



JUCIANE DE ABREU RIBEIRO PEREIRA

**RESPOSTAS METABÓLICAS EM
CAMUNDONGOS SUBMETIDOS À DIETA
INDUTORA DE OBESIDADE E ALIMENTADOS
COM IOGURTES PROBIÓTICOS E YACON
(*Smallanthus sonchifolius*)**

LAVRAS - MG

2013

JUCIANE DE ABREU RIBEIRO PEREIRA

**RESPOSTAS METABÓLICAS EM CAMUNDONGOS SUBMETIDOS À
DIETA INDUTORA DE OBESIDADE E ALIMENTADOS COM
IOGURTES PROBIÓTICOS E YACON (*Smallanthus sonchifolius*)**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, área de concentração em Ciência dos Alimentos, para a obtenção do título de Doutor.

Orientadora

Dra. Maria de Fátima Pícolo Barcelos

LAVRAS - MG

2013

**Ficha Catalográfica Elaborada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca da UFLA**

Pereira, Juciane de Abreu Ribeiro.

Respostas metabólicas em camundongos submetidos à dieta indutora de obesidade e alimentados com iogurtes probióticos e yacon (*Smallanthus sonchifolius*) / Juciane de Abreu Ribeiro Pereira. – Lavras : UFLA, 2013.

161 p. : il.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Lavras, 2013.

Orientador: Maria de Fátima Pícolo Barcelos.

Bibliografia.

1. Prebiótico. 2. Microrganismos probióticos. 3. Inflamação. 4. Resistência à insulina. 5. Dislipidemias. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 664.07

JUCIANE DE ABREU RIBEIRO PEREIRA

**RESPOSTAS METABÓLICAS EM CAMUNDONGOS SUBMETIDOS À
DIETA INDUTORA DE OBESIDADE E ALIMENTADOS COM
IOGURTES PROBIÓTICOS E YACON (*Smallanthus sonchifolius*)**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, área de concentração em Ciência dos Alimentos, para a obtenção do título de Doutor.

APROVADA em 22 de fevereiro de 2013.

Dr. Dennys Esper Corrêa Cintra	UNICAMP
Dr. Eduardo Valério de Barros Vilas Boas	UFLA
Dr. Eric Batista Ferreira	UNIFAL
Dr. Raimundo Vicente de Sousa	UFLA

Dra. Maria de Fátima Piccolo Barcelos
Orientadora

**LAVRAS - MG
2013**

A Deus,
pelos traçados sinuosos da vida que nos conduzem ao crescimento
espiritual.

DEDICO ESTE TRABALHO

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Lavras e ao Departamento de Ciência dos Alimentos, pela receptividade para a realização deste trabalho.

Ao Laboratório de Sinalização Celular da Faculdade de Ciências Médicas da Unicamp, pela disponibilidade e cooperação no estudo *in vivo* e nas análises moleculares.

Ao diretor do Instituto Federal do Sudeste de Minas Gerais - Campus Barbacena, José Roberto Ribeiro Lima, pela compreensão e liberação parcial para a condução das atividades do curso de Doutorado.

À professora Maria de Fátima Piccolo Barcelos, pela orientação, confiança e amizade, desde a fase de voluntariado e durante o mestrado e o doutorado.

Ao professor Raimundo Vicente de Sousa, pela amizade e ensinamentos de sempre.

À professora Roberta Hilsdorf Piccoli, pela disponibilidade e precioso auxílio nas análises microbiológicas.

Ao professor Wilson César de Abreu, pela prestimosa ajuda nas análises de atividade antioxidante.

Aos professores Dennys Éspere Corrêa Cintra e José Rodrigo Pauli, pela dedicação e empenho para a condução das análises moleculares que, sem dúvida, enriqueceram o trabalho.

Ao professor Eduardo Valério de Barros Villas Boas, pelo apoio para a condução deste projeto.

Ao meu coorientador e esposo, professor Michel Cardoso De Angelis Pereira, pela contribuição profissional a este trabalho. Obrigada por estar ao meu lado em toda essa trajetória e compreender as dificuldades inerentes à mesma,

principalmente por conciliar estudo e trabalho e, muitas vezes, ter que me ausentar da vida em família.

Aos meus pais, Maria e José Hilton, que sempre confiaram em mim e me apoiaram, obrigada pelos exemplos de dignidade.

Às minhas irmãs, Maíra, pelo carinho e companheirismo e Franciane (*in memoriam*), a qual, com certeza, independentemente de onde esteja, sempre emanará energias positivas.

Ao meu sobrinho e afilhado, Lucas, por agraciar minha vida com sua luz, amor e carinho.

Aos meus avós, Geraldo Pereira de Abreu (*in memoriam*) e Marta Ely de Abreu, pelo carinho de uma vida toda. Aos avós José Ribeiro e Marina do Perpétuo Socorro (*in memoriam*), por terem sido pessoas de grandeza em minha vida.

Às minhas enteadas, Brenda e Brunna, com as quais tenho aprendido muito nos últimos anos, pelo carinho.

A Fernando e Gleisy, pela amizade e compreensão.

A Luidi, Michelle e Gustavinho, meu mais novo afilhado, pelo carinho e amizade.

Aos grandes amigos, Valéria Bergamini, Suely Baumgratz, Júnia Maria Geraldo e Túlio Junqueira, pela cooperação, disponibilidade e, principalmente, companheirismo e amizade sincera, que me ajudaram muito na conclusão desta etapa.

Aos companheiros e amigos do Laboratório de Bioquímica Nutricional, pelo companheirismo.

A Janina Guidarlucchi, João Paulo e Cíntia Nayara, pelo auxílio na condução dos experimentos.

Às técnicas de laboratório, Cleusa, Denise, Eliane e Tina, do DCA, bem como o Willian, do DMV, pelo precioso apoio técnico para a condução dos experimentos.

Enfim, a todos aqueles que me apoiaram e, de alguma forma, mesmo que com um sorriso, me deram força para continuar a lutar para que esse objetivo profissional fosse alcançado.

RESUMO

Muitas pesquisas têm sido realizadas na busca de terapias alternativas para a obesidade, a qual caracteriza-se por estado inflamatório que interfere em vários processos metabólicos, modificando perfil lipídico e glicêmico, podendo causar dislipidemias e resistência à insulina. Os alimentos com alegação de propriedades funcionais se destacam nesse contexto, a exemplo de iogurtes probióticos e raiz tuberosa de yacon (*Smallanthus sonchifolius*). O presente trabalho objetivou avaliar os efeitos do consumo de dietas contendo iogurtes probióticos com *Lactobacillus acidophilus* e/ou *Bifidobacterium animalis* e farinha de yacon. Os iogurtes foram avaliados quanto à composição centesimal e viabilidade de microrganismos probióticos e a farinha de yacon em relação à composição centesimal e atividade antioxidante. No ensaio *in vivo*, foram utilizados 48 camundongos, dos quais 42 foram submetidos ao consumo de dieta indutora de obesidade por 56 dias. Posteriormente, houve tratamento por 30 dias com diferentes dietas para os grupos experimentais, a citar: CT- controle não-obeso: dieta padrão (AIN93-M); HF- controle obeso- dieta AIN93-M com adição de gordura suína; L: dieta AIN93-M com adição de gordura suína e iogurte probiótico com *L. acidophilus*; B: dieta AIN93-M com adição de gordura suína e iogurte probiótico com *B. animalis*; L+B: dieta AIN93-M com adição de gordura suína e iogurte probiótico com *L. acidophilus* e *B. animalis*; L+Y: dieta AIN93-M com adição de gordura suína acrescida de farinha de yacon e iogurte probiótico com *L. acidophilus*; B+Y: dieta AIN93-M com adição de gordura suína acrescida farinha de yacon e iogurte probiótico com *B. animalis* e; L+B+Y: dieta AIN93-M com adição de gordura suína acrescida de farinha de yacon e iogurte probiótico com *L. acidophilus* e *B. animalis*. Os níveis de colesterol e triacilgliceróis plasmáticos bem como glicemia de jejum foram aferidos antes e após os tratamentos. Ao final dos tratamentos, foram coletadas amostras de tecidos adiposo periepididimário e hepático, sendo este último utilizado para análise por *Western blotting* dos níveis de proteínas inflamatórias e da via de sinalização de insulina. A farinha de yacon apresentou alto conteúdo de frutanos (46%) e expressivo potencial antioxidante. Os iogurtes probióticos apresentaram semelhante composição centesimal e mantiveram a viabilidade dos microrganismos probióticos em 10^9 UFC. mL⁻¹ de iogurte por 14 dias. O consumo médio diário do grupo CT foi superior ao HF (p-valor= 10^{-3}) e o grupo L+B+Y apresentou redução de peso comparado ao grupo HF (p-valor= 0,03) na média dos tempos. As dietas simbióticas foram mais eficazes que as dietas contendo somente iogurtes probióticos para controle dos níveis de triacilgliceróis, colesterol plasmático e glicemia de jejum bem como para prevenir o acúmulo de tecido gorduroso. Os níveis de interleucina IL-1 β foram reduzidos (p<0,05) em todos os grupos de animais tratados com os iogurtes

probióticos e/ou farinha de yacon em relação ao grupo HF. Os grupos L+B e L+B+Y apresentaram aumento ($p < 0,05$) do receptor de insulina fosforilado (P-IR) e do substrato 1 de receptor de insulina fosforilado (P-IRS1) em comparação ao grupo HF. O tratamento com associação de *L. acidophilus*, *B. animalis* e farinha de yacon foi mais eficiente para controle das desordens metabólicas associadas à obesidade, utilizando-se doses aplicáveis para humanos.

Palavras-chave: Prebiótico. Microrganismos probióticos. Inflamação. Resistência à insulina. Dislipidemias.

ABSTRACT

Much research has been conducted in the search for therapies alternative for obesity, which is characterized by an inflammatory state which interferes in several metabolic processes, modifying both the lipid and glycemic profile, its being able to cause dyslipidemias and insulin resistance. The foods with a claim of functional properties stand out in that context, in the same way as probiotic yogurts and the tuberous root of yacon (*Smallanthus sonchifolius*). The present work intended to evaluate the effects of the consumption of diets containing probiotic yogurts with *Lactobacillus acidophilus* and/or *Bifidobacterium animalis* and the yacon flour. The yogurts were evaluated as to the centesimal activity and viability of probiotic microorganisms and the yacon flour in relation to the centesimal composition and antioxidant activity. In the in situ assay, 48 mice were utilized, of which 42 were submitted to the obesity-inducing diet for 56 days. Afterwards, there was a treatment for 30 days with different diets for the experimental groups, namely: CT- non-obese control- standard diet (AIN93-M); HF- obese control - diet AIN93-M with the addition of swine fat (high-fat) and probiotic yogurt with *L. acidophilus* and *B. animalis*; L+Y: diet AIN93-M with addition of swine fat added of yacon flour and probiotic flour with *L. acidophilus*; B+Y: diet AIN93-M with addition of swine fat added of yacon flour and probiotic flour with *B. animalis* and L+B+Y: diet AIN93-M with addition of swine fat added of yacon flour and and probioite yogurt with *L. acidophilus* and *B. animalis*; L: high fat diet AIN93-M and probiotic yogurt with *L. acidophilus*; B: high-fat diet AIN93-M and probiotic yogurt with *B. animalis*. The levels of plasma cholesterol and triacylglycerol as well as fasting glycemia were measured before and after the treatments. At the end of the treatments, samples of periepididymal adipose and hepatic tissue were collected, this latter being utilized for *Western blotting* analysis of the levels of inflammatory proteins and of the insulin signaling pathway. The yacon flour presented a high fructan content (46%) and expressive antioxidant potential. The probiotic yogurts presented similar centesimal composition and maintained the viability of the probiotic microorganisms at 10^9 UFC. mL⁻¹ of yogurt for 14 days. The daily average consumption of the group CT was higher than the HF (p-value= 10^{-3}) and the group L+B+Y presented reduction of weight compared with eh group HF (p-value= 0.03) in the mean of the times. The symbiotic diets were more effective than the diets containing only probiotic yogurts for the control of the levels of triacilgliceróis, plasma colesterol and fasting glicemia as well as to prevent the accumulation of adipose tissue. The levels of interleukin IL-1 β were reduced (p<0.05) in all the groups of animals treated by the probiotic yogurts and/or yacon flour in relation to the group HF. The groups L+B and L+B+Y presented increase (p<0.05) of the phosphorylated insulin receptor (P-IR) and of substrate 1 of phosphorylated insulin receptor (P-IRS1) as compared with the

group HF. The treatment with association of *L. acidophilus*, *B. animalis* and yacon flour was most efficient for the control of the metabolic disorders associated with obesity utilizing doses applicable for humans.

Keywords: Prebiotic. Probiotic microorganisms. Inflammation. Insulin resistance. Dyslipidemias.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 Papel da microbiota intestinal nas alterações induzidas pela gordura na regulação da absorção de nutrientes, armazenamento de gordura e estado inflamatório do hospedeiro 29
- Figura 2 Sinalização para captação e metabolização de glicose. Sensibilização do recetor (IR) pela insulina e início da ativação da via de sinalização intracelular. O receptor de insulina ativo fosforila o substrato 1 e 2 do receptor de insulina (IRS-1/2) que, por sua vez, ativa a proteína fosfatidilinositol-3-quinase (PI3-q) e, consecutivamente, a Akt, que dá início à extrusão do transportador de glicose (GLUT 4) em tecidos como o músculo esquelético e adiposo. A glicose no meio intracelular é imediatamente fosforilada pela enzima glicoquinase, a fim de que não retorne para o meio externo à célula. Porém, a ação dessa enzima é totalmente dependente de íons Mg^{2+} , que atuam como cofatores para que a reação tenha continuidade e a glicose possa ser utilizada adequadamente. 34
- Figura 3 Mecanismos de ação dos probióticos. Mecanismos específicos: envolvimento dos probióticos nas respostas imune humoral e mediadas por células. Mecanismos inespecíficos: aumento da função de barreira epitelial, exclusão competitiva de bactérias no epitélio, modificação de microambiente local e redução da inflamação intestinal. Th: células auxiliares T; Ig: imunoglobulina; Treg: célula T regulatória; IL: interleucina; TGF; fator de crescimento transformante; TNF: factor de necrose tumoral; IFN: interferon; M: células M; DC: células dendríticas; TJ: junção tecidual; MO: macrófagos; SCFA: ácidos graxos de cadeia curta; NF- κ B: fator nuclear- κ B; ROS: espécies reativas de oxigênio. Fonte: IACONO et al. (2011) 47
- Figura 4 Método enzimático-colorimétrico para determinação de frutanos 69
- Figura 5 Etapas do ensaio *in vivo* *Legenda*: CT - controle não obeso; HF - controle obeso; L - AIN93-M com alto teor de gordura saturada acrescida de iogurte probiótico (*Lactobacillus acidophilus*); B - AIN93-M com alto teor de gordura saturada acrescida de iogurte probiótico (*Bifidobacterium animalis*); L+B - AIN93-M com alto teor de gordura saturada acrescida de iogurte probiótico (*Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium animalis*); L+Y - AIN93-M com alto teor de gordura saturada acrescida de farinha de yacon e iogurte probiótico (*Lactobacillus acidophilus*); B+Y - AIN93-M com alto teor de gordura saturada acrescida de farinha

	de yacon e iogurte probiótico (<i>Bifidobacterium animalis</i>); L+B+Y - AIN93-M com alto teor de gordura saturada acrescida de farinha de yacon e iogurte probiótico (<i>Lactobacillus acidophilus</i> e <i>Bifidobacterium animalis</i>).	77
Figura 6	Níveis de proteína inflamatória interleucina 1 β (IL-1 β), em camundongos obesos tratados com probióticos e/ou prebiótico	114
Figura 7	Níveis de receptor de insulina ativado (P-IR) envolvido na sinalização da via da insulina em camundongos normais e obesos, tratados ou não com probióticos e/ou prebiótico	119
Figura 8	Níveis de substrato 1 de receptor de insulina ativado (P-IRS1) envolvido na sinalização da via da insulina em camundongos normais e obesos tratados ou não com probióticos e/ou prebiótico.	121

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Composição das dietas dos animais experimentais (g/kg), durante a fase de indução de obesidade.....	75
Tabela 2	Composição das dietas baseadas na dieta AIN93-M, segundo Reeves, Nielsen e Faheey (1993), com modificações nas frações fibra e lipídica, utilizadas na etapa de tratamento dos animais experimentais.....	79
Tabela 3	Composição centesimal e de fibra alimentar solúvel e insolúvel (%) da farinha de yacon.....	85
Tabela 4	Valores médios de fenólicos totais e atividade antioxidante total (ATT) na farinha de yacon, pelos métodos DPPH e ABTS e da correlação entre ATT e fenólicos totais, utilizando correlação de Pearson.....	87
Tabela 5	Contagens médias de microrganismos probióticos nos iogurtes com <i>Lactobacillus acidophilus</i> e <i>Bifidobacterium animalis</i> isolados ou em conjunto (UFC. mL-1).....	90
Tabela 6	Composição centesimal (%) de iogurtes probióticos.....	92
Tabela 7	Consumo médio diário (CMD) de dieta dos animais experimentais, durante 30 dias de tratamento.....	93
Tabela 8	Valores de peso corporal na média dos tempos para os diferentes grupos de animais experimentais.....	97
Tabela 9	Valores médios de glicemia de jejum (mg. dL-1), colesterol total (mg. dL-1) e triacilgliceróis séricos (mg. dL-1) dos animais experimentais com diferentes tratamentos, analisados antes e após a aplicação dos tratamentos.....	100
Tabela 10	Teores de excreção fecal de lipídeos (%) dos animais experimentais alimentados com diferentes dietas após o período de tratamento.....	109
Tabela 11	Valores médios de peso do tecido adiposo periepididimário dos animais experimentais alimentados com diferentes dietas (g. 100g-1 de peso corporal).....	111

LISTA DE ABREVIATURAS

AAT	atividade antioxidante total
AGCC	ácido graxo de cadeia curta
AGL	ácido graxo livre
AIN	Instituto Americano de Nutrição
CMD	consumo médio diário
CoT	colesterol total
DCNTs	doenças crônicas não transmissíveis
FAI	fibra alimentar insolúvel
FAT	fibra alimentar total
FAS	fibra alimentar solúvel
FOS	frutoligossacarídeos
FIAF	fator adiposo induzido pelo jejum
GLP-1	peptídeo semelhante ao glucagon 1
GLP-2	peptídeo semelhante ao glucagon 2
GLUT4	transportador de glicose insulino-sensível 4
HDL-c	lipoproteína de alta densidade
ITF	frutanos do tipo inulina
IL-1 β	interleucina 1 β
IL-6	interleucina 6
IR	receptor de insulina
R-P	receptor de insulina fosforilado
IRS	substratos de receptor de insulina
IRS-P	substratos de receptor de insulina fosforilado
LDL-c	lipoproteína de baixa densidade
LPS	lipopolissacarídeo
MCP-1	proteína quimiotática de monócitos
PAI-1	inibidor do ativador de plasminogênio- 1
PI3-q	fosfatidilinositol 3 quinase
PPAR γ	receptor ativado por proliferadores de peroxissomas γ
PYY	peptídeo YY
TAG	triacilglicerol
TNF α	fator de necrose tumoral alfa
UFC	unidades formadoras de colônias
VLDL-c	lipoproteína de muito baixa densidade

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	18
2	OBJETIVOS	20
2.1	Objetivo geral.....	20
2.2	Objetivos específicos.....	20
3	REFERENCIAL TEÓRICO	21
3.1	Obesidade: aspectos gerais.....	21
3.2	Obesidade e processo inflamatório.....	24
3.3	Perfil da microbiota intestinal, obesidade e doenças correlacionadas.....	27
3.4	Dislipidemias, resistência à insulina e intolerância à glicose decorrentes da obesidade.....	31
3.5	Probióticos.....	36
3.6	Probióticos em alimentos lácteos e doses de consumo para efeitos benéficos.....	38
3.7	<i>Lactobacillus acidophilus</i> e <i>Bifidobacterium animalis</i>	42
3.8	Efeitos de probióticos sobre obesidade e doenças correlacionadas.....	44
3.9	Prebióticos e seus efeitos benéficos.....	49
3.10	Efeitos prebióticos e obesidade associada à inflamação.....	51
3.11	Efeitos prebióticos e regulação da ingestão de alimentos, massa de gordura e peso corporal.....	53
3.12	Efeitos de prebióticos sobre a homeostase glicêmica.....	54
3.13	Efeitos de prebióticos sobre os níveis lipídêmicos.....	56
3.14	Frutanos.....	58
3.15	Yacon (<i>Smallanthus sonchifolius</i>).....	61
3.16	Substâncias bioativas com atividade antioxidante no yacon e possíveis efeitos sobre inflamação e homeostase glicêmica.....	64
4	MATERIAL E MÉTODOS	66
4.1	Yacon.....	66
4.1.1	Obtenção da farinha de yacon.....	66
4.1.2	Rendimento da farinha de yacon.....	67
4.1.3	Composição centesimal da farinha de yacon.....	67
4.1.4	Determinação de fenólicos totais e atividade antioxidante da farinha de yacon.....	69
4.2	Iogurtes probióticos.....	71
4.2.1	Ativação das culturas e preparo de soluções probióticas.....	71
4.2.2	Elaboração dos iogurtes probióticos.....	72
4.2.3	Viabilidade dos microrganismos probióticos presentes nos iogurtes.....	73

4.2.4	Determinação da composição centesimal dos iogurtes probióticos.....	73
4.3	Ensaio <i>in vivo</i>	74
4.3.1	Controle de ingestão alimentar e evolução ponderal	80
4.3.2	Análise da glicemia de jejum, colesterol total e triacilgliceróis séricos	80
4.3.3	Excreção fecal de lipídeos.....	80
4.3.4	Coleta de amostras e sacrifício dos animais.....	81
4.3.5	Tecido adiposo periepídidimário	81
4.3.6	Investigação de proteínas inflamatórias características de obesidade e proteínas envolvidas na via de sinalização da insulina	81
4.4	Análises estatísticas	83
4.4.1	Composição química dos iogurtes probióticos.....	83
4.4.2	Estudo <i>in vivo</i>	83
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	85
5.1	Rendimento da farinha de yacon	85
5.2	Composição centesimal e frutanos da farinha de yacon.....	85
5.3	Fenólicos totais e atividade antioxidante da farinha de yacon.....	86
5.4	Viabilidade dos microrganismos probióticos presentes nos iogurtes.....	89
5.5	Composição centesimal dos iogurtes probióticos	91
5.6	Ensaio <i>in vivo</i>	92
5.6.1	Consumo médio diário (CMD) de dieta e desenvolvimento ponderal	93
5.6.2	Glicemia de jejum, colesterol total e triacilgliceróis séricos.....	99
5.6.3	Excreção fecal de lipídeos.....	108
5.6.4	Tecido adiposo periepídidimário	110
5.6.5	Investigação de proteínas inflamatórias e proteínas envolvidas na via de sinalização da insulina	114
6	CONCLUSÕES	126
	REFERÊNCIAS.....	128

1 INTRODUÇÃO

O aumento alarmante nos casos de obesidade em todo o mundo tem gerado grande preocupação e estimulado a comunidade científica a realizar pesquisas focadas na busca de alternativas para auxiliar na prevenção e/ou no tratamento dessa condição patológica.

A dieta rica em gorduras e açúcares, associada ao sedentarismo, está entre os mais importantes fatores para o desenvolvimento de obesidade. Sabe-se que a ingestão excessiva de gordura, principalmente saturada, pode levar à diminuição da permeabilidade da mucosa intestinal, permitindo que lipopolissacarídeo (LPS), proveniente da parede celular de bactérias gram-negativas, atinja a corrente sanguínea e, por sua vez, seja reconhecido pelo sistema imunológico e desencadeie respostas inflamatórias no organismo (BLAUT; BISCHOFF, 2010; DELZENNE; CANI, 2011).

É bem relatado, na literatura, que o acúmulo de tecido adiposo leva à produção de citocinas pró-inflamatórias que causam inflamação de baixo grau e este quadro pode interferir em várias rotas metabólicas do organismo, tais como a via de sinalização de insulina, alterando a homeostase glicêmica, que pode culminar com a instalação de diabetes mellitus tipo 2, bem como a alteração no perfil lipídico que pode resultar em dislipidemias (CONROY; DAVIDSON; WARNOCK, 2011; SHOELSON; HERRERO; NAAZ, 2007).

Ademais, acredita-se que uma dieta rica em gorduras pode levar à redução de microrganismos do tipo *Bacteroidetes* e aumento de *Firmicutes* e *Proteobacteria*, cuja alteração levaria ao aumento de LPS no intestino.

Portanto, a possibilidade de utilização de prebióticos e/ou probióticos na alimentação surge como forma de auxiliar na prevenção e/ou no tratamento de tais condições.

Os prebióticos constituem-se de fibra solúvel fermentável por microrganismos da microbiota intestinal, a qual permite alterações benéficas locais e sistêmicas, que incluem o metabolismo lipídico, glicídico e possível regressão do estado inflamatório.

Neste contexto, o yacon (*Smallanthus sonchifolius*) é uma raiz tuberosa com alto conteúdo de frutanos, principalmente frutoligossacarídeos com característica prebiótica estabelecida, além de serem preferencialmente fermentados por bifidobactérias (PEDRESCHI et al., 2003; VALENTOVÁ et al., 2006).

Por outro lado, os probióticos são também uma interessante alternativa de consumo, principalmente veiculados por leites fermentados, para melhoria no equilíbrio da microbiota intestinal e, conseqüentemente, menor produção de LPS e fortalecimento da função de barreira da mucosa intestinal, bem como outras alterações metabólicas benéficas. Estes fatos levam, em última instância, à possibilidade de redução do processo inflamatório e a alterações metabólicas decorrentes do mesmo.

A associação de prebióticos e probióticos resulta em simbiose que potencializa todos os efeitos supracitados e pode ser uma importante estratégia dietética no controle do desenvolvimento ou, mesmo, uma forma terapêutica para a obesidade.

Diante destes fatos, estudos têm sido realizados para avaliar o efeito do consumo de yacon e/ou probióticos sobre o controle de dislipidemias, resistência à insulina e à inflamação conseqüentes da obesidade.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

O trabalho foi realizado com o objetivo geral de estudar a influência do consumo de dietas à base de farinha de yacon e/ou iogurtes probióticos sobre parâmetros relacionados à obesidade de camundongos.

2.2 Objetivos específicos

- a) produzir e caracterizar a farinha da polpa de yacon pela composição centesimal, conteúdo de frutanos (inulina e FOS) e potencial antioxidante;
- b) elaborar iogurtes probióticos com inoculação de *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium animalis*, separadamente e em conjunto, bem como analisar a composição centesimal e quantificar os probióticos dos iogurtes em estudo;
- c) avaliar o efeito de dietas à base de yacon (contendo prebióticos) e /ou iogurtes probióticos em camundongos que sofreram indução de obesidade sobre o consumo alimentar e desenvolvimento ponderal; verificar a interferência do consumo das diferentes dietas sobre a glicemia de jejum e lipídeos séricos (colesterol total e triacilgliceróis) dos animais; quantificar o acúmulo de tecido adiposo periepídídimo; identificar e quantificar algumas proteínas sinalizadoras do processo inflamatório ocasionado pela obesidade; identificar e quantificar proteínas envolvidas na via de sinalização da insulina frente à resistência à insulina causada pela obesidade.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Obesidade: aspectos gerais

A obesidade tem aumentado em níveis alarmantes em todo o mundo, atingindo proporções epidêmicas e vem sendo considerada a epidemia do século XXI. Nesse contexto, pelo menos 2,8 milhões de pessoas morrem a cada ano devido ao excesso de peso ou obesidade (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2012). O mais recente levantamento realizado pelo Ministério da Saúde revela que o excesso de peso e a obesidade aumentaram nos últimos seis anos no Brasil. A proporção de pessoas acima do peso no Brasil avançou de 42,7%, em 2006, para 48,5%, em 2011. No mesmo período, o percentual de obesos subiu de 11,4% para 15,8% (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2012).

A obesidade é uma doença crônica e multifatorial que envolve aspectos ambientais e genéticos e está associada ao desenvolvimento de diversas complicações crônicas, relacionadas às causas de morte mais comuns (RODRIGUES et al., 2008). Conhecer estes mecanismos é de grande relevância para o tratamento da obesidade e para a manutenção e a preservação da qualidade de vida.

Basicamente, o tipo de obesidade cuja ocorrência não está ligada a doenças endócrinas tem forte relação com o desbalanço alimentar resultante do desequilíbrio entre a ingestão e a necessidade diária de macronutrientes para suprir o metabolismo de um indivíduo geneticamente suscetível (MARQUES-LOPES et al., 2004). Esse tipo específico de obesidade, chamado de sociogênica ou exógena, é decorrente de fatores socioculturais, como o próprio estilo de vida moderno que predispõe ao menor gasto energético, a hábitos nutricionais inadequados e ao sedentarismo (GIULIANO;

CARNEIRO, 2004). Entre os hábitos alimentares inadequados pode-se citar o excesso de consumo de alimentos com alto conteúdo energético, ou seja, dietas ricas em gordura e alto teor de açúcar (NAKAMURA; OMAZE, 2012).

Nas últimas décadas, estudos foram realizados e relataram a ocorrência de transição nutricional, uma vez que a desnutrição tem sido reduzida e os casos de sobrepeso e obesidade são crescentes, devido à modificação nos padrões alimentares e ao aumento do sedentarismo por parte da população.

Por tratar-se de uma pandemia, reconhecida como tal no início deste século e com perspectivas nada alentadoras sobre programas objetivos e efetivos voltados à sua contenção, todas as investigações que se relacionam à obesidade ganham relevância (MILLER; ROSEMBLOOM; SILVERSTEIN, 2004).

A obesidade caracteriza-se como fator de risco para várias doenças crônicas não transmissíveis (DCNTs), a citar hipertensão arterial, dislipidemias, doenças cardiovasculares, diabetes mellitus e alguns tipos de câncer. Por esse mesmo motivo, a obesidade e suas consequências aumentam o uso de serviços de saúde, sobrecarregando os sistemas de saúde. No Brasil, os gastos do Ministério da Saúde com o Sistema Único de Saúde (SUS), em função das DCNTs, são estimados em R\$ 7,5 bilhões por ano (MALTA et al., 2006).

Além disso, casos de obesidade podem ter diagnóstico de síndrome metabólica que se refere a uma agregação de fatores de riscos cardiovasculares representada por hipertensão, obesidade abdominal, hipertriacilgliceridemia, baixa concentração de lipoproteínas de alta densidade (HDL-c) e intolerância à glicose. O diagnóstico de síndrome metabólica é estabelecido quando três ou mais dos elementos coexistem no mesmo sujeito (STABELINI NETO et al., 2012).

