sup> com pelo menos uma comorbidade, insucesso no tratamento clínico e submetido a cirurgia bariátrica pela técnica *Y de Roux*. Critérios de exclusão: limitações intelectuais significativas sem suporte familiar adequado; quadro de transtorno psiquiátrico não controlado; dependência alcoólica e/ou de drogas ilícitas; quadro ativo de infecção; uso atual de fármacos anti-inflamatórios e/ou antibióticos e/ou imunossupressores; apresentar intolerância a prebióticos e/ou probióticos e/ou simbióticos; fazer uso atual de prebiótico e/ou probiótico e/ou simbiótico; fumante.

Todos os participantes submetidos à RYGB receberam a mesma educação interdisciplinar sobre os riscos e alterações nos hábitos inerentes a uma grande cirurgia no trato digestório e a necessidade de mudanças pós-operatórias no estilo de vida. A dieta dos participantes no pós-operatório seguiu o protocolo do HU/UFSC (Anexo A).

---

<sup>1</sup>Ensaio Clínico com registro na Plataforma ClinicalTrials.gov sob identificação NCT02158676.

Os critérios de inclusão para os indivíduos saudáveis foram: IMC entre 18,5 e 24,9 kg/m<sup>2</sup>; peso estável nos últimos três meses; idade entre 18 e 65 anos. Critérios de exclusão: presença de doenças crônicas não transmissíveis, infecto-contagiosas ou intolerâncias/alergias alimentares; atletas ou praticantes de atividade física intensa (>6 MET)<sup>1</sup> (WHO, 2010a); fumantes; consumo habitual de mais de uma dose de bebida alcoólica por semana (metade de uma garrafa ou uma lata de cerveja, uma taça de vinho ou uma dose de licor) (WHO, 2000); uso prévio ou atual de drogas; uso de fármacos que influenciam o apetite, a motilidade intestinal ou absorção de nutrientes, antibióticos, anti-inflamatórios, imunossupressores, hipolemiantes, hipoglicemiantes orais, insulina, anti-hipertensivos, diuréticos, laxantes, antiácidos ou suplementos nutricionais nos últimos três meses; uso de prebióticos, probióticos ou simbióticos nos últimos três meses; grávidas ou lactantes; vegetarianos; seguimento de uma dieta para perda ou ganho de peso nos últimos três meses; submetido previamente a cirurgias gastrointestinais; história pessoal de distúrbios gastrointestinais (constipação, diarreia, pirose, inchaço, flatulência em excesso, dor abdominal).

Foi orientado aos indivíduos saudáveis que durante o período de suplementação fosse mantido o hábito de vida e de ingestão dietética, mas que evitassem: praticar atividade física intensa; consumir bebida alcoólica; fazer dietas para ganho ou perda de peso; consumir mais de três porções por dia de alimentos lácteos (alguns alimentos deste grupo são fermentados, favorecendo o crescimento de bactérias benéficas no intestino); e consumir alimentos enriquecidos com prebióticos, probióticos ou simbióticos.

Os pesquisadores e colaboradores realizaram a triagem dos indivíduos e para aqueles que estavam aptos, foi apresentada a proposta de pesquisa e efetuado o convite de participação. A assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido ocorreu neste mesmo momento, após leitura em conjunto (Apêndice A).

---

<sup>1</sup> Equivalente metabólico (MET) é comumente utilizado para expressar a intensidade das atividades físicas. Um MET é definido como o custo da energia de sentar-se em silêncio e é equivalente ao consumo calórico de 1 kcal/kg/hora. Estima-se que o consumo calórico para praticantes de atividade física intensa é mais de seis vezes superior a um MET. Exemplo: corrida (> 8 km/h), caminhada veloz em uma colina/montanha/morro, pedalada (> 16 km/h), ginástica aeróbica, natação rápida, jogos e esportes em nível de competição, escavação pesada (> 4,5 kg/min), carregar cargas pesadas (> 20 kg).

### 4.3 PROTOCOLO DO ESTUDO

#### 4.3.1 Momentos do estudo

Para os indivíduos submetidos à RYGB, o estudo constou de dois momentos: M1 - momento após trinta dias de cirurgia e início da suplementação com prebiótico, simbiótico ou placebo; e M2 – momento após quarenta e cinco dias de cirurgia e 15 dias de suplementação com prebiótico, simbiótico ou placebo (Apêndice B). Para os indivíduos saudáveis, o estudo também constou de dois momentos: M1 – momento caracterizado pelo início da suplementação com prebiótico, simbiótico ou placebo; e M2 – momento após 15 dias de suplementação com prebiótico, simbiótico ou placebo (Apêndice C). Quanto ao prebiótico, a escolha sobre o dose e o tempo de suplementação foi baseado em um estudo que observou o aumento significativo nas concentrações fecais de bifidobactérias a partir da administração de 2,5 g de FOS por dia durante sete dias (BOUHNİK et al., 1999), com boa tolerância à suplementação até 10 g/dia. Quanto ao simbiótico, a escolha foi baseada em um estudo que observou a redução das concentrações de citocinas pró-inflamatórias após duas semanas de suplementação com simbióticos que continham FOS + lactobacilos e/ou bifidobactérias (CAZZOLA; TOMPKINS; MATERA, 2010).

Nos momentos propostos nesse estudo foram realizadas a caracterização dos indivíduos (Apêndice D) e coleta de sangue para avaliação de índices antropométricos, laboratoriais e clínicos (Apêndice E).

Os indivíduos participantes foram distribuídos em três grupos: G1 – grupo que recebeu placebo, G2 – grupo que recebeu prebiótico, G3 – grupo que recebeu simbiótico.

Os pesquisadores e colaboradores mantiveram contato presencial com os indivíduos em análise (quando eles se dirigiram ao HU/UFSC) ou via ligação telefônica um dia antes dos retornos ao hospital, visando o registro da adesão ao tratamento.

#### 4.3.2 Randomização e cegamento

Os indivíduos participantes foram distribuídos aleatoriamente nos grupos de tratamento (placebo, prebiótico ou simbiótico) por meio de uma lista de randomização gerada pelo programa *Research Randomizer*<sup>®</sup> ([www.randomizer.org](http://www.randomizer.org)), consistindo em blocos permutados de forma aleatória com três indivíduos cada. Todos os indivíduos

avaliados pelo pesquisador foram designados ao grupo de tratamento de acordo com o número da randomização.

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

### 4.3.3 Caracterização dos suplementos nutricionais

Os suplementos prebiótico (FIBERFOS<sup>®</sup>) e simbiótico (LACTOFOS<sup>®</sup>), apresentam as seguintes composições e informações nutricionais:

Quadro 6 - Informação da composição (FIBERFOS<sup>®</sup>).

FIBERFOS <sup>®</sup> - 1 sachê	
Composição	Quantidade
Fruto-oligossacarídeo	6 gramas

Fonte: Invictus, 2014a.

Quadro 7 - Informações nutricionais do prebiótico (FIBERFOS<sup>®</sup>).

FIBERFOS <sup>®</sup> - 1 sachê		
	Quantidade por porção	VD*
Valor Energético	9,5 kcal ou 40 kJ	0,5%
Carboidratos	0,3 g	0,1%
Proteínas	0 g	0%
Gorduras Totais	0 g	0%
Gorduras Saturadas	0 g	0%
Gorduras Trans	0 g	0%
Fruto-oligossacarídeo	6 g	22%
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.

Fonte: Invictus, 2014a.

Quadro 8 - Informação da composição (LACTOFOS<sup>®</sup>).

LACTOFOS <sup>®</sup> - 1 sachê	
Composição	Quantidade
<i>Lactobacillus paracasei</i> LPC-37	10 <sup>9</sup> UFC
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> HN001	10 <sup>9</sup> UFC
<i>Lactobacillus acidophilus</i> NCFM	10 <sup>9</sup> UFC
<i>Bifidobacterium lactis</i> HN019	10 <sup>9</sup> UFC
Fruto-oligossacarídeo (FOS)	6 gramas

UFC – Unidades Formadoras de Colônias.

Fonte: Invictus, 2014b.

Quadro 9 – Informações nutricionais do simbiótico (LACTOFOS<sup>®</sup>).

Porção de 6 g de LACTOFOS <sup>®</sup> - 1 sachê		
	Quantidade por porção	VD*
Valor Energético	9,5 kcal ou 40 kJ	0,5%
Carboidratos	0,3 g	0,1%
Proteínas	0 g	0%
Gorduras Totais	0 g	0%
Gorduras Saturadas	0 g	0%
Gorduras Trans	0 g	0%
Fruto-oligossacarídeo	6 g	22%
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.		

Fonte: Invictus, 2014b.

Quanto ao placebo, o mesmo era composto exclusivamente de maltodextrina (6 g/sachê).

Os participantes foram orientados a consumir um sachê por dia durante 15 dias, misturando o conteúdo em 100 mL de água até completa diluição, em jejum (Apêndice F).

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

### **4.3.4 Desfechos**

O desfecho primário foi a alteração das concentrações plasmáticas de IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ , PCR, albumina e a relação PCR/albumina, após a suplementação. Os desfechos secundários foram a alteração do peso, do índice de massa corporal e da porcentagem da perda do excesso de peso, após a suplementação.

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

#### 4.3.5.1 Caracterização dos indivíduos

Os participantes do estudo foram caracterizados por meio de dados pessoais: nome completo, sexo, data de nascimento, endereço residencial, telefone, e-mail, intervenção cirúrgica anterior no trato gastrointestinal, número da randomização, data do início e término da suplementação, número de suplementos ingeridos e número de prontuário. Estas informações foram coletadas diretamente com o paciente.

#### 4.3.5.2 Coleta e preparo do material biológico

Um total de 20 mL de sangue venoso periférico foi coletado de todos os participantes do estudo, após jejum noturno de 12 horas, por profissional capacitado de acordo com técnica padronizada (WHO, 2010b) na região cubital do antebraço, utilizando um tubo contendo heparina (sistema Vacutainer<sup>®</sup> BD Biosciences - Abingdon, UK) e um tubo contendo gel separador (sistema Vacutainer<sup>®</sup> BD Biosciences - Abingdon, UK).

O tubo de sangue com heparina foi acondicionado em caixa térmica e transportado até o Laboratório de Investigação de Doenças Crônicas do Departamento de Ciências Fisiológicas da UFSC para preparo das amostras, as quais foram centrifugadas no próprio tubo de coleta a 4000 rpm por sete minutos à temperatura ambiente para isolamento do plasma. Alíquotas de 500  $\mu$ L foram transferidas para quatro criotubos com capacidade de 2 mL cada, devidamente identificados e armazenados a -80°C. No momento do ensaio, as amostras foram descongeladas em temperatura ambiente, homogeneizadas e imediatamente utilizadas para análise das amostras 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 para determinação sérica de PCR e albumina. O sangue foi deixado em repouso por 30 minutos até completa coagulação. Em seguida, foi centrifugado por um período de 10 a 15 minutos a 4700-5100 rpm para a separação do soro.

#### 4.3.5.3 Determinação de citocinas, proteína C-reativa e albumina

Para a determinação das citocinas plasmáticas, kits específicos para TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  e IL-6 humano da marca BD OptEIA™ – BD Biosciences (San Jose, Califórnia, EUA) foram utilizados. O teste utilizou um anticorpo monoclonal específico para cada citocina. Padrões e as amostras foram adicionados aos poços, e qualquer TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  e IL-6 se ligou ao seu respectivo anticorpo imobilizado. Os poços foram lavados e um conjugado de *streptavidin-horseradish* peroxidase misturado a um anticorpo biotinilado anticitocina humana foi adicionado produzindo uma espécie de “sanduíche” (anticorpo-antígeno-anticorpo). Os poços foram novamente lavados e, uma solução de substrato TMB adicionada, produzindo uma cor azul na proporção direta com a quantidade de TNF, IL-1 $\beta$  ou IL-6 presentes na amostra inicial. Por fim, acrescentou-se uma “solução de parada”, que alterou a cor de azul para amarelo. As absorbâncias dos poços foram lidas em espectrofotômetro a um comprimento de onda de 450 nm, com correção a 570 nm, em até 30 minutos após a parada da reação. Para o cálculo das concentrações, foram obtidas as médias das leituras ópticas de cada padrão e amostra. Em seguida, foi subtraída a média da leitura óptica do padrão “zero” de cada média dos demais padrões e das amostras. Gráficos tipo “log-log” foram construídos em planilha do Microsoft Office Excel<sup>®</sup> de acordo com as médias dos padrões de cada kit, cujas concentrações de citocinas eram conhecidas. Procurou-se o melhor ajuste da linha de tendência através dos pontos padrão. Para a determinação das concentrações foram introduzidas as médias das absorbâncias de cada amostra na sua respectiva equação da reta. As sensibilidades identificadas nos kits utilizados foram: 2,0 pg/mL para o TNF- $\alpha$ , 0,8 pg/mL para a IL-1 $\beta$  e 2,2 pg/mL para a IL-6. Os coeficientes de variabilidade (CV) intra e interensaios descritos pelo fabricante dos kits foram: intra CV: TNF- $\alpha$  =  $4,90 \pm 3,67\%$ , IL-1 $\beta$  =  $2,01 \pm 2,80\%$  e IL-6 =  $7,27 \pm 6,70\%$ ; inter CV: TNF- $\alpha$  =  $8,83 \pm 6,13\%$ , IL-1 $\beta$  =  $4,00 \pm 4,51\%$  e IL-6 =  $7,70 \pm 9,37\%$ . Os resultados foram expressos em pg/mL.

A determinação de PCR pelo método de nefelometria fundamenta-se na determinação do movimento das partículas numa

solução (turbidez), formadas pelos complexos antígeno-anticorpo (PCR ligada ao anticorpo monoclonal anti-PCR) (BN II<sup>®</sup>, Siemens Healthcare Diagnostics Inc., Newark, DE, USA). Princípios do procedimento: Partículas de poliestireno revestidas com anticorpo monoclonal de camundongo contra a PCR humana são aglutinados quando colocadas frente a uma amostra que contenha PCR. Um feixe de luz incidente passa pela cuveta onde está ocorrendo a reação antígeno-anticorpo com conseqüente formação de aglutinados, e ocorre então uma dispersão proporcional à concentração dos aglutinados no tubo. O feixe de luz que sofre a dispersão é detectado por sensores que o transformam em um sinal. Este sinal, plotado na curva de calibração, determinará a concentração de PCR da amostra na unidade desejada. A concentração de PCR na amostra é diretamente proporcional ao feixe de luz disperso e conseqüentemente ao sinal detectado pelos sensores. Sensibilidade identificada no kit: 0,175 mg/L. Os valores foram expressos em mg/L.

A albumina foi determinada pelo método colorimétrico automatizado vermelho de bromocresol, uma adaptação do método de ligação ao corante púrpura de bromocresol (LASKY et al., 1985), utilizando o kit cartucho Flex<sup>®</sup> Reagent ALB (Dimension RxL<sup>®</sup> Max<sup>®</sup>, Siemens Healthcare Diagnostics Inc., Newark, DE, USA). Princípios do procedimento: Na presença de um agente solubilizante, o corante liga-se à albumina a um pH de 4,9. A quantidade do complexo albumina-corante é diretamente proporcional à concentração de albumina. O complexo é lido em 600 nm. Os valores foram expressos em g/dL. Sensibilidade identificada no kit: 0,6 g/dL.

#### 4.3.5.4 Determinação da relação proteína C-reativa/albumina

A relação PCR/albumina proposta por Correa et al. (2002) representa um indicador simplificado do Índice de Prognóstico Inflamatório e Nutricional, criado por Ingenbleek e Carpentier (1985). Os valores classificatórios dos graus de risco de complicações adotados foram: sem risco: < 0,4; baixo risco: 0,4-1,2; médio risco: 1,2-2,0; alto risco: > 2,0.

#### 4.3.5.5 Avaliação 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).

O peso foi mensurado utilizando uma balança mecânica (Filizola®, Indústrias Filizola S/A, São Paulo, SP, Brasil), com capacidade de 150 kg e precisão de 100 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 1,0 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 permaneceu perpendicular ao corpo e paralela ao solo. Os indivíduos foram orientados a inspirar profundamente e manter-se numa posição totalmente ereta. A referência para a mensuração foi o ponto mais alto da cabeça com pressão suficiente para comprimir o cabelo (WHO, 1995).

A classificação do estado nutricional foi realizada pelo IMC utilizando-se os pontos de corte definidos pela *World Health Organization* (2008b), conforme descrito no Quadro 10. 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 10 - 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, 2008b.

#### 4.3.5.6 Percentual da perda do excesso de peso

Para os indivíduos submetidos à RYGB, foi calculado o percentual de perda do excesso de peso [% perda do excesso de peso = (peso antes da cirurgia – peso atual/(excesso de peso antes da cirurgia) x 100], considerando como excesso de peso todo o peso igual ou maior que o IMC 25,0 kg/m<sup>2</sup>.

#### 4.3.5.7 Parâmetros clínicos

Parâmetros clínicos como comorbidades associadas, fármacos utilizados, complicações pós-operatórias, tempo de cirurgia e de internação, reposição de fluidos durante a internação, alterações gastrointestinais, efeitos adversos e uso de suplementos vitamínicos e minerais foram coletados do prontuário e diretamente com o paciente. Pacientes reinternados, acometidos por infecções ou que necessitaram de suporte ventilatório foram descontinuados do presente estudo.

### 4.4 MODELO DE ANÁLISE

No quadro 11 estão descritas as variáveis e suas dimensões (indicadores) utilizadas nas análises propostas.

Quadro 11 – Descrição das variáveis.

<b>Variáveis</b>	<b>Indicadores</b>	<b>Classificação teórica</b>
Idade	Anos	Independente, quantitativa discreta
Sexo	Masculino Feminino	Independente, qualitativa nominal dicotômica
Altura	m	Independente, quantitativa contínua
Comorbidades prévias	n, %	Independente, quantitativa contínua
Uso prévio de medicações	n, %	Independente, quantitativa contínua
Alterações gastrointestinais	n, %	Independente, quantitativa contínua
Ingestão de prebiótico	Sim Não	Dependente, qualitativa nominal dicotômica
Ingestão de simbiótico	Sim Não	Dependente, qualitativa nominal dicotômica
Ingestão de placebo	Sim Não	Dependente, qualitativa nominal dicotômica
IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$	pg/mL	Dependente, quantitativa contínua
Proteína C-Reativa	mg/L	Dependente, quantitativa contínua
Albumina	g/dL	Dependente, quantitativa contínua
Relação proteína C-reativa/albumina	Sem risco Baixo risco Médio risco Alto risco	Dependente, qualitativa ordinal politômica
Peso	kg	Dependente, quantitativa contínua
Índice de Massa Corporal	kg/m <sup>2</sup>	Dependente, quantitativa contínua
Perda do excesso de peso	%	Dependente, quantitativa contínua

Fonte: Do autor.