A obesidade, a hipertensão e o diabetes mellitus tipo 2 são propiciados pelo perfil alimentar encontrado entre as famílias brasileiras, em que há uma participação crescente de gorduras em geral, gorduras de origem animal e

alimentos industrializados ricos em açúcar e sódio e a diminuição de cereais, leguminosas, frutas, verduras e legumes (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, 2004).

É amplamente reconhecido que obesidade é caracterizada por resposta inflamatória sistêmica crônica de baixo grau e acredita-se que isso esteja envolvido no desenvolvimento de patologias relacionadas com a obesidade (TRAYHURN; WOOD, 2004).

Nesse contexto surge a necessidade de pesquisa por alternativas alimentares que venham contribuir tanto para a prevenção como o tratamento da obesidade, reduzindo o risco de ocorrência de DCNTs.

Esse fato tem despertado o interesse da comunidade científica em desenvolver estudos que comprovem a atuação de certos alimentos na redução de riscos de doenças, os quais são denominados alimentos funcionais, pois, além de exercerem suas funções nutricionais básicas, produzem efeitos benéficos à saúde. Dentre os alimentos funcionais, existem aqueles que possuem característica probiótica e prebiótica, bem como simbiótica, quando ocorre a associação de ambos.

Várias correlações têm sido feitas entre consumo de prebióticos e/ou probióticos no controle da obesidade ou parâmetros ligados à obesidade como índice de massa corpórea, dislipidemias, resistência à insulina, entre outros (DELZENNE; CANI, 2011; EVERARD et al., 2011; GENTA et al., 2009; KEENAN et al., 2006; LUOTO et al., 2010; PARNELL; REIMER, 2010; VERHOEF; MEYER; WESTERTERP, 2011). É de grande importância, portanto, que os fatores relacionados às suas causas sejam elucidados e que seu tratamento seja conduzido de maneira adequada.

3.2 Obesidade e processo inflamatório

Recentes pesquisas têm considerado que lipopolissacarídeo (LPS), uma endotoxina bacteriana presente no plasma, pode ser um biomarcador do estado de obesidade ou utilizado para avaliar o impacto de terapias probióticas em obesidade associada à microbiota intestinal (NAITO et al., 2011; PUSSINEN et al., 2011).

O nível sérico de LPS, um componente importante da parede celular de bactérias gram-negativas, aumenta ligeiramente em casos de obesidade e esteatose, criando uma endotoxemia metabólica, que é suficiente para estimular citocinas pró-inflamatórias e modificar o metabolismo de glicose e lipídeos no fígado e/ou tecido adiposo (BLAUT; BISCHOFF, 2010; DELZENNE; CANI, 2011).

Todavia, sob condições normais, a presença de LPS no lúmen intestinal não causa efeitos negativos. Mas, alguns fatores podem favorecer a transferência de LPS para o sistema circulatório (LAUGERETTE et al., 2011).

Acredita-se que uma dieta rica em gorduras, sendo fator causal de obesidade, pode levar à redução de microrganismos do filo *Bacteroidetes* e aumento de *Firmicutes* e *Proteobacteria*. Essa alteração na microbiota intestinal também levaria ao aumento de LPS (proveniente da parede celular de bactérias gram-negativas) que, associado ao aumento da permeabilidade da barreira intestinal, devido à redução na síntese de peptídeo semelhante ao glucagon 2 (GLP-2), elevaria os níveis de LPS plasmático, gerando a denominada endotoxemia metabólica (SHI et al., 2006; WOLF; LORENZ, 2012).

Por outro lado, o LPS proveniente das bactérias gram-negativas e presentes no lúmen intestinal pode ser incorporado a micelas, absorvido e agregado aos quilomícrons. Assim, o acúmulo de quilomícrons no espaço intercelular, devido a uma dieta de alto teor de gordura, pode aumentar a pressão

local e fazer com que ocorra afrouxamento dos complexos juncionais entre os enterócitos ou, mesmo, ruptura da membrana basal (SALIM; SODERHOLM, 2011; SHEN; SU; TURNER, 2009). Após a absorção de gordura, o epitélio intestinal torna-se temporariamente ferido e é reparado, aproximadamente, 50 minutos mais tarde (KVIETYS et al., 1991). Porém, após a lesão, a barreira intestinal pode ficar comprometida, aumentando a permeabilidade intestinal à moléculas de peso molecular mais elevado, tais como LPS, especialmente através do espaço paracelular (MOREIRA et al., 2012).

Também é relatado na literatura que as dietas ricas em produtos cárneos e açúcares, além de gorduras, aumentam a absorção e concentração de LPS, que conduz à secreção de citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias (DEOPURKAR et al., 2010; ERRIDGE, 2011; MILANSKI et al., 2009). Tais composições de dietas, a longo prazo, levam à inflamação crônica por meio de sistemas de sensores de nutrientes (WELLEN; HOTAMISLIGIL, 2005). Portanto, esses nutrientes de forma exacerbada na dieta podem agir como indutores da ativação de receptores tipo *toll 4* (TLR4) (DANDONA et al., 2010; DASU et al., 2008).

O LPS também é um ligante de TLR4 e, portanto, ocorreria também aumento da ativação deste receptor em casos de obesidade (BRUN et al., 2007; CANI et al., 2007a, CANI et al., 2008; SHI et al., 2006; WOLF; LORENZ, 2012). O TLR4 é um receptor inato da resposta imune e é expresso numa variedade de tipos de células, incluindo células do sistema imunológico e adipócitos, e desempenha um papel crucial nas respostas de células hospedeiras a microrganismos.

Após o reconhecimento do LPS, o TLR4 sofre alterações e recruta suas moléculas adaptadoras, conduzindo à ativação de proteínas intermediárias à via de sinalização do fator de necrose tumoral alfa (TNF α), como as quinases IKK β e JNK. Além disso, a proteína IKK β promove a dissociação do complexo I κ B/NF- κ B no citoplasma e permite que esse fator de transcrição NF- κ B migre

até o núcleo da célula e ative os genes responsáveis pela transcrição de diversas proteínas, incluindo citocinas pró-inflamatórias, como as interleucinas 1 β e 6 (IL-1 β e IL-6) (DELZENNE; CANI, 2011; CINTRA; ROPELLE; PAULI, 2011; MANCO; PUTIGNANI; BOTTAZZO, 2010; SONG et al., 2006).

Entretanto, bifidobactérias podem reduzir os níveis de endotoxinas, melhorando a função da barreira intestinal (CANI; DELZENNE, 2009; GRIFFITHS et al., 2004; WANG et al., 2006). Estas bactérias não degradam glicoproteínas do muco como algumas bactérias patogênicas. Ao contrário, promovem um ambiente estável, inibindo a translocação de bactérias e toxinas (CANI; DELZENNE, 2009; RUSELER-VAN-EMBDEN et al., 1995).

Outro mecanismo que contribui para o processo inflamatório na obesidade está focado no tecido adiposo, o qual é um órgão secretor complexo e ativo que tanto envia como recebe sinais que modulam o gasto de energia, apetite, sensibilidade à insulina, funções endócrinas e reprodutivas, metabolismo ósseo, inflamação e imunidade (SHOELSON; HERRERO; NAAZ, 2007).

O acúmulo de lipídeos no tecido adiposo e a expansão da massa gorda levam ao desenvolvimento do processo inflamatório que se inicia por meio da produção de citocinas pró-inflamatórias e quimiocinas pelos adipócitos, incluindo TNF- α , IL-6, leptina, resistina, MCP-1 (proteína quimiotática de monócitos) e PAI-1 (inibidor do ativador de plasminogênio-1). As células endoteliais respondem por meio do aumento da expressão de moléculas de adesão, o que, juntamente com as quimiocinas, serve para recrutar células do sistema imunológico, incluindo macrófagos derivados de monócitos para o tecido adiposo. Juntos, adipócitos, células imunes e substâncias derivadas de células endoteliais criam um meio inflamatório que promove a resistência à insulina, localmente. Similares mediadores pró-inflamatórios e pró-aterogênicos entram na circulação para promover resistência à insulina e aumentar o risco de aterosclerose (KANANDA et al., 2006; SHOELSON; HERRERO; NAAZ, 2007).

Além disso, o tecido adiposo produz alguns produtos chamados de “adipocinas” (FANTUZZI, 2005; LAGO et al., 2007), sendo a leptina e a adiponectina as principais delas. A leptina desempenha papel na regulação do apetite e seus níveis estão elevados em indivíduos obesos; apresenta partes homólogas com citocinas pró-inflamatórias e, em humanos, os níveis circulantes de leptina são positivamente relacionados com o de proteína C reativa, um marcador de inflamação. De forma inversa, a adiponectina apresenta-se em níveis mais elevados na ausência do processo inflamatório. Em humanos existe correlação inversa entre os níveis de proteína C reativa plasmática e adiponectina (CONROY; DAVIDSON; WARNOCK, 2011). Com o desenvolvimento da obesidade, ocorre secreção desregulada de adipocinas, possivelmente mediada por ativação de macrófagos residentes ou infiltrados massivamente no tecido adiposo.

No entanto, os principais fatores implicados na iniciação da inflamação na obesidade são endotoxemia metabólica (aumento dos níveis plasmáticos de LPS), aumento plasmático de ácidos graxos não esterificados (NEFA), adipócitos hipertróficos e aumento da hipóxia do tecido adiposo, sendo que estes processos acontecem de forma concomitante (CONROY; DAVIDSON; WARNOCK, 2011).

3.3 Perfil da microbiota intestinal, obesidade e doenças correlacionadas

Bacteroidetes e *Firmicutes* são dominantes (>90% do total da população microbiana) no intestino de ratos e humanos saudáveis (LEY et al., 2006). A população destas bactérias é modificada pela dieta, e altos conteúdos de gordura podem ser cruciais para o desenvolvimento da obesidade e da diabetes mellitus tipo 2 (BRUGMAN et al., 2007; DE LA SERRE et al., 2010; HILDEBRANDT et al., 2009; LEY et al., 2006).

As possíveis explicações da capacidade da microbiota intestinal, a qual pode ser modificada pela dieta, em afetar o desenvolvimento da obesidade incluem uma melhoria na coleta de energia a partir da dieta, a estimulação do armazenamento de gordura por influência da atividade de lipase lipoproteica mediada pelo fator adiposo induzido pelo jejum (FIAF) (BACKHED et al., 2004), inflamação de baixo grau sistêmica induzida por gordura acompanhada por endotoxemia (aumento dos níveis sanguíneos de LPS) (CANI et al., 2007a; DELZENNE; CANI, 2011) e resistência à insulina (CANI et al., 2008), assim como está ilustrado na Figura 1.

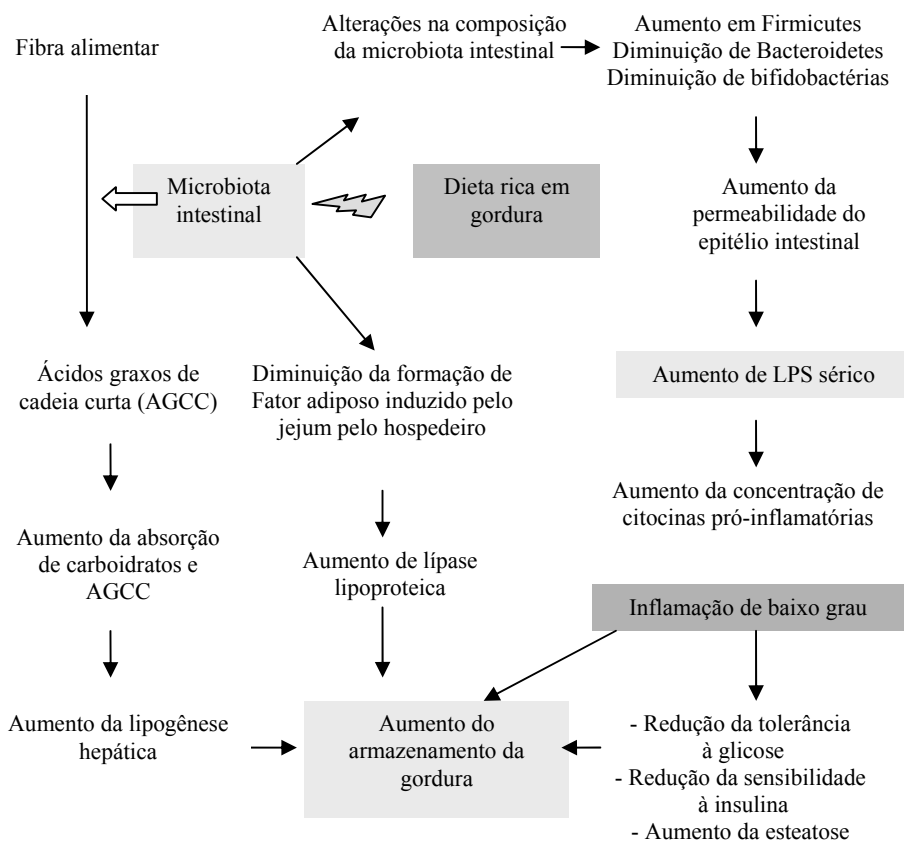


Figura 1 Papel da microbiota intestinal nas alterações induzidas pela gordura na regulação da absorção de nutrientes, armazenamento de gordura e estado inflamatório do hospedeiro

Fonte: BLAUT; BISCHOFF (2010) com modificações

Além disso, a ingestão crônica de dietas ricas em gorduras propicia a inflamação intestinal por meio da alteração do ambiente, assim como a permeabilidade e a composição microbiana deste órgão, além de modificar a habilidade de detoxificação de LPS pela fosfatase alcalina intestinal (DE LA SERRE et al., 2010; MALO et al., 2010).

Em um estudo recente foi mostrado, pela primeira vez em seres humanos, que as diferenças nas bactérias "saudáveis" específicas na microbiota intestinal podem preceder o desenvolvimento de excesso de peso (KALLIOMAKI et al., 2008). Os autores descobriram que o número de *Bifidobacterium* spp. durante o primeiro ano de vida foi maior em crianças que apresentaram peso normal aos 7 anos de idade do que em crianças com excesso de peso. Ainda constataram que o número de *Staphylococcus aureus* nas fezes foi menor nas crianças com peso normal do que em crianças com excesso de peso, implicando que o perfil da microbiota intestinal com maior número de bifidobactérias e menor número de *S. aureus* na infância pode proporcionar proteção contra excesso de peso e desenvolvimento de obesidade. Os autores propuseram que *S. aureus* pode atuar como um disparador de inflamação de baixo grau, contribuindo para o desenvolvimento da obesidade (LUNDELL et al., 2007).

Associações entre os principais filos bacterianos (*Firmicutes* e *Bacteroidetes*) presentes na microbiota intestinal e a regulação do peso corporal têm sido intenamente estudadas em obesos submetidos a intervenções de estilo de vida. Vários estudos relatam quantidades reduzidas do filo *Bacteroidetes* em indivíduos obesos, em comparação a sujeitos magros e, em alguns casos, aumento da proporção do filo *Firmicutes* e seus subgrupos (FURET et al., 2010; MUNUKKA et al., 2012; SANTACRUZ et al., 2009; SANTACRUZ et al., 2010).

Níveis mais elevados de *B. animalis* foram associados com peso normal, enquanto os níveis mais elevados de *Lactobacillus reuteri* foram associados com a obesidade, o que sugere uma possível relação entre certas espécies de probióticos (MILLION et al., 2012).

Além disso, altas contagens de *Lactobacillus casei/paracasei* e *Lactobacillus plantarum* no intestino humano são negativamente associadas com

a obesidade, mas altos níveis de *Lactobacillus reuteri* são associados positivamente (AMAR et al., 2011). Adicionalmente, espécies de *Lactobacillus* foram reduzidas no esôfago distal de ratos alimentados com uma dieta rica em gordura, em comparação com aqueles alimentados com a dieta padrão (ZHAO et al., 2011).

Por outro lado, alguns autores não encontraram qualquer relação entre o peso corporal e *Lactobacillus* spp. (BALAMURUGAN et al., 2010; SANTACRUZ et al., 2009).

3.4 Dislipidemias, resistência à insulina e intolerância à glicose decorrentes da obesidade

Indivíduos com obesidade, muitas vezes, apresentam dislipidemias e resistência à insulina.

Dislipidemias

A classificação fenotípica ou bioquímica das dislipidemias considera os valores de colesterol total (CoT), lipoproteína de baixa densidade (LDL-c), triacilgliceróis (TAG) e lipoproteína de alta densidade (HDL-c) (SPOSITO et al., 2007).

O acúmulo de quilomícrons e/ou de lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL-c) no compartimento plasmático resulta em hipertriacilgliceridemia e decorre da diminuição da hidrólise dos triacilgliceróis destas lipoproteínas pela lipase lipoproteica ou do aumento da síntese de VLDL-c. Por outro lado, o acúmulo de lipoproteínas ricas em colesterol, como a LDL-c no compartimento plasmático, resulta em hipercolesterolemia (SPOSITO et al., 2007).

A atividade do receptor hepático de LDL-c é, geralmente, o principal fator controlador das concentrações de LDL-c plasmática. Por sua vez, tanto o

colesterol dietético como gorduras saturadas tendem a suprimir atividade deste receptor, fazendo com que o “clearance” destas partículas fique diminuído e as concentrações de colesterol aumentem para concentrações que implicam em risco aterogênico (CURI et al., 2002).

Os conteúdos alimentares de gorduras saturadas e de colesterol influenciam diferentemente os níveis lipídicos plasmáticos, em especial a colesterolemia. A maioria da população absorve aproximadamente metade do colesterol presente na luz intestinal, enquanto uma minoria é hiper-responsiva, ou seja, absorve maior quantidade. A absorção de gordura saturada, no entanto, não é limitada e, por isso, sua ingestão promove efeito mais intenso sobre a colesterolemia (SPOSITO et al., 2007). Além disso, os ácidos graxos saturados aumentam LDL-c e reduzem HDL-c, aumentando, assim, a razão LDL-c /HDL-c e aumentam os TAG (SPOSITO et al., 2007).

Resistência à insulina e intolerância à glicose

Em um mundo globalizado, o consumo excessivo de carboidratos refinados e gordura saturada é a causa mais comum de resistência à insulina que aumenta dramaticamente a incidência da síndrome metabólica, diabetes mellitus tipo 2 e doenças cardiovasculares (KENDALL et al., 2010).

A resistência à insulina é definida como estado de menor resposta metabólica aos níveis circulantes de insulina e está associado à obesidade, ao envelhecimento, ao hábito de vida sedentário e, ainda, à predisposição genética (CINTRA; ROPELLE; PAULI, 2011). Além disso, é um fator de risco para o desenvolvimento de diabetes mellitus tipo 2, doença cardiovascular, hipertensão arterial, doença renal e câncer (DING; LUND, 2011; HOEHN et al., 2009; LARON, 2009; MANCO; PUTIGNANI; BOTTAZZO, 2010).

A sinalização da via de insulina é um processo muito complexo, que envolve múltiplos caminhos e cascatas em eventos de fosforilação (Figura 3) e a

interferência com estes caminhos de sinalização da insulina pode alterar sua ação e conduzir ao desenvolvimento de resistência à insulina (MOREIRA et al., 2012).

A resistência à insulina em casos de obesidade pode ser desencadeada por consumo crônico de dietas ricas em gorduras, as quais elevam os níveis de ácidos graxos livres (AGLs) circulantes e, no meio intracelular, são capazes de exercer efeitos sistêmicos sobre a sensibilidade à insulina, referidos como “lipotoxicidade” (MCGARRY, 2002, CINTRA; ROPELLE; PAULI, 2011); exposição crônica e sistêmica a níveis ligeiramente aumentados de LPS que culminam com um estado inflamatório subclínico, inibindo a sinalização de insulina (MOREIRA et al., 2012) e acúmulo de tecido adiposo em modelos de obesidade, que leva à produção de citocinas pró-inflamatórias pelos macrófagos ali infiltrados, que medeiam a resistência à insulina (BASTARD et al., 2006; HOTAMISLIGIL et al., 1996; WEISBERG et al., 2003).

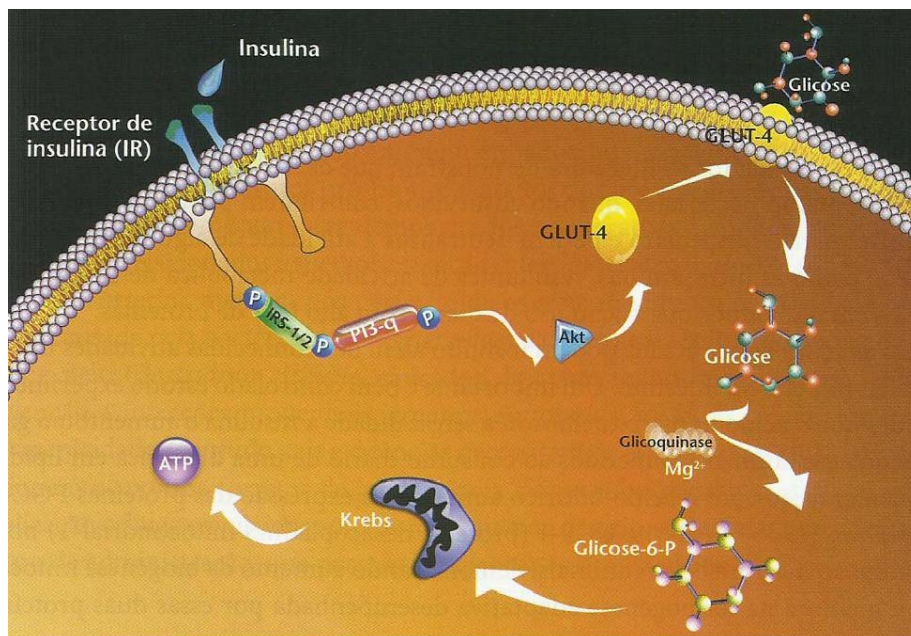


Figura 2 Sinalização para captação e metabolização de glicose. Sensibilização do receptor (IR) pela insulina e início da ativação da via de sinalização intracelular. O receptor de insulina ativo fosforila o substrato 1 e 2 do receptor de insulina (IRS-1/2) que, por sua vez, ativa a proteína fosfatidilinositol-3-quinase (PI3-q) e, consecutivamente, a Akt, que dá início à extrusão do transportador de glicose (GLUT 4) em tecidos como o músculo esquelético e adiposo. A glicose no meio intracelular é imediatamente fosforilada pela enzima glicoquinase, a fim de que não retorne para o meio externo à célula. Porém, a ação dessa enzima é totalmente dependente de íons Mg^{2+} , que atuam como cofatores para que a reação tenha continuidade e a glicose possa ser utilizada adequadamente

Fonte: CINTRA; ROPELLE; PAULI (2011)

Em âmbito celular, a resistência à insulina na obesidade induzida por dieta leva à menor fosforilação em sítios específicos (tirosina) e perturbação na expressão e ativação de proteínas (principalmente no músculo esquelético e fígado) de sinalização via rota substrato 1 de receptor de insulina (IRS-1) e fosfatidilinositol 3 quinase (PI3-q), as quais são proteínas-chave da via da insulina, acompanhada por redução no consumo e utilização de glicose (CINTRA; ROPELLE; PAULI, 2011; FATANI et al., 2012).

As vias inflamatórias na obesidade podem ser ativadas pela produção de citocinas como TNF- α por macrófagos infiltrados no tecido adiposo, bem como pelo aumento nos níveis de LPS. Tais citocinas causam ativação de outras proteínas intermediárias à via de sinalização da inflamação, a citar IKK β e JNK, as quais causam a fosforilação do IRS1 em serina, com efeito negativo na via de sinalização da insulina. Além disso, essas vias levam à produção de outros mediadores inflamatórios por meio do controle da transcrição genética de proteínas inflamatórias (TNF- α , IL-6 e IL-1 β) (BASTARD et al., 2006; CINTRA; ROPELLE; PAULI, 2011; HOTAMISLIGIL, 2003; WEISBERG et al., 2003).

Adicionalmente, um decréscimo dos níveis de transportador de glicose insulino-sensível (GLUT4) é uma característica de diabetes mellitus tipo 2 e resistência à insulina. A resistência à insulina resulta da sub-regulação de GLUT4 e transporte de glicose seletivamente no tecido adiposo (ABEL et al., 2001). Os reduzidos níveis de GLUT4 encontrados no diabetes mellitus tipo 2 parecem ser, em parte, devido à supressão da expressão de GLUT4 pelos ácidos graxos livres através de receptor ativado por proliferadores de peroxissomas γ (PPAR γ), um fator adipogênico que desencadeia diferenciação de adipócitos (ARMONI et al., 2005).

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

Todavia, a sensibilidade à insulina é restaurada por tratamentos que reduzem o acúmulo de lípidos intramusculares, tais como modificação no estilo de vida (baixo teor de gordura alimentar e exercícios) e terapia farmacológica (fenofibrato, um ativador do receptor ativado por proliferador de peroxissoma-

alfa), que melhoram o perfil lipídico e resistência à insulina (MONZILLO et al., 2003).

3.5 Probióticos

Probióticos são definidos como microrganismos com *status* de “geralmente considerados como seguros” (GRAS) que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem um benefício à saúde (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS AND WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2002). Os probióticos, especialmente lactobacilos e bifidobactérias, têm o crescimento estimulado por prebióticos (VAN LOO, 2004), sendo essas bactérias ácido lácticas as mais amplamente utilizadas.

A fim de que os probióticos sejam bem sucedidos, eles devem possuir certas características. Devem ser capazes de resistir à passagem através do trato gastrointestinal, ou seja, sobreviver à degradação pelo ambiente ácido do estômago e pela ação do ácido biliar; colonizar e se reproduzir no intestino; anexar e aderir ao epitélio intestinal; estabilizar o equilíbrio da microbiota intestinal e produzir metabólitos para a modulação da atividade metabólica. Além disso, cepas probióticas não devem apresentar variação genética, devem atuar na imunomodulação e ser seguras e eficazes em seres humanos, bem como permanecer viáveis durante a vida de prateleira do produto (GIBSON; FULLER, 2000; VANDERHOOF; YOUNG, 2008; VANDERHOOF; YOUNG, 2004).

Os probióticos são disponíveis como suplementos (comprimidos, cápsulas ou pós) e como produtos lácteos fermentados (iogurte e leite). E, para que ocorra a colonização intestinal pelos probióticos, estes devem ser ingeridos de forma regular, a fim de manter concentrações eficazes dos mesmos em âmbito intestinal (KAILASAPATHY, 2002; KLIGLER; COHRSSSEN, 2008; SUTTON, 2008; WILLIAMS, 2010).

Produtos probióticos podem conter um único microrganismo ou uma mistura de diversas espécies. Segundo Williams (2010), produtos que contenham mais do que um microrganismo probiótico são particularmente atraentes por duas razões: a colonização em alguns pacientes pode ocorrer com uma cepa e não com outra, e mistura de probióticos pode ser sinérgica em suprimir patógenos.

Entre os microrganismos probióticos, destacam-se as bactérias pertencentes aos gêneros *Bifidobacterium* e *Lactobacillus* e, em menor escala, as bactérias *Enterococcus faecium* e *Streptococcus thermophilus* e levedura *Saccharomyces boulardii*. Dentre as bactérias pertencentes ao gênero *Bifidobacterium*, destacam-se *B. bifidum*, *B. breve*, *B. infantis*, *B. adolescentis*, *B. lactis*, *B. longum* e *B.thermophilum*. Dentre as bactérias lácticas pertencentes ao gênero *Lactobacillus*, destacam-se *L. acidophilus*, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *L. helveticus*, *L. casei* - subsp. *paracasei* e subsp. *tolerans*, *L. paracasei*, *L. fermentum*, *L. reuteri*, *L. crispatus*, *L. johnsonii*, *L. plantarum*, *L. rhamnosus*, *L. salivarius* e *L. grasseri* (COLLINS; THORNTON; SULLIVAN, 1998; LEE et al., 1999; SANDERS; KLAENHAMMER, 2001; WILLIAMS, 2010).

Segundo Ferreira (2003), as espécies mais utilizadas em preparações probióticas são *Lactobacillus acidophilus*, *L. casei*, *L. rhamnosus*, *L.reuterii*, *Enterococcus faecium*, *Bifidobacterium adolescentis*, *B. breve*, *B. bifidum*, *B. infantis* e *B. longum*.

Todavia, entre os probióticos mais amplamente estudados em relação a vários efeitos benéficos sobre o intestino ou efeitos sistêmicos estão os *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium animalis*.

3.6 Probióticos em alimentos lácteos e doses de consumo para efeitos benéficos

Produtos semelhantes ao iogurte são considerados os melhores veículos alimentares para probióticos, pois suas características físico-químicas e funcionais contribuem para os efeitos benéficos de bactérias ácido-láticas presentes no leite fermentado, as quais os consumidores associam à saúde (VASILJEVIC; SHAH, 2008).

O iogurte é definido como um produto de leite coagulado que resulta da fermentação de leite por *S. thermophilus* e *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus*. A conversão de lactose em ácido láctico reduz o pH e, conseqüentemente, favorece a precipitação de proteínas do leite (ESPÍRITO SANTO et al., 2011).

Os iogurtes têm sido reformulados e culturas de microrganismos probióticos, como lactobacilos e bifidobactérias, utilizadas em produtos fermentados como potenciais promotores de saúde (PAPASTOYIANNIDIS et al., 2006). É predominante a presença de cepas de *L. acidophilus* e de *B. animalis* subsp. *lactis* nos produtos comerciais (LOURENS-HATTINGH; VILJOEN, 2001; TABASCO et al., 2007). Assim, surge o conceito de bioiogurte, que é aquele que contém microrganismos probióticos vivos que proporcionam o aumento dos efeitos benéficos à saúde do hospedeiro (LOURENS-HATTINGH; VILJOEN, 2001; SHAH, 2000).

Todavia, não é viável fermentar o leite utilizando apenas microrganismos probióticos devido ao maior tempo de fermentação requerido para reduzir o pH do leite para 4,6 e também ao sabor desagradável provocado por algumas linhagens de bactérias probióticas. Principalmente por esse motivo, os microrganismos da cultura tradicional de iogurte são empregados em combinação com as bactérias probióticas para reduzir o tempo de fermentação e melhorar o sabor, o corpo e a textura do produto final (DAVE; SHAH, 1997).

Além disso, de acordo com a legislação brasileira (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2008) sobre probióticos, os microrganismos *L.delbrueckii* subsp. *bulgaricus* e *S. salivarius* subsp. *thermophilus* não são incluídos como tal, tendo em vista que, além de serem espécies necessárias para a produção de iogurte, não têm efeito probiótico cientificamente comprovado.

A suplementação de produtos fermentados com bactérias probióticas se torna benéfica por proporcionar melhor utilização da lactose, reduzir a atividade anticarcinogênica e o controlar infecções intestinais. A utilização da lactose durante a fermentação torna o produto mais facilmente digerível por pessoas intolerantes a este carboidrato (MIGUEL; ROSSI, 2003).

Para receber a nomenclatura de “alimento probiótico”, os leites fermentados e iogurtes devem conter, no mínimo, 10^7 células viáveis por grama ou mL do produto. Valores menores podem ser aceitos, desde que a empresa comprove sua eficácia (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2008).

Entretanto, vários estudos têm chamado a atenção para o curto período de vida dos probióticos e para a contribuição dos prebióticos (oligofrutose, inulina, rafinose e estaquiose) no aumento da viabilidade dos microrganismos presentes no cólon (BOEVER; DEPLANCKE; VERSTRAETE, 2000; ESPÍRITO SANTO et al., 2011; LOSADA; OLLEROS, 2002).

Tipicamente, um probiótico deve conter vários bilhões de microrganismos para aumentar a probabilidade de colonização intestinal adequada (CREMONINI et al., 2002).

As bactérias probióticas só apresentam efeitos biológicos no ambiente intestinal se conseguirem atingir um número mínimo. Portanto, 100 g de produtos lácteos devem conter, pelo menos, 10^7 UFC g⁻¹ de bactérias probióticas viáveis no momento da compra do produto (RYBKA; FLEET, 1997;

VINDEROLA; RENHEIMER, 2000). Corroborando essas informações, Matsubara (2001) cita que produtos contendo microrganismos probióticos devem apresentar 10^9 UFC.g⁻¹, para que, pelo menos, cerca de 10^3 a 10^4 UFC alcancem o intestino. Charteris et al. (1998) concluíram que a sobrevivência das bactérias probióticas no produto alimentício deve alcançar 10^9 a 10^{10} UFC por 100 g ou 100 mL do produto, para que a quantidade intestinal atinja 10^6 a 10^7 UFC g⁻¹.

De acordo com as recomendações da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2008), a quantidade viável para os probióticos deve estar na faixa de 10^8 a 10^9 UFC na recomendação diária do produto pronto para o consumo, conforme indicação do fabricante.

Além disso, segundo Vasiljevic e Shah (2008), para assegurar os efeitos benéficos de probióticos, recomenda-se uma ingestão regular.

Entre os efeitos benéficos decorrentes do consumo de microrganismos probióticos, destacam-se a redução dos sintomas da má digestão da lactose, a prevenção de diarreias, a redução da incidência de tumores, a modulação do sistema imune, a redução dos níveis de colesterol total e LDL-c e o aumento de HDL-c (MANZONI; CAVALLINI; ROSSI, 2008).

Vários estudos têm demonstrado que a proliferação de determinadas bactérias mediante a fermentação de carboidratos digeríveis pode inibir a colonização do intestino por patógenos, exercendo efeito protetor frente a diversas alterações intestinais (agudas ou crônicas). A fermentação dos prebióticos por microrganismos probióticos pode promover algumas funções fisiológicas por meio da liberação de metabólitos pelas bactérias, em especial os ácidos graxos de cadeia curta (acetato, propionato, butirato) e lactato no lúmen intestinal (CUMMINGS; MACFARLANE; ENGLYST, 2001; RAO, 2001).

Os ácidos graxos de cadeia curta podem atuar direta ou indiretamente, mediante a modificação de pH, sobre as células intestinais e podem participar no controle de vários processos, como a proliferação da mucosa, a inflamação, a carcinogênese colorretal, a absorção de minerais e a eliminação de compostos nitrogenados (OLANO-MARTIN et al., 2000; WILLIAMS; JACKSON, 2002).

Em muitas situações, a administração de probióticos resulta em aumento na contagem fecal de bifidobactérias e lactobacilos, diminuição no pH fecal, declínio nas atividades enzimáticas bacterianas que são associadas com o desenvolvimento de câncer de cólon e, então, em efeitos benéficos em muitas doenças (BEZKOROVAINY, 2001; COLLADO et al., 2009; GAREAU; SHERMAN; WALKER, 2010).

Atualmente, várias cepas bem caracterizadas de lactobacilos e bifidobactérias estão disponíveis para utilização humana para reduzir o risco infecções gastrintestinais ou tratar tais infecções, bem como outros efeitos sistêmicos (SALMINEN; GUEIMONDE; ISOLAURI, 2005).

Alguns outros efeitos benéficos de probióticos já foram relatados e podem atuar sobre: metabolismo de lactose e digestão de alimentos, controle de diarreia associada a antibiótico, resposta imune e infecções parasitárias, constipação e úlceras, síntese de vitaminas do complexo B, normalização do colesterol, redução na pressão arterial, infecções do trato urinário e respiratório, atividade antioxidante, diabetes mellitus tipo 2, saúde oral e doenças cardíaco-coronarianas (KUMAR et al., 2009a; KUMAR et al., 2009b; KUMAR et al., 2010; KUMAR et al., 2011a; KUMAR et al., 2011b; NAGPAL et al., 2007, NAGPAL; KUMAR; ARORA, 2010; YADAV; JAIN; SINHA, 2007a; YADAV; JAIN; SINHA, 2007b; YADAV; JAIN; SINHA, 2008).

3.7 *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium animalis*

Ensaio clínicos têm sido desenvolvidos com a utilização de culturas de *Lactobacillus acidophilus* LA-5, isoladamente (HUANG; ZHENG, 2010; MACHADO et al., 2003; STSEPETOVA et al., 2011); com *Bifidobacterium animalis* Bb-12, isoladamente (ISHIZUKA et al., 2012; ISOLAURI et al., 2000; KIRJAVAINEN et al., 2002; VEIGA et al., 2010), bem como com a associação de ambas as bactérias *Lactobacillus acidophilus* LA-5 e *Bifidobacterium animalis* Bb-12 (LAAKE et al., 1999; LARSEN et al., 2006; MAROTTI et al., 2012; SAVARD et al., 2011).

Cepas probióticas selecionadas, em particular dos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*, mostraram atenuar a inflamação, a obesidade e as complicações metabólicas associadas através de vários mecanismos, incluindo a inibição da adesão de organismos patogênicos na mucosa intestinal, "estabilização" da comunidade microbiana e melhorias na integridade da mucosa e a função de barreira comprometida pela doença, por lesão ou estresse (AMAR et al., 2011; CANI et al., 2007b; EWASCHUK et al., 2007; GUARNER, 2007; MOREIRA et al., 2012).

Lactobacillus sp. são membros de bactérias produtoras de ácido láctico e filogeneticamente incluídos na divisão de *Firmicutes*. Todavia, o papel dos lactobacilos tem recebido muita atenção, especialmente devido às suas supostas propriedades promotoras de saúde (EWASCHUK et al., 2007).

Efeitos anti-inflamatórios dos probióticos *Lactobacillus casei* são negativamente associados com ativação de NF- κ B p50/p65, que é induzido por LPS por meio da ativação de TLR4 e positivamente associados com a ativação de receptor ativado por proliferadores de peroxissomas - PPAR γ (TIEN et al., 2006).

L. acidophilus, especificamente, são bactérias gram-positivas, catalase negativas, anaeróbias a microaerófilas, homofermentativas e possuem formato de bastonetes. São residentes naturais do intestino humano e de animais. Os *L. acidophilus* são fracos formadores de ácidos e, por esta razão, são especialmente utilizados em iogurtes suaves. Crescem em temperatura entre 20 a 48 °C, sendo a temperatura ótima de crescimento 37 °C (FRANCO; LANDGRAF; DESTRO, 2005). Os lactobacilos contribuem com o sabor e o aroma em alimentos fermentados, produzindo vários compostos voláteis, como o diacetil e seus derivados (SILVA; STAMFORD, 2000).

Por outro lado, as bifidobactérias são habitantes naturais do intestino humano e animal. Sua população é influenciada pela idade, dieta, antibióticos e estresse entre outros fatores. As bifidobactérias são bastonetes, gram-positivas, anaeróbias, possuem formato de Y e requerem nutrientes especiais, o que dificulta seu isolamento e crescimento em laboratórios. Todas as espécies de *bifidus* fermentam a lactose e crescem bem em leite. Sua temperatura de crescimento situa-se entre 20 °C a 46 °C e morrem a 60 °C. O pH ótimo é de 6,5 a 7,0 e não há crescimento em pH<5,1 ou pH>8,0 (ARUNACHALAM, 1999).

Em humanos, as bifidobactérias são consideradas benéficas por produzirem ácido láctico, acético e pequena quantidade de ácido fórmico, diminuindo o pH do cólon e inibindo a proliferação de patógenos (IBRAHIM; BEZKOROVAINY, 1994).

Bifidobacterium animalis subsp. *lactis* (Bb12), um dos mais utilizados microrganismos probióticos, é uma bactéria gram-positiva encontrada no intestino grosso da maioria dos mamíferos e são filogeneticamente incluídos na divisão de *Bacteroidetes*. Alguns benefícios para a saúde têm sido relatados para diferentes espécies de *Bifidobacterium*, incluindo a promoção de saúde gastrointestinal e aumento da imunidade (ALHAJ et al., 2010).

Muitos estudos sobre as relações entre gêneros bacterianos utilizados como probióticos como *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* e obesidade não mostram associação significativa ou produzem resultados contraditórios (NAKAMURA; OMAZE, 2012).

3.8 Efeitos de probióticos sobre obesidade e doenças correlacionadas

Na literatura científica há relatos de que a perda de peso está associada com alteração da microbiota intestinal e esta pode alterar o fenótipo da obesidade, e que baixos níveis de lactobacilos e bifidobactérias no intestino estão associados com o desenvolvimento de diabetes mellitus tipo 2 (ROESCH et al., 2009). Tem sido proposto que um tipo de bactéria possa induzir um fenótipo magro e prevenir o diabetes mellitus tipo 2. Portanto, esses conceitos têm sido extensivamente testados por meio da administração de suplementos de probióticos (WOLF; LORENZ, 2012).

Os probióticos são considerados os novos moduladores da microbiota intestinal e recentes estudos têm sugerido que cepas selecionadas de probióticos como lactobacilos e bifidobactérias apresentam efeitos benéficos sobre a prevenção e o tratamento da obesidade e diabetes mellitus do tipo 2 (ARONSSON et al., 2010).

Vários relatos demonstraram que a obesidade induzida após manipulações nutricionais (alto teor de gordura da alimentação) (CANI et al., 2007a; CANI et al., 2008) é caracterizada por alterações na microbiota intestinal no sentido de diminuição do número de bifidobactérias. É importante notar que este grupo de bactérias tem mostrado reduzir os níveis intestinais de LPS em ratos e melhorar a função de barreira da mucosa, fatores envolvidos no desenvolvimento da resposta inflamatória (RUAN et al., 2007; WANG et al., 2006).

Os efeitos de promoção de saúde de probióticos podem estar relacionados à ativação PPAR γ , pois, por meio de seus produtos, antagoniza bactérias intestinais pró-inflamatórias, bloqueando a ativação do sistema NF- κ B p50/p65 que é induzido por LPS derivados das bactérias gram-negativas e modulando a composição microbiana e o ambiente intestinal (NAKAMURA; OMAYE, 2012). De modo semelhante, a alteração da microbiota intestinal usando probióticos suprimiu significativamente a ativação do fator de sinalização nuclear κ B envolvido no desenvolvimento de resistência à insulina induzida por dieta rica em gordura (MA; HUA; LI, 2008).

Além disso, os probióticos parecem trabalhar para a redução do tamanho médio dos adipócitos, inibindo lipase lipoproteica e a melhora da sensibilidade à insulina (ARONSSON et al., 2010; LUOTO et al., 2010).

Yadav, Jain e Sinha (2007a) e Yadav, Jain e Sinha (2008) avaliaram os efeitos do consumo do produto de leite fermentado suplementado com probiótico chamado dahi (iogurte) contendo *Lactobacillus acidophilus* e *Lactobacillus casei* em modelos animais e observaram que o mesmo suprimiu drasticamente a resistência à insulina induzida por dieta e protegeu de diabetes induzido por estreptozotocina (YADAV; JAIN; SINHA, 2008).

O tratamento de ratos com próbiótico *Bifidobacterium* spp. foi correlacionado significativamente e positivamente com a melhora de marcadores da homeostase de glicose e normalização do grau inflamatório (CANI et al., 2007b). Os autores associaram tais efeitos com a modulação sobre a microbiota intestinal.

O consumo de probióticos da espécie *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* melhorou as alterações decorrentes da síndrome metabólica, uma vez que reduziu a inflamação tecidual e a endotoxemia (STOWELL; BERNARD, 2010). Em outros estudos tem sido mostrado que a administração de *Bifidobacterium*

spp. reduz os níveis intestinais de endotoxina e melhoram a função de barreira da mucosa (GRIFFITHS et al., 2004; WANG et al, 2006; WANG et al., 2004).

Uma mistura probiótica dos lactobacilos, bifidobactérias e *Streptococcus thermophilus* demonstrou diminuir a inflamação do fígado em camundongos geneticamente obesos (LI et al., 2003).

Andreasen et al. (2010) relataram que *L. acidophilus* diminuiu a resistência à insulina, porém, não alterou marcadores inflamatórios em humanos. Mais recentemente, alguns autores (AN et al., 2011; CHEN et al., 2011; KANG; YUN; PARK, 2010; NAITO et al., 2011; VAJRO et al., 2011) mostraram que a alimentação com cepas específicas de lactobacilos e bifidobactérias melhoram a progressão da obesidade e de diabetes mellitus tipo 2, sugerindo que a modulação probiótica mediada pela microbiota intestinal, pode ter um potencial terapêutico contra obesidade e diabetes mellitus tipo 2.

Alguns possíveis mecanismos de ação de probióticos estão ilustrados na Figura 3.

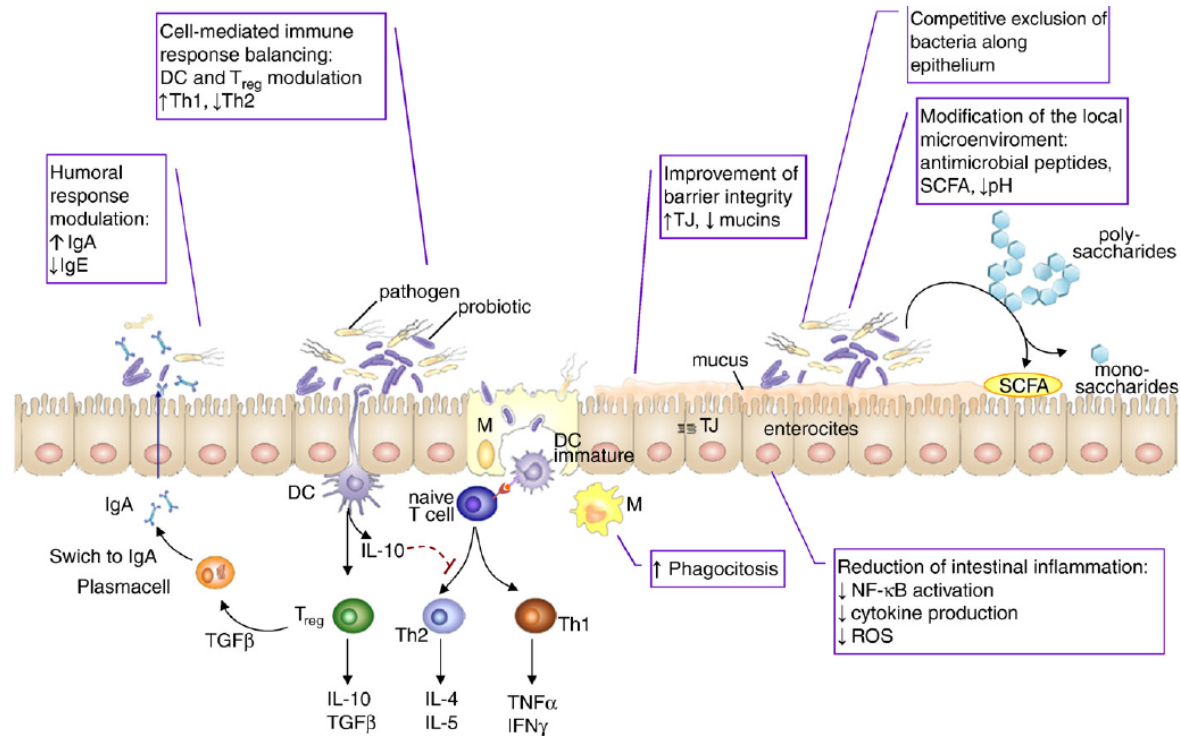


Figura 3 Mecanismos de ação dos probióticos. Mecanismos específicos: envolvimento dos probióticos nas respostas imune humoral e mediadas por células. Mecanismos inespecíficos: aumento da função de barreira epitelial, exclusão competitiva de bactérias no epitélio, modificação de microambiente local e redução da inflamação intestinal. Th: células auxiliares T; Ig: imunoglobulina; Treg: célula T regulatória; IL: interleucina; TGF; fator de crescimento transformante; TNF: factor de necrose tumoral; IFN: interferon; M: células M; DC: células dendríticas; TJ: junção tecidual; MO: macrófagos; SCFA: ácidos graxos de cadeia curta; NF-κB: fator nuclear-κB; ROS: espécies reativas de oxigênio. Fonte: IACONO et al. (2011)

Todavia, estudos têm mostrado que nem todas as bactérias pertencentes à mesma espécie ou grupo exercem o mesmo efeito. A contribuição relativa dos diferentes tipos de bactérias dentro do gênero *Bifidobacterium* spp. merecem investigações adicionais no campo da obesidade (BOESTEN; VOS, 2008; BOESTEN; SCHUREN; VOS, 2009; TURRONI et al., 2009).

Outras substâncias têm sido propostas como benéficas no controle de doenças relacionadas à obesidade, que incluem ácidos linoleicos conjugados (CLAs), que são produzidos a partir de ácidos graxos poli-insaturados por bactérias consideradas benéficas, tais como bifidobactérias (GORISSEN et al., 2010; WALL et al., 2009). Algumas espécies de lactobacilos também produzem quantidades significativas de CLA, o qual é um possível agonista de receptor ativado por proliferador de peroxissomos γ (PPAR γ) (BELURY, 2002) e tem mostrado propriedades promotoras de saúde, tais como efeitos antioxidantes, anti-inflamatórios, anticancerígenos, antiaterogênico e antiobesidade (BASSAGANYA-RIERA; HONTECILLAS, 2010; BOUGNOUX et al., 2010; EWASCHUK et al., 2007; KENNEDY et al., 2010; NAKAMURA; FLINTOFF-DYE; OMAYE, 2008; NAKAMURA; OMAYE, 2009).

Em relação aos efeitos antiobesogênicos do CLA, Kennedy et al. (2010) concluíram que são devido a: 1) redução do consumo de energia com supressão do apetite; 2) indução de gasto de energia no tecido adiposo branco, músculos e tecido hepático; 3) redução da lipogênese ou adipogênese; 4) indução da lipólise e 5) indução de apoptose dos adipócitos.

Atualmente, poucos dados demonstram claramente a maneira como os lactobacilos podem neutralizar a adiposidade. Mudanças na expressão de genes que codificam proteínas que controlam o armazenamento de gordura (fator semelhante à angiopoietina-4) e são conhecidas por responder à microbiota intestinal têm sido propostas (ARONSSON et al., 2010; DELZENNE; CANI, 2011).

Alguns estudos evidenciaram redução dos níveis de colesterol total, LDL-c e triacilgliceróis em animais, ao administrar alimentos probióticos contendo microrganismos como *Lactobacillus acidophilus* (PARK et al., 2007; PARK et al., 2008). Além disso, constataram redução nos níveis de triacilgliceróis plasmáticos em humanos que receberam tratamento com *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium animalis* (KLEIN et al., 2008). Em estudo realizado por Gopal, Shah e Roginski (1996) foi mostrada a redução de colesterol plasmático por *Bifidobacterium* spp e *L. acidophilus*.

Os mecanismos pelos quais os probióticos afetam as concentrações de colesterol permanecem em estudo. Algumas hipóteses têm sido propostas, as quais incluem: assimilação do colesterol pelas bactérias, incorporação do colesterol à parede celular das células bacterianas, desconjugação enzimática dos sais biliares e alteração do metabolismo lipídico pela atuação dos ácidos graxos de cadeia curta que leva à redução da biossíntese de colesterol (PEREIRA; GIBSON, 2002a; STROMPFOVÁ et al., 2006; ZHAO; YANG, 2005).

3.9 Prebióticos e seus efeitos benéficos

Prebiótico é um ingrediente seletivamente fermentado que permite que as alterações específicas, tanto na composição e/ou atividade na microbiota gastrointestinal, confiram vantagens de saúde e bem-estar ao hospedeiro (GIBSON et al., 1994), uma vez que favorece o crescimento de microrganismos probióticos.

Fibra alimentar e oligossacarídeos não digeríveis são os principais substratos de crescimento de microrganismos intestinais. A fermentação desses componentes é realizada por bactérias anaeróbicas do cólon, levando à produção de gases e ácido lático que resulta na acidificação dos conteúdos do cólon, além da formação de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), que estimulam a

proliferação de células epiteliais do cólon e podem também atuar em diferentes tecidos, desempenhando papel na regulação de processos celulares (BIBAS-BONET et al., 2010).

Dentre as substâncias com função prebiótica, podem-se citar frutanos, galactoligossacarídeos, amido resistente e beta-glucanos (ROBERFROID et al., 2007).

Entretanto, frutanos tipo inulina, especialmente frutoligossacarídeos, e galactoligossacarídeos (GOS) são os compostos mais extensivamente testados em ensaios humanos e que tiveram seus efeitos prebióticos confirmados pela capacidade de modificar a composição da microbiota intestinal após um curto período de alimentação com doses razoavelmente baixas (BOUHNİK et al., 2004; BOUHNİK et al., 2007; PRETER et al., 2008; DEPEINT et al., 2008; GIBSON; ROBERFROID, 2008; GUIGOZ et al., 2002; KLEESSEN et al., 2007).

Nas últimas décadas, os efeitos de fibras solúveis como oligossacarídeos não digeríveis foram relatados e incluem a capacidade de diminuir quadros de constipação, reduzir concentrações plasmáticas de colesterol e triacilgliceróis (DAVIDSON; MAKI, 1999; PEREIRA; GIBSON, 2002b; WILLIAMS; JACKSON, 2002), modular o metabolismo de glicose (HABIB et al., 2011; LUO et al., 1996), estimular o sistema imune, aumentar a absorção mineral e desempenhar efeito antimutagênico (BOUHNİK et al., 1996; KAUR; GUPTA, 2002; LOBO et al., 2011; MOURA et al., 2012; TEITELBAUM; WALKER, 2002).

3.10 Efeitos prebióticos e obesidade associada à inflamação

Obesidade e resistência à insulina estão associadas a uma inflamação de baixo grau (CANI; DELZENNE, 2009) e, como já se sabe, a microbiota intestinal participa deste processo.

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

A administração de prebiótico (oligofrutose) resulta em aumento nas bactérias intestinais gram-positivas, incluindo bifidobactérias, e diminuição no LPS plasmático induzido por dieta rica em gordura e doenças inflamatórias, por meio da avaliação de marcadores inflamatórios (CANI et al., 2006; CANI et al., 2007a; CANI et al., 2007b).

Em relação aos possíveis mecanismos de ação dos ingredientes prebióticos, dados obtidos em ratos obesos *ob/ob* mostraram que eles aumentam a produção de um peptídeo intestinal secretado por células endócrinas do cólon, ou seja, o GLP-2, o qual desempenha papel sobre o próprio tecido intestinal, restaurando a expressão das proteínas de junção tecidual, e, assim, diminuem a permeabilidade intestinal, endotoxemia e desordens metabólicas associadas (CANI et al., 2009a), o qual é modulado pela microbiota intestinal (MUCCIOLI et al., 2010).

A secreção de outros peptídeos intestinais também faz parte dos efeitos dos carboidratos fermentáveis com propriedades prébióticas sobre a obesidade e

doenças correlacionadas, podendo ocorrer aumento na produção e na secreção de peptídeos anorexígenos, peptídeos semelhante ao glucagon 1 (GLP-1) e peptídeo YY (PYY), e redução do peptídeo anorexígeno grelina. Esses efeitos associados à melhora da função de barreira intestinal por ação do GLP-2 e consequente redução dos níveis de LPS plasmático proporcionaria melhora da tolerância à glicose e redução do processo inflamatório (CANI et al., 2009a).

Corroborando estes dados, Everard et al. (2011) observaram que o tratamento com prebiótico do tipo oligofrutose em camundongos obesos por indução com dieta rica em gordura melhora a distribuição de *zonula occludens* (ZO-1) e *occludin*, proteínas relacionadas à função de barreira intestinal, bem como a redução de RNAm de marcador inflamatório interleucina 1 (IL-1). Ademais, neste mesmo estudo, constataram melhora na tolerância à glicose, aumento no número de células-L e níveis plasmáticos de peptídeo semelhantes aos de glucagon-1 (GLP-1), bem como redução no desenvolvimento de gordura corporal, estresse oxidativo e inflamação de baixo grau.

Em alguns experimentos mostrou-se que o mecanismo de liberação de peptídeos intestinais poderia ser diretamente dependente da produção de AGCC após fermentação pela microbiota intestinal. Os autores propuseram que o acetato pode desempenhar papel crucial neste mecanismo. A modulação de AGCCs plasmáticos relacionou-se com alterações nos peptídeos intestinais que regulam o apetite, bem como com a redução de marcadores inflamatórios em indivíduos resistentes à insulina (FREELAND; WILSON; WOLEVER, 2010; FREELAND; WOLEVER, 2010).

Ademais, os dados recentes sugerem que o butirato é capaz de melhorar a sensibilidade à insulina e o dispêndio de energia nos roedores, apoiando, assim, a hipótese de que, além das alterações na composição da microbiota intestinal, o padrão de fermentação pode também ser importante (GAO et al., 2009).

3.11 Efeitos prebióticos e regulação da ingestão de alimentos, massa de gordura e peso corporal

Numerosos dados têm descrito o efeito da ingestão de prebióticos (frutoligossacarídeos), principalmente com concentrações que variam entre 5% e 10% na alimentação, sobre a evolução do peso corporal e a massa gorda em modelos animais (CANI et al., 2007a; CANI; DELZENNE, 2009; JUSKIEWICZ et al., 2006; REIMER; RUSSELL, 2008; ZDUNCZYK; JUSKIEWICZ; ESTRELLA, 2006).

A diminuição da massa de gordura, por vezes, ocorre sem efeito significativo sobre o peso do corpo e tem sido observada em todos os tipos de tecido adiposo branco (periepídídimo, visceral e ou subcutâneo). Em numerosos estudos de modelos de roedores, essa diminuição da massa gorda após alimentação com ingredientes que apresentam efeito prebiótico foi associado com redução de ingestão de alimentos/energia (ROBERFROID et al., 2007).

Todavia, a redução na ingestão de alimentos/energia não é observada quando os prebióticos frutanos tipo inulina (ITF) são substituídos por fibra dietética não fermentável (celulose microcristalina), o que sugere que a fermentação de frutanos no cólon desempenha um papel na modulação da ingestão de alimentos (CANI; DELZENNE, 2009; DAUBIOUL et al., 2002).

A diminuição do consumo de alimentos relacionada ao tratamento com prebióticos em animais pode ser ligada à modulação de peptídeos gastrintestinais envolvidos na regulação da ingestão de alimentos, os quais são produzidos pelas células L endócrinas do trato gastrintestinal, e a expressão de genes proglucagon nestas células que leva à secreção de diferentes peptídeos, tais como GLP-1, GLP-2, grelina e oxintomodulina, envolvidos na regulação da ingestão de alimentos e consumo de energia (HABIB et al., 2011).

Em humanos saudáveis, a alimentação com 16 g por dia de ITF de cadeia curta promove saciedade após almoço e jantar. Isto é acompanhado por uma redução de 10% no consumo de energia (CANI et al., 2006b).

Diversos dados obtidos em ratos e camundongos mostram que ITF de baixo grau de polimerização reduz a ingestão de alimentos, o ganho de peso corporal e o desenvolvimento da massa gorda. Estas características estão associadas a um significativo aumento dos níveis plasmáticos de peptídeos anorexígenos GLP-1 e PYY. Alguns dados também indicam um decréscimo no nível sérico de grelina orexígena em função da alimentação prebiótica (CANI; DEWEVER; DELZENNET, 2004; CANI et al., 2009b; REIMER; RUSSELL, 2008).

No entanto, Hess et al. (2011) realizaram um estudo sobre o efeito do consumo de doses aceitáveis de FOS de cadeia curta, sendo, no máximo, 16 g por dia, em relação às respostas de saciedade em humanos saudáveis e não constataram diferenças nos padrões de saciedade e fome, embora a concentração de hidrogênio da respiração, marcador de fermentação, tenha sido proporcional às doses de FOS de cadeia curta fornecidas.

3.12 Efeitos de prebióticos sobre a homeostase glicêmica

Frutanos tipo inulina melhoram a homeostase de glicose em ratos ou camundongos em várias condições nutricionais, e genéticas. Essa resposta glicêmica pode ser explicada pelo aumento da secreção de insulina ou sensibilidade à insulina, dependendo do modelo utilizado (CANI et al., 2006a; ROBERFROID et al., 2007).

Em ratos diabéticos induzidos por estreptozotocina, a alimentação com prebióticos melhora a tolerância à glicose e eleva a insulina plasmática. O tratamento com ITF permite uma restauração parcial da massa de células β e

insulina pancreática, além de aumento nos níveis de GLP-1 (CANI et al., 2005a), que tem demonstrado aumentar a diferenciação de células β . Resultados semelhantes foram obtidos por Habib et al. (2011), quando trataram ratos diabéticos com farinha de yacon, fornecendo 340 e 6.800 mg de FOS por kg de peso corporal. A menor dose foi ainda mais efetiva em relação ao aumento nos níveis de GLP-1, o qual pode ser responsável pelo aumento na massa de células β e insulina pancreática.

Além disso, pode-se acrescentar a contribuição da diminuição do grau de inflamação por consumo de prebióticos, os quais elevam o número de bifidobactérias e lactobacilos no intestino (POMPEI et al., 2008). Esse aumento se correlaciona positivamente com a redução do processo inflamatório por diminuição nos níveis de citocinas e, conseqüentemente, melhora de marcadores da homeostase de glicose (BASTARD et al., 2006; CANI et al., 2007b; MOREIRA et al., 2012).