## 4.5 TRATAMENTO E ANÁLISE DOS DADOS

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>. As variáveis contínuas foram sintetizadas em duas únicas medidas por grupo: média e desvio padrão se a distribuição foi simétrica, ou mediana e intervalo interquartil se foi assimétrica. Em contrapartida, as variáveis categóricas foram descritas em categorias e frequência a partir do aparecimento nos grupos estabelecidos. Para avaliação da normalidade dos dados foi aplicado o coeficiente de variabilidade e o teste de Shapiro-Wilk; se o resultado do coeficiente de variabilidade fosse >50% e/ou o resultado do teste de Shapiro-Wilk fosse <0,05, rejeitou-se a normalidade dos dados. Neste caso, foram utilizados testes não-paramétricos. Para variáveis contínuas, foram utilizados a Análise de Variância (dados paramétricos) ou o Teste de Kruskal-Wallis (dados não paramétricos) para comparações entre três grupos, e o Teste T de Student (dados paramétricos) ou Teste de Mann-Whitney (dados não paramétricos) para comparações entre dois grupos. Para comparações intra-grupos, foi realizado o teste T pareado (variáveis paramétricas) ou o Teste de Wilcoxon para dados pareados (variáveis não-paramétricas). Para todos os testes, foi adotado o nível de significância de 95% ( $p < 0,05$ ).

## 4.6 PROCEDIMENTOS ÉTICOS DA PESQUISA

O projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de Santa Catarina com o parecer nº 245.650 (Anexo B).

## 5 RESULTADOS

### 5.1 MANUSCRITO

**Título (português):** Efeito da suplementação de prebiótico e simbiótico em marcadores inflamatórios e índices antropométricos após a derivação gástrica em *Y* de Roux: um estudo piloto randomizado, triplo cego e controlado por placebo.

**Título (inglês):** Effect of prebiotic and synbiotic supplementation on inflammatory markers and anthropometric indices after Roux-en-Y gastric bypass: a randomized, triple blind, placebo-controlled pilot study.

**Título curto (português):** Suplementação de prebiótico e simbiótico após a cirurgia bariátrica.

**Título curto (inglês):** Supplementation of prebiotic and synbiotic after bariatric surgery.

**Palavras-chave:** Cirurgia bariátrica. Biomarcadores. Peso Corporal. Prebiótico. Simbiótico.

**Key words:** Bariatric surgery. Biomarkers. Body weight. Prebiotic. Synbiotic.

**Financiamentos:** 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 ao autor principal.

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

## Resumo

**Introdução:** Estudos têm mostrado que prebióticos e simbióticos modulam positivamente a microbiota intestinal e podem trazer benefícios sobre a resposta imunológica e índices antropométricos, mas o impacto do uso desses suplementos após a cirurgia bariátrica ainda não é conhecido. **Objetivo:** Investigar os efeitos da suplementação de prebiótico e simbiótico em marcadores inflamatórios e índices antropométricos de indivíduos submetidos à derivação gástrica em *Y* de Roux (RYGB). **Métodos:** Neste ensaio clínico randomizado, controlado e triplo-cego conduzido como um estudo piloto, indivíduos submetidos à RYGB (n=9) e saudáveis (n=9) foram suplementados com 6 g/dia de placebo (maltodextrina), prebiótico (fruto-oligossacarídeo – FOS) ou simbiótico (FOS + cepas de lactobacilos e bifidobactérias) durante 15 dias. **Resultados:** A interleucina-6, fator de necrose tumoral alfa, proteína C-reativa (PCR), albumina e relação PCR/albumina não apresentaram alterações significativas na comparação entre os grupos após a suplementação, ao passo que a interleucina-1 beta foi maior no grupo simbiótico que no grupo placebo entre os indivíduos saudáveis (p=0,049). A redução no peso dos indivíduos submetidos à RYGB foi 53,8% maior no grupo prebiótico comparado ao grupo placebo (-0,7 kg, p=0,001), enquanto a redução no IMC e o aumento no percentual de perda do excesso de peso foram maiores no grupo placebo e prebiótico comparado ao simbiótico (p<0,05). **Conclusão:** A suplementação de prebiótico (FOS) aumentou a perda de peso, enquanto que tanto o prebiótico quanto o simbiótico não foram suficientes em promover mudanças significativas nos marcadores inflamatórios avaliados, embora na maioria das análises houve redução nos seus valores absolutos. A utilização de FOS pode representar um potencial adjuvante no tratamento da obesidade.

**Palavras-chave:** Cirurgia bariátrica. Biomarcadores. Peso corporal. Prebiótico. Simbiótico.

## Abstract

**Introduction:** Studies have shown that prebiotics and synbiotics positively modulate the intestinal microbiota and may have benefits on the immune response and anthropometric indices, however, the impact of the use of these supplements after bariatric surgery is not yet known.

**Objective:** To investigate the effects of prebiotic and synbiotic supplementation on inflammatory markers and anthropometric indices in subjects undergoing Roux-en-Y gastric bypass (RYGB). **Methods:** In this randomized, controlled and triple-blind trial conducted as a pilot study, subjects undergoing RYGB (n=9) and healthy individuals (n=9) were supplemented with 6 g/day of placebo (maltodextrin), prebiotic (fructo-oligosaccharide - FOS) or synbiotic (FOS + lactobacillus and bifidobacteria strains) for 15 days. **Results:** Interleukin-6, tumor necrosis factor-alpha, C-reactive protein (CRP), albumin and CRP/albumin ratio showed no significant changes in the comparison between groups after supplementation, whereas interleukin-1 beta was higher in the synbiotic group than in the placebo group among healthy individuals (p=0.049). The reduction in body weight of patients undergoing RYGB was 53.8% higher in the prebiotic group compared to placebo group (-0.7 kg, p=0.001), while the reduction in BMI and the increase in percentage of excess weight loss were higher in the placebo and prebiotic groups compared to synbiotic (p<0.05). **Conclusion:** Supplementation of FOS increased weight loss, while both the prebiotic as the synbiotic were not sufficient to promote significant changes in the inflammatory markers evaluated, although in most analyzes there was a reduction in their absolute values. The use of FOS may represent a potential adjunct in the treatment of obesity.

**Key words:** Bariatric surgery. Biomarkers. Body weight. Prebiotic. Synbiotic.

## Introdução

A obesidade é um dos problemas de saúde pública que mais cresce no mundo, diminuindo a qualidade e a expectativa de vida. Evidências mostram que a obesidade está associada à inflamação crônica, caracterizada por aumento nas concentrações plasmáticas de mediadores pró-inflamatórios, além da ativação de vias de sinalização inflamatórias<sup>1,2</sup>. Esta condição está associada com o desenvolvimento de comorbidades, como o diabetes mellitus tipo 2, hipertensão, asma, dislipidemia, colelitíase, osteoartrite e câncer<sup>3</sup>.

Adicionalmente, a microbiota intestinal tem sido associada com a obesidade e a inflamação. Evidências tem mostrado que indivíduos obesos apresentam importante aumento de bactérias gram-positivas do filo Firmicutes e diminuição de bactérias gram-negativas do filo Bacteroidetes comparado aos indivíduos eutróficos<sup>4,5</sup>. O lipopolissacarídeo, um componente da parede celular de bactérias gram-negativas, é excessivamente absorvido pelos capilares intestinais diante de um quadro de disbiose intestinal e falha na função de barreira (condição observada na obesidade), gerando um quadro de endotoxemia metabólica, a qual induz a secreção de mediadores pró-inflamatórios por células imunológicas<sup>6</sup>.

Neste contexto, cresce o número de intervenções cirúrgicas para o tratamento da obesidade, como a derivação gástrica em *Y* de Roux (RYGB). Número limitado de estudos investigou a microbiota intestinal após a RYGB, mas tem sido observado que há um rearranjo da microbiota intestinal, a qual parece estar relacionada com a melhora da inflamação crônica<sup>5,7,8</sup>. Entretanto, algumas complicações clínicas podem ocorrer devido às alterações anatômicas e fisiológicas, as quais são fatores de risco para alteração da microbiota intestinal, como refluxo, vômitos, anormalidades eletrolíticas e nutricionais, dismotilidade intestinal, menor secreção de ácido gástrico e deslocamento de bactérias típicas do intestino delgado para o intestino grosso<sup>9,10</sup>.

Assim, visto a série de alterações que a microbiota intestinal pode apresentar tanto antes quanto após a RYGB, torna-se oportuno destacar o papel de potenciais moduladores da microbiota intestinal, como os prebióticos e simbióticos, suplementos considerados seguros por estarem naturalmente contidos em alimentos e na microbiota humana<sup>11,12</sup>. Estas substâncias exercem diversas funções benéficas, incluindo a inibição do crescimento de bactérias patogênicas, a preservação da função da barreira epitelial, regeneração do tecido

epitelial, imunorregulação, regulação do metabolismo lipídico e glicêmico, perda de peso, bem como alívio da constipação, vômitos e diarreia<sup>13</sup>.

Assim, destaca-se a necessidade de experimentos acerca do impacto da suplementação com prebiótico ou simbiótico em marcadores inflamatórios e em índices antropométricos após a RYGB, visto os potenciais benefícios que estas substâncias podem trazer para indivíduos submetidos a esta cirurgia, como a regularização da microbiota intestinal, da resposta inflamatória e a perda de peso, além da falta de evidências científicas sobre a suplementação de prebióticos ou simbióticos após a RYGB.

Diante do exposto, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da suplementação de prebiótico e simbiótico sobre marcadores inflamatórios e índices antropométricos de indivíduos submetidos à RYGB. A hipótese é que a suplementação com prebiótico ou simbiótico diminuirá as concentrações plasmáticas de marcadores inflamatórios e dos índices antropométricos avaliados.

## **Métodos**

### *Participantes do estudo*

Participaram deste estudo indivíduos submetidos à RYGB aberta (n=9) no Hospital Universitário Polydoro Ernani de São Thiago da Universidade Federal de Santa Catarina (Florianópolis, Brasil) e indivíduos saudáveis (n=9) para efeito de comparação, no período de outubro de 2013 a abril de 2014. O método de amostragem foi não probabilístico por conveniência.

A inclusão de um grupo saudável teve o objetivo de verificar se os resultados encontrados no grupo de indivíduos submetidos à RYGB após a suplementação seriam similares àquele grupo.

Os critérios de inclusão para os indivíduos submetidos à RYGB foram: submeter-se à cirurgia bariátrica pela técnica *Y* de *Roux* aberta. Critérios de exclusão: uso atual de fármacos anti-inflamatórios e/ou antibióticos e/ou imunossupressores; apresentar intolerância a prebióticos e/ou probióticos e/ou simbióticos; fazer uso atual de prebiótico e/ou probiótico e/ou simbiótico; ser fumante.

Todos os participantes submetidos à RYGB receberam a mesma educação interdisciplinar (médico cirurgião, endocrinologista, psicólogo e nutricionista) sobre os riscos e mudanças nos hábitos inerentes a uma

grande cirurgia no trato digestório e a necessidade de mudanças pós-operatórias no estilo de vida.

Os critérios de inclusão para os indivíduos saudáveis foram: IMC entre 18,5 e 24,9 kg/m<sup>2</sup>; peso estável nos últimos três meses; idade entre 18 e 65 anos. Critérios de exclusão: presença de doenças crônicas não transmissíveis, infecto-contagiosas ou intolerâncias/alergias alimentares; atletas ou praticantes de atividade física intensa (>6 MET)<sup>14</sup>; fumantes; consumo habitual de mais de uma dose de bebida alcoólica por semana (metade de uma garrafa ou uma lata de cerveja, uma taça de vinho ou uma dose de licor)<sup>15</sup>; uso prévio ou atual de drogas; uso de fármacos que influenciam o apetite, a motilidade intestinal ou absorção de nutrientes, antibióticos, anti-inflamatórios, imunossupressores, hipolemiantes, hipoglicemiantes orais, insulina, anti-hipertensivos, diuréticos, laxantes, antiácidos ou suplementos nutricionais nos últimos três meses; uso de prebióticos, probióticos ou simbióticos nos últimos três meses; grávidas ou lactantes; vegetarianos; seguimento de uma dieta para perda ou ganho de peso nos últimos três meses; submetido previamente a cirurgias gastrointestinais; história pessoal de distúrbios gastrointestinais (constipação, diarreia, pirose, inchaço, flatulência em excesso, dor abdominal).

Foi orientado aos indivíduos saudáveis que durante o período de suplementação fosse mantido o hábito de vida e de ingestão dietética, mas que evitassem: praticar atividade física intensa; consumir bebida alcoólica; fazer dietas para ganho ou perda de peso; consumir mais de três porções de alimentos lácteos por dia e consumir alimentos enriquecidos com prebióticos, probióticos ou simbióticos.

### *Desenho do estudo*

Os indivíduos submetidos à RYGB (cirúrgicos) e os indivíduos saudáveis foram alocados randomicamente em três grupos de tratamento cada: placebo, prebiótico ou simbiótico. Aqueles que receberam placebo foram orientados a consumir seis gramas diárias de maltodextrina; aqueles que receberam prebiótico foram orientados a consumir seis gramas diárias de fruto-oligossacarídeo (FOS) – FiberFOS<sup>®</sup>, Invictus Farmanutrição, Brasil) e aqueles que receberam simbiótico foram orientados a consumir seis gramas diárias de FOS + 1x10<sup>9</sup> *Lactobacillus paracasei* LPC-37, 1x10<sup>9</sup> *Lactobacillus rhamnosus* HN001, 1x10<sup>9</sup> *Lactobacillus acidophilus* NCFM e 1x10<sup>9</sup> *Bifidobacterium lactis* HN019 – LactoFOS<sup>®</sup>, Invictus Farmanutrição, Brasil) durante 15 dias, misturando o conteúdo em 100 mL de água até completa diluição, em

jejum. Para os indivíduos submetidos à RYGB, a suplementação foi iniciada somente após completar 30 dias de cirurgia (momento basal). Ressalta-se que a suplementação foi iniciada após este período devido ao protocolo dietético de acompanhamento pós-operatório de cirurgia bariátrica do HU/UFSC permitir o consumo de alimentos formadores de gases apenas em pequenas quantidades nos primeiros 30 dias pós-operatórios, e, como a fermentação do FOS ocorre rapidamente, poderia haver maior formação de gases e, potencialmente, ocasionar complicações. Para o grupo saudável, a suplementação foi iniciada logo após a inclusão no estudo (momento basal).

Todos os participantes foram instruídos a registrar a ingestão do suplemento em formulário específico fornecido pelos pesquisadores. Aqueles que ficaram por mais de um dia sem consumir o suplemento foram descontinuados do presente estudo. Os pesquisadores mantiveram contato com os indivíduos em análise via ligação telefônica uma vez por semana, visando o registro da adesão ao tratamento. Ao longo do estudo, todos os participantes submetidos à RYGB foram questionados sobre o seguimento adequado da dieta fornecida pelas nutricionistas do hospital e os possíveis efeitos adversos decorrentes da suplementação.

Os indivíduos participantes foram distribuídos aleatoriamente nos grupos de tratamento por meio de uma lista de randomização gerada pelo programa *Research Randomizer*<sup>®</sup> ([www.randomizer.org](http://www.randomizer.org)), consistindo em blocos permutados de forma aleatória com três indivíduos cada. Todos os indivíduos avaliados foram designados ao grupo de tratamento de acordo com o número da randomização.

Os participantes do estudo e os pesquisadores foram cegados, em relação ao consumo e a distribuição da suplementação, respectivamente. Os técnicos de laboratório que realizaram a coleta do sangue foram cegados quanto à distribuição da suplementação. Os suplementos foram pré-embalados pelo fornecedor com os códigos de randomização, sendo idênticos em aparência física, sabor e cor. Os códigos de identificação dos suplementos somente foram revelados pela empresa fornecedora após a análise dos dados.

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de Santa Catarina, que está em conformidade com a Declaração Médica Mundial de Helsinki<sup>16</sup>, sob o protocolo número 245.650/2013. Os participantes foram convidados a participar e os interessados assinaram um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Este ensaio foi registrado na Plataforma ClinicalTrials sob o número de identificação NCT02158676.

### *Técnica cirúrgica*

Todas as cirurgias foram realizadas por um cirurgião com auxílio de residentes, de forma padronizada, envolvendo os seguintes componentes: (i) a criação de uma bolsa gástrica com capacidade aproximada de 30 mL, que foi separada do estômago distal (remanescente gástrico); (ii) a secção do jejuno proximal a 50 cm do ligamento de Treitz; (iii) anastomose do jejuno previamente seccionado à bolsa gástrica (anastomose gastrojejunal); (iv) anastomose da alça biliar, composta pelo estômago, duodeno e a parte proximal do jejuno remanescentes, ao jejuno distal, formando uma alça alimentar com 120 cm de extensão.

### *Parâmetros clínicos*

Parâmetros clínicos como comorbidades associadas, fármacos utilizados, complicações pós-operatórias, tempo de cirurgia e de internação, reposição de fluidos durante a internação, presença de edema, alterações gastrointestinais, efeitos adversos e uso de suplementos vitamínicos e minerais foram coletados do prontuário ou diretamente com o paciente. Pacientes acometidos por infecções foram descontinuados do presente estudo.

### *Coleta e preparo do material biológico*

Amostras de sangue venoso periférico (20 mL) foram coletadas de todos os participantes do estudo, após jejum noturno de 12 horas, por profissional capacitado de acordo com técnica padronizada<sup>17</sup> na região cubital do antebraço, utilizando um tubo contendo anticoagulante (heparina) para determinação das citocinas e um tubo contendo gel separador para determinação da PCR e albumina séricas.

O tubo contendo heparina foi centrifugado a 400g por sete minutos à temperatura ambiente e alíquotas de plasma (500 µL) foram transferidas para criotubos e armazenados a -80°C. Ao final do estudo, as amostras foram descongeladas em temperatura ambiente, homogeneizadas e imediatamente utilizadas para análise das amostras.