Adicionalmente, a alta fermentabilidade de fibras prebióticas pela microbiota intestinal causa acidificação do íleo, ceco e cólon, favorecendo a dissociação de minerais como cálcio e magnésio das fibras alimentares, os quais poderiam estar a elas agregados, favorecendo a absorção destes por difusão passiva. O aumento da biodisponibilidade do Ca^{2+} e Mg^{2+} poderia ocorrer também pela transferência desses minerais do intestino delgado para o grosso, juntamente com o efeito osmótico dos FOS, o que resultaria na transferência de água para o intestino grosso, permitindo, assim, que se tornem mais solúveis. Além das inúmeras funções vitais desempenhadas pelo Ca^{2+} e Mg^{2+} , em especial em obesos e diabéticos, estudos têm demonstrado aumento da capacidade secretória de insulina pelas ilhotas pancreáticas, além de maior sensibilidade à insulina, tanto em humanos como em animais portadores de diabetes mellitus tipo 2. Da mesma forma, o Mg^{2+} contribui para a metabolização adequada da glicose para atuar como cofator de diversas enzimas envolvidas nesse processo,

a exemplo das enzimas hexoquinase e glicoquinase na fase preparatória da glicólise, além de outras envolvidas nessa via (CINTRA; ROPELLE; PAULI, 2011).

3.13 Efeitos de prebióticos sobre os níveis lipidêmicos

Ingredientes que apresentam efeito prebiótico são capazes de modular o metabolismo de lípidos hepáticos em roedores, resultando em alterações no acúmulo de triacilgliceróis no fígado (esteatose) ou lipídeos plasmáticos (DELZENNE; CANI, 2008).

As fibras prebióticas são solúveis e fermentáveis pela microbiota intestinal e estas características se relacionam ao tradicional mecanismo proposto, pelo qual a fibra solúvel age, formando emulsão estável do tipo gel e complexando gordura alimentar, o que impede a hidrólise de gordura pela lipase pancreática (ARTISS et al., 2006).

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

De acordo com Levrat et al. (1994), a relação entre o metabolismo de colesterol e as fibras prebióticas deve-se à fermentabilidade destas últimas e sua capacidade de modulação da microbiota intestinal. Os ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) são relacionados ao metabolismo do colesterol e as fibras prebióticas aumentam os AGCC no ceco, expondo o fígado a elevadas concentrações de ácido propiônico e deprimindo respostas colesterolêmicas. *In vitro*, em hepatócitos de ratos, o propionato inibe competitivamente o acetato,

atenuando os seus efeitos sobre a via colesterogênica (DELZENNE; WILLIAMS, 2002).

A adição de oligofrutose e inulina na dieta está associada ao aumento de bifidobactérias e lactobacilos (POMPEI et al., 2008). *In vitro*, cepas de *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium bifidum* demonstram melhora da desconjugação de ácido biliar e colesterol, assim, aumentando a precipitação destes, o que leva à menor absorção (KLAVER; VAN DER MEER, 1993).

Geralmente, a acidificação do conteúdo cecal torna os ácidos biliares e colesterol insolúveis (LEVRAT et al., 1994; REMESY et al., 1993). Portanto, menos bile seria reabsorvida no intestino, as concentrações séricas diminuiriam e menos ácido biliar atingiria o fígado através da circulação entero-hepática. O fígado compensaria com o aumento da produção de bile a partir de uma maior captação de colesterol, reduzindo seus níveis séricos (RODAS; GILLILAND; MAXWELL, 1996; PEREIRA; GIBSON, 2002b).

Redução nos níveis de triacilgliceridemia foram observados após administração de frutanos para ratos alimentados com dieta rica em lipídeos, contudo, os frutanos não evitaram o acúmulo hepático de triacilgliceróis e lipogênese (KOK; TAPER; DELZENNE, 1998). Em contraposição, em ratos obesos *Zucker*, a suplementação dietética de ITF diminuiu a esteatose hepática, sem efeito sobre a triacilgliceridemia pós-prandial, quando adicionados à dieta padrão (DAUBIOUL et al., 2000). Este efeito pode ser, principalmente, por menor disponibilidade de ácidos graxos livres provenientes do tecido adiposo, uma vez que a massa de gordura corporal e o peso foram reduzidos pelo tratamento.

Em cães obesos, o tratamento por seis semanas com frutanos de cadeia curta foi capaz de aumentar a expressão da proteína desacopladora 2 e carnitina palmitoiltransferase 2 no tecido adiposo, sugerindo, assim, maior oxidação de

substrato no adipócito, que ocorreu sem qualquer alteração significativa da triacilgliceridemia (RESPONDEK et al., 2008).

A diminuição da síntese de TAG em função do consumo de compostos prebióticos dietéticos pode estar ligada a alguns eventos, tais como: diminuição na glicemia, uma vez que a glicose (em conjunto com a insulina) está envolvida na lipogênese e regulação do metabolismo lipídico por ação dos AGCC produzidos pelo processo de fermentação (ROBERFROID et al., 2007).

A elevada proporção de propionato produzido no ceco, que chega ao fígado através da veia portal, é, pelo menos em animais, um evento chave para explicar a menor síntese hepática de TAG (DELZENNE et al., 2002). O AGCC acetato, quando fornecido na dieta de ratos diabéticos, com uma dose de 0,5% durante 8 semanas, ativa AMPkinase no fígado, um fenômeno que está relacionado com a inibição da lipogênese *de novo* (SAKAKIBARA et al., 2006).

O efeito da suplementação de ITF na lipogênese também foi demonstrado em humanos, tendo a capacidade da síntese hepática de TAG sido reduzida por esses ingredientes prebióticos (DIRAISON; MOULIN; BEYLOT, 2003).

3.14 Frutanos

Frutanos incluem inulina e frutoligossacarídeos. O grau de polimerização pode influenciar algumas propriedades desses produtos, como a digestibilidade, a atividade prebiótica, o valor calórico, o poder adoçante, a capacidade de ligação de água, etc. (LÓPEZ-MOLINA et al., 2005; VAN DE WIELE et al., 2007).

Os frutanos são carboidratos de reserva, que contêm até 70 unidades de frutose ligadas ou não a uma molécula de sacarose terminal, podem ter uma

estrutura linear ou ramificada, mantidas juntas por ligações frutossil-frutose (PEDRESCHI et al., 2003; ROBERFROID; DELZENNE, 1998).

A inulina e os frutoligossacarídeos (FOS) são dois exemplos de frutanos do tipo inulina, os quais são polímeros lineares de D-frutose, ligados por uma ligação glicosídica β (2-1), muitas vezes com uma porção de glicose terminal que está ligada por uma ligação glicosídica β (1-2), tal como na sacarose.

O grau de polimerização (DP) de oligofrutose (FOS) varia entre 2 e 10, enquanto a inulina pode ser de 60 ou mais. As ligações β (2-1) destes frutanos impedem a sua digestão na parte superior do trato gastrointestinal humano e são responsáveis pelo seu valor calórico reduzido e efeitos semelhantes ao de fibras dietéticas. Quando eles chegam no cólon, esses frutanos são seletivamente metabolizados por bifidobactérias, produzindo β -frutofuranosidases que hidrolisam esses componentes.

A alta especificidade dos FOS como substratos para bifidobactérias resulta da atividade das enzimas β -frutosidases (inulinases) associadas a células específicas, as quais hidrolisam monômeros de frutose da extremidade não redutora da cadeia de inulina ou de determinados açúcares em que o resíduo de frutose ocorre na posição β (2-1). Essas hidrolases são produzidas por alguns bolores e leveduras e só esporadicamente por bactérias (BIEDRZYCKA; BIELECKA, 2004).

Frutanos tipo inulina são amplamente distribuídos em algumas plantas comestíveis, incluindo alho, espargos, chicória, alho-poró, cebola, trigo, banana, aveia, soja, alcachofra-de-jerusalém e alcachofra, como carboidratos de armazenamento (KAUR; GUPTA, 2002; ROBERFROID et al., 2007).

Frutanos tipo inulina (inulina e frutoligossacarídeos) são considerados "ingredientes funcionais", pois o consumo regular dentro de uma dieta equilibrada tem sido correlacionada com a melhoria da qualidade de vida por meio de performances fisiológicas, psicológicas e comportamentais

(ROBERFROID, 2007). Possuem efeito prebiótico, estimulando o crescimento e/ou atividade específicos de um número limitado de bactérias benéficas do cólon do hospedeiro, assim como a inibição do crescimento de agentes patogênicos e microrganismos prejudiciais (ROBERFROID, 2007). A combinação de prebióticos e probióticos deu origem aos chamados "simbióticos", prometendo propriedades saudáveis (BURITI et al., 2007; POOL-ZOBEL; SAUER, 2007).

Os FOS são considerados como prebióticos e, especificamente, os efeitos prebióticos de FOS de yacon foram demonstrados *in vitro*, mostrando que são fermentados seletivamente por bifidobactérias e lactobacilos (PEDRESCHI et al., 2003). Segundo Fooks, Fuller e Gibson (1999), bifidobactérias fermentam seletivamente os frutanos, preferencialmente a outras fontes de carboidratos, como o amido, a pectina ou a polidextrose.

Quando carboidratos não digeríveis são fermentados no cólon humano, ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), principalmente ácido acético, propiônico e butírico) e gases (CO₂, CH₄ e H₂) são formados.

Devido aos relatos já existentes na literatura, alimentos que sejam fontes de ITF podem ser utilizados para a extração destes componentes bioativos para serem acrescidos em produtos alimentícios, tais como cereais, produtos de confeitaria, biscoitos, alimentos infantis, iogurtes, pães, molhos e bebidas, entre outros (ROBERFROID et al., 2007).

Estima-se que, no meio-oeste da Holanda, o consumo diário de FOS seja entre 2 a 12 g por dia *per capita* (HARTEMINK; VANLAERE; ROMBOUTS, 1997). No Japão, o consumo diário estimado é de 13,7 mg. kg⁻¹ de peso corporal por dia (SPIEGEL et al., 1994). Todavia, a aprovação de FOS no Japão estabeleceu como consumo diário máximo aceitável cerca de 0,8 g kg⁻¹ de peso corporal por dia. Neste país, encontra-se o maior mercado de FOS, com um volume comercializado de mais de 400 toneladas, em 1990, de acordo com Yun

(1996), mostrando que os oligossacarídeos são um dos produtos mais populares como alimentos funcionais neste país.

3.15 Yacon (*Smallanthus sonchifolius*)

Inicialmente, o yacon foi classificado, por Poeppig & Endlicher, como *Polymnia sonchifolia*. Contudo, em 1978, H. Robinson reestabeleceu e o incorporou ao gênero *Smallanthus*, consagrando seu nome botânico *Smallanthus sonchifolius*, espécie da família Asteraceae (VALENTOVÁ; ULRICHOVÁ, 2003).

Smallanthus sonchifolius, yacon, originário da América do Sul, tornou-se mundialmente popular pelo fato de seus tubérculos conterem beta-1, 2-oligofrutanos como os sacarídeos principais (BIBAS-BONET et al., 2010).

O cultivo de yacon foi expandido para vários países, como Nova Zelândia, Japão, Coreia, México, Estados Unidos, Rússia, Estônia, Taiwan e Brasil, nas últimas décadas, e a produção, na região andina e em outros países, tem aumentado, devido às propriedades medicinais de ambas as supostas raízes e folhas (CAMPOS et al., 2012; FERNÁNDEZ et al., 2006).

Algumas das vantagens do cultivo de yacon para os produtores e o meio ambiente foram apontadas por Grau e Rea (1997). Segundo os autores, o yacon apresenta alta produtividade, é adaptável a uma extensa gama de climas e solos, permite controle da erosão, apresenta potencial uso como forrageira (tanto as partes subterrâneas quanto as aéreas), é passível de extensa variedade de processamentos alternativos e apresenta boa durabilidade pós-colheita se armazenado adequadamente. O rendimento por tonelada no campo é também muito superior ao de fontes convencionais de FOS atualmente utilizadas (OJANSIVU; FERREIRA; SALMINEN, 2011).

A maturidade fisiológica da planta é alcançada entre 6 e 10 meses após o plantio, quando as flores começam a desabrochar, e este fator depende da zona onde a planta é cultivada. Em altitudes mais baixas, a maturidade é adiantada (SANTANA; CARDOSO, 2008).

Tem sido demonstrado em estudos que o melhor período para a colheita de yacon em regiões tropicais é entre a semana 31 e a 35 após o cultivo, em relação à concentração de frutanos e sua proporção em relação a mono e a dissacarídeos (OLIVEIRA; NISHIMOTO, 2004). As plantas de yacon apresentam elevada atividade hidrolítica na fase de maturação das raízes tuberosas, contribuindo para a predominância de frutoligossacarídeos de baixo grau de polimerização ($DP < 10$) em vez de frutanos fermentáveis a longo prazo ($DP > 10$) (ITAYA; CARVALHO; FIGUEIREDO-RIBEIRO, 2002; LOBO et al., 2007).

Sua composição tem como principais substâncias água e carboidratos, os quais são armazenados, principalmente, sob forma de frutoligossacarídeos (FOS), sendo estes em cerca de 40% a 70% do peso seco, e existem também de 15% a 40% de açúcares simples, como sacarose, glicose e frutose (MANRIQUE; HERMANN; BERNET, 2004). O percentual de água das raízes situa-se em torno de 83% a 90% do peso fresco. Devido ao alto conteúdo de água, o valor energético da raiz é baixo (LACHMAN et al., 2004).

Diferentemente da maioria de tubérculos e raízes que armazenam carboidratos na forma de amido, o yacon armazena, essencialmente, frutoligossacarídeos (FOS), açúcares que não podem ser digeridos diretamente pelo organismo humano devido à ausência de enzimas necessárias para o metabolismo destes elementos e são considerados compostos bioativos na alimentação humana (ALFARO; VIDAL, 2005).

Suas raízes tuberosas são consumidas frescas ou cozidas, na forma de sucos e também desidratadas na forma de farinhas e têm sido consideradas um

alimento funcional, devido às grandes quantidades de frutanos (isto é, a inulina e, principalmente, frutoligossacarídeos) (VALENTOVÁ et al., 2006). Estes oligossacarídeos são conhecidos como sendo não tóxicos, não digeríveis e doces (NARAI-KANAYAMA; TOKITA; ASO, 2007).

No Japão e no Brasil existem muitos produtos de yacon processados, como, por exemplo, fatias das túberas secas ao ar, farinha de yacon e xarope de yacon (HERMANN; FREIRE; PAZOS, 1999; VALENTOVÁ et al., 2006).

Os efeitos prebióticos de farinha de yacon, de estimular o crescimento das bifidobactérias e lactobacilos, foram verificados por Bibas-Bonet et al. (2010), uma vez que modificaram o perfil da microbiota intestinal, elevando a concentração desses tipos de microrganismos. Esses FOS de baixo grau de polimerização são, preferencialmente, fermentados por bactérias probióticas, especialmente *Bifidobacterium animalis* (VAN DER MEULEN, AVONTS; VUYST, 2004; PEDRESCHI et al., 2003).

Ao contrário de outras fontes de FOS, o yacon é muito rico nestes componentes e uma dose eficaz é assegurada pelo consumo de apenas uma quantidade moderada de raíz, além de ser muito palatável, pois apresenta sabor adocicado, assemelhando-se a uma combinação de maçã e melancia (HERBAL GUIDES, 2010). Dessa forma, torna-se uma interessante fonte alimentar para ingestão de quantidades importantes de FOS na dieta diária.

O yacon tem despertado grande interesse em relação ao seu efeito antidiabético, pois, possivelmente, pode modular a concentração plasmática de insulina e inibir a gliconeogênese hepática (GENTA et al., 2009; HABIB et al., 2011). Portanto, esta raíz é interessante para ser utilizada por diabéticos e servir como importante ferramenta para controle de peso, pois pode ser utilizada como adoçante com valor calórico relativamente baixo.

Além disso, yacon e seu suco apresentam baixo e médio índice glicêmico (TRINIDAD et al., 2010), respectivamente, o que torna essa raíz uma

fonte alimentar alternativa para balanço do índice glicêmico de dietas. Esse fato também foi observado quando farinha da polpa de yacon foi administrada em diferentes concentrações em estudo com ratos, apresentando redução do IG das dietas, proporcional à adição da farinha da polpa de yacon (RIBEIRO, 2008).

O efeito prebiótico de FOS de yacon foi testado *in vivo*, em porcos, quando fornecida dieta rica em FOS (11,9% de farinha de yacon com 42% de FOS), que promoveu o crescimento de lactobacilos e bifidobactérias, resultando em níveis elevados de ácidos graxos de cadeia curta no material cecal e melhoria da densidade das células e formação de criptas no tecido cecal, sendo indicativo de benefícios para a saúde do cólon (CAMPOS et al., 2012).

3.16 Substâncias bioativas com atividade antioxidante no yacon e possíveis efeitos sobre inflamação e homeostase glicêmica

As plantas são excelentes fontes de substâncias bioativas, incluindo antioxidantes, que agem como captadores de radicais livres ou agentes quelantes de metais. Estes compostos são capazes de prevenir os efeitos prejudiciais do estresse oxidativo (BIANCHI; ANTUNES, 1999; TOUNSI et al., 2011). Os compostos fenólicos encontram-se entre as substâncias bioativas com função antioxidante e, no yacon, são encontrados, principalmente, na forma de taninos, ácidos fenólicos e alguns flavonoides (ARNAO et al., 2011; JÁUREGUI et al., 2007; VALENTOVÁ et al., 2006).

Em adição ao efeito prebiótico do yacon, há relatos de seu efeito antioxidante (CAMPOS et al., 2012; CASTRO et al., 2012; TAKENAKA, 2003; YAN et al., 1999), capaz de evitar efeitos deletérios do estresse oxidativo.

O yacon tem considerável conteúdo de fenólicos totais (JARUÉGUI et al., 2007; LACHMAN et al., 2005; LACHMAN et al., 2007). Alguns autores têm confirmado a presença de compostos fenólicos (SIMONOVSKA et al.,

2003), como ácido clorogênico, ácido ferúlico e ácido cafeico, tanto nas folhas como nas raízes tuberosas de yacon. Takenaka (2003) identificou cinco derivados do ácido cafeico em raízes de yacon.

Os compostos fenólicos dietéticos encontrados em cereais têm mostrado modular a atividade do fator nuclear kappa B (NF- κ B) (GUO et al., 2008; HOLE et al., 2009; HOLE et al., 2012; SUR et al., 2008), que é um fator de transcrição envolvido na regulação de genes pró-inflamatórios e desempenha papel crucial no controle de processo de imunidade inata, apoptose, proliferação e sobrevivência celular. O aumento da ativação deste fator tem sido notado em cânceres e doenças inflamatórias crônicas em humanos (BHARTI; AGGARWAL, 2002; ESCARCEGA et al., 2007).

Além disso, é conhecido que os níveis elevados de radicais livres e uma diminuição nos mecanismos de defesa antioxidante podem levar ao desenvolvimento de resistência à insulina e a complicações do diabetes mellitus tipo 2 (MARITIM; SANDERS; WATKINS, 2003). Portanto, estes compostos antioxidantes podem contribuir, pelo menos em parte, para a melhoria da resistência à insulina.

Por outro lado, Everard et al. (2011) observaram que o tratamento de camundongos obesos por indução de dieta rica em gordura com prebiótico do tipo oligofrutose reduziu o estresse oxidativo, com redução de cerca de 50% do teor de peróxido lipídico no tecido adiposo. A inflamação de baixo grau também foi diminuída pelo tratamento com o prebiótico. Esses dados suportam a ligação entre o estresse oxidativo e os distúrbios metabólicos decorrentes da obesidade.

Diante destes fatos, estudos podem ser realizados para avaliar o efeito do consumo de yacon, fonte de compostos fenólicos e frutanos, sobre a resistência à insulina e a inflamação consequentes da obesidade.

4 MATERIAL E MÉTODOS

As análises químicas, microbiológicas e o ensaio *in vivo* foram realizados no Departamento de Ciência dos Alimentos da Universidade Federal de Lavras (UFLA), em Lavras, MG. As análises moleculares foram conduzidas no Laboratório de Sinalização Celular da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas (Unicamp), em Campinas, SP.

4.1 Yacon

As raízes de yacon (*Smallanthus sonchifolius*) foram adquiridas nas Centrais de Abastecimento de Minas Gerais S.A. (CEASA), em Contagem, MG. As raízes foram armazenadas, a -20 °C, até o momento de uso.

4.1.1 Obtenção da farinha de yacon

A elaboração da farinha da polpa de yacon foi realizada segundo metodologia proposta por Ribeiro (2008), com adaptações.

Inicialmente, as raízes foram lavadas e escovadas em água corrente, sendo posteriormente colocadas em solução de hipoclorito de sódio 100 mg. L⁻¹. Em seguida, foram descascadas e novamente imersas em solução de hipoclorito de sódio 50 mg.L⁻¹, para controle de contaminação microbiológica. Então, foram cortadas em lâminas de 1 mm e submetidas à secagem em estufa com ventilação forçada, a 55 °C, por 48 horas.

As polpas secas foram trituradas em aparelho multiprocessador até a obtenção de produto com característica de farinha, a qual foi acondicionada em embalagens de polietileno a vácuo e armazenada, a -20 °C, até o momento das análises químicas e a elaboração das rações experimentais. Todavia, amostras

foram retiradas antes do congelamento para a realização de análises microbiológicas, no intuito de confirmar a ausência de microrganismos que pudessem prejudicar a qualidade da farinha de yacon para o estudo *in vivo*. Foram conduzidas análises de vida útil do produto, nas quais houve contagem de coliformes totais, fungos e leveduras, *Staphilococcus aureus* e *Bacillus cereus*.

4.1.2 Rendimento da farinha de yacon

Para o cálculo de rendimento da farinha elaborada com raízes de yacon, estas foram separadas, selecionadas e pesadas e, em seguida, submetidas à desidratação. Após a obtenção da farinha, ela foi pesada e, então, calculado o percentual de rendimento.

4.1.3 Composição centesimal da farinha de yacon

A composição centesimal da farinha de yacon foi realizada conforme metodologia proposta pela Association of Official Analytical Chemists (1990).

A umidade foi determinada pelo método gravimétrico com emprego de calor, que se baseia na perda de peso do material quando submetido ao aquecimento (105 °C) até peso constante.

Para a obtenção do extrato etéreo foi utilizado o método de Soxhlet (gravimétrico), baseado na perda de peso do material submetido à extração com éter, ou na quantidade de material solubilizado pelo solvente.

A proteína bruta foi determinada pelo método de Kjeldahl, por meio da determinação do nitrogênio do alimento, multiplicando-se pelo fator 6,25.

O resíduo mineral fixo (cinzas) foi determinado submetendo-se as amostras ao aquecimento, a 550 °C.

A análise de fibra alimentar total (FAT), solúvel (FAS) e insolúvel (FAI) foi realizada seguindo-se as técnicas propostas pela Association of Official Analytical Chemists (2000), que se baseiam nas análises enzimático-gravimétricas e utilizando-se o kit *Dietary fiber total*, marca Sigma®.

O teor de frutanos foi determinado por método enzimático-colorimétrico, em que a extração da amostra é feita com água quente (85 °C, por 10 minutos, pH 6,5-8,0) e a amostra é tratada com sacarase e maltase. Outra parte do hidrolisado é tratada com frutanasase e os açúcares resultantes em cada uma das hidrólises foram medidos com o complexo hexoquinase/fosfo-glicose-isomerase/glicose-6-fosfato-desidrogenase (Figura 5). O conteúdo de frutanos se calcula por diferença entre ambas as determinações (MCCLEARY; MURPHY; MUGFORD, 2004).

O extrato não nitrogenado (ENN) foi determinado por diferença dos valores encontrados para umidade, extrato etéreo, proteínas, cinzas e fibras, em 100 g do produto.

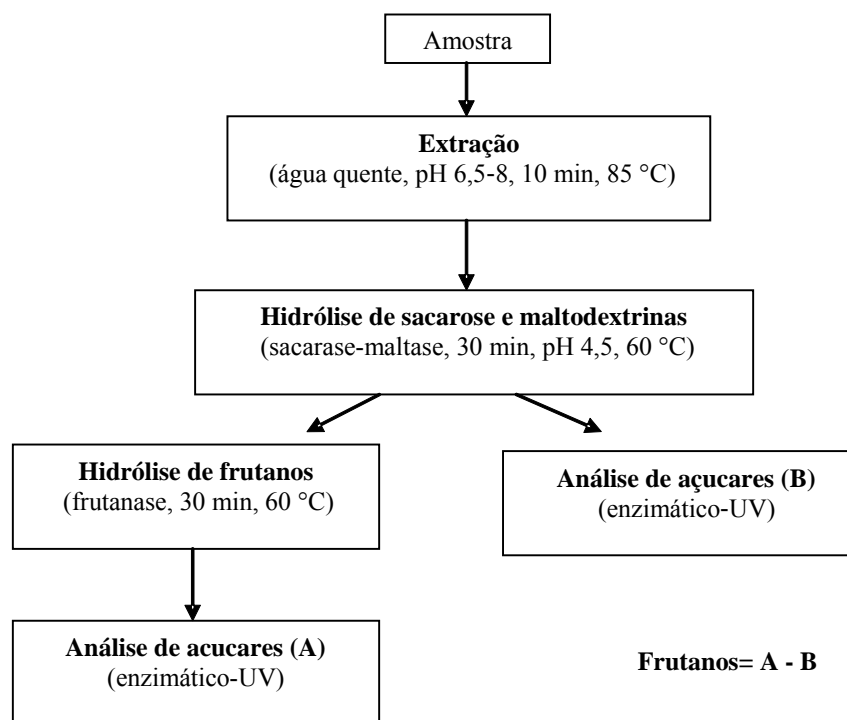


Figura 4 Método enzimático-colorimétrico para determinação de frutanos

4.1.4 Determinação de fenólicos totais e atividade antioxidante da farinha de yacon

Fenólicos totais

O conteúdo total de fenólicos no extrato hidrofílico foi determinado segundo o método proposto por Waterhouse (2002), utilizando-se o reagente Folin-Ciocalteu. Resumidamente, 0,5 mL de extrato das amostras foram adicionados a tubos contendo 2,5 mL de reagente Folin-Ciocalteu 10% (v/v). Então, adicionaram-se 2 mL de solução de carbonato de sódio a 4% (v/v). Os tubos foram agitados e incubados, por 120 minutos, no escuro. A cor azul

produzida pela redução do reagente de Folin-Ciocalteu pelos fenólicos foi espectrometricamente mensurada a 750 nm.

O conteúdo de fenólicos da amostra foi calculado considerando-se como padrão o ácido gálico. Os resultados foram expressos em mg de equivalente de ácido gálico por 100 g de amostra (mg GAE. 100 g⁻¹ de farinha de yacon).

Atividade antioxidante total

Para a determinação da atividade antioxidante total da farinha de yacon foram utilizados os métodos de captura do radical DPPH e de captura do radical ABTS. Foram preparados, para tanto, extratos das amostras, utilizando-se 3 g da amostra e adição de 40 mL de álcool metílico a 50%. A mistura foi homogeneizada e incubada, por 1 hora, à temperatura ambiente. Após este período, a mistura foi centrifugada, a 23.723 g, por 17 minutos. O sobrenadante foi coletado e 40 mL de acetona a 70% foram adicionados ao resíduo.

A amostra foi, então, incubada, por 1 hora, seguindo-se de centrifugação, a 23.713 g, por 17 minutos. O sobrenadante foi coletado e adicionado ao primeiro sobrenadante e água destilada foi adicionada à mistura, para completar um volume final de 100 mL.

A mensuração de atividade antioxidante total pelo método de captura do radical DPPH foi conduzida de acordo com a metodologia proposta por Rufino et al. (2007a), com adaptações. Extratos das amostras (0,1 mL) ou antioxidantes padrão (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid, Trolox; 0.1 mL) foram adicionados em uma concentração de 0,2 mg. mL⁻¹ para 3,9 mL de solução de DPPH. Após 30 minutos, foi realizada leitura, a 515 nm, em espectrofotômetro e os resultados foram expressos como uma porcentagem de captura de radical livre (%FRS), de acordo com a equação seguinte: % FRS = (Ac - Am) * 100/Ac, em que Ac é a absorbância do controle (0,1 mL de uma solução contendo metanol 50% e acetona 70% + 3,9 mL de solução DPPH) e

Am é a absorbância da amostra. Para determinar AAT pelo método de captura do radical ABTS, os procedimentos propostos por Rufino et al. (2007b) foram adaptados. Extratos (30 µL) foram adicionados a 3 mL do radical ABTS e leitura, a 734 nm, foi realizada após 6 minutos, utilizando-se espectrofotômetro. Os resultados foram expressos como µM trolox. g⁻¹ de amostra. Todas as análises químicas foram realizadas em quadruplicata.

4.2 Iogurtes probióticos

As culturas de microrganismos probióticos foram ativadas para elaboração de iogurtes probióticos, os quais foram analisados em relação à viabilidade dos microrganismos probióticos e composição centesimal.

4.2.1 Ativação das culturas e preparo de soluções probióticas

Foram utilizadas culturas comerciais liofilizadas de *Lactobacillus acidophilus* (LA-5) e *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* (Bb-12) (Chr. Hansen, Dinamarca).

As culturas liofilizadas foram, separadamente, diluídas em 1 L de leite de vaca semidesnatado do tipo UHT.

Para a ativação das culturas probióticas e a determinação da quantidade de solução probiótica ativada que deveria ser adicionada aos iogurtes para se atingir contagens na ordem de 10⁹ UFC. mL⁻¹ de iogurte, foram realizados vários pré-testes.

A ativação da cultura de *Lactobacillus acidophilus* (LA-5) foi realizada acrescentando-se 5 mL desta cultura diluída em 50 mL (10%) de solução de 12% de leite de vaca em pó semidesnatado em água esterilizada e incubou-se, a 37 °C, por 24 horas. Após este período, a solução probiótica já estava pronta para ser adicionada aos iogurtes.

Já a cultura de *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* (Bb-12) foi acrescida na proporção de 6 mL para 50 mL (12%) de solução de 12% de leite de vaca em pó semidesnatado em água esterilizada e incubada, a 37 °C, por 24 horas. Após este período, foram coletados 10 mL da solução fermentada e adicionaram-se a 100 mL de solução de 12% de leite de vaca em pó semidesnatado. Incubou-se, novamente, a 37 °C, por 24 horas. Repetiu-se este procedimento mais uma vez, até que se completassem 72 horas de ativação, para que a solução final pudesse ser acrescida aos iogurtes.

4.2.2 Elaboração dos iogurtes probióticos

O iogurte preparado foi do tipo “batido”, utilizando-se leite de vaca integral e cultura láctica mista (starter) de *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. O leite foi submetido a tratamento térmico de, aproximadamente, 83 °C, por 15 minutos, para provocar uma concentração parcial. Posteriormente, foi resfriado, até cerca de 40 °C e, então, foi inoculada a cultura “starter”, na proporção de 1:1 de *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. Depois, incubou-se até 0,65% de acidez titulável (cerca de 4 horas). Após esta etapa, o produto foi resfriado e seguiu-se com a quebra da massa. Então, incubaram-se *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* como culturas probióticas, tentando-se estabelecer uma concentração final na ordem de 10^9 UFC. g⁻¹ de produto, de acordo com o proposto por Ferreira (2003).

A proporção de solução probiótica de *Lactobacillus acidophilus* foi de 25 mL para 500 mL de iogurte (5%) e a de solução probiótica de *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* adicionada ao iogurte foi de 50 mL para 500 mL de iogurte (10%). Tais proporções foram adotadas após a realização de

pré-testes, com o objetivo de se obter contagem final de 10^9 UFC. mL⁻¹ de iogurte probiótico.

4.2.3 Viabilidade dos microrganismos probióticos presentes nos iogurtes

A determinação da população de *Lactobacillus acidophilus* foi avaliada utilizando-se ágar MRS com 10% de maltose, seguida de incubação em anaerobiose, a 37 °C, por 72 horas. Para a contagem de *Bifidobacterium*, utilizaram-se ágar MRS-LP com cloreto de lítio a 0,2% e propionato de sódio a 0,3%, seguidos de incubação em anaerobiose, a 37 °C, por 72 horas (VINDEROLA; REINHEIMER, 1999).

Para a avaliação da estabilidade microbiológica durante o armazenamento, as amostras de iogurte foram submetidas à avaliação do número de bactérias lácticas (probióticas) presentes nos produtos, após 0, 7, 14 e 21 dias da sua fermentação. Depois da fermentação, as amostras foram acondicionadas em geladeira, a 4 °C, até os respectivos dias para a avaliação da viabilidade celular (VINDEROLA; REINHEIMER, 1999). Ambas as determinações foram realizadas por plaqueamento em profundidade.

4.2.4 Determinação da composição centesimal dos iogurtes probióticos

A determinação da composição centesimal foi idêntica à metodologia utilizada para determinação da composição centesimal da farinha de yacon (ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS, 1990).

4.3 Ensaio *in vivo*

O ensaio *in vivo* foi realizado no Laboratório de Nutrição Experimental, no Departamento de Ciência dos Alimentos da UFLA e foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Lavras, sob o protocolo nº 012/12.

Inicialmente, 48 camundongos *swiss*, machos, em fase de crescimento, com idade inicial de 5 semanas e peso inicial médio de 29,7 g, foram submetidos à dieta indutora de obesidade, utilizando-se dieta rica em gordura saturada durante 8 semanas (56 dias). Esta dieta consistiu de dieta padrão da AIN93-G (REEVES; NIELSEN; FAHEEY, 1993), com modificações, sendo acrescida de gordura animal em detrimento do amido, segundo metodologia utilizada por Cintra et al. (2008). A composição das dietas dos animais durante a fase de indução de obesidade é apresentada na Tabela 1.

Após esse período, os animais foram pesados e os 42 com maior peso (variação total de 42,3 g a 63,1 g) foram distribuídos nos diferentes grupos, de modo que não houvesse variação na média de peso entre os grupos de animais que sofreram indução de obesidade. A média de peso obtida para os animais dos diferentes grupos foi de $49,3 \pm 0,39$ g, ao início dos tratamentos.

Portanto, foram estabelecidos sete grupos de camundongos obesos e um grupo como controle não obeso, sendo seis animais por grupo.

Tabela 1 Composição das dietas dos animais experimentais (g/kg), durante a fase de indução de obesidade

Ingredientes	Não obesos	Obesos
	AIN93-G	AIN93-G rica em gordura saturada
	g/kg	
Amido de milho	427,492	115,492
Caseína	200,000	200,000
Dextrina	132,000	132,000
Sacarose	100,000	100,000
Óleo de soja	40,000	40,000
Gordura animal	0,000	312,000
Celulose	50,000	50,000
Pré-mix mineral	35,000	35,000
Pré-mix vitamínico	10,000	10,000
L-Cistina	3,000	3,000
Bitartarato de colina	2,500	2,500
Terbutilhidroquinona	0,008	0,008
Total (g)	1.000,0	1.000,0
kcal	3.802,8	5.358,0

Durante o experimento, os animais foram mantidos individualmente em gaiolas de polipropileno e sob temperatura ambiente controlada de 23 ± 2 °C e ciclo claro-escuro de 12 horas.

O estudo foi conduzido num período total de 86 dias, sendo 56 dias de indução de obesidade e 30 dias de tratamento com as dietas teste.

Ao início dos tratamentos, os animais já se encontravam na fase adulta e receberam água *ad libitum* e dietas modificadas a partir do padrão elaborado por Reeves, Nielsen e Faheey (1993) do *American Institute of Nutrition* (AIN) para a fase de manutenção (AIN93-M). Os grupos de animais experimentais foram divididos e tratados da seguinte forma: **CT - controle não obeso** - dieta padrão com modificações (AIN93-M); **HF - controle obeso**- dieta AIN-M com alto teor de gordura saturada; **L**: dieta AIN93-M com alto teor de gordura saturada e iogurte probiótico com *Lactobacillus acidophilus* por gavagem; **B**: dieta AIN93-

M com alto teor de gordura saturada e iogurte probiótico com *Bifidobacterium animalis* por gavagem; **L+B**: dieta AIN93-M com alto teor de gordura saturada e iogurte probiótico com *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium animalis* por gavagem; **L+Y**: dieta AIN93-M com alto teor de gordura saturada acrescida de farinha de yacon e iogurte probiótico com *Lactobacillus acidophilus* por gavagem; **B+Y**: dieta AIN93-M com alto teor de gordura saturada acrescida de farinha de yacon e iogurte probiótico com *Bifidobacterium animalis* por gavagem; **L+B+Y**: dieta AIN93-M com alto teor de gordura saturada acrescida de farinha de yacon e iogurte probiótico com *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium animalis* por gavagem.

As etapas envolvidas no ensaio *in vivo* podem ser observadas na Figura 6.

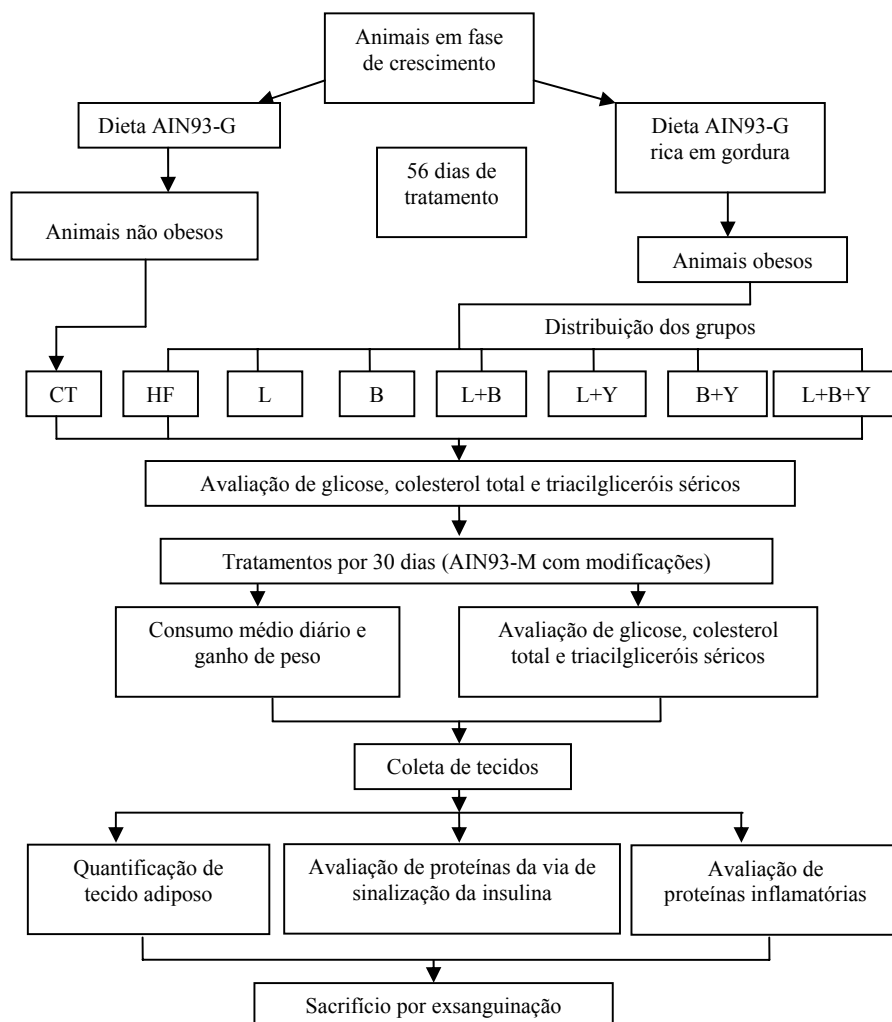


Figura 5 Etapas do ensaio *in vivo* **Legenda:** CT - controle não obeso; HF - controle obeso; L - AIN93-M com alto teor de gordura saturada acrescida de iogurte probiótico (*Lactobacillus acidophilus*); B - AIN93-M com alto teor de gordura saturada acrescida de iogurte probiótico (*Bifidobacterium animalis*); L+B - AIN93-M com alto teor de gordura saturada acrescida de iogurte probiótico (*Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium animalis*); L+Y - AIN93-M com alto teor de gordura saturada acrescida de farinha de yacon e iogurte probiótico (*Lactobacillus acidophilus*); B+Y - AIN93-M com alto teor de gordura saturada acrescida de farinha de yacon e iogurte probiótico (*Bifidobacterium animalis*); L+B+Y - AIN93-M com alto teor de gordura saturada acrescida de farinha de yacon e iogurte probiótico (*Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium animalis*)

A ingestão dos iogurtes probióticos foi realizada por meio de gavagem, sendo os animais imobilizados manualmente. A administração dos iogurtes ocorreu uma vez ao dia, sendo a dose/animal/via oral de 0,1g, quantidade proporcional a uma dose de 120g de iogurte para um homem adulto pesando 60 kg. A dose de iogurte probiótico deve conter microrganismos probióticos na ordem de 10^9 UFC. g^{-1} de produto (MATSUBARA, 2001). A gavagem foi realizada utilizando-se sonda de gavagem para camundongos, em aço inoxidável. Os grupos controle não obeso (CT) e controle obeso (HF) receberam leite de vaca integral UHT por gavagem no mesmo volume que os iogurtes.

A farinha de yacon foi adicionada à dieta sólida e a quantidade foi estabelecida de acordo com a concentração de frutanos presentes na farinha, utilizando-se a dose de frutanos de 340 mg. kg^{-1} por dia por animal, a qual equivale a uma dose de 44 g de farinha de yacon por dia, para um homem adulto pesando 60 kg. Essa quantidade foi determinada baseando-se no estudo de Habib et al. (2011), além do fato de representar uma quantia de ingestão de farinha de yacon diária praticável para humanos. A farinha de yacon foi adicionada à dieta em detrimento ao conteúdo de fibra (celulose) da dieta padrão.

A composição das dietas experimentais da fase de tratamento é apresentada na Tabela 2.

Tabela 2 Composição das dietas baseadas na dieta AIN93-M, segundo Reeves, Nielsen e Faheey (1993), com modificações nas frações fibra e lipídica, utilizadas na etapa de tratamento dos animais experimentais

Ingredientes	CT	HF	L	B	L+B	L+Y	B+Y	L+B+Y
	g/kg da dieta							
Amido de milho	465,692	153,692	153,692	153,692	153,692	153,692	153,692	153,692
Caseína	140,000	140,000	140,000	140,000	140,000	140,000	140,000	140,000
Dextrina	155,000	155,000	155,000	155,000	155,000	155,000	155,000	155,000
Sacarose	100,000	100,000	100,000	100,000	100,000	100,000	100,000	100,000
Óleo de soja	40,000	40,000	40,000	40,000	40,000	40,000	40,000	40,000
Gordura animal	-	312,000	312,000	312,000	312,000	312,000	312,000	312,000
Celulose	50,000	50,000	50,000	50,000	50,000	43,800	43,800	43,800
Farinha de yacon	-	-	-	-	-	6,200	6,200	6,200
Pré-mix mineral	35,000	35,000	35,000	35,000	35,000	35,000	35,000	35,000
Pré-mix vitamínico	10,000	10,000	10,000	10,000	10,000	10,000	10,000	10,000
L-Cistina	1,800	1,800	1,800	1,800	1,800	1,800	1,800	1,800
Bitartarato colina	2,500	2,500	2,500	2,500	2,500	2,500	2,500	2,500
TBH*	0,008	0,008	0,008	0,008	0,008	0,008	0,008	0,008
Dieta q.s.p.**								

*terbutilhidroquinona

Legenda: **CT** - controle não obeso; **HF** - controle obeso; **L** - AIN93-M com alto teor de gordura saturada acrescida de iogurte probiótico (*Lactobacillus acidophilus*); **B** - AIN93-M com alto teor de gordura saturada acrescida de iogurte probiótico (*Bifidobacterium animalis*); **L+B** - AIN93-M com alto teor de gordura saturada acrescida de iogurte probiótico (*Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium animalis*); **L+Y** - AIN93-M com alto teor de gordura saturada acrescida de farinha de yacon e iogurte probiótico (*Lactobacillus acidophilus*); **B+Y** - AIN93-M com alto teor de gordura saturada acrescida de farinha de yacon e iogurte probiótico (*Bifidobacterium animalis*); **L+B+Y** - AIN93-M com alto teor de gordura saturada acrescida de farinha de yacon e iogurte probiótico (*Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium animalis*)

O total de dieta necessário para a condução do experimento foi calculado e preparado previamente ao ensaio, sendo conservado em embalagens de polietileno, sob congelamento (-15 °C), até o dia anterior ao consumo, quando era transferido para refrigeração (5 °C) e seis horas antes do fornecimento era transferido para a temperatura ambiente.

4.3.1 Controle de ingestão alimentar e evolução ponderal

O consumo de ração foi mensurado a cada seis dias e o desenvolvimento ponderal dos animais, em intervalos de cinco dias.

4.3.2 Análise da glicemia de jejum, colesterol total e triacilgliceróis séricos

Ao início dos tratamentos, após a distribuição em gaiolas individuais, os animais foram mantidos em jejum de 12 horas, para a realização de análises da glicemia capilar de jejum, colesterol total e triacilgliceróis séricos, via punção sanguínea na cauda dos animais, utilizando-se aparelhos Accutrend[®] Plus e fitas para análise dos respectivos parâmetros. No 28^o dia de tratamento, os animais foram submetidos novamente a um jejum de 12 horas, para posterior avaliação da glicemia de jejum, colesterol total e triacilgliceróis séricos.

4.3.3 Excreção fecal de lipídeos

As fezes dos diferentes grupos foram coletadas separadamente, no 30^o dia de tratamento (final), para análise de conteúdo lipídico, utilizando-se o método de Soxhlet (gravimétrico), que se baseia na perda de peso do material submetido à extração com éter, ou na quantidade de material solubilizado pelo solvente, conforme Association of Official Analytical Chemists (1990).

4.3.4 Coleta de amostras e sacrifício dos animais

Ao término do experimento (30º dia de tratamento), os animais foram submetidos a jejum por 12 horas e, em seguida, foram anestesiados com mistura de ketamina/xylazina (50/10 mg. kg⁻¹ de peso), injetada intraperitonealmente. Posteriormente, foi realizada uma abertura torácica e abdominal para a coleta de amostras por excisão de porções do fígado, tecido adiposo periepídidimário, intestino delgado (íleo). Portanto, os animais foram sacrificados por exsanguinação. As amostras de tecidos foram utilizadas imediatamente.

Esse experimento com animais foi conduzido segundo os Princípios Éticos na Experimentação Animal (Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008).

4.3.5 Tecido adiposo periepídidimário

O tecido adiposo periepídidimário foi removido imediatamente após o sacrifício e pesado para verificar o acúmulo de gordura nos animais e este foi expresso em g de tecido adiposo por 100g de peso corporal (AN et al., 2011).

4.3.6 Investigação de proteínas inflamatórias características de obesidade e proteínas envolvidas na via de sinalização da insulina

Foi realizado *western blotting* utilizando-se amostras do fígado para mensurar os níveis de expressão da proteína sinalizadora do processo inflamatório, característico de casos de obesidade (citocinas pró-inflamatórias), sendo avaliada interleucina 1 beta (IL-1 β). As amostras de tecido hepático também foram utilizadas para quantificar a expressão de proteínas envolvidas na via de sinalização da insulina, a citar receptor de insulina (IR) e substrato 1 de receptor de insulina (IRS1).

Imunoprecipitação

Fragmentos do fígado foram homogeneizados em tampão de imunoprecipitação contendo 1% de Triton X 100, 100 mM de Tris (pH 7,4), 100 mM de pirofosfato de sódio, 100 mM de fluoreto de sódio, 10 mM de EDTA, 10 mM de vanadato de sódio, 2 mM de PMSF e 0,1 mg/mL de aprotinina, a 4 °C. O homogeneizado foi, então, centrifugado, a 18.590 g, por 20 minutos. No sobrenadante foi determinada a concentração de proteína, utilizando-se o método de Bradford e, posteriormente, foi realizada a imunoprecipitação com anticorpo específico. Após incubação, os imunocomplexos foram recuperados com Proteína A Sepharose 6 MB, por 2 horas, a 4 °C e decantados por centrifugação, por 20 minutos, a 4 °C/18.590 g. O precipitado foi lavado três vezes, em intervalos de 5 minutos, com tampão de lavagem (2 mM ortovanadato de sódio, 100 mM Tris-HCl; 1 mM RDTA; 0,5% Triton X-100). O sobrenadante foi descartado, restando apenas as proteínas precipitadas (imunocomplexos).

Imunoblot

Os imunocomplexos foram ressuspensos em tampão de Laemmli, contendo 100 mmol/L de DTT. Após rápida fervura, foram aplicados em gel de poliacrilamida para separação por eletroforese (SDS-PAGE). As proteínas separadas em SDS-PAGE foram transferidas para membrana de nitrocelulose em aparelho de transferência da BIO-RAD. A membrana de nitrocelulose foi incubada “overnight” com anticorpo específico. A ligação do anticorpo a proteínas não-específicas foi minimizada pela pré-incubação da membrana de nitrocelulose com tampão de bloqueio (5% de leite em pó desnatado; 10 mmol/L de Tris; 150 mmol/L de NaCl; 0,02% de Tween 20), por 1h30min. O sinal foi detectado por tratamento com 2 mL do reagente quimioluminescente da PIERCE, com posterior exposição da membrana a filmes radiográficos

sensíveis RX Kodak, por 10 minutos, e revelados de forma convencional. As bandas identificadas na autoradiografia foram quantificadas por meio de densitometria óptica. Por meio desses métodos foi avaliada a expressão de citocinas pró-inflamatórias e proteínas participantes da via de sinalização de insulina.

4.4 Análises estatísticas

As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se os *softwares* Sisvar 5.0 (FERREIRA, 2011) e R (R FOUNDATION FOR STATISTICAL COMPUTING, 2012).

4.4.1 Composição química dos iogurtes probióticos

Utilizou-se delineamento inteiramente casualizado (DIC) simples, com quatro repetições. Os resultados foram expressos com a média e desvio padrão. Realizou-se análise de variância seguida de teste de Tukey, a 5% de significância.

4.4.2 Estudo *in vivo*

Utilizaram-se DIC, análise de variância, análise de contrastes ortogonais, ajustes de modelos de regressão e teste de Tukey, a 5% de significância.

Consumo médio diário

Utilizou-se fatorial 8 x 5, sendo 8 tratamentos e 5 tempos (1 avaliação a cada 6 dias durante 30 dias) com 6 repetições. Realizaram-se análise de contrastes ortogonais e ajustes de modelos de regressão.

Evolução ponderal

Utilizou-se fatorial 8 x 6, sendo 8 tratamentos e 6 tempos (uma avaliação a cada 5 dias, durante 30 dias) com 6 repetições. Realizaram-se análise de contrastes ortogonais e ajustes de modelos de regressão.

Glicemia de jejum e lipídeos séricos

Utilizou-se fatorial 8 x 2, sendo 8 tratamentos e 2 tempos (antes e após tratamentos) com 6 repetições. Realizaram-se análise de contrastes ortogonais e teste de Tukey.

Lipídeos fecais e tecido adiposo periepídidimário

Utilizaram-se três repetições e realizou-se análise de contrastes ortogonais.

Western blotting

Para quantificar as bandas específicas nos blots apresentados, foi utilizado o programa de densitometria UN-SAN-IT[®]. Realizou-se teste de Tukey.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Rendimento da farinha de yacon

A farinha de yacon elaborada apresentou rendimento médio de $7,2 \pm 1,31\%$, valor semelhante ao obtido por Ribeiro (2008), para farinha da polpa de yacon (7,94%).

5.2 Composição centesimal e frutanos da farinha de yacon

A composição centesimal da farinha de yacon e o conteúdo de fibra alimentar (solúvel e insolúvel) estão demonstrados na Tabela 3.

Tabela 3 Composição centesimal e de fibra alimentar solúvel e insolúvel (%) da farinha de yacon

Componentes	Teor (%)
Composição centesimal	
Umidade	11,2 \pm 0,9
Lipídeos	0,6 \pm 0,1
Proteína	4,5 \pm 0,3
Fibra alimentar total	58,6 \pm 2,6
Cinzas	3,4 \pm 0,1
ENN*	21,7 \pm 2,3
Fibra alimentar total	
FAI	9,5 \pm 0,6
FAS	49,1 \pm 1,1
FAS não frutanos	3,1 \pm 0,8
Frutanos	46,0 \pm 2,0

Legenda: * ENN = extrato não nitrogenado; FAI = fibra alimentar insolúvel; FAS = fibra alimentar solúvel

A farinha de yacon se destacou pelo alto teor de fibra alimentar, a qual inclui as frações insolúvel, solúvel e frutanos, totalizando 58,7%. Todavia, apresentou baixo nível de lipídeos e razoável de cinzas e proteínas.

As raízes de yacon contêm entre 10% e 14% de matéria seca, sendo esta composta por, aproximadamente, 90% de carboidratos (MANRIQUE; PÁRRAGA, 2005) e a composição dos açúcares varia de forma significativa em função de fatores como a cultivar, a época de cultivo e a colheita, o tempo e a temperatura na pós-colheita (SEMINARIO; VALDERRAMA, 2003).

Em relação aos carboidratos do yacon, entre os açúcares encontrados estão os monossacarídeos frutose e glicose, e os oligossacarídeos sacarose e frutoligossacarídeos, além de traços de amido e inulina (SANTANA; CARDOSO, 2008). De acordo com Manrique e Párraga (2005), mesmo que a proporção de cada açúcar possa variar, pode-se considerar a seguinte composição em base seca: 40% a 70% de FOS, 5% a 15% de sacarose, 5% a 15% de frutose e menos de 5% de glicose. Por outro lado, o conteúdo de proteínas, lipídeos, vitaminas e minerais das raízes é bastante baixo (SEMINARIO; VALDERRAMA, 2003).

5.3 Fenólicos totais e atividade antioxidante da farinha de yacon

Os valores médios das concentrações de fenólicos totais em matéria integral e a atividade antioxidante da farinha de yacon pelos métodos de captura dos radicais DPPH e ABTS estão apresentados na Tabela 4.

O teor de fenólicos totais encontrado na farinha da polpa, no presente estudo, foi cerca de duas vezes maior que o encontrado por Simonovska et al. (2003) (5.700 mg GAE. kg⁻¹), ao avaliar raízes de yacon secas e por Lachman et al. (2007) (6.200 mg GAE. kg⁻¹), em matéria seca de raízes de yacon. Por outro lado, Jaruégui et al. (2007) obtiveram 676,4 mg GAE. kg⁻¹ de peso fresco da

polpa de yacon *in natura*. Avaliando-se estes valores, pode-se afirmar que a desidratação da polpa de yacon é interessante para a concentração desses compostos.

Por outro lado, o teor de fenólicos totais encontrado na farinha da polpa de yacon ($16.200 \text{ mg.kg}^{-1}$) foi inferior ao teor encontrado em folhas de yacon secas, por Simonovska et al. (2003) ($35.800 \text{ mg.kg}^{-1}$) e Arnao et al. (2011) ($22.700 \text{ mg.kg}^{-1}$), e por Lachman et al. (2005) e Lachman et al. (2007), em rizomas ($41.600 \text{ mg.kg}^{-1}$ e $44.950 \text{ mg.kg}^{-1}$, respectivamente). Todavia, foi superior ao obtido por Valentová et al. (2006) e Lachman et al. (2005), quando avaliaram as folhas da yacon (2.440 mg.kg^{-1} , $14.900 \text{ mg.kg}^{-1}$, respectivamente).

Alguns estudos têm mostrado que a polpa da yacon é a parte com menor teor de compostos fenólicos (SIMONOVSKA et al., 2003; LACHMAN et al., 2005; LACHMAN et al., 2007).

Tabela 4 Valores médios de fenólicos totais e atividade antioxidante total (ATT) na farinha de yacon, pelos métodos DPPH e ABTS e da correlação entre ATT e fenólicos totais, utilizando correlação de Pearson

Análises na farinha de yacon	Valores médios
Fenólicos totais (mg GAE. kg^{-1})	16.200,0 \pm 0,4
DPPH EC ₅₀ (mg. mL^{-1})	2,99 \pm 0,001
ABTS ($\mu\text{mol Trolox. g}^{-1}$)	2.564,1 \pm 32,7
Correlação de Pearson	
AAT (DPPH) vs. fenólicos totais	-0,81
AAT (ABTS) vs. fenólicos totais	0,99

* valores médios de quatro replicatas. GAE: equivalente de ácido gálico

Tem sido observada, em vários estudos, extensa variação no teor de fenólicos totais encontrados no yacon. De acordo com Muñoz et al. (2006), as características agronômicas, tipo de solo, condições climáticas e ecológicas, o uso ou não de fertilizantes e as técnicas de cultivo aplicadas, influenciam a produção e o conteúdo de nutrientes e os compostos bioativos presentes nas raízes de yacon. Além disso, as concentrações de nutrientes e compostos bioativos podem ser influenciadas pelo tempo pós-colheita (LACHMAN; FERNÁNDEZ; ORSÁK, 2003), a forma de armazenamento (MILELLA et al., 2011) e os métodos de processamento (MARTINEZ; MOYANO, 2003).

A atividade antioxidante total apresentou alta correlação com o teor de fenólicos totais, tanto pelo método DPPH (-0,81) quanto pelo método de radical ABTS (0,99). Valentová e Ulrichová (2003) avaliaram a atividade antioxidante em diferentes extratos da folha de yacon, pelo método DPPH e encontraram valores de EC_{50} iguais a 0,016 e 0,024 $mg \cdot mL^{-1}$, que são muito menores que os encontrados no presente estudo para a farinha da polpa de yacon. Os menores valores de EC_{50} representam as maiores atividades antioxidantes pelo método de captura do radical DPPH. A maior atividade antioxidante observada pelos autores nos extratos das folhas de yacon também pode estar associada ao alto teor de compostos fenólicos totais obtidos para os extratos testados (2.016 $mg \cdot kg^{-1}$ e 3.658 $mg \cdot kg^{-1}$).

Arnao et al. (2011) avaliaram a atividade antioxidante total pelo método do DPPH nas folhas secas de yacon cultivadas em diversas localidades do Peru. Os autores obtiveram valores de EC_{50} entre 0,051 e 0,110 $mg \cdot mL^{-1}$, sendo que estes valores representam maiores atividades antioxidantes comparadas à apresentada pela farinha da polpa de yacon ($EC_{50} = 2,99 \text{ mg} \cdot mL^{-1}$), no presente estudo.

Jáuregui et al. (2007) avaliaram a atividade antioxidante total pelo método do radical DPPH, em vários vegetais produzidos no Peru. A eficiência

de concentração (EC_{50}) variou entre $3,45 \text{ mg.mL}^{-1}$ (camu-camu) e $7057,99 \text{ mg.mL}^{-1}$ (*tumbo contendõ*). A polpa fresca da yacon apresentou EC_{50} igual a $187,26 \text{ mg.mL}^{-1}$, sendo essa atividade antioxidante muito inferior à encontrada para a farinha da polpa de yacon do presente trabalho.

Campos et al. (2012) avaliaram a capacidade antioxidante, utilizando o método ABTS, de 35 diferentes amostras de yacon (*Smallanthus sonchifolius* Poepp. & Endl) e encontraram valores na faixa de 23,3 a $136 \text{ } \mu\text{mol de Trolox. g}^{-1}$ na polpa de yacon, que são bem menores que os encontrados neste estudo, para a farinha da polpa de yacon.

A farinha da polpa de yacon apresentou resultados promissores quanto ao potencial antioxidante, podendo ser uma alternativa para aumentar a ingestão de compostos fenólicos, ou seja, inserir antioxidantes naturais na dieta de seres humanos.

Além disso, devido aos resultados encontrados para a farinha de yacon e comparados com os diversos da literatura, pode-se entender que o método empregado na produção da farinha foi capaz de manter concentrados os compostos fenólicos, assim como sua atividade antioxidante.

5.4 Viabilidade dos microrganismos probióticos presentes nos iogurtes

A viabilidade dos microrganismos probióticos adicionados aos iogurtes com contagens de $10^9 \text{ UFC. mL}^{-1}$ foi de 14 dias. As contagens médias de microrganismos probióticos encontradas nos iogurtes estudados, no 14º dia após a elaboração dos mesmos, estão representadas na Tabela 5.

Tabela 5 Contagens médias de microrganismos probióticos nos iogurtes com *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium animalis* isolados ou em conjunto (UFC. mL⁻¹)

Microrganismo probiótico	L	B	L+B
<i>L. acidophilus</i>	1,14±0,14 x 10 ⁹	-----	1,56± 0,13 x 10 ⁹
<i>B. animalis</i>	-----	1,02±0,08 x 10 ⁹	1,46±0,02 x 10 ⁹

Legenda: L = iogurte probiótico com *Lactobacillus acidophilus*; B = iogurte probiótico com *Bifidobacterium animalis*; L + B = iogurte probiótico com *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium animalis*

A contagem de 10⁹ UFC. mL⁻¹ de iogurtes foi estabelecida como a mínima para este estudo. Portanto, para garantia da quantidade adequada de população de microrganismos probióticos nos iogurtes que deveriam ser fornecidos no ensaio biológico, os iogurtes probióticos foram elaborados a cada 7 dias.

Segundo Oliveira e Damin (2003), que elaboraram iogurte probiótico contendo *L. acidophilus*, o número dessa bactéria foi mantido após sete dias de elaboração.

Em iogurtes contendo *Bifidobacterium animalis* e *Lactobacillus acidophilus*, foi observado que o primeiro teve menor tempo de viabilidade do que *L. acidophilus*. Talvez, isso possa ser consequência da sensibilidade de espécies de bifidobactérias ao ambiente ácido (SENDRA et al., 2008).