As amostras de sangue nos tubos com gel separador foram deixadas em repouso por 30 minutos até completa coagulação. Em seguida, os tubos foram centrifugados por um período de 10 a 15 minutos a 400g para a separação do soro, o qual foi utilizado para determinação da PCR e albumina.

### *Determinação de citocinas, proteína C-reativa e albumina*

As citocinas plasmáticas foram determinadas pelo método imunoenzimático (*ELISA*), utilizando kits específicos para Fator de Necrose Tumoral alfa ( $\text{TNF-}\alpha$ ), Interleucina-1 beta ( $\text{IL-1}\beta$ ) e Interleucina-6 ( $\text{IL-6}$ ) humano (BD OptEIAM<sup>®</sup>, BD Biosciences, San Jose, Califórnia, EUA), de acordo com o protocolo descrito pelos fornecedores. As sensibilidades identificadas nos kits utilizados foram: 2,0 pg/mL para o  $\text{TNF-}\alpha$ , 0,8 pg/mL para a  $\text{IL-1}\beta$  e 2,2 pg/mL para a  $\text{IL-6}$ . Os coeficientes de variabilidade (CV) intra e interensaios descritos pelo fabricante dos kits foram: intra CV:  $\text{TNF-}\alpha = 4,90 \pm 3,67\%$ ,  $\text{IL-1}\beta = 2,01 \pm 2,80\%$  e  $\text{IL-6} = 7,27 \pm 6,70\%$ ; inter CV:  $\text{TNF-}\alpha = 8,83 \pm 6,13\%$ ,  $\text{IL-1}\beta = 4,00 \pm 4,51\%$  e  $\text{IL-6} = 7,70 \pm 9,37\%$ . As concentrações foram expressas em pg/mL.

A proteína C-reativa (PCR) sérica foi determinada pelo método de nefelometria<sup>18</sup> e a albumina sérica foi determinada pelo método colorimétrico automatizado vermelho de bromocresol<sup>19</sup>. Sensibilidades identificadas nos kits de PCR e albumina utilizados: 0,175 mg/L e 0,6 g/dL, respectivamente. Os valores foram expressos em mg/L e g/dL, respectivamente.

### *Relação proteína C-reativa/albumina*

A relação PCR/albumina representa um indicador do prognóstico inflamatório e nutricional do paciente e foi calculado pela divisão entre a PCR e a albumina. Os valores classificatórios dos graus de risco de complicações adotados foram: sem risco:  $< 0,4$ ; baixo risco: 0,4-1,2; médio risco: 1,2-2,0; alto risco:  $> 2,0$ <sup>20</sup>.

### *Índices antropométricos*

Para a avaliação do estado nutricional foram realizadas aferições antropométricas de peso e estatura por profissional capacitado no momento basal e ao final do estudo (dia 15), seguindo técnicas propostas pela *World Health Organization*<sup>21</sup>.

O peso foi mensurado utilizando uma balança mecânica (Filizola<sup>®</sup>, Indústrias Filizola S/A, São Paulo, SP, Brasil), com capacidade de 150 kg e precisão de 100 g. A estatura foi medida por estadiômetro acoplado à plataforma com capacidade de 2,00 m e precisão de 1,0 cm. A classificação do estado nutricional foi realizada

pelo IMC utilizando-se os pontos de corte definidos pela *World Health Organization*<sup>22</sup>. O IMC é definido como uma relação do peso em quilogramas com o valor da estatura em metros ao quadrado ( $\text{kg}/\text{m}^2$ )<sup>21</sup>. Para os indivíduos submetidos à RYGB, foi calculado o percentual de perda do excesso de peso [% perda do excesso de peso = (peso antes da cirurgia – peso atual)/(excesso de peso antes da cirurgia) x 100], considerando como excesso de peso todo o peso igual ou maior que o IMC 25,0  $\text{kg}/\text{m}^2$ .

### *Análise estatística*

A análise estatística foi realizada no programa estatístico Stata<sup>®</sup> versão 11.0 para Windows<sup>®</sup>. Para as análises, a ingestão de suplemento foi considerada a variável de exposição. Concentrações de IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-6, PCR e albumina e a relação PCR/albumina foram os desfechos primários avaliados. Alteração do peso, do índice de massa corporal e a porcentagem da perda do excesso de peso foram os desfechos secundários avaliados.

As variáveis contínuas foram sintetizadas em duas únicas medidas por grupo: média e desvio padrão se a distribuição foi simétrica, ou mediana e intervalo interquartil se foi assimétrica. As variáveis categóricas foram descritas em categorias e frequência relativa. Para avaliação da normalidade dos dados foi aplicado o teste de Shapiro-Wilk. As variáveis contínuas com distribuição normal e variâncias homogêneas foram avaliadas por testes paramétricos, enquanto variáveis com distribuição não normal e/ou com variâncias heterogêneas foram avaliadas por testes não paramétricos. Para comparações entre grupos foram utilizados o teste de ANOVA seguido pelo teste de Bonferroni ou o Teste de Kruskal-Wallis (entre 3 grupos), e o Teste T de Student ou Teste de Mann-Whitney (entre 2 grupos). Para comparações intra-grupo, foi realizado o teste T pareado ou o Teste de Wilcoxon para dados pareados. Para todos os testes, foi adotado o nível de significância de 95% ( $p < 0,05$ ).

## **Resultados**

Vinte e seis indivíduos foram submetidos à RYGB aberta no período entre outubro de 2013 a abril de 2014. Destes, nove não foram elegíveis de acordo com os critérios de inclusão e exclusão ou não aceitaram participar. Assim, 17 indivíduos foram randomizados para os três grupos de tratamento (placebo, prebiótico ou simbiótico). Ao longo

do estudo, oito indivíduos foram descontinuados ou desistiram da pesquisa. Por fim, nove indivíduos foram avaliados (três em cada grupo).

Com relação aos indivíduos saudáveis, 14 foram recrutados e preencheram os critérios de inclusão, sendo randomizados para os três grupos de tratamento. Quatro foram descontinuados, não havendo desistências. Ao final, nove indivíduos foram avaliados (três em cada grupo), totalizando 18 participantes no presente estudo (Figura 1).

### *Características dos participantes do estudo*

Dados demográficos, antropométricos e clínicos dos participantes no momento basal estão apresentados na tabela 1. As características dos participantes submetidos à RYGB não foram significativamente diferentes entre os grupos de tratamento. A maioria era do sexo feminino (88,9%), todos apresentavam comorbidades associadas à obesidade e utilizavam ao menos um tipo de medicamento antes da cirurgia. A reposição de fluidos foi necessária para todos os indivíduos após a cirurgia, mas ninguém apresentou edema. Dois indivíduos relataram excesso de flatulência e um relatou constipação. Nenhum participante necessitou de suporte ventilatório durante a internação ou apresentou complicações pós-cirúrgicas.

No momento basal, os indivíduos saudáveis que receberam simbiótico apresentaram maior peso corporal comparado àqueles que receberam placebo ( $p=0,045$ ). Na comparação entre os grupos (cirúrgico e saudável), os indivíduos que receberam placebo, prebiótico ou simbiótico no grupo cirúrgico apresentaram maior peso corporal e IMC no momento basal ( $p<0,001$ ). A maioria era do sexo feminino (88,9%) e, devido aos critérios de elegibilidade, ninguém apresentava doenças, utilizava medicamento ou apresentava distúrbios gastrointestinais.

Todos os participantes cumpriram, pelo menos, 14 dias de suplementação. Não foram relatados efeitos adversos relacionados ao consumo de maltodextrina (placebo). O único efeito adverso relatado com o consumo de prebiótico e simbiótico foi o aumento da flatulência apenas nos primeiros três dias de suplementação, embora não tenha havido desistências do estudo por este motivo. A causa das infecções de três indivíduos que foram descontinuados do estudo foi de origem urinária ou do trato respiratório superior, não apresentando relação com a suplementação.

Os participantes submetidos à RYGB relataram ter seguido rigorosamente a dieta prescrita durante o período de suplementação (800

kcal/dia, com redução equilibrada de todos os macronutrientes e proibição de bebidas alcoólicas, bebidas gaseificadas e açúcar) e não apresentaram intercorrências relacionadas ao consumo dietético. Quanto ao uso de fármacos e suplementos após a cirurgia, foram utilizados por todos os pacientes apenas os medicamentos: omeprazol 40 mg por dia via oral, um comprimido de suplemento vitamínico e mineral por dia (Materna<sup>®</sup>, Pfizer Canada Inc. - Quebec, Canadá) e suplemento de vitamina B<sub>1</sub> (100 mg), B<sub>6</sub> (100 mg) e B<sub>12</sub> (5000 µg) injetável apenas em uma ocasião (Citoneurin<sup>®</sup>, Merck, S.A. de C.V. Naucalpan de Juárez - México - DF) - após 30 dias de cirurgia (momento basal do presente estudo). De forma semelhante, os participantes saudáveis relataram não terem alterado o consumo dietético, além de não terem consumido bebida alcoólica, utilizado medicamentos e terem mantido o padrão de atividade física ao longo do estudo.

#### *Marcadores inflamatórios, proteínas de fase aguda e relação PCR/albumina*

Na avaliação entre os que receberam placebo, prebiótico e simbiótico no grupo cirúrgico, não houve diferenças significativas quanto às citocinas plasmáticas em ambos os momentos do estudo ( $p>0,05$ ). Contudo, no grupo saudável foram observadas maiores concentrações plasmáticas de IL-1 $\beta$  naqueles que receberam simbiótico comparado ao placebo após a suplementação ( $p=0,049$ ). Na avaliação intra-grupo, houve redução significativa das concentrações de IL-1 $\beta$  dos indivíduos que receberam placebo no grupo saudável ( $p=0,003$ ) (Figura 2). Quando os grupos cirúrgico e saudável foram comparados entre si, foram encontradas diferenças significativas entre as concentrações plasmáticas de IL-1 $\beta$  daqueles receberam placebo (momento basal,  $p=0,049$ ) e de TNF- $\alpha$  daqueles que receberam placebo (momento final,  $p=0,049$ ) e simbiótico (momento final,  $p=0,049$ ), com maiores valores para o grupo cirúrgico. A mudança nos valores das citocinas (momento final - momento basal) não foi significativamente diferente entre os indivíduos que receberam placebo, prebiótico ou simbiótico em nenhum dos grupos avaliados ( $p>0,05$ ).

Da mesma forma que as citocinas, não houve diferenças significativas quanto às proteínas de fase aguda em ambos os momentos do estudo ( $p>0,05$ ) e a mudança nos valores da PCR e da albumina (momento final - momento basal) não foi significativamente diferente entre os indivíduos suplementados em nenhum dos grupos avaliados ( $p>0,05$ ). Entretanto, nos dois grupos avaliados (cirúrgico e saudável),

com exceção dos indivíduos suplementados com simbiótico no grupo cirúrgico, os valores absolutos da PCR diminuíram ao final do estudo, porém, sem significância estatística. Quanto à albumina, as concentrações médias dessa proteína não apresentaram diferença significativa em nenhum dos dois momentos do estudo, mantendo-se dentro dos valores de referência (3,4 – 5,0 g/dL) (LASKY et al., 1985).

Quanto à relação PCR/albumina, não foram observadas diferenças significativas dentro dos grupos de estudo (Figura 3). Além disso, não houve diferença significativa entre os que receberam placebo, prebiótico ou simbiótico no momento basal ( $p=0,129$ , grupo cirúrgico;  $p=0,833$ , grupo saudável) e no momento final ( $p=0,945$ , grupo cirúrgico;  $p=0,690$ , grupo saudável). Quando comparados os grupos entre si (cirúrgico e saudável), os indivíduos que foram suplementados com placebo no grupo cirúrgico apresentaram maiores valores no momento basal ( $p=0,047$ ) e no momento final ( $p=0,049$ ). Por outro lado, não houve diferenças significativas entre os indivíduos que foram suplementados com prebiótico ou simbiótico no momento basal ( $p=0,087$ ;  $p=0,603$ , respectivamente) e no momento final ( $p=0,053$ ;  $p=0,078$ , respectivamente), embora no momento final tenha havido tendência para menores valores no grupo saudável comparado ao grupo cirúrgico. A mudança nos valores da relação PCR/albumina (momento final – momento basal) não foi significativamente diferente entre os indivíduos que receberam placebo, prebiótico ou simbiótico em nenhum dos grupos avaliados ( $p>0,05$ ).

### *Índices antropométricos*

Na avaliação entre os que receberam placebo, prebiótico e simbiótico no grupo cirúrgico, não houve diferenças significativas quanto ao peso corporal, IMC e percentual de perda de excesso de peso em ambos os momentos do estudo ( $p>0,05$ ). Contudo, no grupo saudável foi observado maior peso corporal naqueles que receberam simbiótico comparado ao placebo antes da suplementação (+6,1 kg,  $p=0,040$ ) (Tabela 2). Na avaliação intra-grupo, o peso corporal, IMC e percentual de perda do excesso de peso no grupo cirúrgico diminuíram significativamente nos indivíduos suplementados com placebo e com prebiótico. Entretanto, em média, houve diminuição 53,8% maior no peso daqueles que receberam prebiótico comparado aos que receberam placebo (-0,7 kg,  $p=0,001$ ). Similarmente, a redução no peso dos indivíduos suplementados com prebiótico foi significativamente maior comparado ao simbiótico (-0,9 kg,  $p=0,001$ ). Quando comparados os

grupos entre si (cirúrgico e saudável), os indivíduos que foram suplementados com placebo, prebiótico ou simbiótico no grupo cirúrgico apresentaram maior peso corporal e IMC no momento basal ( $p < 0,001$ ) e no momento final ( $p < 0,001$ ).

No grupo cirúrgico, a redução média no IMC daqueles que receberam placebo e prebiótico foi significativamente maior comparado àqueles que foram suplementados com simbiótico ( $-0,4 \text{ kg/m}^2$ ,  $p = 0,037$ ;  $-0,6 \text{ kg/m}^2$ ,  $p = 0,003$ , respectivamente). Do mesmo modo, o aumento médio no percentual de perda de excesso de peso daqueles que receberam placebo e prebiótico foi significativamente maior comparado àqueles que foram suplementados com simbiótico ( $+2,4\%$ ,  $p = 0,030$ ;  $+3,2\%$ ,  $p = 0,007$ , respectivamente). Na avaliação intra-grupo, houve diminuição significativa do peso corporal nos indivíduos suplementados com simbiótico no grupo de não obesos ( $-0,3 \text{ kg}$ ,  $p = 0,038$ ), mas a magnitude da perda (momento final – momento basal) não foi significativamente maior comparada ao placebo e prebiótico ( $p > 0,05$ ).

## Discussão

Com base na revisão de literatura realizada, este é o primeiro ensaio clínico randomizado, controlado e triplo-cego que avaliou os efeitos da suplementação de prebiótico e simbiótico sobre parâmetros inflamatórios e antropométricos de indivíduos submetidos à RYGB. Os resultados mostraram que a administração de prebiótico (FOS) após a RYGB aumenta significativamente a perda de peso, ao passo que tanto o prebiótico quanto o simbiótico administrado não apresentaram efeito significativo nas citocinas e proteínas de fase aguda investigadas.

Número limitado de estudos tem investigado alterações na microbiota intestinal após a RYGB e possíveis associações com os parâmetros imunológicos e índices antropométricos em humanos, apresentando resultados controversos<sup>5,7-9</sup>. Enquanto estudos observaram diminuição de bactérias pertencentes ao filo Firmicutes<sup>7,9</sup> e Bacteroidetes<sup>7</sup>, incluindo espécies de *Faecalibacterium prausnitzii*, um grupo de bactérias com ação anti-inflamatória<sup>23</sup>, um outro estudo<sup>5</sup> verificou que a proporção de Firmicutes e Bacteroidetes não alterou, mas houve menor abundância dos gêneros *Lactobacillus* (filo Firmicutes) e *Bifidobacterium* (filo Actinobacteria), os quais apresentaram correlação inversa com a alfa-1-glicoproteína ácida (proteína de fase aguda positiva), peso, gordura corporal e IMC<sup>8</sup>.

A maioria das espécies do filo Proteobacteria é anaeróbia facultativa, enquanto as espécies do filo Firmicutes são

predominantemente anaeróbias restritas. Entre as alterações anatômicas induzidas pela RYGB, está a formação de uma pequena câmara gástrica anastomosada ao jejuno distal, o que favorece a maior presença de oxigênio nesta parte do intestino e o desenvolvimento de espécies anaeróbias facultativas<sup>5</sup>, em detrimento das anaeróbias restritas, como as bifidobactérias. Associada a esta alteração, ocorre o aumento do pH devido à diminuição da secreção de ácido gástrico, o que pode desfavorecer o desenvolvimento dos lactobacilos e bifidobactérias, espécies associadas à efeitos imunorreguladores e de preservação da função de barreira (impedindo a absorção de compostos tóxicos como o lipopolissacarídeo)<sup>24,25</sup>, uma vez que os lactobacilos são bactérias acidúricas com pH ótimo de crescimento entre 5,5 a 6,0 e as bifidobactérias com pH ótimo de crescimento entre 6,0 e 7,0<sup>26</sup>. Além disso, apesar de não ter sido avaliado a microbiota intestinal, deve-se considerar que o uso de inibidores da bomba de prótons pelos participantes do estudo pode ter diminuído ainda mais a secreção de ácido gástrico e limitado a sobrevivência e proliferação destas bactérias. De fato, uma publicação recente mostrou que o uso desses medicamentos após a RYGB aumenta a proporção de bactérias do filo Firmicutes devido à maior abundância dos gêneros *Streptococcus*, *Clostridium* e *Blautia*, não do gênero *Lactobacillus*<sup>27</sup>.

No que diz respeito à ação do FOS, o principal produto da fermentação deste prebiótico pelas bactérias fecais é o acetato<sup>28</sup>, ácido graxo de cadeia curta (AGCC) mais abundante no cólon e responsável por efeitos imunomodulatórios<sup>29,30</sup> e de regulação da homeostase energética<sup>31</sup>. O receptor acoplado à proteína G 43 (GPR43) reconhece AGCC no tecido adiposo, sendo altamente expressa em neutrófilos, macrófagos e monócitos<sup>31</sup>. Maslowski et al.<sup>32</sup> verificaram que, após tratamento com acetato, os valores de TNF- $\alpha$  e espécies reativas de oxigênio diminuíram em camundongos *germ-free* com colite, alterações não observadas em camundongos com colite GPR43<sup>-/-</sup>, sugerindo que o efeito imunomodulador do acetato é mediado por este receptor. O acetato também foi capaz de reduzir a secreção de TNF- $\alpha$  de neutrófilos humanos e inibiu a atividade do fator de transcrição nuclear kappa B (NF- $\kappa$ B) e da IL-6 em cultura de células de carcinoma de cólon humano<sup>29</sup>. Apesar desses efeitos positivos, a dose de FOS e o tempo de suplementação necessários para apresentar efeitos benéficos em marcadores inflamatórios ainda não é conhecida, no entanto, o pequeno tamanho amostral neste estudo pode ter sido um fator que não permitiu observar efeitos significativos.