Os iogurtes foram avaliados, semanalmente, quanto à viabilidade dos microrganismos probióticos, ao longo de 21 dias e constatou-se redução destes microrganismos, atingindo, após esse período, contagens na ordem de 10⁷ UFC. mL⁻¹ de iogurte.

Concordando com estes dados, Donkor, Tsangalis e Shah (2007) observaram redução da população viável de *B. animalis* Bb-12 e *L. acidophilus* La-5 em leites fermentados comerciais, durante os 28 dias de armazenamento

refrigerado, como consequência da redução do pH, devido aos ácidos láctico e acético, bem como ácidos derivados do aroma de suco de frutas.

A atividade metabólica de *L. bulgaricus* e *S. Thermophilus*, durante a armazenagem, resulta na produção de ácidos orgânicos que podem afetar a viabilidade das células probióticas (DONKOR et al., 2006). Embora *L. acidophilus* tolere a acidez, um rápido decréscimo no seu número foi observado sob condições ácidas. Bifidobactérias não são tão tolerantes ao ácido quanto *L. acidophilus*, sendo que o crescimento dos últimos microrganismos cessa a um pH menor que 4,0, enquanto o crescimento de *Bifidobacterium* sp. é retardado em pH abaixo de 5,0 (SHAH; LANKAPUTHRA, 1997).

Além disso, *L. bulgaricus* produz peróxido de hidrogênio, que apresenta efeito antimicrobiano, afetando o crescimento de bactérias probióticas (DAVE; SHAH, 1997).

5.5 Composição centesimal dos iogurtes probióticos

Os valores médios da composição centesimal dos iogurtes probióticos em matéria integral são apresentados na Tabela 6.

Tabela 6 Composição centesimal (%) de iogurtes probióticos

Componentes	Iogurtes (valores médios em %)		
	L	B	L+B
Umidade	88,14±0,50 ^a	88,38±0,08 ^a	88,46±0,23 ^a
Lipídeos	2,82±0,30 ^a	2,33±0,14 ^a	2,50±0,30 ^a
Proteína	3,82±0,23 ^a	3,48±0,35 ^a	3,74±0,03 ^a
Cinzas	0,83±0,01 ^c	0,86±0,00 ^a	0,85±0,01 ^b
ENN*	4,39±0,86 ^b	4,92±0,53 ^a	4,33±0,30 ^{ab}

Legenda: L = iogurte probiótico com *Lactobacillus acidophilus*; B = iogurte probiótico com *Bifidobacterium animalis*; L + B = iogurte probiótico com *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium animalis*; *ENN = extrato não nitrogenado

**Linhas seguidas da mesma letra não diferem entre si, a 5% de significância (p<0,05)

Os teores dos componentes dos iogurtes foram estatisticamente iguais (p-valor>0,05) entre os iogurtes analisados, com exceção do conteúdo de cinzas (p-valor<0,05).

Torres (2000) avaliou a composição centesimal de alimentos de origem animal e verificou, para iogurte, a concentração de 85,87% de umidade, 2,16% de lipídeos, 4,29% de proteína, 0,71% de cinzas e 5,26% de carboidratos. Estes teores são bastante similares aos encontrados para os iogurtes probióticos do presente estudo.

5.6 Ensaio *in vivo*

No ensaio *in vivo* foram obtidos resultados de parâmetros biológicos, bioquímicos e moleculares.

5.6.1 Consumo médio diário (CMD) de dieta e desenvolvimento ponderal

Os resultados sobre o consumo médio diário (CMD) de dieta dos animais avaliados durante o período de tratamentos são apresentados na Tabela 7.

Tabela 7 Consumo médio diário (CMD) de dieta dos animais experimentais, durante 30 dias de tratamento

Tratamentos	Consumo médio diário de dieta (g)
CT	7,54±0,87
HF	3,58±0,52
L	4,11±0,68
B	3,86±0,26
L+B	3,73±0,52
L+Y	4,04±0,65
B+Y	4,39±0,89
L+B+Y	4,51±0,68

Legenda: **CT** - controle não obeso (AIN93-M); **HF** - controle obeso; **L**- AIN93-M com alto teor de gordura saturada acrescida de iogurte probiótico (*Lactobacillus acidophilus*); **B** - AIN93-M com alto teor de gordura saturada acrescida de iogurte probiótico (*Bifidobacterium animalis*); **L+B** - AIN93-M com alto teor de gordura saturada acrescida de iogurte probiótico (*Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium animalis*); **L+Y** - AIN93-M com alto teor de gordura saturada acrescida de farinha de yacon e iogurte probiótico (*Lactobacillus acidophilus*); **B+Y** - AIN93-M com alto teor de gordura saturada acrescida de farinha de yacon e iogurte probiótico (*Bifidobacterium animalis*); **L+B+Y** - AIN93-M com alto teor de gordura saturada acrescida de farinha de yacon e iogurte probiótico (*Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium animalis*). * p-valor < 10⁻³

O CMD dos animais do grupo CT foi significativamente superior (p-valor < 10⁻³) ao grupo HF, sendo esta diferença, em média, de 3,46g. Este fato se justifica pela própria composição das dietas, uma vez que o maior conteúdo de lipídeos fornecido na forma de gordura animal leva à maior saciedade aos animais.

Contudo, o consumo dos animais do grupo HF não diferiu do dos demais grupos obesos com suplementação de iogurtes e/ou farinha de yacon (p -valor $>0,05$).

Comparando-se os grupos tratados com iogurtes probióticos associados à farinha de yacon (L+Y, B+Y, e L+B+Y) e os grupos tratados somente com iogurtes probióticos (L, B, e L+B), pode-se perceber que os primeiros consumiram maiores quantidades de dieta ($p=0,02$) que os segundos, sendo a diferença média estimada de 0,40 g.

O efeito do tratamento agudo com 8 g diário de frutanos tipo inulina (ITF), com ou sem 0,3 g de beta-glucanos, durante 2 dias, não teve qualquer efeito sobre a saciedade ou apetite, o que sugere que um processo adaptativo (ligada à modulação da microbiota intestinal) pode ser necessário para observar o efeito sacietogênico de prebióticos (PETERS et al., 2009).

Nos estudos de Daubioul et al. (2002) e Cani e Delzenne (2009), não foi observada redução na ingestão de alimentos/energia, quando os prebióticos frutanos tipo inulina foram substituídos por fibra alimentar não fermentável (celulose microcristalina), sugerindo que, pelo menos, a fermentação do cólon desempenha um papel na modulação do consumo de alimentos.

O efeito do consumo de doses aceitáveis de FOS de cadeia curta (10 g ou 16 g por dia) em relação às respostas agudas de saciedade em humanos saudáveis foi investigado e os autores não constataram diferenças nos padrões de saciedade e fome, embora a concentração de hidrogênio da respiração, marcador de fermentação, tenha sido proporcional às doses de FOS de cadeia curta fornecidas. Os autores observaram também que houve uma tendência significativa de aumento de sintomas gastrintestinais, principalmente flatulência, com a elevação da dose de FOS de cadeia curta (HESS et al., 2011).

Em outro estudo, indivíduos que receberam 8 g de FOS em barras, em substituição às refeições duas vezes ao dia, durante um dia, seguido por uma vez

no dia seguinte, não demonstraram qualquer efeito, em curto prazo, sobre o apetite ou a ingestão de energia (PETERS et al., 2009).

Estes dados indicam a possibilidade de que o efeito benéfico dos FOS para aumento da saciedade e redução no consumo energético seja obtido somente a longo prazo.

Todavia, o consumo diário de xarope de yacon, fornecendo 0,14 g de FOS. kg⁻¹ por dia, por mais de 120 dias, resultou em aumento na sensação de saciedade e redução no peso corporal, da circunferência da cintura e do IMC em mulheres obesas pré-menopausa (GENTA et al., 2009). No entanto, o tempo de tratamento foi bem maior do que o utilizado no presente estudo, sugerindo que pode, realmente, ocorrer adaptação à dieta, com conseqüente redução no consumo, quando são fornecidos frutoligosacarídeos.

Verhoef, Meyer e Westerterp (2011) avaliaram o efeito do consumo de FOS em humanos adultos, durante 13 dias de tratamento, com doses de 10 g e 16 g diárias e observaram redução no consumo de energia, especialmente para o tratamento com 16 g de FOS, sendo este consumo relacionado aos níveis de peptídeo semelhante ao glucagon 1 (GLP-1) e peptídeo YY (PYY), que apresentaram-se aumentados com tal tratamento.

Em termos de dosagem, estudos em animais mostraram redução do consumo de energia, quando fornecida quantidade de FOS de, aproximadamente, 10% da ingestão alimentar total (CANI; DEWEVER; DELZENNET, 2004; CANI et al, 2005a). Isto é equivalente a 40-60 g/dia para humanos (JENKINS; KENDALL; VUKSAN, 1999). Uma dose tão elevada não é fisiologicamente conveniente em seres humanos, pois ocorre produção excessiva de gases durante a fermentação e as complicações gastrintestinais se tornam problemáticas. Estudos indicam que FOS são bem tolerados pelo sistema gastrintestinal humano em doses de 15 g/dia, sendo que quantidades superiores a

esta aumentam a probabilidade de potencializar significativamente os sintomas adversos (GRABITSKE; SLAVIN, 2009).

Diante do contexto, é imprescindível que sejam estabelecidas doses aceitáveis de consumo ao organismo humano, sem prejuízos e efeitos indesejáveis. No presente trabalho, a dose de FOS utilizada para tratamento dos animais foi de 340 mg. kg⁻¹ por dia, que representa, para um homem adulto de 60 kg, um consumo de 20,4 g de FOS por dia, equivalente a 44 g de farinha de yacon elaborada neste estudo.

Entretanto, os estudos que avaliam a tolerância de frutanos consideram a utilização deste componente de forma isolada, o que propicia aumento da osmolaridade e, conseqüentemente, a maior possibilidade de ocorrência de diarreia osmótica. Contudo, o uso de alimentos que contêm prebióticos, como, por exemplo, frutanos, seria uma vantagem, pois eles contêm também outros componentes que tanto controlam o tempo de liberação de frutanos do estômago para o intestino, como diminuem o próprio efeito osmótico destes no intestino. Além disso, os frutanos presentes na farinha de yacon foram administrados concomitantemente aos iogurtes com probióticos, os quais fermentam os frutanos, diminuindo a concentração desse tipo de soluto no lúmen intestinal.

Os valores médios de peso corporal, ao longo do tempo, para os diferentes grupos de animais experimentais, estão demonstrados na Tabela 8.

Tabela 8 Valores de peso corporal na média dos tempos para os diferentes grupos de animais experimentais

Tratamentos	Peso corporal médio ao longo do tempo (g)	
CT	46,92±2,45	*]
HF	49,90±7,81	
L	48,52±6,07	*]
B	48,77±6,71	
L+B	48,57±5,44	
L+Y	47,72±5,94	
B+Y	49,09±4,62	
L+B+Y	46,89±5,34	

Legenda: **CT** - controle não obeso; **HF** - controle obeso; **L** - AIN93-M com alto teor de gordura saturada acrescida de iogurte probiótico (*Lactobacillus acidophilus*); **B** - AIN93-M com alto teor de gordura saturada acrescida de iogurte probiótico (*Bifidobacterium animalis*); **L+B** - AIN93-M com alto teor de gordura saturada acrescida de iogurte probiótico (*Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium animalis*); **L+Y** - AIN93-M com alto teor de gordura saturada acrescida de farinha de yacon e iogurte probiótico (*Lactobacillus acidophilus*); **B+Y** - AIN93-M com alto teor de gordura saturada acrescida de farinha de yacon e iogurte probiótico (*Bifidobacterium animalis*); **L+B+Y** - AIN93-M com alto teor de gordura saturada acrescida de farinha de yacon e iogurte probiótico (*Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium animalis*). *p-valor = 0,03

O grupo HF apresentou peso maior que o grupo CT, sendo essa diferença, em média, de 2,98 g (p-valor = 0,03). No entanto, não houve diferença significativa de peso entre os grupos tratados, ao longo de todo o experimento (p-valor > 0,05), com exceção do grupo L+B+Y, que apresentou redução de peso, comparado aos animais do grupo HF (p=0,03), na média dos tempos, sendo a diferença média estimada em 3,01 g.

É importante ressaltar que a farinha de yacon foi acrescida às dietas em substituição à celulose, que é uma fibra insolúvel e não representa fonte de calorias. O grupo L+B+Y e os demais grupos tratados com yacon consumiram mais dieta do que o grupo L+B e demais grupos tratados somente com probióticos, mas, ainda assim, L+B+Y apresentou menor peso em relação ao grupo HF. Portanto, pode-se inferir que o consumo de farinha de yacon foi mais

eficaz que a celulose, para prevenir o ganho de peso dos animais tratados com dieta com alto conteúdo de gordura saturada.

Além disso, o grupo L+B+Y apresentou comportamento similar ao grupo CT não obeso, em relação ao peso.

Boyle et al. (2008) avaliaram o efeito do consumo de diferentes doses de oligofrutose derivada de inulina (0,55%, 1,65%, 4,96% e 9,91%), em substituição ao amido da dieta em ratos, por um período de 13 semanas. Ao final, não houve diferenças estatisticamente significativas nos pesos corporais dos ratos do sexo feminino, nos diferentes grupos. Esse comportamento em relação ao peso dos animais corrobora o que foi encontrado no presente trabalho, uma vez que todos os grupos obesos que receberam tratamentos, com exceção do grupo L+B+Y, não apresentaram redução de peso, nem mesmo em relação ao grupo controle obeso (HF).

Bibas-Bonet et al. (2010) também não constataram diferenças no peso corporal, em estudo com modelo animal em que houve tratamento com farinha de yacon (340 mg.kg⁻¹ por dia), por 75 dias consecutivos.

Por outro lado, Everard et al. (2011) constataram redução do ganho de peso em camundongos tratados com dieta rica em gordura suplementada com prebiótico (oligofrutose- 0,3 g/animal/dia) por 8 semanas.

Genta et al. (2009) estudaram o potencial efeito benéfico de xarope de yacon sobre a obesidade e a resistência à insulina em humanos. Os sujeitos eram obesos e foram avaliados durante um período de 120 dias, para os quais foram fornecidos xarope de yacon, sendo as doses utilizadas de FOS de 0,29 ou 0,14 g/kg de peso corporal/dia. Os autores concluíram que, com um consumo de FOS 0,14 g/kg/dia, não existem efeitos gastrintestinais indesejáveis. No entanto, os autores constataram efeitos de redução de peso corporal.

5.6.2 Glicemia de jejum, colesterol total e triacilgliceróis séricos

Os valores médios de glicemia de jejum, colesterol e triacilgliceróis séricos dos animais experimentais consumindo, ao longo de todo o experimento, dieta com elevado teor de gordura saturada (AIN-93M com modificações no teor lipídico), analisados antes e após a aplicação do tratamentos específicos deste estudo, são apresentados na Tabela 9.

Tabela 9 Valores médios de glicemia de jejum (mg. dL⁻¹), colesterol total (mg. dL⁻¹) e triacilgliceróis séricos (mg. dL⁻¹) dos animais experimentais com diferentes tratamentos, analisados antes e após a aplicação dos tratamentos

Parâmetro analisado	Tratamento	Antes do tratamento	Após o tratamento
Glicemia	CT	84,5±7,5 ^b	114,3±19,1 ^a
	HF	86,8±3,5 ^b	114,7±5,8 ^a
	L	106,3±14,2 ^a	103,5±17,5 ^a
	B	117,8±8,1 ^a	106,3±18,9 ^a
	L+B	116,5±16,9 ^a	108,5±15,8 ^a
	L+Y	100,5±14,2 ^a	106,8±15,8 ^a
	B+Y	104,2±16,0 ^a	87,0±12,9 ^a
	L+B+Y	108,5±1,4 ^a	88,2±7,9 ^b
Colesterol total	CT	168,2±6,0 ^a	164,0±7,0 ^a
	HF	164,8±5,9 ^a	164,7±4,8 ^a
	L	162,7±11,4 ^a	167,2±11,1 ^a
	B	163,8±3,2 ^a	172,0±11,8 ^a
	L+B	160,3±5,0 ^a	167,0±11,9 ^a
	L+Y	161,3±1,2 ^a	165,7±6,2 ^a
	B+Y	167,0±1,6 ^a	164,8±9,6 ^a
	L+B+Y	166,2±15,8 ^a	170,3±8,9 ^a
Triacilgliceróis	CT	197,8±38,4 ^a	187,2±42,3 ^a
	HF	140,3±24,7 ^a	170,0±20,4 ^a
	L	183,8±44,8 ^a	157,3±11,0 ^a
	B	153,0±37,3 ^a	180,3±13,5 ^a
	L+B	135,7±25,5 ^a	165,8±18,5 ^a
	L+Y	143,4±20,5 ^a	167,2±21,1 ^a
	B+Y	166,2±44,6 ^a	131,2±14,9 ^b
	L+B+Y	138,3±31,0 ^a	147,0±18,3 ^a

Legenda: CT - controle não obeso; HF - controle obeso; L - AIN93-M com alto teor de gordura saturada acrescida de iogurte probiótico (*L. acidophilus*); B - AIN93-M com alto teor de gordura saturada acrescida de iogurte probiótico (*B. animalis*); L+B - AIN93-M com alto teor de gordura saturada acrescida de iogurte probiótico (*L. acidophilus* e *B. animalis*); L+Y - AIN93-M com alto teor de gordura saturada acrescida de farinha de yacon e iogurte probiótico (*L. acidophilus*); B+Y - AIN93-M com alto teor de gordura saturada acrescida de farinha de yacon e iogurte probiótico (*B. animalis*); L+B+Y - AIN93-M com alto teor de gordura saturada acrescida de farinha de yacon e iogurte probiótico (*L. acidophilus* e *B. animalis*); TAG= triacilgliceróis

* Médias seguidas da mesma letra, dentro de cada linha, não diferem entre si, a 5% de significância

Glicemia de jejum

Os níveis de glicemia de jejum não foram diferentes entre os grupos CT e HF ($p > 0,05$) e este parâmetro se elevou igualmente para ambos os grupos, após o período de tratamento.

Todavia, o grupo HF apresentou elevação nos níveis de glicemia após o período de tratamento ($p < 0,05$) e os demais grupos de animais obesos não apresentaram o mesmo comportamento, indicando que os tratamentos com os iogurtes associados ou não com a farinha de yacon previnem a elevação da glicemia em animais tratados com dieta rica em gordura saturada. Além disso, o grupo L+B+Y mostrou redução nos níveis de glicemia, após o período experimental ($p < 0,05$).

Por análise de contrastes ortogonais observou-se que os grupos tratados com os iogurtes probióticos com adição de farinha de yacon (L+Y, B+Y, L+B+Y) apresentaram menores níveis de glicemia de jejum, em comparação aos grupos tratados somente com os iogurtes probióticos (L, B e L+B) ($p = 0,01$), sendo a diferença média estimada em $10,63 \text{ mg. dL}^{-1}$. Estes dados indicam o benefício do consumo da dieta simbiótica em relação à glicemia de jejum.

Everard et al. (2011), ao investigarem o efeito da suplementação de prebiótico (oligofrutose) em camundongos obesos (*ob/ob*) e camundongos alimentados com dieta rica em gordura, relataram melhoria da tolerância à glicose nos primeiros. Estes mesmos autores, por meio de análises multivariadas, sugerem que o teor de triacilgliceróis plasmáticos pode ser utilizado como biomarcador potencial de tolerância à glicose.

No trabalho de Habib et al. (2011), sobre os efeitos do consumo de yacon em ratos diabéticos, relatou-se declínio nos níveis de glicemia e insulinemia de jejum de forma similar para as duas doses utilizadas (340 e $6.800 \text{ mg de FOS. kg}^{-1}$). Estes dados foram obtidos de forma concomitante ao aumento de massa de células beta pancreáticas e aumento da produção intestinal de incretinas, como

GLP-1 (peptídeo semelhante ao glucagon 1) e GIP (peptídeo inibidor gástrico). Segundo os autores, o aumento das incretinas seria devido ao aumento da produção de AGCC, que estimularia o aumento do tecido cecal, secretor das incretinas. Por sua vez, GLP-1 tem importantes efeitos biológicos, que incluem manutenção de células beta e liberação da insulina (RANGANATH, 2008).

Além disso, em estudos há relatos do efeito de probióticos sobre a homeostase da glicemia. Foi observada preservação da sensibilidade à insulina (teste oral de tolerância à glicose) em adultos saudáveis tratados por quatro semanas com probiótico *Lactobacillus acidophilus*, comparados aos indivíduos que receberam placebo, tendo ambos os grupos sido submetidos à injeção de lipopolissacarídeo de *Escherichia coli* para causar estado inflamatório (ANDREASEN et al., 2010).

Por outro lado, Parnell e Reimer (2011) demonstraram que ratos magros e obesos alimentados com dieta contendo inulina e oligofrutose concomitantemente (10% e 20%) apresentaram elevação nos níveis de peptídeos anorexígenos e a população probiótica no intestino, e redução nos níveis de glucagon, de forma dependente das doses. No entanto, alterações não significativas do peso corporal ou de insulina/glicose plasmáticas foram observadas entre os ratos alimentados com ou sem adição de prebióticos.

Azorín-Ortuño et al. (2009) avaliaram o efeito de baixas doses de frutanos tipo inulina (ITF) com diferentes graus de polimerização, equivalente a 0,82 g/dia para um homem adulto de 60 kg, durante 75 dias, em ratos com dieta suplementada em gordura. Os autores não constataram diferenças significativas na glicemia de jejum entre os diferentes tratamentos, de forma semelhante aos resultados obtidos para glicemia de jejum, para os diferentes tratamentos do presente estudo.

Redução nos níveis de insulina plasmática foi constatada por Genta et al. (2009), ao investigarem os efeitos do consumo de xarope de yacon em humanos,

utilizando doses equivalentes a 0,14 e 0,29 g de FOS/kg/dia, por 120 dias. Contudo, a glicemia de jejum não apresentou alterações pós-tratamentos.

Yin et al. (2010), estudando o efeito do tratamento com quatro diferentes cepas de bifidobactérias em ratos obesos induzidos por dieta rica em gordura, durante 6 semanas, também não observaram redução nos níveis de glicose e de insulina plasmática.

Colesterol total

No presente estudo, não foram constatadas diferenças estatísticas ($p > 0,05$) nos níveis de colesterol plasmático entre os grupos, nem mesmo entre CT e HF. Também não foi observada alteração neste parâmetro, ao longo do período de tratamento.

É importante ressaltar que os níveis das frações de colesterol, como LDL-c e HDL-c, não foram avaliados, todavia, estes influenciam o teor de colesterol total. No trabalho desenvolvido por Habib et al. (2011), não foram constatados efeitos positivos sobre o colesterol total e LDL-c, mas sim para HDL-c, quando fornecidas doses de 340 e 6.800 mg de FOS de yacon por kg de peso corporal, para ratos diabéticos. Diante desses fatos, são necessários estudos futuros para avaliar tais lipoproteínas em função do consumo de probióticos e prebióticos utilizados no presente trabalho.

Boyle et al. (2008) avaliaram o efeito do consumo de diferentes doses de oligofrutose (derivado da inulina) em substituição ao amido da dieta em ratos por um período de 13 semanas e não observaram diferenças nos níveis de colesterol total e LDL-c nas fêmeas. Todavia, perceberam diferenças significativas nos machos ($p < 0,05$) que constituíam os grupos com 4,96% e 9,91% de oligofrutose, apresentando níveis de colesterol total e LDL-c menores que o grupo controle (0% de oligofrutose). Entretanto, as concentrações de oligofrutose que apresentaram efeitos desejáveis foram bem maiores que aquela

fornecida de FOS proveniente da farinha de yacon, no presente estudo. Por outro lado, os autores constataram que níveis de HDL-c apresentaram-se superiores aos do grupo controle (0% de oligofrutose), quando foram ofertados 0,55%, 1,65%, 4,96% e 9,91% de oligofrutose para os animais machos.

Larsen et al. (2006) realizaram um trabalho dose-resposta administrando bactérias probióticas *Bifidobacterium animalis* subsp *lactis* BB-12 e *Lactobacillus paracasei* subsp *paracasei* CRL-341, nas concentrações de 10^8 , 10^9 , 10^{10} , 10^{11} UFC/dia, para adultos jovens saudáveis e também não encontraram efeito sobre os lipídeos séricos.

Machado et al. (2003) também não observaram redução de colesterol total em ratos alimentados com dieta rica em colesterol e ácido cólico, quando administraram probiótico contendo 10^{10} UFC. mL^{-1} de *Lactobacillus acidophilus*.

Contudo, Genta et al. (2009), ao avaliarem o efeito do consumo de xarope de yacon em dose de 10 g de FOS por dia, para um adulto de 70 kg (0,14g de FOS/kg), por 120 dias, não constataram efeitos positivos sobre a glicemia de jejum e lipídeos séricos, mas, sim, para o nível de LDL-c, o qual apresentou redução após tratamento.

Os FOS são fermentados seletivamente por bifidobactérias e lactobacilos (FOOKS; FULLER; GIBSON, 1999; PEDRESCHI et al., 2003), produzindo ácidos graxos de cadeia curta (NILSSON; NYMAN, 2005), os quais podem modificar o metabolismo lipídico.

Diferenças significativas nos níveis de colesterol total do grupo tratado com mistura de 90% de inulina (DP= 46) e 10% de FOS (DP=4) foram observadas no estudo de Azorín-Ortuño et al. (2009), avaliaram o efeito do consumo de baixas doses de frutanos com diferentes graus de polimerização em ratos, durante 75 dias, indicando o possível efeito benéfico dos ITF de cadeia curta sobre o metabolismo lipídico.

Freitas e Jackix (2005) avaliaram o efeito de bebida adicionada de FOS (4,5% na dieta) e/ou pectina (0,9% na dieta) sobre os níveis de colesterol e estimulação de bifidobactérias. Os autores constataram redução significativa dos níveis de colesterol e aumento de dez vezes no número de bifidobactérias nas fezes dos animais tratados com bebida contendo FOS, não tendo a pectina apresentado este último efeito. Esses dados confirmam a preferência da fermentação de FOS pelas bifidobactérias.

Além disso, a redução do colesterol em razão de mudanças na microbiota intestinal foi citada por Tomatsu (1994) e Mizota (1996), tendo sido mostrado, em estudos *in vitro*, que 12 espécies de *Lactobacillus acidophilus* de humanos assimilam o colesterol.

Da mesma forma, Alhaj et al. (2010) verificaram resultados de redução nos níveis de colesterol *in vitro* com a utilização de *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12. O estudo de Gopal, Shah e Roginski (1996) mostrou redução de colesterol plasmático com a utilização de *Bifidobacterium* spp. e *L. acidophilus*.

Segundo Gilliland e Walker (1990), certos microrganismos atuam na redução dos níveis de colesterol sanguíneo de forma indireta, desconjugando e desidroxilando os sais biliares. A diminuição de ácidos biliares por desconjugação bacteriana é compensada, para manter o equilíbrio necessário ao organismo, pelo aumento do catabolismo do colesterol, que determina redução do colesterol total. Além disso, os sais biliares desconjugados absorvem baixa quantidade de lipídeos no trato intestinal, comparados aos sais biliares conjugados, podendo reduzir o nível de colesterol sanguíneo.

Triacilgliceróis

Os níveis de triacilgliceróis plasmáticos do grupo CT foram maiores que os do grupo HF ($p=0,00$), sendo essa diferença, em média, de 18,2 mg.dL⁻¹.

Esses dados podem ser explicados pelo fato de os carboidratos da dieta serem macronutrientes diretamente relacionados ao aumento de triacilgliceróis plasmáticos e a dieta do grupo CT ter apresentado concentrações mais elevadas de carboidrato em relação ao grupo HF, que recebeu dieta com maior proporção de gorduras.

Segundo Champe, Harvey e Ferrier (2009), quantidades excessivas de carboidratos obtidas pela dieta podem ser convertidas em ácidos graxos, os quais são armazenados como triacilgliceróis. Este processo incorpora os carbonos da acetil-CoA, que podem ser provenientes da glicólise na cadeia do ácido graxo em formação. Por outro lado, o glicerol 3-fosfato, o esqueleto para a síntese de triacilglicerol, é obtido pelo metabolismo glicolítico da glicose.

Já os níveis de triacilgliceróis dos grupos tratados com os iogurtes associados à farinha de yacon (L+Y, B+Y e L+B+Y) foram menores ($p = 0,04$) que os encontrados para os grupos tratados somente com iogurtes (L, B e L+B), por análise de contrastes ortogonais, sendo esta diferença, em média, de 13,8 mg. dL⁻¹. Esses resultados sugerem a eficácia da associação entre os microrganismos probióticos e a farinha de yacon com característica prebiótica sobre os triacilgliceróis plasmáticos.

O grupo B+Y foi o único que apresentou redução dos níveis de triacilgliceróis plasmáticos, comparado-se os dados antes e após os tratamentos ($p < 0,05$).

Além disso, constatou-se evidência ($p = 0,078$), embora não significativa, de que os tratamentos com *Bifidobacterium animalis* (B) e *Lactobacillus acidophilus* (L), isoladamente, sejam menos eficazes para prevenir o aumento dos níveis de triacilgliceróis séricos do que o tratamento com estes dois microrganismos de forma concomitantes, sendo a diferença estimada em 17,9 mg.dL⁻¹(L+B).

Habib et al. (2011), estudando os efeitos hipolipidêmicos de yacon em ratos diabéticos, observaram redução nos níveis de triacilgliceróis em ambas as doses utilizadas, sendo estas equivalentes a 340 e a 6.800 mg de FOS. kg⁻¹ de peso corporal por dia. Estes resultados confirmam a participação dos FOS do yacon no auxílio da redução de triacilgliceróis plasmáticos.

De acordo com Roberfroid et al. (2007), o consumo de compostos prebióticos dietéticos levam à diminuição da síntese de TAG e este efeito pode ser devido a alguns fatores, a citar: diminuição na glicemia, pois a glicose e a insulina estão envolvidas na lipogênese e produção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) pela fermentação intestinal, que regulam o metabolismo lipídico.

O acetato, quando fornecido na dieta de ratos diabéticos, com uma dose de 0,5%, durante 8 semanas, ativa AMPkinase no fígado, um fenômeno que está relacionado com a inibição da lipogênese *de novo* (SAKAKIBARA et al., 2006).

O efeito da suplementação de frutanos tipo inulina (ITF) na lipogênese tem sido demonstrado em voluntários humanos, sendo que a capacidade da síntese hepática de TAG é reduzida por esses ingredientes que apresentam efeito prebiótico (DIRAISON; MOULIN; BEYLOT, 2003).

A redução dos níveis de triacilgliceróis plasmáticos foi observada em camundongos *ob/ob* tratados com dieta controle suplementada com prebiótico (oligofrutose), por 5 semanas. Os autores verificaram que o tratamento com prebiótico aumentou significativamente a expressão de RNAm de lipase lipoproteica no músculo (cerca de 70%), podendo ser um dos mecanismos que conduzem à redução do conteúdo de lipídeos plasmáticos e no músculo de camundongos obesos tratados com prebiótico (EVERARD et al., 2011).

Klein et al. (2008) avaliaram o efeito do tratamento com *L. acidophilus* 74-2 associado ao *B. animalis ssp lactis* DGCC 420 em adultos e observaram redução de 11% nos triacilgliceróis séricos. Embora, no presente estudo, não tenha sido constatado efeito da suplementação da associação de microrganismos

probióticos comparado ao grupo controle obeso (HF), verificou-se que o consumo de *L. acidophilus* associado ao *B. animalis* apresentou melhor efeito do que quando fornecidos isoladamente.

Xiao et al. (2003) investigaram o efeito de um iogurte liofilizado contendo *B. longum* BL1 nos lipídeos séricos de ratos hipercolesterolêmicos. Após três semanas de estudo, os níveis de colesterol total (CT), lipoproteína de baixa densidade (LDL-c) e triacilgliceróis (TG) foram reduzidos em 22%, 41% e 13%, respectivamente.

Da mesma forma, Yin et al. (2010), ao avaliarem as possíveis alterações no metabolismo lipídico de ratos obesos induzidos por dieta rica em gordura e tratados por 6 semanas com quatro diferentes cepas de bifidobactérias (bifidobactéria L66-5, L75-4, M13-4 e FS31-12), constataram que todos os tratamentos reduziram triacilgliceróis séricos e hepáticos, bem como o colesterol sérico.

Além disso, em ratos alimentados com uma dieta rica em lipídeos contendo frutanos, foi verificada diminuição na triacilgliceridemia, entretanto, não foi capaz de evitar o acúmulo hepático de TAG e lipogênese (KOK; TAPER; DELZENNE, 1998).

5.6.3 Excreção fecal de lipídeos

Na Tabela 10 são apresentados os teores de excreção fecal de lipídeos dos animais experimentais alimentados com diferentes dietas, após o período de tratamento.

Tabela 10 Teores de excreção fecal de lipídeos (%) dos animais experimentais alimentados com diferentes dietas após o período de tratamento

Tratamentos	Lipídeos fecais (%)
CT	3,78±0,30
HF	5,67±0,60
L	6,11±0,40
B	5,42±0,84
L+B	5,44±0,32
L+Y	6,30±0,56
B+Y	3,71±0,24
L+B+Y	4,93±0,38

Legenda: **CT** - controle não obeso; **HF** - controle obeso; **L** - AIN93-M com alto teor de gordura saturada acrescida de iogurte probiótico (*Lactobacillus acidophilus*); **B** - AIN93-M com alto teor de gordura saturada acrescida de iogurte probiótico (*Bifidobacterium animalis*); **L+B** - AIN93-M com alto teor de gordura saturada acrescida de iogurte probiótico (*Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium animalis*); **L+Y** - AIN93-M com alto teor de gordura saturada acrescida de farinha de yacon e iogurte probiótico (*Lactobacillus acidophilus*); **B+Y** - AIN93-M com alto teor de gordura saturada acrescida de farinha de yacon e iogurte probiótico (*Bifidobacterium animalis*); **L+B+Y** - AIN93-M com alto teor de gordura saturada acrescida de farinha de yacon e iogurte probiótico (*Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium animalis*). * p-valor < 0,02

As concentrações de lipídeos presentes nas fezes dos animais do grupo HF foi maior que no grupo CT, sendo a diferença média de 1,89 pontos percentuais (p=0,02). Esses dados se devem ao consumo de dieta com maior conteúdo de gorduras pelos primeiros.

A excreção de lipídeos nas fezes dos camundongos foi igual (p>0,05) para todos os animais alimentados com dieta rica em gordura saturada, com ou sem tratamento.

Segundo Artiss et al. (2006), a fibra prebiótica age complexando com gordura alimentar para formar uma emulsão estável do tipo gel que impede a hidrólise de gordura pela lipase pancreática, reduzindo a absorção intestinal desse nutriente. Dessa forma, o consumo de prebióticos poderia carrear lipídeos para as fezes, diminuindo a absorção destes. Contudo, este efeito não foi observado no presente trabalho. Além disso, a adição de oligofrutose na dieta está associada

com aumento de bifidobactérias e lactobacilos (POMPEI et al., 2008). *In vitro*, cepas de *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium bifidum* demonstraram melhora da desconjugação de ácido biliar e colesterol, assim, aumentando a precipitação de ácido biliar e colesterol, podendo levar à maior excreção e, conseqüentemente, à menor reabsorção e absorção destes (KLAVER; VAN DER MEER, 1993).

5.6.4 Tecido adiposo periepídidimário

Os valores médios de peso de tecido adiposo periepídidimário dos animais experimentais alimentados com diferentes dietas, após 30 dias de tratamento, estão demonstrados na Tabela 11.

Tabela 11 Valores médios de peso do tecido adiposo periepididimário dos animais experimentais alimentados com diferentes dietas (g. 100g⁻¹ de peso corporal)

Tratamentos	Tecido adiposo periepididimário (g. 100g ⁻¹ de peso corporal)
CT	2,33±0,45
HF	2,40±0,47
L	2,14±0,12
B	2,24±0,51
L+B	2,47±0,16
L+Y	1,42±0,21
B+Y	2,37±0,14
L+B+Y	1,34±0,20

Legenda: **CT** - controle não obeso; **HF** - controle obeso; **L**- AIN93-M com alto teor de gordura saturada acrescida de iogurte probiótico (*Lactobacillus acidophilus*); **B** - AIN93-M com alto teor de gordura saturada acrescida de iogurte probiótico (*Bifidobacterium animalis*); **L+B** - AIN93-M com alto teor de gordura saturada acrescida de iogurte probiótico (*Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium animalis*); **L+Y** - AIN93-M com alto teor de gordura saturada acrescida de farinha de yacon e iogurte probiótico (*Lactobacillus acidophilus*); **B+Y** - AIN93-M com alto teor de gordura saturada acrescida de farinha de yacon e iogurte probiótico (*Bifidobacterium animalis*); **L+B+Y** - AIN93-M com alto teor de gordura saturada acrescida de farinha de yacon e iogurte probiótico (*Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium animalis*). * p-valor < 10⁻³

O grupo CT e o grupo HF não diferiram estatisticamente entre si (p>0,05).

Os tratamentos com probióticos associados à farinha de yacon (L+Y, B+Y e L+B+Y) apresentaram pesos de tecido adiposo periepididimário menores do que os grupos tratados somente com os iogurtes probióticos (L, B e L+B) (p=0,00), sendo essa diferença média de 0,57 g. 100g⁻¹ de peso corporal, avaliada por análise de contrastes ortogonais. Esses dados sugerem maior eficiência da dieta simbiótica em prevenir o acúmulo de tecido gorduroso.

Por outro lado, o tratamento com iogurte L+B+Y apresentou menor peso de tecido adiposo periepididimário em relação aos grupos L+Y e B+Y (p=0,00), com diferença média estimada em 0,55 g. 100 g⁻¹, indicando que o uso dos microrganismos probióticos concomitantemente e associados à farinha de yacon

foi mais eficiente para prevenir o aumento deste tecido nos animais tratados com dieta rica em gordura saturada, comprovando o efeito simbiótico de tais alimentos.

Adicionalmente, observou-se que o grupo L+Y apresentou peso de tecido adiposo periepídidimário inferior ao grupo B+Y ($p=0,00$), sendo esta diferença, em média, de $0,95 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$, o que permite inferir que o tratamento com iogurte contendo *L. acidophilus* foi melhor que o iogurte contendo *B. animalis*, ambos associados à farinha de yacon, em relação a esse parâmetro.

Por fim, os grupos L+Y e L+B+Y apresentaram pesos inferiores ($p=0,00$) de tecido adiposo periepídidimário em relação ao grupo HF, sendo as diferenças estimadas em $0,98 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ e $1,06 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$, respectivamente. Todavia, L+Y e L+B+Y não diferiram entre si ($p>0,05$), indicando que *B. animalis* não interferiu no efeito de prevenção do acúmulo de tecido adiposo utilizando-se *L. acidophilus* associado ao yacon.

O diabetes mellitus tipo 2 é desenvolvido à partir de alterações metabólicas que conduzem à resistência à insulina e, com o avançar do quadro, passa a intolerância à glicose e, por fim, DM tipo 2 (SINGH et al., 2008). Essa patologia é caracterizada por hiperglicemia, que favorece a síntese de triacilgliceróis, elevando seus níveis plasmáticos e, conseqüentemente, causando aumento de tecido adiposo, o qual pode culminar com o ganho de peso e obesidade (CNOP et al., 2002). Por outro lado, o excesso de gordura visceral leva ao aumento de produção de citocinas que podem alterar a sinalização da via da insulina, conduzindo à situação de resistência à insulina (BASTARD et al., 2006). Essa interação entre acúmulo de tecido adiposo, glicemia e níveis plasmáticos de triacilgliceróis pode ser observada no presente estudo, uma vez que os grupos tratados com farinha de yacon associada aos iogurtes probióticos apresentaram redução em todas essas variáveis, comparados aos grupos tratados somente com iogurtes probióticos.

Everard et al. (2011) observaram redução do peso de tecido adiposo, incluindo tecido adiposo epididimal, bem como diminuição do conteúdo de lipídeos nos músculos de camundongos *ob/ob* tratados com dieta suplementada com prebiótico (oligofrutose – 0,3 g/animal/dia), por 5 semanas. Os mesmos autores, ao avaliarem camundongos alimentados com dieta rica em gordura e suplementada com prebióticos (oligofrutose - 0,3 g/animal/dia), durante 8 semanas, também constataram redução no índice de adiposidade em relação ao grupo controle, que consumiu somente dieta rica em gordura.

Cani et al. (2007a) observaram redução de tecido adiposo periepididimário, visceral e subcutâneo em camundongos obesos induzidos pela dieta, após consumirem oligofrutose por 14 semanas, o que, segundo os autores, permitiu o crescimento seletivo de bifidobactérias.

Redução no acúmulo de tecido adiposo visceral foi obtida utilizando-se tratamento com dieta suplementada com *Bifidobacterium adolescentis*, em modelo experimental de ratos com síndrome metabólica (CHEN et al., 2011).

Encontra-se bem documentado o fato de que resistência à insulina, característica de obesidade, está associada com alterações de utilização de glicose, diminuição na síntese de glicogênio e aumento da gordura abdominal (KIM et al., 2000).

Entretanto, Naito et al. (2011), ao avaliarem os efeitos da administração oral de *Lactobacillus casei* subsp. *shirota* em ratos com obesidade induzida por dieta rica em gordura, não encontraram redução no peso de tecidos adiposos mesentérico, perirenal e periepididimário

5.6.5 Investigação de proteínas inflamatórias e proteínas envolvidas na via de sinalização da insulina

Proteínas inflamatórias

Os níveis de proteína inflamatória interleucina 1 β (IL-1 β) obtidos a partir da análise de amostras de tecido hepático de camundongos normais e obesos com ou sem tratamentos com probióticos e/ou prebióticos são apresentados na Figura 6.

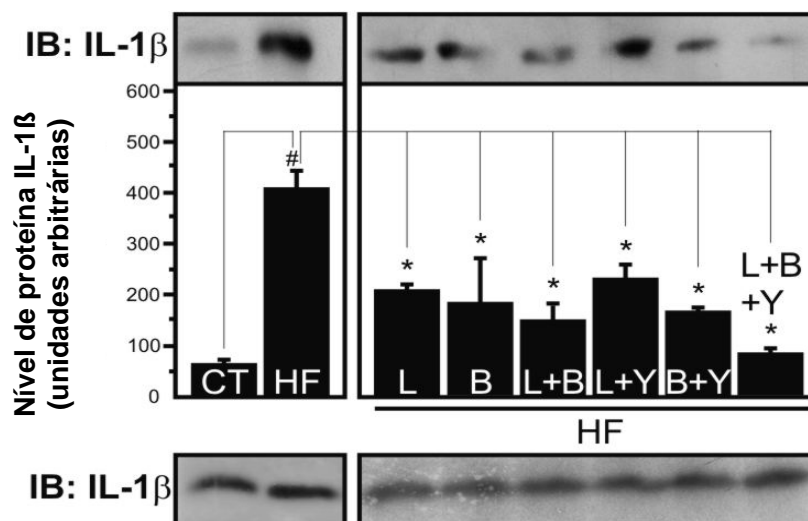


Figura 6 Níveis de proteína inflamatória interleucina 1 β (IL-1 β), em camundongos obesos tratados com probióticos e/ou prebiótico

Legenda: **CT** - controle não obeso; **HF**- controle obeso; **L** - AIN93-M com alto teor de gordura saturada acrescida de iogurte probiótico (*Lactobacillus acidophilus*); **B** - AIN93-M com alto teor de gordura saturada acrescida de iogurte probiótico (*Bifidobacterium animalis*); **L+B** - AIN93-M com alto teor de gordura saturada acrescida de iogurte probiótico (*Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium animalis*); **L+Y** - AIN93-M com alto teor de gordura saturada acrescida de farinha de yacon e iogurte probiótico (*Lactobacillus acidophilus*); **B+Y** - AIN93-M com alto teor de gordura saturada acrescida de farinha de yacon e iogurte probiótico (*Bifidobacterium animalis*); **L+B+Y** - AIN93-M com alto teor de gordura saturada acrescida de farinha de yacon e iogurte probiótico (*Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium animalis*). *p-valor<0,05

Os animais que receberam dieta rica em gordura saturada (HF) apresentaram elevação significativa ($p < 0,05$) nos níveis de IL-1 β , comparados aos animais do grupo controle não obeso (CT), indicando que a obesidade foi estabelecida, a qual é caracterizada por inflamação de baixo grau.

Por outro lado, os níveis da proteína inflamatória IL-1 β foram reduzidos de maneira significativa ($p < 0,05$), em todos os grupos de animais tratados com dieta rica em gordura e iogurtes probióticos contendo *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium animalis*, de forma isolada ou em associação (L, B, L+B), bem como quando os animais receberam estes microrganismos concomitantemente com farinha de yacon (L+Y, B+Y, L+B+Y), comparados ao grupo obeso, que recebeu somente dieta com alto conteúdo de gordura saturada (HF).

Segundo Milanski et al. (2009), os ácidos graxos saturados de cadeia longa ativam predominantemente a sinalização de receptores tipo *toll* 4 (TLR4), que determinam não só a indução da expressão de citocinas locais, mas também promovem o estresse do retículo endoplasmático. Assim, TLR4 atua como alvo molecular predominante para os ácidos graxos saturados no hipotálamo, provocando a rede de sinalização intracelular, que induz uma resposta inflamatória, como confirmado no presente estudo.

Por outro lado, o acúmulo de lipídeos no tecido adiposo e o aumento de gordura corporal levam ao desenvolvimento de um processo inflamatório. Isto pode ser iniciado por meio da produção de citocinas pró-inflamatórias e quimiocinas pelos adipócitos, incluindo fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), interleucina 6 (IL-6), leptina, resistina, proteína quimiotática de monócitos (MCP-1) e inibidor do ativador de plasminogênio - 1 (PAI-1).

Cani et al. (2007a) forneceram oligofrutose a camundongos obesos induzidos pela dieta para que houvesse crescimento seletivo de bifidobactérias por 14 semanas e identificaram que houve bloqueio do aumento nas citocinas

inflamatórias IL-1, PAI-1, TNF α . Esses dados corroboram os do presente estudo, pois, embora alguns grupos tratados com probióticos e/ou farinha de yacon não tenham apresentado menor acúmulo de tecido adiposo neste trabalho, pôde-se perceber redução do processo inflamatório, indicado por IL-1 β , em todos eles.

O tratamento de camundongos obesos por indução de dieta rica em gordura com prebiótico do tipo oligofrutose, por cinco semanas, melhorou a distribuição de proteínas relacionadas à função de barreira intestinal (*zonula occludens* (ZO-1) e *occludin*), bem como a redução de RNAm de marcador inflamatório IL-1 (EVERARD et al., 2011). Além disso, a preservação da função de barreira intestinal se relaciona positivamente com o tratamento com prebiótico, pois este é capaz de estimular o aumento do número de células L do epitélio intestinal que secretam peptídeo semelhante ao glucagon 2 (GLP-2) que, por sua vez, restaura a expressão de proteínas relacionadas à função de barreira intestinal. Dessa forma, ocorre redução dos níveis de LPS plasmáticos e consequente diminuição na ativação de vias envolvidas na síntese de citocinas pró-inflamatórias (CANI; DELZENNE, 2009a).

Em alguns experimentos foi demonstrado que o mecanismo de liberação de peptídeos intestinais poderia ser diretamente dependente da produção de AGCC, após fermentação pela microbiota intestinal. Os autores propuseram que o acetato pode desempenhar um papel crucial neste mecanismo. Curiosamente, a modulação de AGCCs plasmáticos estava relacionada com alterações nos peptídeos intestinais que regulam o apetite, bem como com a redução de marcadores inflamatórios em indivíduos resistentes à insulina (FREELAND; WILSON; WOLEVER, 2010; FREELAND; WOLEVER, 2010).

Todavia, em estudo com humanos que foram submetidos à injeção de lipopolissacarídeo de *Escherichia coli* para causar estado inflamatório, os marcadores deste sistema, como TNF α , IL-6, interleucina 1 receptor antagonista

(IL-1ra) e proteína C reativa (CRP), não foram afetados por tratamento com probiótico *Lactobacillus acidophilus* (ANDREASEN et al., 2010).

Nova et al. (2011), ao trabalharem com adultos saudáveis que consumiram diariamente três comprimidos simbióticos que totalizavam a ingestão de $2,4 \times 10^9$ UFC de microrganismos (*Lactobacillus acidophilus*, *B. animalis* subsp. *lactis*, *Lactobacillus delbrueckii* subs. *bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* e 1,4g de FOS), durante seis semanas, não identificaram diferenças entre os grupos tratados com simbiótico e placebo em relação aos níveis plasmáticos das proteínas inflamatórias proteína C reativa e ceruloplasmina.

Além disso, Axling et al. (2012) não observaram redução nos níveis de proteínas inflamatórias TNF- α e MCP-1, em camundongos alimentados com dieta rica em gordura, quando suplementaram *Lactobacillus plantarum* isoladamente, por 22 semanas. Mas, quando este foi administrado em associação ao chá verde com alto potencial antioxidante puderam constatar diminuição na concentração de tais proteínas inflamatórias.

Compostos fenólicos dietéticos têm sido relacionados à modulação do processo inflamatório por reduzir a atividade do fator nuclear kappa B (NF- κ B) (GUO et al., 2008; HOLE et al., 2009; HOLE et al., 2012; SUR et al., 2008), que é um fator de transcrição envolvido na regulação de genes pró-inflamatórios (BHARTI; AGGARWAL, 2002; ESCARCEGA et al., 2007).

A farinha de yacon utilizada no ensaio *in vivo*, por sua vez, apresentou expressiva atividade antioxidante, o que permite inferir que os compostos fenólicos presentes na mesma poderiam ter auxiliado na diminuição do estresse oxidativo, com consequente redução no nível de IL-1 β .

Além disso, Everard et al. (2011) observaram que o tratamento de camundongos obesos por indução de dieta rica em gordura com prebiótico do tipo oligofrutose reduziu o estresse oxidativo, com redução de cerca de 50% do

teor de peróxido lipídico no tecido adiposo. Os autores ainda observaram que a inflamação de baixo grau também foi diminuída pelo tratamento com prebiótico. Esses dados suportam a ligação entre o estresse oxidativo e os distúrbios metabólicos decorrentes da obesidade.

Proteínas da via de sinalização da insulina

Os níveis de receptor de insulina (IR) e substrato 1 de receptor de insulina (IRS1), sinalizadores da via da insulina, obtidos a partir da análise de amostras do fígado de camundongos normais e obesos com ou sem tratamentos com probióticos e/ou prebióticos, são apresentados nas Figuras 7 e 8, respectivamente.

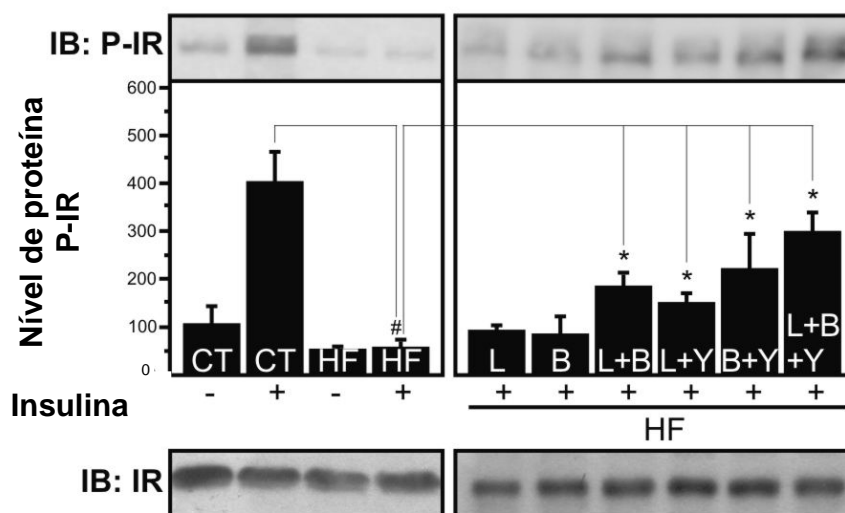


Figura 7 Níveis de receptor de insulina ativado (P-IR) envolvido na sinalização da via da insulina em camundongos normais e obesos, tratados ou não com probióticos e/ou prebiótico

Legenda: (-) não houve aplicação de insulina; (+) houve aplicação de insulina; **CT** - controle não obeso; **HF** - controle obeso; **L** - AIN93-M com alto teor de gordura saturada acrescida de iogurte probiótico (*Lactobacillus acidophilus*); **B** - AIN93-M com alto teor de gordura saturada acrescida de iogurte probiótico (*Bifidobacterium animalis*); **L+B** - AIN93-M com alto teor de gordura saturada acrescida de iogurte probiótico (*Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium animalis*); **L+Y** - AIN93-M com alto teor de gordura saturada acrescida de farinha de yacon e iogurte probiótico (*Lactobacillus acidophilus*); **B+Y** - AIN93-M com alto teor de gordura saturada acrescida de farinha de yacon e iogurte probiótico (*Bifidobacterium animalis*); **L+B+Y** - AIN93-M com alto teor de gordura saturada acrescida de farinha de yacon e iogurte probiótico (*Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium animalis*). *p-valor<0,05

A dieta rica em gordura, que estabelece o quadro de obesidade, impede a transdução do sinal da via insulina, impedindo a fosforilação do receptor de insulina (IR) no resíduo tirosina, o que pode ser constatado na Figura 7, em que os níveis de receptor de insulina ativado (IR-P) do grupo controle não obeso positivo (CT+) se diferenciam do grupo com dieta rica em gordura positivo (HF+), indicando que o modelo de obesidade com resistência à ação da insulina foi alcançado para os animais que receberam dieta rica em gordura saturada.

Os grupos tratados com as dietas contendo iogurte probiótico com a associação de *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium animalis* (L+B), iogurte probiótico com *Lactobacillus acidophilus* e farinha de yacon (L+Y), iogurte probiótico com *Bifidobacterium animalis* e farinha de yacon (B+Y) e iogurte probiótico com a associação de *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium animalis* e farinha de yacon (L+B+Y) apresentaram aumento significativo ($p < 0,05$) do receptor de insulina fosforilado (P-IR), em comparação ao grupo controle obeso (HF), tratado com dieta rica em gordura.

Em relação ao substrato 1 de receptor de insulina (IRS1), os níveis deste componente ativo (P-IRS1), ou seja fosforilado, apresentaram-se elevados de maneira significativa ($p < 0,05$) para os grupos tratados com dieta contendo *Lactobacillus acidophilus* isoladamente (L), *Bifidobacterium animalis* (B) isoladamente, *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium animalis* em associação (L+B) e *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium animalis* e farinha de yacon (L+B+Y), quando comparados ao grupo controle obeso (HF) tratado com dieta rica em gorduras (Figura 8).

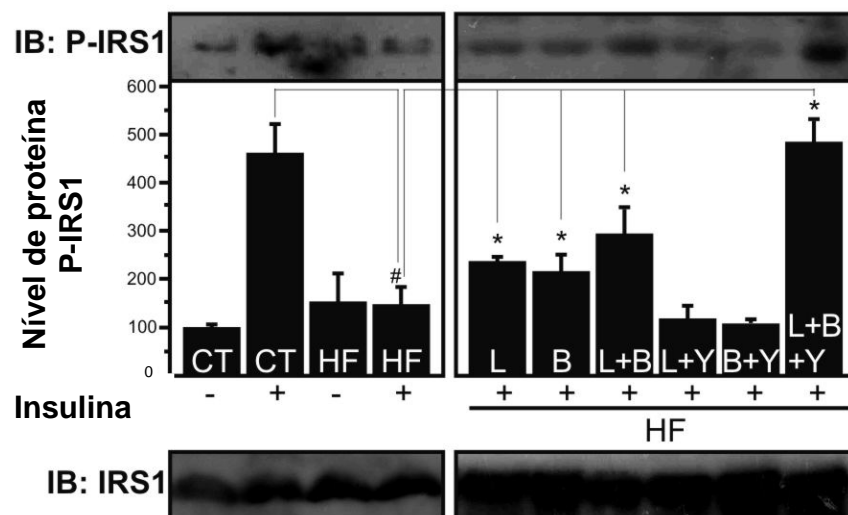


Figura 8 Níveis de substrato 1 de receptor de insulina ativado (P-IRS1) envolvido na sinalização da via da insulina em camundongos normais e obesos tratados ou não com probióticos e/ou prebiótico

Legenda: (-) não houve aplicação de insulina; (+) houve aplicação de insulina; **CT** - controle não obeso; **HF** - controle obeso; **L** - AIN93-M com alto teor de gordura saturada acrescida de iogurte probiótico (*Lactobacillus acidophilus*); **B** - AIN93-M com alto teor de gordura saturada acrescida de iogurte probiótico (*Bifidobacterium animalis*); **L+B** - AIN93-M com alto teor de gordura saturada acrescida de iogurte probiótico (*Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium animalis*); **L+Y** - AIN93-M com alto teor de gordura saturada acrescida de farinha de yacon e iogurte probiótico (*Lactobacillus acidophilus*); **B+Y** - AIN93-M com alto teor de gordura saturada acrescida de farinha de yacon e iogurte probiótico (*Bifidobacterium animalis*); **L+B+Y** - AIN93-M com alto teor de gordura saturada acrescida de farinha de yacon e iogurte probiótico (*Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium animalis*). *p-valor<0,05

Esses dados indicam melhora na resistência à insulina e podem ser relacionados aos resultados de glicemia de jejum deste mesmo estudo, em que o grupo L+B+Y apresentou redução da glicemia após o período de tratamento. Portanto, o consumo *L. acidophilus*, *B. animalis* e farinha de yacon, de forma associada, pode auxiliar na homeostase da glicemia.

Além disso, o grupo L+B também apresentou elevação nos níveis de P-IR e P-IRS1, comparado ao grupo controle obeso (HF) tratado com dieta rica em gorduras, indicando melhoria na rota de sinalização da insulina.

Sabe-se que o acúmulo de macrófagos no tecido adiposo leva à produção de citocinas pró-inflamatórias como o TNF- α , o qual diminui a atividade de tirosina quinase do receptor de insulina e, portanto, pode conduzir à resistência à insulina (HOTAMISLIGIL et al., 1996; WEISBERG et al., 2003).

Por outro lado, segundo alguns autores, a melhora do diabetes mellitus tipo 2 e a sensibilidade à insulina podem ser alcançadas por um mecanismo promotor da síntese e secreção da incretina, peptídeo semelhante ao glucagon 1 (GLP-1) (CANI et al., 2005a; CANI et al., 2006a; HABIB et al., 2011). Tem sido demonstrado que GLP-1 tem importantes efeitos biológicos que incluem a liberação de insulina, inibição de glucagon e somatostatina, bem como manutenção de células β pancreáticas, produtoras de insulina (RANGANATH, 2008).

O estudo de Habib et al. (2011) revelou o elevação do conteúdo de GLP-1 no ceco e aumento de tecido cecal em ratos diabéticos induzidos por estreptozotocina e tratados com farinha de yacon. Esses achados podem ser uma evidência do efeito trófico intestinal de produtos finais da fermentação de FOS do yacon, como os AGCC, principalmente butirato, que serve como combustível para a mucosa intestinal.

Respondek et al. (2011), ao avaliarem o efeito da suplementação dietética com frutoligossacarídeos de cadeia curta em cavalos obesos (45 g/animal/dia), constataram aumento significativo na sensibilidade à insulina, redução na resposta aguda da insulina à glicose e diminuição nos níveis de insulina plasmática de jejum, em comparação com os animais tratados com maltodextrina. Todavia, não observaram efeito sobre as concentrações plasmáticas de glicose, triacilgliceróis e leptina. Esses mesmos tipos de respostas

(glicemia de jejum e triacilgliceróis) foram obtidos no presente estudo para alguns grupos tratados com probióticos e yacon (L+Y e B+Y), bem como para a associação de *L. acidophilus* e *B. animalis* (L+B). Contudo, estes mostraram melhora na fosforilação de ambos, IR e IRS1.

O consumo de prebiótico oligofrutose por 14 semanas melhorou a tolerância à glicose (insulina plasmática) e a secreção de insulina induzida por glicose em camundongos obesos induzidos pela dieta (CANI et al., 2007a).

Adicionalmente, há relatos de que o consumo de prebióticos potencializa a absorção de Ca^{2+} e Mg^{2+} (LOBO et al., 2007), os quais estão envolvidos com o aumento da capacidade de liberação de insulina pelas células β -pancreáticas e o Mg^{2+} , especificamente, tem o papel de cofator de enzimas responsáveis pela fosforilação da glicose, para que esta possa ser metabolizada adequadamente (CINTRA; ROPELLE; PAULI, 2011). Portanto, esses minerais poderiam estar envolvidos com a melhora na sensibilidade à insulina nos animais obesos tratados com farinha de yacon em associação aos iogurtes probióticos.

Chen et al. (2011) constataram melhora na sensibilidade à insulina por elevação na taxa de infusão de glicose e aumento de peso do pâncreas em ratos com síndrome metabólica alimentados com dieta suplementada com *Bifidobacterium adolescentis*.

A administração oral da cepa probiótica, *Lactobacillus casei* subsp. *Shirota*, por cinco semanas, melhorou a resistência à insulina (teste de tolerância à insulina e teste oral de tolerância à glicose), que é a causa subjacente das anormalidades metabólicas associadas à obesidade, em ratos obesos induzidos pela dieta (NAITO et al., 2011).