Em relação à homeostase energética, Frost et al.<sup>33</sup> mostrou que a administração intraperitoneal de acetato em camundongos machos C57BL/6 resultou em menor ingestão de alimentos até duas horas após a injeção, fato explicado pela redução na atividade catalítica hipotalâmica da proteína quinase ativada por AMP (AMPK), estimulando a expressão de peptídeos anorexígenos, como a pró-opiomelanocortina (POMC), e a redução da expressão de peptídeos orexígenos, como o peptídeo relacionado ao gene agouti (AgRP). Outro mecanismo de ação do acetato associado à redução do peso é mediado pela proteína ligadora de elementos responsivos a carboidratos (ChREBP)<sup>34,35</sup>, responsável por ativar a transcrição de enzimas envolvidas na gliconeogênese e lipogênese, como a piruvato quinase hepática (L-PK). A incubação de AGCC, incluindo acetato, em uma cultura de hepatócitos de ratos mostrou a inativação de ChREBP<sup>35</sup>. Um estudo *in vivo* mostrou que a administração oral de acetato reduziu o acúmulo de lipídios no tecido adiposo por meio da redução da atividade de diversas enzimas lipogênicas, incluindo a L-PK<sup>34</sup>.

No que concerne à ação dos simbióticos, poucos estudos randomizados, controlados e duplo-cegos tem investigado o efeito destes suplementos em parâmetros imunológicos e antropométricos, especialmente em adultos com obesidade. Em uma recente publicação, a administração de simbióticos em indivíduos com esteatose hepática não alcoólica e obesidade reduziu as concentrações plasmáticas de PCR e TNF- $\alpha$  e de NF- $\kappa$ B em extratos nucleares de células mononucleares do sangue periférico, não alterando o IMC<sup>36</sup>. A produção de TNF- $\alpha$  ocorre como resultado da ativação do NF- $\kappa$ B, sugerindo que o simbiótico administrado no presente estudo não foi eficaz em reduzir a expressão deste fator de transcrição, considerado um dos principais reguladores da produção de citocinas inflamatórias<sup>37</sup>. Em outra investigação também foi observada redução significativa de PCR em diabéticos com excesso de peso após a administração de simbióticos, sem alteração significativa no peso e no IMC<sup>38</sup>. Contudo, as diferentes cepas probióticas presentes nos simbióticos utilizados, as diferentes condições de saúde dos indivíduos incluídos, as características da dieta e a dose e o tempo de suplementação podem explicar, em parte, a divergência entre os resultados encontrados neste estudo e nas investigações anteriormente citadas<sup>36,38</sup>.

As ações das cepas probióticas utilizadas no presente estudo (*Lactobacillus rhamnosus* HN001, *Lactobacillus acidophilus* NCFM, *Lactobacillus paracasei* LPC-37 e *Bifidobacterium lactis* HN019) também podem justificar a falta de efeito redutor observado nos

marcadores inflamatórios e índices antropométricos dos grupos suplementados com simbiótico. Estudos mostraram que a ingestão dietética de *L. rhamnosus* HN001 tem efeito imunomodulador, como a maior produção de interferon gama (IFN- $\gamma$ ) e IL-4 em camundongos sensibilizados com ovoalbumina<sup>39</sup> e de IL-10 em porcos com doença pulmonar alérgica<sup>40</sup>. Ainda não é conhecida a ação específica desta cepa no peso corporal, mas uma meta-análise<sup>41</sup> não observou redução significativa do peso com a suplementação de espécies de *L. rhamnosus* em indivíduos e animais saudáveis. *L. acidophilus* NCFM tem sido relacionada com o aumento da secreção de IL-12p70 por células dendríticas de humanos saudáveis<sup>42</sup> e com a expressão de genes do TNF- $\alpha$ , IL-6 e IL-10 em células epiteliais fetais de camundongos saudáveis<sup>43</sup>. Estes efeitos são mediados pela ativação dos *Toll-like receptors* 2 (TLR-2), os quais ativam fatores de transcrição como o NF- $\kappa$ B<sup>44</sup>. Quanto ao peso corporal, não é conhecida a ação específica do *L. acidophilus* NCFM nesse desfecho, mas o estudo de Million et al.<sup>41</sup> observou que a administração de espécies de *L. acidophilus* resultou em ganho de peso em humanos e animais saudáveis. Quanto ao *L. paracasei* LPC-37, a sua ação em desfechos imunológicos tem sido pouco estudada, mas tem sido observada atividade imunomoduladora desta cepa<sup>45-47</sup>. Roessler et al.<sup>45</sup> verificaram maior atividade fagocítica de monócitos e granulócitos em indivíduos sadios, sem alterar diversos subtipos de linfócitos no sangue periférico (CD3<sup>+</sup>, CD19<sup>+</sup>, CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>, CD3<sup>-</sup>CD16<sup>+</sup>, CD56<sup>+</sup>, CD3<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>CD57<sup>+</sup>, CD54<sup>+</sup>). De modo similar, Paineau et al.<sup>46</sup> e Forssten et al.<sup>47</sup> não observaram alterações nas concentrações séricas de imunoglobulinas (IgA e IgM) e de citocinas (PCR, IL-10, TNF- $\alpha$ , IL-8, IL-17 e IL-12p70) em indivíduos sadios após a suplementação de *L. paracasei* LPC-37. Por último, estudos com a *B. lactis* HN019 mostram a capacidade desta cepa em modular o sistema imunológico<sup>48-51</sup>. Gill et al.<sup>48</sup> observaram o aumento da capacidade fagocítica de fagócitos mononucleares e polimorfonucleares em humanos saudáveis e efeitos semelhantes foram relatados por estes<sup>49</sup> e outros autores<sup>50,51</sup>, incluindo o aumento da produção de IFN- $\gamma$ . Em conjunto, as ações das cepas administradas podem ter minimizado o efeito redutor esperado nos marcadores inflamatórios avaliados devido ao papel imunoestimulador destas cepas. É importante destacar que a maioria dos estudos disponíveis na literatura com essas cepas foi realizada em modelos animais e humanos saudáveis ou com doenças inflamatórias, o que pode ter gerado resultados diferentes comparados a este estudo. Sobre os índices antropométricos, a literatura ainda não

dispõe de estudos suficientes para esclarecer o efeito destas cepas nestes desfechos.

Apesar das evidências supracitadas, os mecanismos de ação moleculares destas cepas ainda não estão totalmente elucidados, sendo necessários mais estudos em diferentes linhagens celulares e em diferentes modelos experimentais, particularmente *in vivo*. Todavia, sugere-se que a sinalização bacteriana no trato gastrointestinal requer uma rede de complexas interações celulares<sup>52</sup>, tanto com células imunitárias quanto com as próprias células do epitélio intestinal e com outras populações bacterianas.

Os pontos fortes deste estudo são: a originalidade da proposta em avaliar indivíduos após a RYGB; o próprio desenho do estudo (randomizado, controlado e triplo cego) e a adesão à suplementação (> 93%). Por outro lado, algumas limitações devem ser consideradas na interpretação dos achados: o método de amostragem (não probabilístico) pode ter fragilizado o poder e a generalização dos resultados, embora este estudo se caracterize como um estudo piloto; não foi avaliado o efeito da suplementação na microbiota intestinal devido ao quadro de constipação apresentado pela maioria dos participantes, o que impossibilitou verificar se houve alteração na composição da microbiota; e a ingestão dietética pode ter apresentado variações intra e interindividuais, conduzindo a mudanças específicas na microbiota intestinal, contudo, os indivíduos submetidos à RYGB receberam orientações dietéticas específicas no período pós-operatório.

Em conclusão, este ensaio clínico mostrou que a suplementação de prebiótico (FOS) em indivíduos submetidos à RYGB foi capaz de aumentar significativamente a perda de peso, enquanto tanto o prebiótico quanto o simbiótico não foram suficientes em promover alterações significativas nas concentrações de IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-6, PCR, albumina e a relação PCR/albumina, apesar de ter sido observado redução nos valores absolutos dos mesmos. A partir dos resultados encontrados, a utilização de FOS pode representar um potencial adjuvante no tratamento da obesidade no que diz respeito à perda de peso corporal. Baseado nesses achados, uma nova pesquisa está em andamento, utilizando maior dose, tempo de suplementação e tamanho amostral.

## **Agradecimentos**

Ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição da Universidade Federal de Santa Catarina, à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de estudos concedida ao primeiro autor, à equipe do Serviço de Análises Clínicas do HU/UFSC pelo auxílio nas determinações laboratoriais, à empresa Invictus® FarmaNutrição por gentilmente doar os suplementos e aos pacientes por aceitarem a participar da pesquisa.

## **Referências**

- 1 – Galic S, Oakhill JS, Steinberg GR. Adipose tissue as an endocrine organ. *Mol Cell Endocrinol.* 2010 Mar 25;316(2):129-39.
- 2 – Johnson AR, Milner JJ, Makowski L. The inflammation highway: metabolism accelerates inflammatory traffic in obesity. *Immunol Rev.* 2012 Sep;249(1):218-38.
- 3 – World Health Organization. Factsheet: obesity and overweight. 2013. Available at: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/index.html>. (accessed April 9 2014)
- 4 – Ley RE, Turnbaugh PJ, Klein S, et al. Microbial ecology: human gut microbes associated with obesity. *Nature.* 2006 Dec 21;444(7122):1022-3.
- 5 – Furet JP, Kong LC, Tap J, et al. Differential adaptation of human gut microbiota to bariatric surgery-induced weight loss: links with metabolic and low-grade inflammation markers. *Diabetes.* 2010 Dec;59(12):3049-57.
- 6 – Gravitz L. Microbiome: The critters within. *Nature.* 2012 May 17;485(7398):S12-3.
- 7 – Graessler J, Qin Y, Zhong H et al. Metagenomic sequencing of the human gut microbiome before and after bariatric surgery in obese patients with type 2 diabetes: correlation with inflammatory and metabolic parameters. *Pharmacogenomics J.* 2013 Dec;13(6):514-22.

8 – Kong LC, Tap J, Aron-Wisnewsky J, et al. Gut microbiota after gastric bypass in human obesity: increased richness and associations of bacterial genera with adipose tissue genes. *Am J Clin Nutr.* 2013 Jul;98(1):16-24.

9 – Zhang H, DiBaise JK, Zuccolo A, et al. Human gut microbiota in obesity and after gastric bypass. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2009 Feb 17;106(7):2365-70.

10 – Neff KJ, Olbers T, le Roux CW. Bariatric surgery: the challenges with candidate selection, individualizing treatment and clinical outcomes. *BMC Med.* 2013 Jan 10;11:8.

11 – Pineiro M, Asp NG, Reid G, et al. FAO Technical meeting on prebiotics. *J Clin Gastroenterol.* 2008 Sep;42 Suppl 3 Pt 2:S156-9.

12 – Sanders ME, Akkermans LM, Haller D, et al. Safety assessment of probiotics for human use. *Gut Microbes.* 2010 May-Jun;1(3):164-85.

13 – Calder PC, Ahluwalia N, Brouns F, et al. Dietary factors and low-grade inflammation in relation to overweight and obesity. *Br J Nutr.* 2011 Dec;106 Suppl 3:S5-78.

14 – World Health Organization. *Global Recommendations on Physical Activity for Health.* Geneva: World Health Organization; 2010.

15 – World Health Organization. *International guide for monitoring alcohol consumption and related harm.* Geneva: World Health Organization; 2000.

16 – Rickham PP. Human experimentation. Code of ethics of the world medical association declaration oh Helsinki. *Br Med J.* 1964 Jul 18;2(5402):177.

17 – World Health Organization. *WHO Guidelines on drawing blood: best practices in phlebotomy.* Geneva: World Health Organization; 2010.

18 – Ledue TB, Weiner DL, Sipe JD, et al. *Ann Clin Biochem.* Analytical evaluation of particle-enhanced immunonephelometric assays for C-reactive protein, serum amyloid A and mannose-binding protein in human serum. 1998 Nov;35 (Pt 6):745-53.

- 19 – Lasky FD, Li ZM, Shaver DD, et al. Evaluation of a bromocresol purple method for the determination of albumin adapted to the DuPont aca discrete clinical analyzer. *Clin Biochem*. 1985 Oct;18(5):290-6.
- 20 – Correa CR, Angeleli AO, Camargo NR, et al. Comparison of CRP/albumin ratio with prognostic inflammatory nutritional index (PINI). *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial* 2002 Jul;38:183–190.
- 21 – World Health Organization. Expert committee on physical status: the use and interpretation of anthropometry. Physical status: the use and interpretation of anthropometry: report of a WHO expert committee. WHO technical report series, 854. Geneva: World Health Organization; 1995.
- 22 – World Health Organization. BMI classification. 2008. Available at: [http://apps.who.int/bmi/index.jsp?introPage=intro\\_3.html](http://apps.who.int/bmi/index.jsp?introPage=intro_3.html). (accessed April 9 2014)
- 23 – Miquel S, Martín R, Rossi O, et al. Faecalibacterium prausnitzii and human intestinal health. *Curr Opin Microbiol*. 2013 Jun;16(3):255-61.
- 24 – Bernardeau M, Vernoux JP, Henri-Dubernet S, et al. Safety assessment of dairy microorganisms: the Lactobacillus genus. *Int J Food Microbiol*. 2008 Sep 1;126(3):278-85.
- 25 – Russell DA, Ross RP, Fitzgerald GF, et al. Metabolic activities and probiotic potential of bifidobacteria. *Int J Food Microbiol*. 2011 Sep 1;149(1):88-105.
- 26 – Shah, N. Functional cultures and health benefits. *Int Dairy J*. 2007 Nov;17(11): 1262–1277.
- 27 – Ward EK, Schuster DP, Stowers KH, et al. The Effect of PPI Use on Human Gut Microbiota and Weight Loss in Patients Undergoing Laparoscopic Roux-en-Y Gastric Bypass. *Obes Surg*. 2014 May 22.

28 – Rossi M, Corradini C, Amaretti A, et al. Fermentation of fructooligosaccharides and inulin by bifidobacteria: a comparative study of pure and fecal cultures. *Appl Environ Microbiol.* 2005 Oct;71(10):6150-8.

29 – Tedelind S, Westberg F, Kjerrulf M, et al. Anti-inflammatory properties of the short-chain fatty acids acetate and propionate: a study with relevance to inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol.* 2007 May 28;13(20):2826-32.

30 – Masui R, Sasaki M, Funaki Y, et al. G protein-coupled receptor 43 moderates gut inflammation through cytokine regulation from mononuclear cells. *Inflamm Bowel Dis.* 2013 Dec;19(13):2848-56.

31 – Ichimura A, Hirasawa A, Hara T, et al. Free fatty acid receptors act as nutrient sensors to regulate energy homeostasis. *Prostaglandins Other Lipid Mediat.* 2009 Sep;89(3-4):82-8.

32 – Maslowski KM, Vieira AT, Ng A, et al. Regulation of inflammatory responses by gut microbiota and chemoattractant receptor GPR43. *Nature.* 2009 Oct 29; 461(7268):1282-6.

33 – Frost G, Sleeth ML, Sahuri-Arisoylu M, et al. The short-chain fatty acid acetate reduces appetite via a central homeostatic mechanism. *Nat Commun.* 2014 Apr 29;5:3611.

34 – Yamashita H, Fujisawa K, Ito E, et al. Improvement of obesity and glucose tolerance by acetate in Type 2 diabetic Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF) rats. *Biosci Biotechnol Biochem.* 2007 May;71(5):1236-43.

35 – Kawaguchi T, Osatomi K, Yamashita H, et al. Mechanism for fatty acid "sparing" effect on glucose-induced transcription: regulation of carbohydrate-responsive element-binding protein by AMP-activated protein kinase. *J Biol Chem.* 2002 Feb 8;277(6):3829-35.

36 – Eslamparast T, Poustchi H, Zamani F, Sharafkhan M, Malekzadeh R, Hekmatdoost A. Synbiotic supplementation in nonalcoholic fatty liver disease: a randomized, double-blind, placebo-controlled pilot study. *Am J Clin Nutr.* 2014 Mar;99(3):535-42.

- 37 – Cai D, Yuan M, Frantz DF, et al. Local and systemic insulin resistance resulting from hepatic activation of IKK-beta and NF-kappaB. *Nat Med*. 2005 Feb;11(2):183-90.
- 38 – Asemi Z, Khorrami-Rad A, Alizadeh SA, et al. Effects of synbiotic food consumption on metabolic status of diabetic patients: a double-blind randomized cross-over controlled clinical trial. *Clin Nutr*. 2014 Apr;33(2):198-203.
- 39 – Cross ML, Mortensen RR, Kudsk J, et al. Dietary intake of *Lactobacillus rhamnosus* HN001 enhances production of both Th1 and Th2 cytokines in antigen-primed mice. *Med Microbiol Immunol*. 2002 May;191(1):49-53.
- 40 – Thomas DJ, Husmann RJ, Villamar M, et al. *Lactobacillus rhamnosus* HN001 attenuates allergy development in a pig model. *PLoS One*. 2011 Feb 28;6(2):e16577.
- 41 – Million M, Angelakis E, Paul M, et al. Comparative meta-analysis of the effect of *Lactobacillus* species on weight gain in humans and animals. *Microb Pathog*. 2012 Aug;53(2):100-8.
- 42 – Gad M, Ravn P, Søbørg DA, et al. Regulation of the IL-10/IL-12 axis in human dendritic cells with probiotic bacteria. *FEMS Immunol Med Microbiol*. 2011 Oct;63(1):93-107.
- 43 – Zeuthen LH, Fink LN, Metzdorff SB, et al. *Lactobacillus acidophilus* induces a slow but more sustained chemokine and cytokine response in naïve foetal enterocytes compared to commensal *Escherichia coli*. *BMC Immunol*. 2010 Jan 19;11:2.
- 44 – Jiang Y, Lü X, Man C, et al. *Lactobacillus acidophilus* induces cytokine and chemokine production via NF- $\kappa$ B and p38 mitogen-activated protein kinase signaling pathways in intestinal epithelial cells. *Clin Vaccine Immunol*. 2012 Apr;19(4):603-8.
- 45 – Roessler A, Friedrich U, Vogelsang H, et al. The immune system in healthy adults and patients with atopic dermatitis seems to be affected differently by a probiotic intervention. *Clin Exp Allergy*. 2008 Jan;38(1):93-102.

46 – Paineau D, Carcano D, Leyer G, et al. Effects of seven potential probiotic strains on specific immune responses in healthy adults: a double-blind, randomized, controlled trial. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2008 Jun;53(1):107-13.

47 – Forssten SD, Salazar N, López P., et al. Influence of a probiotic milk drink, containing *Lactobacillus Paracasei* Lpc-37, on immune function and gut microbiota in elderly subjects. *Eur J Food Res Rev.* 2011 Out-Nov;1(3): 159-172, 2011.

48 – Gill HS, Rutherford KJ, Cross ML, et al. Enhancement of immunity in the elderly by dietary supplementation with the probiotic *Bifidobacterium lactis* HN019. *Am J Clin Nutr.* 2001 Dec;74(6):833-9.

49 – Gill HS, Rutherford KJ, Prasad J, et al. Enhancement of natural and acquired immunity by *Lactobacillus rhamnosus* (HN001), *Lactobacillus acidophilus* (HN017) and *Bifidobacterium lactis* (HN019). *Br J Nutr.* 2000 Feb;83(2):167-76.

50 – Arunachalam K, Gill HS, Chandra RK. Enhancement of natural immune function by dietary consumption of *Bifidobacterium lactis* (HN019). *Eur J Clin Nutr.* 2000 Mar;54(3):263-7.

51 - Chiang BL, Sheih YH, Wang LH, et al. Enhancing immunity by dietary consumption of a probiotic lactic acid bacterium (*Bifidobacterium lactis* HN019): optimization and definition of cellular immune responses. *Eur J Clin Nutr.* 2000 Nov;54(11):849-55.

52 – Konstantinov SR, Smidt H, de Vos WM, et al. S layer protein A of *Lactobacillus acidophilus* NCFM regulates immature dendritic cell and T cell functions. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2008 Dec 9;105(49):19474-9.

Figura 1 – Fluxograma do estudo. Florianópolis, SC, 2014.

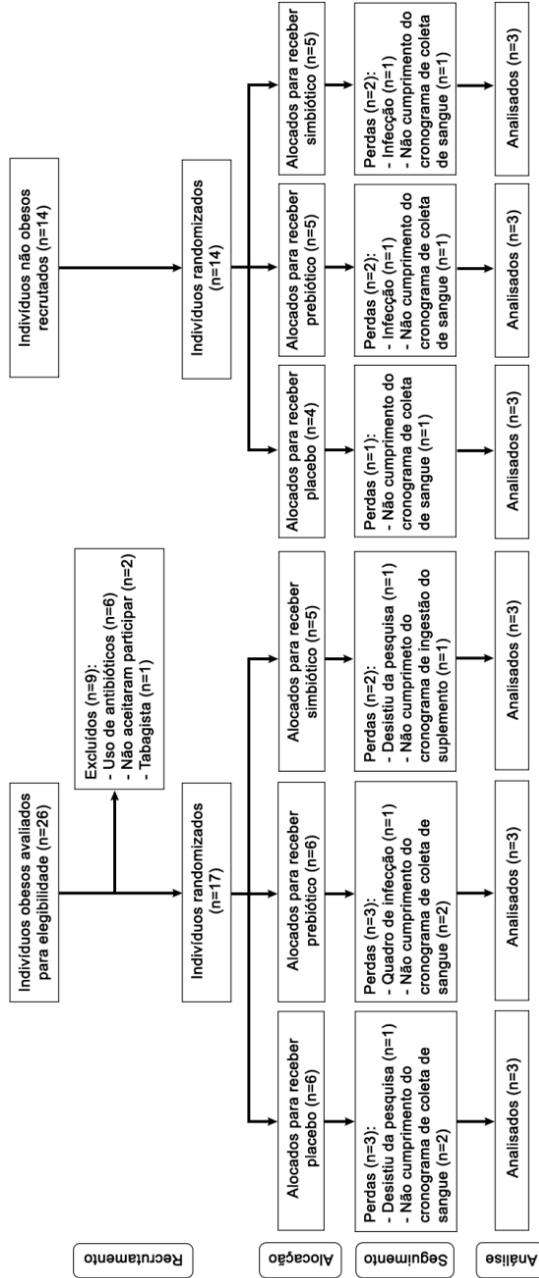
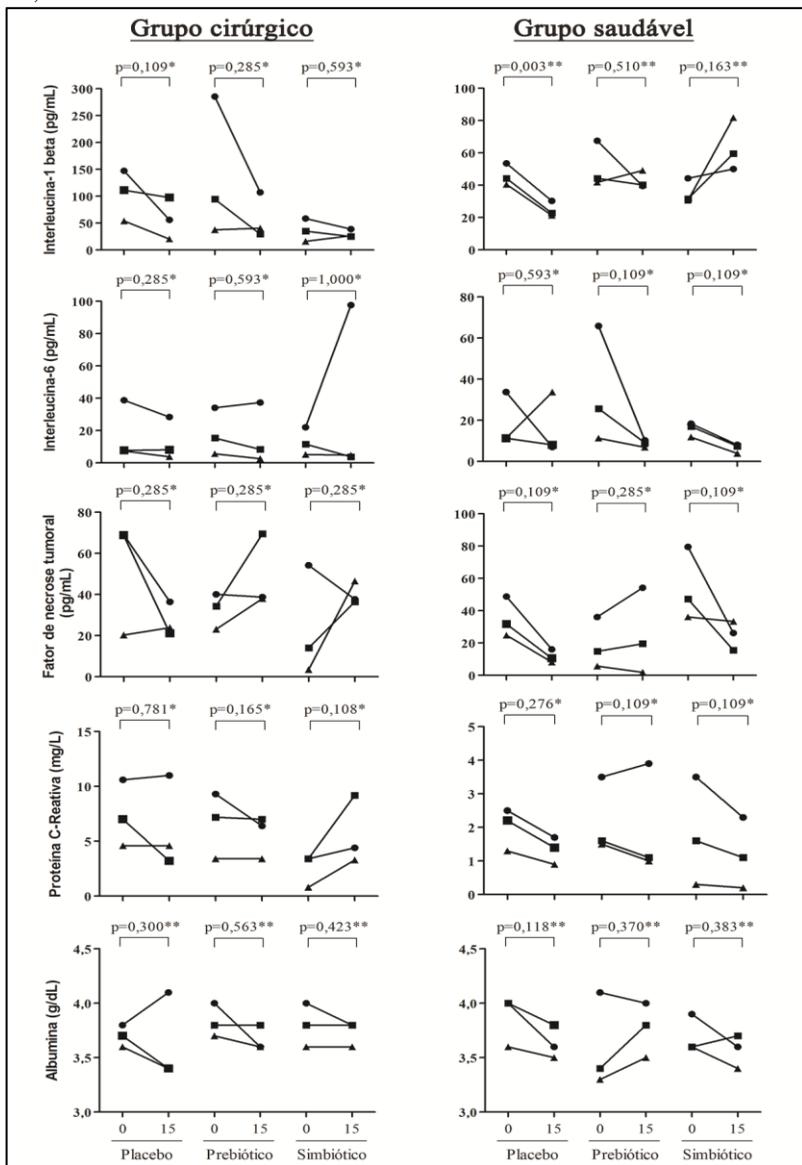


Tabela 1 – Características basais dos indivíduos randomizados, de acordo com os grupos de estudo (n=18). Florianópolis, SC, 2014.

Características	Grupo cirúrgico			Grupo saudável			P (b)
	P (a)			P (a)			
	Placebo (n=3)	Prebiótico (n=3)	Simbiótico (n=3)	Placebo (n=3)	Prebiótico (n=3)	Simbiótico (n=3)	
Idade (anos)	32,0±2,0	36,7±9,1	42,0±16,5	35,0±15,7	25,6±1,5	33,0±6,2	0,410 <sup>a</sup>
Sexo (Masc/Fem)	0/3	1/2	0/3	1/2	0/3	0/3	NA
Peso (kg)	103,0±8,7	109,5±19,3	114,1±19,9	52,1±0,7	56,8±3,0	58,2±2,2 <sup>ef</sup>	0,031 <sup>a</sup>
Índice de Massa Corporal (kg/m <sup>2</sup> )	38,2±1,4	40,2±4,5	41,6±5,2	20,9±2,5	21,3±1,7	24,0±0,4	0,145 <sup>b</sup>
Tempo de internação (dias)	4,7±0,6	5,3±0,6	4,7±0,6	-	-	-	-
Tempo de cirurgia (horas)	186,7±20,8	133,3±53,5	161,7±17,5	-	-	-	-
Reposição de fluidos durante a internação (L)	3,7±0,6	4,7±2,3	2,9±0,9	-	-	-	-
Soro fisiológico 0,9%	4,7±1,2	5,5±2,2	5,4±0,5	-	-	-	-
Soro glicosado 5%	-	-	-	-	-	-	-
Uso prévio de medicações (n,%) <sup>*</sup>	-	-	-	-	-	-	-
Anti-hipertensivos	1 (33,3)	2 (66,7)	2 (66,7)	-	-	-	-
Diuréticos	1 (33,3)	0 (0,0)	1 (33,3)	-	-	-	-
Hipoglicemiantes orais	0 (0,0)	1 (33,3)	1 (33,3)	-	-	-	-
Inibidor da bomba de prótons	0 (0,0)	1 (33,3)	0 (0,0)	-	-	-	-
Comorbidades prévias (n,%) <sup>*</sup>	-	-	-	-	-	-	-
Hipertensão arterial	2 (66,7)	3 (100)	2 (66,7)	-	-	-	-
Diabetes mellitus tipo 2	0 (0,0)	1 (33,3)	1 (33,3)	-	-	-	-
Dislipidemia	0 (0,0)	1 (33,3)	1 (33,3)	-	-	-	-
Esteatose hepática	1 (33,3)	1 (33,3)	0 (0,0)	-	-	-	-
Gastrite	1 (33,3)	0 (0,0)	1 (33,3)	-	-	-	-

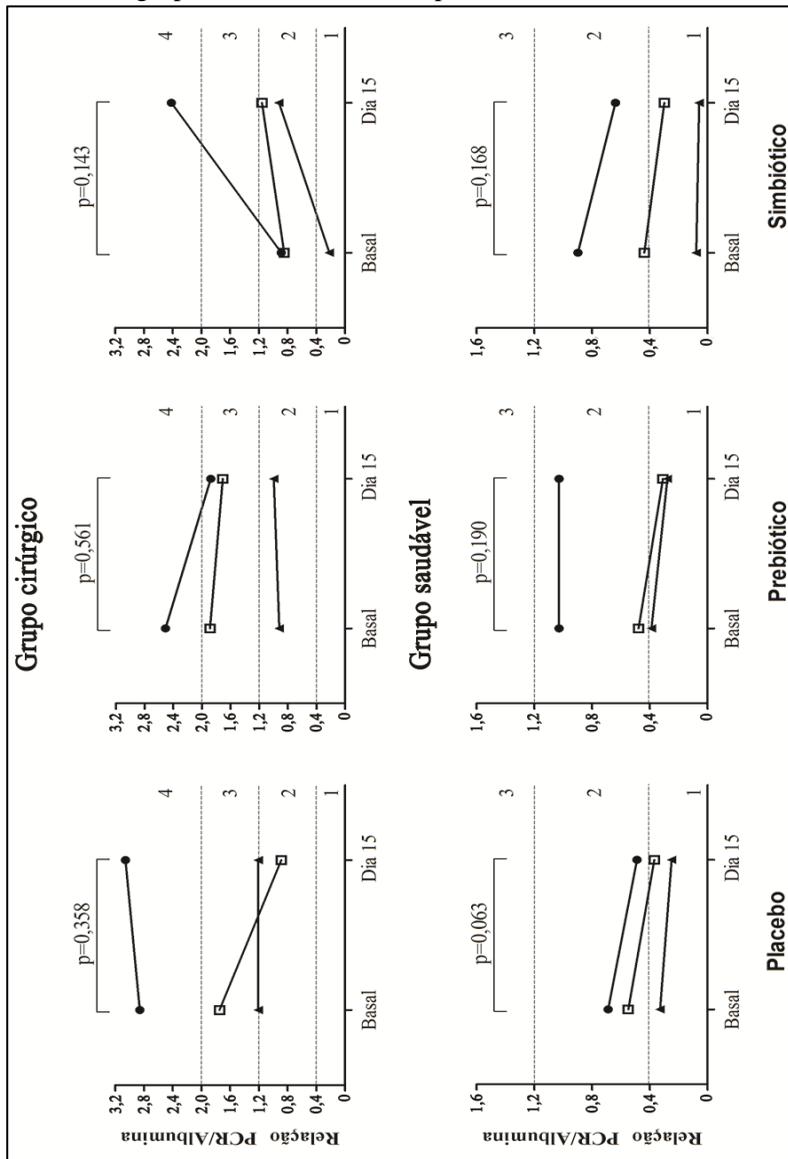
\*Representa as comorbidades e medicações utilizadas no pré-operatório. A soma nas colunas ultrapassa 100% porque os indivíduos poderiam apresentar mais de uma comorbidade ou utilizar mais de um medicamento. P(a) – Diferenças no grupo cirúrgico. P(b) – Diferenças no grupo saudável. <sup>a</sup> Teste de Kruskal Wallis. <sup>b</sup> Teste de ANOVA. <sup>c</sup> Teste de Mann Whitney. <sup>d</sup> Teste T de Student. <sup>e</sup> Teste de Bonferroni. NA – Não aplicável. <sup>f</sup> Diferença significativa (p=0,045) comparado ao placebo.

Figura 2 – Comportamento de marcadores inflamatórios e de proteínas de fase aguda de acordo com os grupos de estudo (n=18). Florianópolis, SC, 2014.



0 – Momento basal (Dia 0). 15 – Momento final (Dia 15). \*Teste de Wilcoxon para dados pareados. \*\*Teste T pareado.

Figura 3 – Relação Proteína C-Reativa/Albumina nos diferentes momentos e grupos de estudo. Florianópolis, SC, 2014.



Abreviações: PCR – Proteína C-Reativa. Categorias: 1 – Sem risco; 2 – Risco baixo; 3 – Risco médio; 4 – Alto risco. Para todos os testes foi utilizado o Teste T pareado.

Tabela 2 – Comportamento de índices antropométricos de acordo com os grupos de estudo (n=18). Florianópolis, SC, 2014.

Parâmetros	Grupo cirúrgico			Grupo saudável			P (b)
	Placebo (n=3)	Prebiótico (n=3)	Simbiótico (n=3)	Placebo (n=3)	Prebiótico (n=3)	Simbiótico (n=3)	
Peso (kg)							
Basal	103,0±8,7 <sup>c</sup>	109,5±19,3 <sup>c</sup>	114,1±19,9 <sup>c</sup>	0,728 <sup>a</sup>	52,1±0,7	56,8±3,0	58,2±2,2 <sup>ef</sup>
Dia 15	101,7±8,7 <sup>d</sup>	107,4±18,8 <sup>c</sup>	113,9±19,8 <sup>c</sup>	0,685 <sup>a</sup>	52,7±1,6	56,3±2,3	57,9±2,3
Valor-p	0,032 <sup>b</sup>	0,028 <sup>b</sup>	0,121 <sup>b</sup>		0,416 <sup>b</sup>	0,369 <sup>b</sup>	0,038 <sup>b</sup>
Mudança no peso(kg)	-1,3±0,4	-2,0±0,6 <sup>e</sup>	-0,4±0,1	0,009 <sup>a</sup>	0,5±0,9	-0,5±0,7	-0,3±0,1
							0,183 <sup>f</sup>
IMC (kg/m <sup>2</sup> )							
Basal	38,2±1,4 <sup>d</sup>	40,2±4,5 <sup>d</sup>	41,6±5,2 <sup>c</sup>	0,607 <sup>a</sup>	20,9±2,5	21,3±1,7	24,0±0,4
Dia 15	37,7±1,4 <sup>d</sup>	39,5±4,4 <sup>d</sup>	41,5±5,2 <sup>c</sup>	0,547 <sup>a</sup>	21,1±2,9	21,3±1,8	23,9±0,5
Valor-p	0,029 <sup>b</sup>	0,014 <sup>b</sup>	0,107 <sup>b</sup>		0,510 <sup>b</sup>	0,667 <sup>b</sup>	0,225 <sup>b</sup>
Mudança no IMC (kg/m <sup>2</sup> )	-0,5±0,1 <sup>e</sup>	-0,7±0,2 <sup>e</sup>	-0,1±0,1	0,003 <sup>a</sup>	0,1±0,3	0,0±0,1	-0,1±0,1
							0,413 <sup>a</sup>
PEP (kg)*							
Basal	19,4±5,9	25,8±6,1	23,2±5,3	0,449 <sup>a</sup>	-	-	-
Dia 15	22,3±6,1	29,5±7,0	23,7±5,1	0,377 <sup>a</sup>	-	-	-
Valor-p	0,036 <sup>b</sup>	0,021 <sup>b</sup>	0,092 <sup>b</sup>		-	-	-
Mudança na PEP (kg)	2,9±0,9 <sup>e</sup>	3,7±1,0 <sup>e</sup>	0,5±0,3	0,006 <sup>a</sup>	-	-	-

Abreviações: IMC – Índice de Massa Corporal. PEP – Perda do excesso de peso. P(a) – Diferenças no grupo cirúrgico. P(b) – Diferenças no grupo saudável. \*Comparado ao peso aferido 24 horas antes da cirurgia. <sup>a</sup> Teste de ANOVA. <sup>b</sup> Teste T pareado. <sup>c</sup> Teste de Mann-Whitney. <sup>d</sup> Teste T de Student. <sup>e</sup> Teste de Bonferroni. <sup>f</sup> Teste de Kruskal Wallis. <sup>†</sup> Diferença significativa (p=0,040) comparado ao placebo.



## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com relação ao presente estudo, algumas considerações são relevantes e merecem destaque:

- a) Esta investigação pretendeu, alicerçado em desenho experimental, preencher uma lacuna teórica identificada por meio da busca realizada, por meio da qual não foram identificados estudos que fornecessem informações sobre o efeito da suplementação de prebiótico ou simbiótico após a RYGB.
- b) A suplementação de 6 g/dia de FOS após a RYGB durante 15 dias mostrou eficácia na redução do peso corporal (53,8% maior que o grupo placebo), fato de extrema relevância para os indivíduos que realizam este tipo de cirurgia, já que o principal objetivo é a perda de peso e a melhora ou resolução das comorbidades associadas. Ainda que sem significância estatística, a redução no IMC e o aumento no percentual de perda de excesso de peso foram maiores no grupo prebiótico comparado ao placebo, sugerindo que o maior tempo de suplementação possivelmente teria levado à melhora significativa nestas variáveis.
- c) O único efeito adverso relatado com o consumo do prebiótico e simbiótico oferecido foi o aumento da flatulência apenas nos primeiros dias, porém, a adesão ao protocolo de suplementação foi maior que 93% e não houve desistências do estudo devido a este efeito adverso. A avaliação da microbiota intestinal poderia ter fornecido dados que confirmariam o consumo dos suplementos, por meio do aumento das concentrações de algumas espécies bacterianas, como as bifidobactérias e lactobacilos. Entretanto, a falta da avaliação da microbiota deve-se ao quadro de constipação relatado pela maioria dos indivíduos após a cirurgia bariátrica. Um dos fatores que auxiliam no aparecimento deste quadro é a alimentação restrita nas primeiras semanas após a cirurgia, com alimentos líquidos/pastosos em pequena quantidade e pobre em fibras, além da limitada ingestão hídrica, o que dificulta a formação do bolo fecal.

- d) Apesar do pequeno tamanho amostral, o desenho do estudo (randomizado, controlado e triplo cego) e a descrição detalhada da metodologia empregada podem ter diminuído consideravelmente erros sistemáticos, conduzindo a resultados mais fidedignos. Ressalta-se que, a partir dos resultados encontrados, haverá possibilidade de realizar o cálculo do tamanho da amostra em futuros estudos, atribuindo representatividade aos resultados.
- e) Ressalta-se a importância da realização de estudos que investiguem maior dose e tempo de suplementação e outros tipos de prebióticos e simbióticos, com o objetivo de verificar benefícios adicionais em índices antropométricos, imunológicos e metabólicos.
- f) A partir dos resultados deste estudo, emergiram novas hipóteses de pesquisa, tais como: Os efeitos positivos observados nos índices antropométricos seriam perdidos, mantidos ou aumentados com maior dose e tempo de suplementação? Efeitos positivos e significativos em marcadores inflamatórios seriam observados com maior dose e tempo de suplementação? Os suplementos oferecidos são capazes de trazer benefícios em outros desfechos, tais como: composição corporal, citocinas com ação anti-inflamatória (ex: IL-10), endotoxina bacteriana (LPS), perfil lipídico, glicêmico e hormonal? Baseado nessas hipóteses, um novo projeto de pesquisa será realizado, utilizando maior dose (12 gramas/dia) e tempo de suplementação (60 dias).
- g) Por fim, a suplementação de 6 g/dia de FOS em indivíduos submetidos à RYGB durante 15 dias aumentou a perda do peso corporal, enquanto o simbiótico não apresentou efeitos significativos, apesar de ter sido observado redução nos valores absolutos de citocinas pró-inflamatórias. Este resultado representa um passo importante no conhecimento do efeito desses ingredientes alimentares em indivíduos obesos e submetidos à cirurgia bariátrica. Novos estudos devem ser realizados para verificar se este potencial efeito adjuvante no tratamento da obesidade será sustentado com maior dose e tempo de tratamento mais longo.

## REFERÊNCIAS

- ABESO - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA PARA O ESTUDO DA OBESIDADE E SÍNDROME METABÓLICA. *Diretrizes Brasileiras de Obesidade 2009/2010*. Itapevi, SP: AC Farmacêutica, 2009. 85 p.
- AKDIS, M. et al. Interleukins, from 1 to 37, and interferon- $\gamma$ : receptors, functions, and roles in diseases. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, p. 127, n. 3, p. 701-21.e1-70, 2011.
- ÁLVARO, E. et al. Composition and metabolism of the intestinal microbiota in consumers and non-consumers of yogurt. *British Journal of Nutrition*, v. 97, p. 126–133, 2007.
- ALVEHUS, M. et al. Adipose tissue IL-8 is increased in normal weight women after menopause and reduced after gastric bypass surgery in obese women. *Clinical Endocrinology (Oxford)*, v. 77, n. 5, p. 684-690, 2012.
- ANSAR, W.; GHOSH, S. C-reactive protein and the biology of disease. *Immunologic Research*, v. 56, n. 1, p. 131-142, 2013.
- APOVIAN, C. M. et al. Adipose macrophage infiltration is associated with insulin resistance and vascular endothelial dysfunction in obese subjects. *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology*, v. 28, p. 1654–1659, 2008.
- ARUNACHALAM, K.; GILL, H, S.; CHANDRA, R. K. Enhancement of natural immune function by dietary consumption of *Bifidobacterium lactis* (HN019). *European Journal of Clinical Nutrition*, v. 54, n. 3, p. 263-267, 2000.
- ARON-WISNEWSKY, J.; DORÉ, J.; CLEMENT, K. The importance of the gut microbiota after bariatric surgery. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, v. 9, n. 10, p. 590-598, 2012.
- ARRIBAS, B. et al. Di-D-fructose dianhydride-enriched caramels: effect on colon microbiota, inflammation, and tissue damage in trinitrobenzenesulfonic acid-induced colitic rats. *Journal of agricultural and food chemistry*, v. 58, n. 10, p. 6476-6484, 2010.

ASEMI, Z. et al. Effects of synbiotic food consumption on metabolic status of diabetic patients: a double-blind randomized cross-over controlled clinical trial. *Clinical Nutrition*, v. 33, n. 2, p. 198-203, 2014.

BAILÓN, E. et al. Butyrate in vitro immune-modulatory effects might be mediated through a proliferation-related induction of apoptosis. *Immunobiology*, v. 215, p. 863–873, 2010.

BAÑUELOS, O. et al. Metabolism of prebiotic products containing beta(2-1) fructan mixtures by two *Lactobacillus* strains. *Anaerobe*, v. 14, n. 3, p. 184-189, 2008.

BENSON, A.K. et al. Individuality in gut microbiota composition is a complex polygenic trait shaped by multiple environmental and host genetic factors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v.107, n.44, p. 18933-18938, 2010.

BERNARDEAU, M.; GUGUEN, M; VERNOUX, J.P. Beneficial lactobacilli in food and feed: long-term use, biodiversity and proposals for specific and realistic safety assessments. *FEMS Microbiology Reviews*, v. 30, p. 487-513, 2006.

BERNARDEAU M, et al. Safety assessment of dairy microorganisms: the *Lactobacillus* genus. *International Journal of Food Microbiology*, v. 126, n. 3, p. 278-285, 2008.

BOESING, F. et al. Roux-en-Y bypass gastroplasty: markers of oxidative stress 6 months after surgery. *Obesity Surgery*, v. 20, n. 9, p. 1236-1244, 2010.

BORRIELLO, S. P. et al. Safety of probiotics that contain lactobacilli or bifidobacteria. *Clinical Infectious Diseases*, v. 36, p. 775-780, 2003.

BOUHNIK, Y. et al. Short-chain fructo-oligosaccharide administration dose-dependently increases fecal bifidobacteria in healthy humans. *The Journal of Nutrition*, v. 129, n. 1, p. 113-116, 1999.

BOUHNİK, Y. et al. The capacity of nondigestible carbohydrates to stimulate fecal bifidobacteria in healthy humans: a double-blind, randomized, placebo-controlled, parallel-group, dose-response relation study. *American Journal of Clinical Nutrition*, v. 80, n. 6, p. 1658-1664, 2004.

BOUHNİK, Y. et al. The capacity of short-chain fructo-oligosaccharides to stimulate faecal bifidobacteria: a dose-response relationship study in healthy humans. *Nutrition Journal*, v.5, n.8, 2006.

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

\_\_\_\_\_. Ministério 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.

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

\_\_\_\_\_. Ministério da Saúde [base de dados na Internet]. Tabnet – Tabulador de dados do SUS. Produção ambulatorial e procedimentos hospitalares do SUS. Disponível em: <<http://www2.datasus.gov.br/DATASUS/index.php?area=0202>>. Acesso em: 11 Abr. 2014.

\_\_\_\_\_. 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, 7 jan. 2013. Seção 1, p.2. Suplemento.

BUCHWALD, H. et al. Bariatric surgery: a systematic review and meta-analysis. *Journal of the American Medical Association*, v. 292, n. 14, p. 1724-1737, 2004.

BUCHWALD, H.; OIEN, D.M. Metabolic/bariatric surgery worldwide 2011. *Obesity Surgery*, v. 23, n. 4, p. 427-436, 2013.

BRETHAUER, S. A. et al. Early effects of gastric bypass on endothelial function, inflammation, and cardiovascular risk in obese patients. *Surgical Endoscopy*, v. 25, n. 8, p. 2650-2659, 2011.

CAI, D. et al. Local and systemic insulin resistance resulting from hepatic activation of IKK-beta and NF-kappaB. *Nature Medicine*, v. 11, n. 2, p. 183-190, 2005.

CALDER, P. C. et al. Dietary factors and low-grade inflammation in relation to overweight and obesity. *British Journal of Nutrition*, v. 106, S5-S78, 2011. Suplemento 3.

CALDER, P. C. et al. Inflammatory disease processes and interactions with nutrition. *British Journal of Nutrition*, v. 101, p. 1S-45S, 2009.

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

CARTIER, A. et al. Plasma soluble tumour necrosis factor-alpha receptor 2 is elevated in obesity: specific contribution of visceral adiposity. *Clinical Endocrinology (Oxford)*, v. 72, n. 3, p. 349-357, 2010.

CAZZOLA, M.; TOMPKINS, T. A; MATERA, M. G. Immunomodulatory impact of a synbiotic in T(h)1 and T(h)2 models of infection. *Therapeutic Advances in Respiratory Disease*, v. 4, n. 5, p. 259-270, 2010.

CHEN, S. B. et al. Serum C-reactive protein and white blood cell count in morbidly obese surgical patients, *Obesity Surgery*, v. 19, p. 461-466, 2009.

CHIANG, B. L. et al. Enhancing immunity by dietary consumption of a probiotic lactic acid bacterium (*Bifidobacterium lactis* HN019): optimization and definition of cellular immune responses. *European Journal of Clinical Nutrition*, v. 54, n. 11, p. 849-855, 2000.

CHOQUE-DELGADO, G. T. et al. Yacon (*Smallanthus sonchifolius*)-derived fructooligosaccharides improves the immune parameters in the mouse. *Nutrition research*, v. 32, n. 11, p. 884-892, 2012.

CINTI, S. et al. Adipocyte death defines macrophage localization and function in adipose tissue of obese mice and humans. *Journal of Lipid Research*, v. 46, p. 2347-2355, 2005.

CORREA, C. R. et al. Comparação entre a relação PCR/albumina e o índice de prognóstico inflamatório nutricional (IPIN). *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, v. 38, n. 3, p. 183-190, 2002.

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

CROSS, M. L. et al. Dietary intake of *Lactobacillus rhamnosus* HN001 enhances production of both Th1 and Th2 cytokines in antigen-primed mice. *Medical Microbiology and Immunology*, v. 191, n. 1, p. 49-53, 2002.

DALMAS E, CLÉMENT K, GUERRE-MILLO M. Defining macrophage phenotype and function in adipose tissue. *Trends in Immunology*, v. 32, n. 7, p. 307-314, 2011.

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

ENDO, H. et al. Comparison of fructooligosaccharide utilization by *Lactobacillus* and *Bacteroides* species. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, v. 76, n. 1, p.176-179, 2012.

ERNST, B. et al. Evidence for the necessity to systematically assess micronutrient status prior to bariatric surgery, *Obesity Surgery*, v. 19, p. 66-73, 2009.

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

FAIN, J.N. Release of inflammatory mediators by human adipose tissue is enhanced in obesity and primarily by the nonfat cells: a review. *Mediators of Inflammation*, 2010:513948, 2010.

FERNANDES, R. et al. Relationship between Acute Phase Proteins and Serum Fatty Acid Composition in Morbidly Obese Patients. *Disease Markers (Print)*, v. 35, p. 105-112, 2013.

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

FORSSTEN, S. D. et al. Influence of a probiotic milk drink, containing *Lactobacillus Paracasei* Lpc-37, on immune function and gut microbiota in elderly subjects. *European Journal of Food Research & Review*, v. 1, n. 3, p. 159-172, 2011.

FOSTER, M.T.; PAGLIASSOTTI, M.J. Metabolic alterations following visceral fat removal and expansion: Beyond anatomic location. *Adipocyte*, v. 1, n. 4, p. 192-199, 2012.

FUJIWARA, R. et al. 2,4-Dinitrofluorobenzene-induced contact hypersensitivity response in NC/Nga mice fed fructo-oligosaccharide. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology (Tokyo)*, v. 56, n. 4, p. 260-265, 2010.

FURET J.P. et al. Differential adaptation of human gut microbiota to bariatric surgery-induced weight loss: links with metabolic and low-grade inflammation markers. *Diabetes*, v. 59, p. 3049–3057, 2010.

GAD M., et al. Regulation of the IL-10/IL-12 axis in human dendritic cells with probiotic bacteria. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, v. 63, n. 1, p. 93-107, 2011.

GALIC, S.; OAKHILL, J. S.; STEINBERG, G.R. Adipose tissue as an endocrine organ. *Molecular and Cellular Endocrinology*, v. 316, n. 2, p. 129-139, 2010.

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

GIBSON, G.R. et al. Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics. *Nutrition Research Reviews*, v. 17, n. 2, p. 259-275, 2004.

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

GILL, H. S. et al. Enhancement of natural and acquired immunity by *Lactobacillus rhamnosus* (HN001), *Lactobacillus acidophilus* (HN017) and *Bifidobacterium lactis* (HN019). *British Journal of Nutrition*, v. 83, n. 2, p. 167-176, 2000.

GORDON, S. The macrophage: past, present and future. *European Journal of Immunology*, v. 37, p. 9-17, 2007. Suplemento 1.

GRAESSLER, J. et al. Metagenomic sequencing of the human gut microbiome before and after bariatric surgery in obese patients with type 2 diabetes: correlation with inflammatory and metabolic parameters. *The Pharmacogenomics Journal*. 2013 Dec;13(6):514-22.

GRAVITZ, L. Microbiome: The critters within. *Nature*, v. 485, n. 7398, p. S12-13, 2012.

HALLER, D. et al. Non-pathogenic bacteria elicit a differential cytokine response by intestinal epithelial cell/leukocyte co-cultures. *Gut*, v. 47, p. 79 – 87, 2000.

HANSEN, R. et al. Microbiota of de-novo pediatric IBD: increased *Faecalibacterium prausnitzii* and reduced bacterial diversity in Crohn's but not in ulcerative colitis. *The American Journal of Gastroenterology*, v. 107, n. 12, p 1913-1922, 2012.

HEMPEL, S. et al. *Safety of probiotics used to reduce risk and prevent or treat disease*. Rockville, 2011. 645 p. (200).

HEPBURN, N. J. et al. Probiotic supplement consumption alters cytokine production from peripheral blood mononuclear cells: a preliminary study using healthy individuals. *Beneficial Microbes*, v. 4, n. 4, p. 313-317, 2013.

HERRON, D. M.; TONG, W. Role of surgery in management of type 2 diabetes mellitus. *Mount Sinai Journal of Medicine*, v. 76, p. 281-293, 2009.

HOSONO, A. et al. Dietary fructooligosaccharides induce immunoregulation of intestinal IgA secretion by murine Peyer's patch cells. *Bioscience, Biotechnology, Biochemistry*, v. 67, n. 4, p. 758-764, 2003.

ICHIMURA, A. et al. Free fatty acid receptors act as nutrient sensors to regulate energy homeostasis. *Prostaglandins & Other Lipid Mediators*, v. 89, n. 3-4, p. 82-88, 2009.

ILLÁN-GÓMEZ, F. et al. Obesity and inflammation: change in adiponectin, C-reactive protein, tumour necrosis factor-alpha and interleukin-6 after bariatric surgery. *Obesity Surgery*, v. 22, n. 6, p. 950-955, 2012.

INGENBLEEK, Y.; CARPENTIER, Y. A. A prognostic inflammatory and nutritional index scoring critically ill patients. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research*, v.55, n. 1, p. 91-101, 1985.

INVICTUS. *FIBERFOS*<sup>®</sup>. Disponível em:  
<<http://www.invictusbrasil.com.br/Site/Conteudo/Hospitalar.aspx?C=nFK2vhOhkx8%2c>>. Acesso em: 09 abr. 2014a.

INVICTUS. *LACTOFOS*<sup>®</sup>. Disponível em:  
<<http://www.invictusbrasil.com.br/Site/Conteudo/Hospitalar.aspx?C=rw1UYydeFME%2c>>. Acesso em: 09 abr. 2014b.

JAGER, J. et al. Interleukin-1beta-induced insulin resistance in adipocytes through down-regulation of insulin receptor substrate-1 expression. *Endocrinology*, v. 148, n. 1, p. 241-51, 2007.

- JIANG, Y. et al. Lactobacillus acidophilus induces cytokine and chemokine production via NF- $\kappa$ B and p38 mitogen-activated protein kinase signaling pathways in intestinal epithelial cells. *Clinical and Vaccine Immunology*, v. 19, n. 4, p. 603-608, 2012.
- JOHNSON, A.R.; MILNER, J.J.; MAKOWSKI, L. The inflammation highway: metabolism accelerates inflammatory traffic in obesity. *Immunological Reviews*, v.249, n.1, p.218-238, 2012.
- KALLUS, S.J.; BRANDT, L.J. The intestinal microbiota and obesity. *Journal of Clinical Gastroenterology*, v. 46, n. 1, p. 16-24, 2012.
- KARASTERGIOU, K.; MOHAMED-ALI, V. The autocrine and paracrine roles of adipokines. *Molecular and Cellular Endocrinology*, v. 318, n. 1-2, p. 69-78, 2010.
- KAUFHOLD, J.; HAMMON, H.M.; BLUM, J.W. Fructooligosaccharide supplementation: effects on metabolic, endocrine and hematological traits in veal calves. *Journal of Veterinary Medicine. A, Physiology, Pathology, Clinical Medicine*, v. 47, n. 1, p. 17-29, 2000.
- KAWAGUCHI, T. et al. Mechanism for fatty acid "sparing" effect on glucose-induced transcription: regulation of carbohydrate-responsive element-binding protein by AMP-activated protein kinase. *The Journal of Biological Chemistry*, v. 277, n. 6, p. 3829-3835, 2002.
- KOLIDA, S.; GIBSON, G.R. Synbiotics in health and disease. *Annual Review of Food Science and Technology*, v. 2, p. 373-393, 2011.
- KONG, L.C. et al. Gut microbiota after gastric bypass in human obesity: increased richness and associations of bacterial genera with adipose tissue genes. *American Journal of Clinical Nutrition*, v. 98, n. 1, p. 16-24, 2013.
- KONSTANTINOV, S. R. et al. S layer protein A of Lactobacillus acidophilus NCFM regulates immature dendritic cell and T cell functions. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, v. 105, n. 49, p. 19474-19479, 2008.

LASKY, F. D. et al. Evaluation of a bromocresol purple method for the determination of albumin adapted to the DuPont aca discrete clinical analyzer. *Clinical Biochemistry*, v. 18, n. 5, p. 290-296, 1985.

LEDUE, T. B. et al. Analytical evaluation of particle-enhanced immunonephelometric assays for C-reactive protein, serum amyloid A and mannose-binding protein in human serum. *Annals of Clinical Biochemistry*, v. 35, pt. 6, p.745-753, 1998.

LEY, E. L., et al. Microbial ecology: Human gut microbes associated with obesity. *Nature*, v. 444, p. 1022-1023, 2006.

LIN, H. V. et al. Butyrate and propionate protect against diet-induced obesity and regulate gut hormones via free fatty acid receptor 3-independent mechanisms. *PLoS One*, v. 7, n. 4, e35240, 2012.

LIU, L. et al. Butyrate interferes with the differentiation and function of human monocyte-derived dendritic cells. *Cellular Immunology*, v. 277, p. 66-73, 2012.

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

MAGGARD, M.A. et al. Meta-analysis: surgical treatment of obesity. *Annals of Internal Medicine*, v.142, n. 7, p. 547-559, 2005.

MALAGUARNERA, M. et al. Bifidobacterium longum with fructo-oligosaccharides in patients with non alcoholic steatohepatitis. *Digestive Diseases and Sciences*, v. 57, n. 2, p. 545-553, 2012.

MARQUES-VIDAL, P. et al. Association between inflammatory and obesity markers in a Swiss population-based sample (CoLaus Study). *Obesity Facts*, v. 5, n. 5, p. 734-744, 2012.

MASLOWSKI, K. M. et al. Regulation of inflammatory responses by gut microbiota and chemoattractant receptor GPR43. *Nature*, v. 461, n. 7268, p. 1282-1286, 2009.

- MASUI, R. et al. G protein-coupled receptor 43 moderates gut inflammation through cytokine regulation from mononuclear cells. *Inflammatory Bowel Diseases*, v. 19, n. 13, p. 2848-2856, 2013.
- MERINO-AGUILAR, M. et al. Effect of fructooligosaccharides fraction from *Psacalium decompositum* on inflammation and dyslipidemia in rats with fructose-induced obesity. *Nutrients*, v. 6, n. 2, p. 591-604, 2014.
- MILLION, M. et al. Comparative meta-analysis of the effect of *Lactobacillus* species on weight gain in humans and animals. *Microbial Pathogenesis*, v. 53, n. 2, p. 100-108, 2012.
- MILO, L.A. et al. Neutrophil and small intestinal lymphocyte migration after *Salmonella typhimurium* infection: impact of fermentable fiber. *Journal of Pediatric and Gastroenterology Nutrition*, v. 39, n. 1, p. 73-79, 2004.
- MIQUEL, S. et al. Faecalibacterium prausnitzii and human intestinal health. *Current Opinion in Microbiology*, v. 16, n. 3, p. 255-261, 2013.
- NEFF, K.J.; LE ROUX, C.W. Bariatric surgery: a best practice article. *Journal of Clinical Pathology*, v. 66, n. 2, p. 90-98, 2012.
- NEFF, K. J.; OLBERS, T.; LE ROUX, C. W. Bariatric surgery: the challenges with candidate selection, individualizing treatment and clinical outcomes. *BMC Medicine*, v. 11:8, 2013.
- NETO, J.V.; DE MELO, C.M.; RIBEIRO, S.M. Effects of three-month intake of synbiotic on inflammation and body composition in the elderly: a pilot study. *Nutrients*, v. 5, n. 4, p. 1276-1286, 2013.
- OLIVEIRA, M. L. *Estimativa dos custos da obesidade para o sistema único de saúde do Brasil*. Brasília: Universidade de Brasília, 2013.
- OUCHI, N. et al. Adipokines in inflammation and metabolic disease. *Nature Reviews Immunology*, v. 11, p. 85-97, 2011.
- PAINEAU, D. et al. Effects of seven potential probiotic strains on specific immune responses in healthy adults: a double-blind, randomized, controlled trial. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, v. 53 n. 1, p. 107-113, 2008.

PARAMESWARAN, N.; PATIAL, S. Tumor necrosis factor- $\alpha$  signaling in macrophages. *Critical Reviews in Eukaryotic Gene Expression*, v. 20, n. 2, p. 87-103, 2010.

PENG, L. et al. Butyrate enhances the intestinal barrier by facilitating tight junction assembly via activation of AMP-activated protein kinase in Caco-2 cell monolayers. *The Journal of Nutrition*, v. 139, p. 1619–1625, 2009.

PÉREZ-ROMERO, N. et al. Effects of two variants of Roux-Len-Y Gastric bypass on metabolism behaviour: focus on plasma ghrelin concentrations over a 2-year follow-up. *Obesity Surgery*, v. 20, n. 5, p. 600-609, 2010.

PINEIRO, M. et al. FAO Technical meeting on prebiotics. *Journal of Clinical Gastroenterology*, v. 42, p. 156S-159S, 2008.

POU, K. M. et al. Visceral and subcutaneous adipose tissue volumes are et al. cross-sectionally related to markers of inflammation and oxidative stress: the Framingham Heart Study. *Circulation*, v. 116, n. 11, p. 1234–1241, 2007.

QUINLAN, G. J.; MARTIN, G. S.; EVANS, T. W. Albumin: biochemical properties and therapeutic potential. *Hepatology*, v. 41, n. 6, p. 1211-1219, 2005.

RAO, S.R. Inflammatory markers and bariatric surgery: a meta-analysis. *Inflammation Research*, v.61, n.8, p.789-807, 2012.

RIBEIRO, C.M. et al. Effects of synbiotic-based *Bifidobacterium animalis* in female rats experimentally infected with *Toxoplasma gondii*. *Comparative Immunology, Microbiology, and Infectious Diseases*, v. 34, n. 2, p. 111-114, 2011.

RICKMAN, P. P. Human experimentation. Code of ethics of the World Medical Association. Declaration of Helsinki. *British Medical Journal*, v. 2, p. 0–177, 1964.

ROCHE, M. et. al. The antioxidant properties of serum albumin. *FEBS Letters*, v. 582, n. 13, p. 1783-1787, 2008.

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

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

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

RUSSELL, D.A. et al. Metabolic activities and probiotic potential of bifidobacteria. *International Journal of Food Microbiology*, v. 149, n. 1, p. 88-105, 2011.

SABATER-MOLINA, M. et al. Dietary fructooligosaccharides and potential benefits on health. *Journal of Physiology and Biochemistry*, v. 65, n. 3, p. 315-328, 2009.

SANDERS, M.E. et al. Safety assessment of probiotics for human use. *Gut Microbes*, v. 1, n. 3, p.164-185, 2010.

SASAJIMA, N. et al. Role of intestinal *Bifidobacterium pseudolongum* in dietary fructo-oligosaccharide inhibition of 2,4-dinitrofluorobenzene-induced contact hypersensitivity in mice. *British Journal of Nutrition*, v. 103, n. 4, p. 539-548, 2009.

SBCBM. SOCIEDADE BRASILEIRA DE CIRURGIA BARIÁTRICA E METABÓLICA. *Cirurgia Bariátrica e Metabólica: Técnicas cirúrgicas*. Disponível em: <<http://www.sbcbr.org.br/cbariatica.asp?menu=1>>. Acesso em: 09 abr 2014.

SC, N. G. et al. Immunosuppressive effects via human intestinal dendritic cells of probiotic bacteria and steroids in the treatment of acute ulcerative colitis. *Inflammatory Bowel Diseases*, v. 16, p. 1286-1298, 2010.

SCHWEIGER, C. et al. Nutritional deficiencies in bariatric surgery candidates. *Obesity Surgery*, v. 20, n. 2, p. 193-197, 2010.

SHAH, N. Functional cultures and health benefits. *International Dairy Journal*, v. 17, n. 11, p. 1262–1277, 2007.

SHIDA, K. et al. Lactobacillus casei strain Shirota suppresses serum immunoglobulin E and immunoglobulin G1 responses and systemic anaphylaxis in a food allergy model. *Clinical & Experimental Allergy*, v. 32, p. 563–570, 2002.

SHINOKI, A.; HARA, H. Dietary fructo-oligosaccharides improve insulin sensitivity along with the suppression of adipocytokine secretion from mesenteric fat cells in rats. *British Journal of Nutrition*, v. 106, n. 8, p. 1190-1197, 2011.

SJÖSTRÖM, L. et al. Bariatric surgery and long-term cardiovascular events. *JAMA: The Journal of American Medical Association*, v.307, n.1, p.56-65, 2012.

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

SOLÁ, E. et al. Parameters of inflammation in morbid obesity: lack of effect of moderate weight loss. *Obesity Surgery*, v. 19, n. 5, p. 571-576, 2009.

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

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

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

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

TRAYHURN, P. Adipocyte biology. *Obesity reviews*, v. 8, p. 41S-44S, 2007.

TREVISI, P. et al. Effect of fructo-oligosaccharides and different doses of Bifidobacterium animalis in a weaning diet on bacterial translocation and Toll-like receptor gene expression in pigs. *Nutrition*, v. 24, n. 10, p. 1023-1029, 2008.

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

WALDECKER, M. et al. Inhibition of histone-deacetylase activity by short-chain fatty acids and some polyphenol metabolites formed in the colon. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, v. 19, p. 587-593, 2008.

WARD, E. K. et al. The Effect of PPI Use on Human Gut Microbiota and Weight Loss in Patients Undergoing Laparoscopic Roux-en-Y Gastric Bypass. *Obesity Surgery*, v. 24, n. 9, p. 1567-1571, 2014.

WEISBERG, S. P. et al. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *The Journal of Clinical Investigation*, v. 112, n. 12, p. 1796-1808, 2003.

WGO (WORLD GASTROENTEROLOGY ORGANISATION). Probiotics and Prebiotics. 2011. Disponível em: <[http://www.worldgastroenterology.org/assets/export/userfiles/Probiotics\\_FINAL\\_20111128.pdf](http://www.worldgastroenterology.org/assets/export/userfiles/Probiotics_FINAL_20111128.pdf)>. Acesso em: 09 abr. 2014.

WILLIAMS, N.T. Probiotics. *American Journal of Health-System Pharmacy*, v. 67, n. 6, p. 449-458, 2012.

WOODARD, G.A. et al. Probiotics Improve Outcomes After Roux-en-Y Gastric Bypass Surgery: A Prospective Randomized Trial. *Journal of gastrointestinal surgery*, v.13, p.1198-1204, 2009.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. *BMI classification*, Geneva, Switzerland: WHO; 2008b. Disponível em: <[http://apps.who.int/bmi/index.jsp?introPage=intro\\_3.html](http://apps.who.int/bmi/index.jsp?introPage=intro_3.html)>. Acesso em: 09 abr. 2014.

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

\_\_\_\_\_. *Fact sheet: obesity and overweight*. 2013. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/index.html>>. Acesso em: 09 abr. 2014.

\_\_\_\_\_. *Global Recommendations on Physical Activity for Health*. Geneva: World Health Organization; 2010a.

\_\_\_\_\_. *International guide for monitoring alcohol consumption and related harm*. Geneva: WHO; 2000.

\_\_\_\_\_. Preventing noncommunicable diseases in the workplace through diet and physical activity. *WHO/World Economic Forum report of a joint event*. Geneva: WHO; 2008a.

\_\_\_\_\_. *WHO Guidelines on drawing blood: best practices in phlebotomy*. 2010b.

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

ZEUTHEN, L. H. et al. Lactobacillus acidophilus induces a slow but more sustained chemokine and cytokine response in naïve foetal enterocytes compared to commensal Escherichia coli. *BMC Immunology*, v. 11:2, 2010.

ZHANG, H. et al. Human gut microbiota in obesity and after gastric bypass. *Proceedings of the national academy of sciences of the united states of America*, v.106, n.7, p.2365-2370, 2009.

ZIEGLER, O. et al. Medical follow up after bariatric surgery: nutritional and drug issues. General recommendations for the prevention and treatment of nutritional deficiencies. *Diabetes & Metabolism*, v. 35, n.6 (Pt.2), p. 544–557, 2009.



## APÊNDICES

### Apêndice A - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

#### 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 marcadores inflamatórios, perfil celular de ácidos graxos e microbiota intestinal, antes e após a cirurgia bariátrica.

**3. Pesquisador responsável:** Prof. Dr. Erasmo Benício 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 que realizarão a cirurgia bariátrica e metabólica neste hospital ou que tenham indicação de realizar a cirurgia. Neste estudo, pretende-se avaliar se a suplementação de prebiótico ou simbiótico antes e após a cirurgia bariátrica e metabólica 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, tanto antes quanto após a cirurgia bariátrica e metabólica. Assim, o resultado da pesquisa pode trazer informações importantes para indivíduos que realizaram a cirurgia bariátrica e metabólica ou que a realizarão no futuro.

Caso aceite participar, serão coletados: dados do prontuário; peso e altura; amostras de sangue para avaliação em laboratório e amostras de fezes para avaliação da microbiota intestinal. Microbiota intestinal refere-se ao conjunto de bactérias presentes no intestino do ser humano, ajudando no bom funcionamento do mesmo.

- Para os indivíduos que estiverem internados e realizarem a cirurgia bariátrica e metabólica: as avaliações serão feitas em três momentos: imediatamente antes de iniciar a cirurgia bariátrica, 30 e 45 dias após a cirurgia. Estes indivíduos serão distribuídos em três grupos, sendo que os mesmos serão orientados a ingerir suplemento nutricional de prebiótico (grupo prebiótico) ou simbiótico (grupo simbiótico) ou maltodextrina (grupo placebo) na quantidade de 6 gramas por dia. A ingestão dos suplementos terá duração de 15 dias, e será iniciada após completar 30 dias de cirurgia.

- Para os indivíduos que estiverem apenas em acompanhamento no Ambulatório de Nutrição e Cirurgia Bariátrica e Metabólica, as avaliações também serão realizadas em três momentos: na primeira consulta, 15 e 30 dias após a primeira consulta. Estes indivíduos também serão distribuídos em três grupos, sendo que os mesmos serão orientados a ingerir suplemento nutricional de prebiótico (grupo prebiótico) ou simbiótico (grupo simbiótico) ou maltodextrina (grupo

placebo) na quantidade de 6 gramas por dia. A ingestão dos suplementos terá duração de 30 dias, e será iniciada logo após a primeira consulta no respectivo ambulatório.

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, antes e após a cirurgia bariátrica e metabólica, comparado aos indivíduos que são suplementados com uma substância inativa.

A distribuição dos participantes do estudo para um dos grupos será realizada por sorteio e o(a) Senhor(a) não poderá escolher qual dos grupos quer fazer parte. Durante o período da pesquisa, nem o(a) Senhor(a), nem os pesquisadores terão conhecimento de qual grupo o(a) Senhor(a) fará parte. Apenas ao término do estudo será revelado em qual grupo o(a) Senhor(a) se encontrava. Em todos os três momentos do estudo será necessário que o(a) Senhor(a) forneça 20 mL de sangue (totalizando 60 mL na soma dos três momentos) que serão coletados pela equipe do laboratório de análises clínicas do HU. Também será necessário que o(a) Senhor(a) forneça uma pequena quantidade de fezes (um grama) que será coletado pelo Senhor(a) em um pote plástico e transferidos para um saco plástico especial fornecido pelos pesquisadores, sem custos financeiros para o(a) Senhor(a). Essas amostras de sangue e fezes 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, dor na barriga e infecções. Entretanto, estudos em indivíduos sem obesidade ou que realizaram cirurgias semelhantes à cirurgia bariátrica e metabólica, 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 e altura e à coleta de fezes, o estudo não prevê riscos.

**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 obesos que forem submetidos à cirurgia bariátrica e metabólica.

**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 doença, e os materiais para coleta de fezes e 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 Benício Santos de Moraes Trindade, com a Prof. Dra. Marilyn Gonçalves Ferreira Kuntz ou com os mestrandos Ricardo Fernandes e Bruna Teles Soares Beserra pelos seguinte meios: telefone fixo: (48) 3721-9784 (ramal 23); telefone celular: (48) 9615-6587 / 9101-9228 / 9997-9941 / 9621-2336; e-mails: [erasmotrindade@gmail.com](mailto:erasmotrindade@gmail.com) / [mgfknutri@yahoo.com.br](mailto:mgfknutri@yahoo.com.br) / [ricardontr@gmail.com](mailto:ricardontr@gmail.com) / [brunna\\_telless@hotmail.com](mailto:brunna_telless@hotmail.com)

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.

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 marcadores inflamatórios, perfil celular de ácidos  
graxos e microbiota intestinal, antes e após a cirurgia bariátrica.**  
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 20\_\_\_\_.

---

Nome e assinatura do paciente

---

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

---

Dra. Marilyn G. F. Kuntz

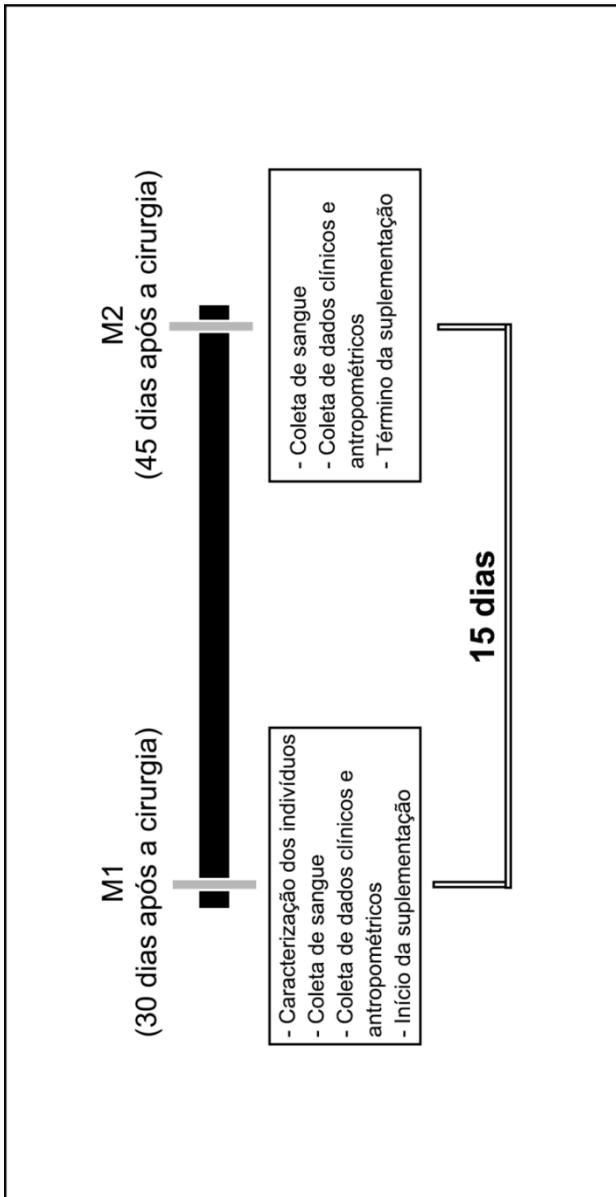
---

Ricardo Fernandes

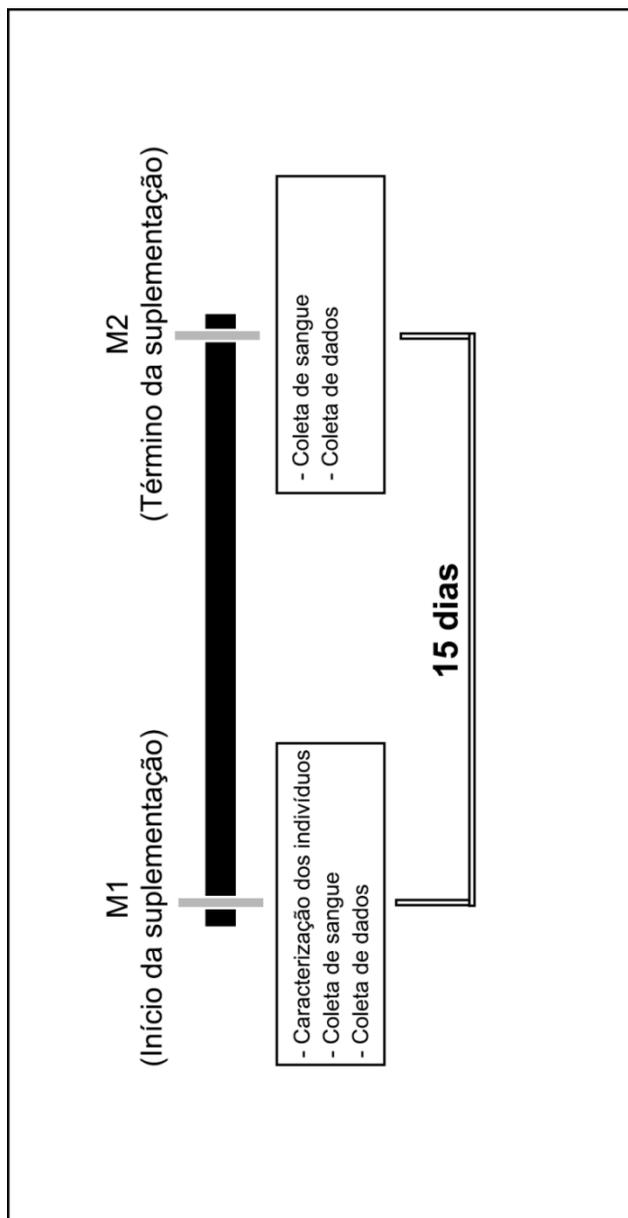
---

Bruna Teles Soares Beserra

**Apêndice B - Delineamento do estudo com os momentos experimentais para os indivíduos submetidos à derivação gástrica em Y de Roux.**



## Apêndice C – Delineamento do estudo com os momentos experimentais para os indivíduos saudáveis.



**Apêndice D – 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: \_\_\_\_\_

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

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

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

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

## Apêndice E – Avaliação antropométrica, laboratorial e de parâmetros clínicos.

### AVALIAÇÃO ANTROPOMÉTRICA

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

<b>Marcador</b>	<b>M1</b>	<b>M2</b>
Peso atual		
IMC (kg/m <sup>2</sup> )		
Classificação do IMC		
Perda do excesso de peso (%)		

### AVALIAÇÃO LABORATORIAL

<b>Marcador</b>	<b>M1</b>	<b>M2</b>
PCR (mg/L)		
Albumina (g/dL)		
Relação PCR/albumina		
IL-1 $\beta$ (pg/mL)		
IL-6 (pg/mL)		
TNF- $\alpha$ (pg/mL)		

### PARÂMETROS CLÍNICOS

Comorbidades associadas:		
Fármacos utilizados:		
Complicações pós-operatórias: ( ) Não ( ) Sim Quais:		
Tempo de cirurgia:	Tempo de internação:	
Alterações gastrointestinais: ( ) Não ( ) Sim Quais:		
Uso de suplementos: ( ) Não ( ) Sim Qual:		
Dose:		

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

Lembre-se de consumir o conteúdo de um (1) sachê por dia, diluído em 100 mL de água em temperatura ambiente, preferencialmente em jejum ou no intervalo das refeições.

Devem ser consumidos todos os dias, durante quinze (15) dias.

Em caso de problemas com o consumo, entrar em contato com o nutricionista Ricardo Fernandes pelo telefone (48) 9997-9941 ou com a nutricionista Bruna Beserra, pelo telefone (48) 9621-2336 ou ainda pelos e-mails: brunna\_telless@hotmail.com / ricardontr@gmail.com

Marque um X no quadradinho se você consumiu o conteúdo de um sachê naquele dia.

Dia \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Dia \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Dia \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Dia \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Dia \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Dia \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Dia \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Dia \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Dia \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Dia \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Dia \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Dia \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Dia \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Dia \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Dia \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

## ANEXOS

### Anexo A - Orientação nutricional do HU/UFSC no pós-operatório de cirurgia bariátrica.

#### ORIENTAÇÃO NUTRICIONAL PARA GASTROPLASTIA FASE I

Duração da dieta: até aproximadamente o 7º dia de cirurgia.

Valor calórico total aproximado: 300 kcal

#### ORIENTAÇÕES GERAIS

- Consistência da dieta: **líquida e coada**. Use peneira fina ou gaze para coar os alimentos propostos.
- Volume de preparações líquidas: **um copo de cafezinho (50 mL) a cada 30 minutos**.
- Tomar os líquidos propostos lentamente e sempre em posição sentada.
- Não utilize canudos.
- Usar adoçante somente quando necessário. Dar preferência para os a base de Stévia/Sucralose.

#### ALIMENTOS PERMITIDOS

- Água sem gás, filtrada ou fervida.
- Água de coco.
- Chás: camomila, erva cidreira, capim limão, de frutas, hortelã. Não utilizar chás prontos, de garrafa, de caixa, nem de lata.
- Sucos naturais: de qualquer fruta coado (com peneira fina ou gaze) e **diluído a 50%\***.
- Leite ou suco de soja: **diluir a 50%\*** (sem açúcar – observar o rótulo).
- Gelatina Diet ou Zero Açúcar (único alimento que pode ser consumido sólido).
- Caldo da sopa: preparar a sopa com pelo menos três vegetais, com um tipo de carboidrato ou uma leguminosa e um tipo de carne. Utilizar somente temperos naturais (cebola, alho, salsinha, cebolinha, etc.). Consumir apenas o caldo **coado** (com peneira fina ou gaze).  
Exemplos de vegetais: chuchu, abóbora, cenoura, couve, abobrinha, beterraba.

Exemplos de carboidratos: qualquer tipo de batata, arroz, mandioca, inhame ou macarrão.

Exemplos de carnes: frango, carne bovina, peixe.

Exemplos de leguminosas: qualquer tipo de feijão, lentilha, grão de bico ou ervilha (se na sopa for utilizado algum tipo de leguminosa, esta sopa precisará ser **além de coada com peneira fina ou gaze, diluída a 50%\***).

### **ALIMENTOS PROIBIDOS**

- Café com leite, gatorade, bebidas alcoólicas, refrigerantes (nem Light/Diet), bebidas gaseificadas (inclusive água), sucos em pó e açúcar.

**\*Diluição a 50%:** encher a metade do copinho de café com água e a outra metade com o alimento proposto.

## ORIENTAÇÃO NUTRICIONAL PARA GASTROPLASTIA FASE II

Duração da dieta: até aproximadamente o 30º dia de cirurgia.

Valor calórico total aproximado: 500 kcal

### ORIENTAÇÕES GERAIS

- Consistência da dieta: **líquida e pastosa.**
- **Não é mais necessário coar nem diluir nada.**
- Fazer de **6 a 8 refeições** diárias, com intervalos de **2 a 3 horas.**
- Volume de preparações líquidas: **aproximadamente 100ml.**
- Seguir as **quantidades** de alimentos **recomendados.**
- Comer **lentamente, mastigando bem** os alimentos.
- Usar adoçante se necessário, preferencialmente a base de Stévia/Sucralose.

### ALIMENTOS PERMITIDOS

- Água sem gás, filtrada ou fervida.
  - Água de coco.
  - Chás: camomila, erva cidreira, capim limão, de frutas, hortelã.  
Não utilizar chás prontos, de garrafa, de caixa, nem de lata.
  - Sucos naturais: de qualquer fruta.
  - Leite: **somente desnatado.**
  - Café com leite **desnatado.**
  - Vitamina de frutas com leite **desnatado.**
  - Mingau (de farinha de aveia ou amido de milho) com leite **desnatado.**
  - Gelatina Diet.
  - Iogurte Light ou desnatado.
  - Leguminosas: feijão, lentilha, ou ervilha **liquidificados.**
  - Purê da batata, abóbora ou cenoura bem **cremosos**, na consistência de mingau.
  - **Frutas em consistência de papa** (Ex.: mamão e banana amassados; pêra e maçã cozidas ou raspadas, etc.).
  - Sopa liquidificada: preparar a sopa com pelo menos três vegetais, com um tipo de carboidrato ou uma leguminosa e um tipo de carne. Utilizar somente temperos naturais. Liquidificar todos os alimentos.
- Exemplos de vegetais: chuchu, abóbora, cenoura, couve, abobrinha,

beterraba.

Exemplos de carboidratos: qualquer tipo de batata, arroz, mandioca, inhame ou macarrão.

Exemplos de leguminosas: qualquer tipo de feijão, lentilha, grão de bico ou ervilha.

Exemplos de carnes: frango, carne bovina, peixe.

### **ALIMENTOS PROIBIDOS**

- Bebidas alcoólicas, refrigerantes (nem light/diet), bebidas gaseificadas (inclusive água), café preto, sucos em pó, açúcar.

### **ATENÇÃO: não ultrapassar o volume de 100 mL nas refeições**

Água e chás devem ser consumidos **entre as refeições**, em pequenos goles, aproximadamente 2 litros ao dia, observando a tolerância individual.

### **EXEMPLO DE CARDÁPIO**

Desjejum: café com leite desnatado e adoçante ou mingau de maisena com leite desnatado e adoçante.

Lanche: iogurte de frutas light (0% gordura).

Almoço: sopa de legumes com frango, liquidificada.

Lanche: suco de frutas natural sem açúcar (usar adoçante, se necessário).

Jantar: sopa de lentilha com legumes e carne moída, liquidificada.

Ceia: mingau com leite desnatado com adoçante.

**ORIENTAÇÃO NUTRICIONAL PARA GASTROPLASTIA FASE III**

Duração da dieta: até aproximadamente 3 meses de cirurgia.

Valor calórico total aproximado: 800 kcal

**ORIENTAÇÕES GERAIS**

- Consistência da dieta: **líquida e pastosa.**
- **Não é mais necessário coar nem diluir nada.**
- Fazer de **6 a 8 refeições** diárias, com intervalos de **2 a 3 horas.**
- Volume de preparações líquidas: **aproximadamente 100ml.**
- Seguir as **quantidades** de alimentos **recomendados.**
- Comer **lentamente, mastigando bem** os alimentos.
- Usar adoçante se necessário, preferencialmente a base de Stévia/Sucralose.

**ALIMENTOS PERMITIDOS**

- Consistência da alimentação: transição de pastosa para **branda e normal.**
- Fazer de **6 a 8 refeições** diárias, com intervalos de **2 a 3 horas.**
- Volume de preparações líquidas: aproximadamente 200ml.
- Seguir as **quantidades e grupos** de alimentos **recomendados.**
- Comer **lentamente, mastigando bem** os alimentos.
- Variar os alimentos e os tipos de preparações nas refeições, evitando frituras.
- Preparar as carnes: assadas, ensopadas ou grelhadas, usando cortes magros (coxão mole, patinho, músculo), peixes e frango sem a pele.
- Beber líquidos (água, chás e sucos naturais) entre as refeições, aproximadamente 2 litros ao dia.
- Não consumir bebidas gasosas (refrigerantes), chás prontos (lata, garrafa ou copo).
- Não utilizar açúcar ou alimentos já adoçados (leite condensado, achocolatados, sorvetes, flans).
- Usar adoçante se necessário, preferencialmente a base de Stévia/Sucralose.

## A CONSISTÊNCIA DAS REFEIÇÕES VAI EVOLUIR GRADUALMENTE:

Utilize **PRATOS DE SOBREMESA OU DE PÃO**. Evite pratos de sopa ou de almoço.

a) **Bebida**: Leite desnatado; café com leite desnatado; iogurte desnatado (light 0% gordura); vitamina de frutas com leite desnatado; suco natural de qualquer fruta; chá de infusão de qualquer sabor; água mineral ou água fervida e filtrada; água de coco; não utilize açúcar.

b) **Amido** (horário de café da manhã e café da tarde): Torrada (cortar uma fatia de pão em 4 pedaços e torrar): consumir apenas um quadradinho da fatia ( $\frac{1}{4}$ ) e ir aumentando esse  $\frac{1}{4}$  a cada semana até completar 4 quadradinhos ou uma fatia. Cada  $\frac{1}{4}$  de pão equivale a uma bolacha água e sal ou 1 torrada pronta industrializada. Em cada quadradinho da torrada ou bolacha colocar uma fatia de **queijo branco, ricota ou 1 ponta de faca de requeijão light**.

c) **Amido** (horário de almoço e jantar): batata, polenta, abóbora ou aipim bem cozidos ou na forma de purê mais consistente, arroz bem cozido, macarrão bem cozido: **1 colher de sopa**.

d) **Verduras cozidas** (horário de almoço e jantar): escolher inicialmente as verduras mais macias (abobrinha, abóbora, chuchu ou cenoura bem cozidos, berinjela, etc.): **1 colher de sopa**.

e) **Carnes** (horário do almoço e jantar): carne moída; frango ou peixe assado, cozido ou grelhado ou com molho com o mínimo de gordura : **1 colher de sopa**; NÃO FRITAR. Opção para substituir a carne: ovo cozido ou mexido bem molinho.

e) **Leguminosas** (horário do almoço e jantar): feijão liquidificado ou bem cozido com bagos amassados, lentilha e ervilha bem cozida: **1 colher de sopa**.

f) **Sopas** (opção de jantar caso não repita o almoço) com verduras e legumes bem cozidos inteiros amassados com carne moída, frango ou peixe sem gordura e sem pele, em pedaços pequenos: **1 concha pequena**.

g) **Frutas:** Mamão amassado, banana amassada, pêra ou maçã raspadas **sem casca**, frutas **sem casca** bem macias (ameixa, caqui maduro, melão maduro, pêssego maduro, etc.) ou frutas **sem casca** cozidas ou assada como papa de neném sem açúcar, **sem casca**, sem sementes e sem bagaços. Pode usar o microondas ou suco natural de frutas

**Observação:** Utilizar 1 colher de óleo (10 mL) por dia para o preparo dos alimentos.

- **PROIBIDO** o consumo de GRÃOS (milho, grão de bico, pipoca, amendoim e oleaginosas).

#### EXEMPLO DE CARDÁPIO FINAL DE 800 kcal

Refeição	Grupo	Porção	Exemplo de Alimento ou preparação	Medidas Caseiras
Café da manhã	Leite Pão Leite	1 1/2 1	Leite desnatado Pão de trigo integral Requeijão Light	1 copo pequeno 1 fatia ou ½ unid 1 colher de sopa cheia
Lanche	Frutas	1	Maçã	1 unidade pequena
Almoço	Legumes Arroz Feijão Carne Gordura	1/2 2 1 1 1	Abóbora refogada Arroz integral Lentilha cozida Bife Azeite de oliva	2 colheres de sopa 2 colher de sopa 1 colher de sopa 1/2 unidade pequena 1 colher de sobremesa
Lanche	Leite Frutas	1/2 1	Leite desnatado Mamão	1/2 copo pequeno 1 fatia média
Jantar	Legumes Arroz Carne Gordura	1/2 2 1 1	Chuchu refogado Arroz integral Carne moída Azeite de oliva	2 colheres de sopa 2 colh. sopa cheias 1 colher de sopa 1 colher de sobremesa
Ceia	Frutas	1	Laranja	1 unidade média

## **Anexo B – 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:** SUPLEMENTAÇÃO DE PREBIÓTICOS E SIMBIÓTICOS ANTES E APÓS À CIRURGIA BARIÁTRICA

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

**Área Temática:**

**Versão:** 2

**CAAE:** 13778413.1.0000.0121

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

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

#### **DADOS DO PARECER**

**Número do Parecer:** 245.650

**Data da Relatoria:** 08/04/2013

**Recomendações:**

-

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

Diante do exposto, considera-se que as pendências foram resolvidas e recomenda-se a aprovação do projeto de pesquisa pelo Comitê de Ética.

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

**Considerações Finais a critério do CEP:**

FLORIANOPOLIS, 15 de Abril de 2013

---

**Assinador por:**  
Andréa Ferreira Delgado  
(Coordenador)