Além disso, Moroti et al. (2012) constataram redução da glicemia de jejum em indivíduos com diabetes mellitus tipo 2 que consumiram uma mistura simbiótica contendo 10^8 UFC.mL⁻¹ de *Lactobacillus acidophilus*, 10^8 UFC.mL⁻¹ de *Bifidobacterium bifidum* e 2 g de oligofrutose, por 30 dias consecutivos.

Essas informações reforçam o efeito do tratamento associado de *L. acidophilus* e *B. animalis*, que foi capaz de elevar os níveis de P-IR, bem como o efeito destes probióticos, isolados ou de forma conjunta, no aumento dos níveis de P-IRS1.

Ademais, é relatado que estados de hiperglicemia induzem à produção de radicais livres que iniciam uma resposta inflamatória (CALDER et al., 2011). Portanto, uma dieta contendo componentes com atividade antioxidante poderia reduzir o estresse oxidativo, protegendo o fígado de possíveis danos oxidativos (VALENTOVÁ et al., 2006).

Yadav, Jain e Sinha (2007a) avaliaram o efeito antioxidante de dahi, um produto lácteo fermentado tradicional na Índia, contendo *Lactobacillus acidophilus* e *Lactobacillus casei*, sobre a peroxidação lipídica no fígado e no pâncreas de ratos alimentados com dieta rica em frutose e constataram redução de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico e aumento de glutatona reduzida nestes órgãos, indicando o potencial antioxidante deste produto. Dessa forma, os iogurtes contendo probióticos utilizados no presente estudo poderiam ter auxiliado na prevenção do estresse oxidativo.

Além disso, a farinha de yacon utilizada possui expressiva atividade antioxidante, a qual, possivelmente, atuaria de forma a reduzir os danos oxidativos a causados pelo aumento da glicemia em casos de resistência à insulina.

Vários estudos mostram os efeitos de FOS e/ou e microrganismos probióticos na melhoria da homeostase da glicemia por meio da aferição de glicemia de jejum, níveis de insulina plasmática, taxa de infusão de glicose, teste oral de tolerância à glicose, teste de tolerância à insulina, aferição de massa de células beta pancreáticas e níveis de GLP-1, entre outros (ANDREASEN et al., 2010; CANI et al., 2007a; CHEN et al., 2011; RESPONDEK et al., 2011; HABIB et al., 2011; GENTA et al., 2009; MOROTI et al., 2012; NAITO et al.,

2011). No entanto, são escassos trabalhos que identifiquem alterações na via de sinalização da insulina decorrentes da obesidade tratada com probióticos e/ou prebióticos, quantificando os níveis de proteínas envolvidas neste processo.

Neste trabalho, conseguimos identificar o efeito da obesidade sobre a redução na fosforilação de proteínas sinalizadoras da via de insulina como IR e IRS1, bem como os resultados obtidos com os tratamentos com probióticos e/ou prebióticos, melhorando a eficácia da rota de sinalização para controle da homeostase dos níveis glicêmicos.

6 CONCLUSÕES

A farinha de yacon não apresentou alto rendimento, porém, foi identificado elevado teor de fibra alimentar, principalmente de frutanos, bem como expressivo conteúdo de fenólicos totais e potencial antioxidante.

Os iogurtes probióticos apresentaram viabilidade de quatorze dias, mantendo-se até esse período com contagens na ordem de 10^9 UFC. g^{-1} do produto.

As dietas contendo farinha de yacon e iogurtes probióticos foram consumidas em maior quantidade pelos grupos obesos do que dietas somente com iogurtes probióticos, mas, mesmo assim, o grupo tratado com farinha de yacon e iogurte probiótico contendo *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium animalis* apresentou redução de peso em relação ao grupo controle obeso.

Os animais obesos tratados com dieta composta por iogurte com *Bifidobacterium animalis* e farinha de yacon apresentaram redução na concentração plasmática de triacilgliceróis, comparando-se os tempos antes e após tratamento. E todos os tratamentos com farinha de yacon associada aos diferentes tipos de iogurtes probióticos em animais obesos foram mais eficazes para prevenir a elevação da glicemia e triacilgliceridemia, bem como para evitar o acúmulo de tecido gorduroso, comparados aos grupos obesos tratados somente com iogurtes probióticos, confirmando o efeito simbiótico benéfico desses produtos.

Os tratamentos com iogurte contendo *Lactobacillus acidophilus* associado ao yacon, bem como o iogurte com *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium animalis* e farinha de yacon, demonstraram maior potencial em evitar o acúmulo de gordura em tecido adiposo epididimário, comparativamente ao grupo controle obeso.

A dieta rica em gorduras ofertada induziu o aumento de tecido gorduroso, aumentou os níveis de proteína inflamatória e diminuiu as proteínas ativas (fosforiladas) de sinalização da insulina, confirmando o estabelecimento do estado de obesidade.

Todos os animais obesos, tratados com farinha de yacon e/ou iogurtes contendo *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium animalis*, de forma isolada ou concomitante, apresentaram redução nos níveis de proteína inflamatória IL-1 β , comparados ao grupo controle obeso, que recebeu somente dieta rica em gordura, indicando redução da resposta inflamatória relacionada a este parâmetro.

Os animais obesos que consumiram dieta contendo iogurte com *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium animalis* concomitantemente, bem como dieta com iogurte com *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium animalis* e farinha de yacon apresentaram elevação na fosforilação do receptor de insulina (IR) e do substrato 1 de receptor de insulina (IRS1), comparados ao grupo controle obeso, que recebeu dieta rica em gordura, indicando melhoria na via de sinalização de insulina, a qual é prejudicada pelo estado inflamatório decorrente da obesidade.

REFERÊNCIAS

ABEL, E. D. et al. Adipose-selective targeting of the GLUT4 gene impairs insulin action in muscle and liver. **Nature**, London, v. 409, n. 6821, p. 729–733, Feb. 2001.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Alimentos com alegações de propriedades funcionais e ou de saúde, novos alimentos/ingredientes, substâncias bioativas e probióticos**. São Paulo: ANVISA, 2008. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/wps/content/Anvisa+ Portal/Anvisa/Inicio/Alimentos>>. Acesso em: 17 jan. 2013.

ALFARO, M. E.C.; MELGAREJO, S. A. V. **El yacón: una nueva alternativa en la prevención y el tratamiento de la salud**. [S.l: s.n.], 2005. Disponível em: <http://infoagro.net/es/apps/news/record_view.cfm?vsys=a5&id=8641>. Acesso em: 02 ago. 2005.

ALHAJ, O. A. et al. Hypocholesterolaemic effect of *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* (Bb12) and trypsin casein hydrolysate. **Food Chemistry**, London, v. 123, n. 2, p. 430–435, Nov. 2010.

AMAR, J. et al. Intestinal mucosal adherence and translocation of commensal bacteria at the early onset of type 2 diabetes: molecular mechanisms and probiotic treatment. **EMBO Molecular Medicine**, Rockville, v. 3, n. 9, p. 559–572, Sept. 2011.

AN, H. M. et al. Anti-obesity and lipidlowering effects of *Bifidobacterium* spp. in high fat dietinduced obese rats. **Lipids in Health and Disease**, Seoul, v. 10, p. 116, July 2011.

ANDREASEN, A. S. et al. Effects of *Lactobacillus acidophilus* NCFM on insulin sensitivity and the systemic inflammatory response in human subjects. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 104, n. 12, p. 1831–38, Dec. 2010.

ARMONI, M. et al. Free fatty acids repress the GLUT4 gene expression in cardiac muscle via novel response elements. **The Journal of Biological Chemistry**, Bethesda, v. 280, p. 34786–34795, 2005.

ARNAO, I. et al. Potencial antioxidante de 10 accesiones de yacón, *Smallanthus sonchifolius* (Poepp. & Endl.) H. Robinson, procedentes de Cajamarca – Perú. **Anais da Faculdade de Medicina**, Peru, v. 72, n. 4, p. 239-43, 2011.

ARONSSON, L. et al. Decreased fat storage by *Lactobacillus paracasei* is associated with increased levels of angiopoietin-like 4 protein (ANGPTL4). **PLoS One**, Sweden, v. 5, n. 9, p. 13087, Sept. 2010.

ARTISS, J. D. et al. The effects of a new soluble dietary fiber on weight gain and selected blood parameters in rats. **Metabolism**, Roma, v. 55, n. 2, p. 195–202, Feb. 2006.

ARUNACHALAM, K. D. Role of bifidobacteria in nutrition, medicine and technology. **Nutrition Research**, Tarrytown, v. 19, n. 10, p. 1559-1597, Oct. 1999.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis of the AOAC International**. 17.ed. Virginia: AOAC, 2000.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis of the Association**. 12. ed. Washington: AOAC, 1990.

AXLING, U. et al. Green tea powder and *Lactobacillus plantarum* affect gut microbiota, lipid metabolism and inflammation in high-fat fed C57BL/6J mice. **Nutrition & Metabolism**, Basel, v. 9, n. 1, p. 105, Nov. 2012.

AZORÍN-ORTUÑO, M. et al. Effect of low inulin doses with different polymerisation degree on lipid metabolism, mineral absorption, and intestinal microbiota in rats with fat-supplemented diet. **Food Chemistry**, London, v. 113, n. 4, p. 1058–1065, Apr. 2009.

BACKHED, F. et al. The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States**, Washington, v. 101, p. 15718–15723, 2004.

BALAMURUGAN, R. et al. Quantitative differences in intestinal *Faecalibacterium prausnitzii* in obese Indian children. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 103, p. 335–38, Dec. 2010.

BASSAGANYA-RIERA, J.; HONTECILLAS, A. Dietary conjugated linoleic acid and n-3 polyunsaturated fatty acids in inflammatory bowel disease. **Current Opinion in Clinical Nutrition**, Virginia, v. 13, p. 569–573, 2010.

BASTARD, J. P. et al. Recent advances in the relationship between obesity, inflammation, and insulin resistance. **European Cytokine Network**, Health, v. 17, n. 1, p. 4–12, Mar. 2006.

BELURY, M. A. Dietary conjugated linoleic acid in health: physiological effects and mechanisms of action. **Annual Review Nutrition**, London, v. 22, p. 505–531, 2002.

BEZKOROVAINY, A. Probiotics: determinants of survival and growth in the gut. **American Journal of Clinical Nutrition**, New York, v. 73, n. 2, p. 399-405, Feb. 2001.

BHARTI, A. C.; AGGARWAL, B. B. Nuclear factor-kappa B and cancer: its role in prevention and therapy. **Biochemical Pharmacology**, New York, v. 64, p. 883–888, 2002.

BIANCHI, M. L. P.; ANTUNES, L. M. G. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 12, n. 2, p. 123-130, maio/ago. 1999.

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

BIEDRZYCKA, E.; BIELECKA, M. Prebiotic effectiveness of fructans of different degrees of polymerization. **Trends Food Science Technology**, Amsterdam, v. 15, n. 3, p. 170-175, Mar./Apr. 2004.

BLAUT, M.; BISCHOFF, S.C. Probiotics and obesity. **Annals of Nutrition And Metabolism**, Basel, v. 57, n. 1, p. 20–23, 2010. Suplemento.

BOESTEN, R. J.; VOS, W. M. de. Interactomics in the human intestine: *Lactobacilli* and *Bifidobacteria* make a difference. **Journal of Clinical Gastroenterology**, New York, v. 42, n. 3, p. 163–167, 2008. Suplemento.

BOESTEN, R. J.; SCHUREN, F. H.; VOS, W. M. A de. *Bifidobacterium* mixed-species microarray for high resolution discrimination between intestinal bifidobacteria. **Journal of Microbiological Methods**, Amsterdam, v. 76, p. 269–77, 2009.

BOEVER, P. de; DEPLANCKE, B.; VERSTRAETE, W. Fermentation by gut microbiota cultured in a Simulator of the human intestinal microbial ecosystem is improved by supplementing a soygerm powder. **American Journal of Clinical Nutrition**, New York, v. 130, n. 10, p. 2599-2606, Oct. 2000.

BOUGNOUX, P. et al. Fatty acids and breast cancer: sensitization to treatments and prevention of metastatic re-growth. **Progress in Lipid Research**, Oxford, v. 49, n. 1, p. 76–86, Jan. 2010.

BOUHNIK, Y. et al. Effects of fructo-oligosaccharides ingestion on fecal bifidobacteria and selected metabolic indexes of colon carcinogenesis in healthy humans. **Nutrition and Cancer**, Paris, v. 26, n. 1, p. 21–29, 1996.

BOUHNIK, Y. et al. Four-week short chain fructo-oligosaccharides ingestion leads to increasing fecal bifidobacteria and cholesterol excretion in healthy elderly volunteers. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 6, n. 42, p. 42-46, Dec. 2007.

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

BOYLE, F. G. et al. Safety evaluation of oligofructose: 13 week rat study and in vitro mutagenicity. **Food and Chemical Toxicology**, Oxford, v. 46, p. 3132–3139, July 2008.

BOYLE, R. J.; ROBINS-BROWNE, R. M.; TANG, M. L. K. Probiotic use in clinical practice: what are the risks? **American Journal of Clinical Nutrition**, New York, v. 83, n. 6, p. 1256-1264, June 2006.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Padrões de identidade e qualidade de leites fermentados. Resolução nº5, de 13 de novembro de 2000. **Diário Oficial da União**, Brasília, 27 nov. 2000. Seção I, p. 9.

BRUGMAN, S. et al. Antibiotic treatment partially protects against type 1 diabetes in the Bio-Breeding diabetes-prone rat; is the gut flora involved in the developmet of type 1 diabetes? **Diabetologia**, New York, v. 50, n. 1, p. 220–221, Jan. 2007.

BRUN, P. et al. Increased intestinal permeability in obese mice: new evidence in the pathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis. **American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology**, Pádova, v. 292, n. 2, G518–G525, Feb. 2007.

BURITI, F. C. A. et al. Synbiotic potential of fresh cream cheese supplemented with inulin and *Lactobacillus paracasei* in co-culture with *Streptococcus thermophilus*. **Food Chemistry**, London, v. 104, n. 4, p. 1605–1610, 2007.

CALDER, P. C. et al. Dietary factors and low-grade inflammation in relation to overweight and obesity. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 106, n. 3, p. 18-28, Dec. 2011. Supplemento.

CAMPOS, D. et al. Prebiotic effects of yacon (*Smallanthus sonchifolius* poepp. & Endl), a source of fructooligosaccharides and phenolic compounds with antioxidant activity. **Food Chemistry**, London, v. 135, v. 3, p. 1592–1599, Dec. 2012.

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

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

CANI, P. D. et al. Dietary non-digestible carbohydrates promote L-cell differentiation in the proximal colon of rats. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 98, p. 32–37, Jan. 2007c.

CANI, P. D. et al. Gut microbiota fermentation of prebiotics increases satietogenic and incretin gut peptide production with consequences for appetite sensation and glucose response after a meal. **American Journal of Clinical Nutrition**, New York, v. 90, p. 1236–1243, Sept. 2009b.

CANI, P. D. et al. Improvement of glucose tolerance and hepatic insulin sensitivity by oligofructose requires a functional glucagon-like peptide 1 receptor. **Diabetes**, New York, v. 55, p. 1484–1490, May 2006a.

CANI, P. D. et al. Involvement of endogenous glucagon-like peptide-1(7–36) amide on glycaemia-lowering effect of oligofructose in streptozotocin-treated rats. **The Journal of Endocrinology**, Bristol, v.185 n. 3, p. 457–465, 2005c.

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

CANI, P. D. et al. Oligofructose promotes satiety in healthy human: a pilot study. **European Journal of Clinical Nutrition**, London, v. 60, p. 567–572, 2006b.

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

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

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

CANI, P. D.; DELZENNE, N. M. Interplay between obesity and associated metabolic disorders: new insights into the gut microbiota. **Current Opinion in Pharmacology**, London, v. 9, n. 6, p. 737–743, Dec. 2009a.

CANI, P. D.; DEWEVER, C.; DELZENNET, N. M. Inulin-type fructans modulate gastrointestinal peptides involved in appetite regulation (glucagon-like peptide-1 and ghrelin) in rats. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 92, p. 521–526, May 2004.

CASTRO, A. et al. Antioxidants in yacon products and effect of long term storage. **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**, Campinas, v. 32, n. 3, p. 432-435, jul./set. 2012.

CHAMPE, P. C.; HARVEY, R. A; FERRIER, D. R. **Bioquímica ilustrada**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2009.

CHARTERIS, W. P. et al. Ingredient selection criteria for probiotic microorganisms in functional dairy foods. **International Journal of Dairy Technology**, Huntingdon, v. 51, n.4, p. 123-136, May/June 1998.

CHEN, J. J. et al. Bifidobacterium longum supplementation improved high-fat-fed-induced metabolic syndrome and promoted intestinal Reg-I gene expression. **Experimental biology and medicine**, Maywood, v. 236, n. 7, p. 823–831, July 2011.

CINTRA, D. E. et al. Interleukin-10 is a protective factor against diet-induced insulin resistance in liver. **Journal of Hepatology**, Oxfordshire, v. 48, n. 4, p. 628-37, Apr. 2008.

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

CNOP, M. et al. Relationship of adiponectin to body fat distribution, insulin sensitivity and plasma lipoproteins: evidence for independent roles of age and sex. **Diabetologia**, New York, v. 46, n. 4, p. 459-469, Apr. 2003.

COLLADO, M. C. et al. The impact of probiotic on gut health. **Current Drug Metabolism**, Valência, v. 10, 68-78, 2009.

COLLINS, J. K.; THORNTON, G.; SULLIVAN, G. O. Selection of probiotic strains for human applications. **International Dairy Journal**, Barking, v.8, n. 5-6, p. 487-490, 1998.

CONROY, K. P.; DAVIDSON, I. M.; WARNOCK, M. Pathogenic obesity and nutraceuticals. **Proceedings of the Nutrition Society**, Cambridge, v. 70, n. 4, p. 426-438, Nov. 2011.

CREMONINI, F. et al. Meta-analysis: the effect of probiotic administration on antibiotic-associated diarrhoea. **Alimentary Pharmacology & Therapeutics**, Washington, v. 16, n. 8, p. 1461-1467, Aug. 2002.

CUMMINGS, J. H.; MACFARLANE, G. T.; ENGLYST, H. N. Prebiotic digestion and fermentation. **American Journal of Clinical Nutrition**, New York, v. 73, n. 2, p. 415-420, Feb. 2001.

CURI, R. **Entendendo a gordura: os ácidos graxos**. Barueri: Manole, 2002.

DANDONA, P. et al. Macronutrient intake induces oxidative and inflammatory stress: potential relevance to atherosclerosis and insulin resistance. **Experimental & Molecular Medicine**, Amsterdam, v. 42, n. 4, p. 245-253, Apr. 2010.

DASU, M. R. et al. High glucose induced Tolllike receptor expression in human monocytes. **Diabetes**, New York, v. 57, n. 11, p. 3090-3098, July 2008.

- DAUBIOUL, C. A. et al. Dietary oligofructose lessens hepatic steatosis, but does not prevent hypertriglyceridemia in obese Zucker rats. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 130, n. 5, p. 1314–1319, May 2000.
- DAUBIOUL, C. et al. Dietary fructans, but not cellulose, decrease triglyceride accumulation in the liver of obese Zucker fa/fa rats. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 132, n. 5, p. 967–973, May 2002.
- DAVE, R. I.; SHAH, N. P. Viability of yogurt and probiotic, in yogurt made from commercial starter cultures. **International Dairy Journal**, Barking, v. 7, n. 1, p. 31-41, 1997.
- DAVIDSON, M. H.; MAKI, K. C. Effects of dietary inulin on serum lipids. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 129, n. 7, p. 1474–1477, July 1999.
- DE LA SERRE, C. B. et al. Propensity to high-fat diet-induced obesity in rats is associated with changes in the gut microbiota and gut inflammation. **American Journal of Physiology. Gastrointestinal and Liver physiology**, Bethesda, v. 299, n. 2, p. 440–448, Aug. 2010.
- DELZENNE, N. M. et al. Inulin and oligofructose modulate lipid metabolism in animals: review of biochemical events and future prospects. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 87, suppl. 2, p. 255–259, 2002.
- DELZENNE, N. M. et al. Targeting gut microbiota in obesity: effects of prebiotics and probiotics. **Nature Reviews**, London, v. 7, p. 639–646, Nov. 2011.
- DELZENNE, N. M.; CANI, P. D. Gut microflora is a key player in host energy homeostasis. **Médecine Sciences**, Paris, v. 24, n. 5, p. 505–510, May 2008.
- DELZENNE, N. M.; CANI, P. D. Interaction Between Obesity and the Gut Microbiota: relevance in nutrition. **Annual Review of Nutrition**, Louvain, v. 31, p. 15-31, Aug. 2011.
- DELZENNE, N. M.; WILLIAMS, C. M. Prebiotics and lipid metabolism. **Current Opinion in Lipidology**, London, v. 13, n. 2, p. 61-67, Feb. 2002.
- DELZENNE, N. M.; WILLIAMS, C. M. Prebiotics and lipid metabolism. **Current Opinion in Lipidology**, London, v. 13, n. 1, p. 61–67, Feb. 2002.

DEOPURKAR, R. et al. Differential effects of cream, glucose, and orange juice on inflammation, endotoxin, and the expression of Toll-like receptor-4 and suppressor of cytokine signaling-3. **Diabetes Care**, Alexandria, v. 33, n. 5, p. 991–997, May 2010.

DEPEINT, F. et al. Prebiotic evaluation of a novel galactooligosaccharide mixture produced by the enzymatic activity of *Bifidobacterium bifidum* NCIMB 41171, in healthy humans: a randomized, double-blind, crossover, placebo-controlled intervention study. **American Journal of Clinical Nutrition**, New York, v. 87, n. 3, p. 785–791, Mar. 2008.

DING, S.; LUND, P. K. Role of intestinal inflammation as an early event in obesity and insulin resistance. **Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care**, London, v. 14, n. 4, p. 328–333, July 2011.

DIRAISON, F.; MOULIN, P.; BEYLOT, M. Contribution of hepatic de novo lipogenesis and reesterification of plasma non esterified fatty acids to plasma triglyceride synthesis during non-alcoholic fatty liver disease. **Diabetes & Metabolism**, Chichester, v. 29, n. 5, p. 478–485, Nov. 2003.

DONKOR, O. N. et al. Effect of acidification on the activity of probiotics in yoghurt during cold storage. **International Dairy Journal**, Barking, v. 16, n. 10, p. 1181–1189, 2006.

DONKOR, O. N.; TSANGALIS, D.; SHAH, N. P. Viability of probiotic bacteria and concentrations of organic acids in commercial yoghurts during refrigerated storage. **Food Australia**, North Sydney, v. 59, n. 4, p. 121–126, Apr. 2007.

ERRIDGE, C. The capacity of food stuffs to induce innate immune activation of human monocytes in vitro is dependent on food content of stimulants of Toll-like receptors 2 and 4. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 105, n. 1, p. 15–23, Jan. 2011.

ESCARCEGA, R. O. et al. The transcription factor nuclear factor-kappa B and cancer. **Clinical Oncology**, London, v. 19, n. 2, p. 154–161, 2007.

ESPÍRITO SANTO, A. P. et al. Influence of food matrices on probiotic viability - A review focusing on the fruity bases. **Trends in Food Science & Technology**, Cambridge, v. 22, n. 7, p. 377–385, July 2011.

EVERARD, A. et al. Responses of gut microbiota and glucose and lipid metabolism to prebiotics in genetic obese and diet-induced leptin-resistant mice. **Diabetes**, New York, v. 60, p. 128-139, Nov. 2011.

EWASCHUK, J. et al. Probiotic bacteria prevent hepatic damage and maintain colonic barrier function in a mouse model of sepsis. **Hepatology**, Baltimore, v. 46, n. 3, p. 841–850, Mar. 2007.

FANTUZZI, G. Adipose tissue, adipokines, and inflammation. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, Saint Louis, v. 115, n. 5, p. 911–919, May 2005.

FATANI, S. et al. Effects of diet-induced obesity on protein expression in insulin signaling pathways of skeletal muscle in male Wistar rats. **International Journal of General Medicine**, Baltimore, v. 5, p. 573- 582, July 2012.

FERNÁNDEZ, E.C. et al. Yacon [*Smilax sonchifolius* (Poeppig & Endlicher). H. Robinson]: a new crop in the Central Europe. **Plant Soil and Environment**, Slezská, v. 52, n. 12, p. 564–570, 2006.

FERREIRA, C. L. L. F. Grupo de bactérias lácticas: caracterização tecnológica e aplicação de bactérias probióticas. In: FERREIRA, C. L. L. F. (Ed.). **Prebióticos e probióticos: atualização e prospecção**. Viçosa: Célia L. L. Ferreira, 2003. Cap.1, p. 7-33.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, dez. 2011.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS AND WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Guidelines for the evaluation of probiotics in food: report of a Joint FAO/WHO working group**. London: FAO, 2002.

FOOKS, L. J.; FULLER, R.; GIBSON, G. R. Prebiotics, probiotics and human gut microbiology. **International Dairy Journal**, Barking, v. 9, n. 1, p. 53-61, jan. 1999.

FRANCO, B. M.; LANDGRAF, M.; DESTRO, M. T. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2005.

FREELAND, K. R.; WILSON, C.; WOLEVER, T. M. Adaptation of colonic fermentation and glucagon-like peptide-1 secretion with increased wheat fibre intake for 1 year in hyperinsulinaemic human subjects. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 103, n. 1, p. 82–90, Jan. 2010.

FREELAND, K. R.; WOLEVER, T. M. Acute effects of intravenous and rectal acetate on glucagon-like peptide-1, peptide YY, ghrelin, adiponectin and tumour necrosis factor-alpha. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 103, n. 3, p. 460–66, Feb. 2010.

FREITAS, D. G. C.; JACKIX, M. N. H. Efeito de Bebida Adicionada de Frutoligossacarídeo e Pectina no Nível de Colesterol e Estimulação de Bifidobactérias em Hamsters Hipercolesterolêmicos. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 8, n. 1, p. 81-86, 2005.

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**, New York, v. 59, n. 12, p. 3049–57, Dec. 2010.

GAO, Z. et al. Butyrate improves insulin sensitivity and increases energy expenditure in mice. **Diabetes**, New York, v. 58, p. 1509–1517, July 2009.

GAREAU, M.; SHERMAN, P.; WALKER, W. Probiotics and the gut microbiota in intestinal health and disease. **Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology**, Carlton, v. 7, n. 1, p. 503-514, 2010.

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

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

GIBSON, G. R. et al. Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 69, n. 5, p. 1401–1412, Dec. 1994.

GIBSON, G. R.; FULLER, R. Aspects of in vitro and in vivo research approaches directed toward identifying probiotics and prebiotics for human use. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 130, n. 2, p. S391-S395, 2000.

GIBSON, G. R.; ROBERFROID, M. **Handbook of prebiotics**. Brussels: Boca Raton, 2008.

GILLILAND, S. E.; WALKER, D. K. Factors to Consider When Selecting a Culture of *Lactobacillus acidophilus* as a Dietary Adjunct to Produce a Hypocholesterolemic Effect in Humans. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 73, n. 4, p. 905–911, Apr. 1990.

GIUGLIANO, R.; CARNEIRO, E. C. Fatores associados à obesidade em escolares. **Jornal de Pediatria**, Rio de Janeiro, v. 80, n. 1, p. 17-22, 2004.

GOPAL, A.; SHAH, N. P.; ROGINSKI, H. Bile tolerance, taurocholate and cholesterol removal by *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium spp.* **Milchwissenschaft**, Munchen, v. 51, n. 11, p. 619–622, 1996.

GORISSEN, L. et al. Production of conjugated linoleic acid and conjugated linolenic acid isomers by *Bifidobacterium* species. **Applied Microbiology and Biotechnology**, Berlin, v. 87, n. 1, p. 2257–2266, 2010.

GRABITSKE, H. A.; SLAVIN, J. L. Gastrointestinal effects of low-digestible carbohydrates. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v. 49, n. 4, p. 327–360, 2009.

GRAU, A.; REA, J. Yacon. *Smallanthus sonchifolius* (Poep. & Endl.) H. Robinson. In: HERMANN, M.; HELLER, J. (Ed.). **Andean roots and tubers: ahipa, arracacha, maca and Yacon: promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops**. Rome: Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research, 1997. p. 199-242. Disponível em: <<http://www.cipotato.org/market/ARTChermann/yacon.pdf>>. Acesso em: 04 nov. 2005.

GRIFFITHS, E. A. et al. In vivo effects of bifidobacteria and lactoferrin on gut endotoxin concentration and mucosal immunity in Balb/c mice. **Digestive Diseases and Sciences**, New York, v. 49, p. 579–589, 2004.

GUARNER, F. Studies with inulin-type fructans on intestinal infections, permeability, and inflammation. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 137, n. 11, p. 2568–2571, Nov. 2007.

GUIGOZ Y. et al. Effects of oligosaccharide on the faecal flora and non-specific immune system in elderly people. **Nutrition Research**, Tarrytown, v. 22, n. 1, p. 13–25, 2002.

GUO, W. et al. Avenanthramides, polyphenols from oats, inhibit IL-1 beta-induced NF-kappa B activation in endothelial cells. **Free Radical Biology and Medicine**, New York, v. 44, p. 415–429, 2008.

HABIB, N. C. et al. Hypolipidemic effect of *Smallanthus sonchifolius* (yacon) roots on diabetic rats: Biochemical approach. **Chemico-Biological Interactions**, Limerick, v. 194, n. 1, p. 31–39, Oct. 2011.

HARTEMINK, R.; VANLAERE, K. M. J.; ROMBOOTS, F. M. Growth of enterobacteria on fructo-oligosaccharides. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v. 383, n. 3, p. 367-374, 1997.

HERBAL GUIDES. **Anonymous**. [S.l: s.n.], 2010. Disponível em: <<http://herbalguides.com/guides/yacon>. 9.6.2010>. Acesso em: 05 ago. 2011.

HERMANN, M.; FREIRE, I.; PAZOS, C. Compositional diversity of the yacon storage root. In: IMPACT on a changing world: program report 1997-98. Perú: International Potato Center, 1999. p. 425-432. Disponível em: <http://www.cipotato.org/publications/program_reports/97_98/51yacon.pdf>. Acesso em: 08 jul. 2010.

HESS, J. R. et al. Effects of short-chain fructooligosaccharides on satiety responses in healthy men and women. **Appetite: determinants and consequences of eating and drinking**, London, v. 56, p. 128–134, 2011.

HILDEBRANDT, M. A. et al. High fat diet determines the composition of the murine gut microbiome independently of obesity. **Gastroenterology**, Philadelphia, v. 137, n. 5, p. 1716–1724, 2009.

HOEHN, K. L. et al. Insulin resistance is a cellular antioxidant defense mechanism. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, Washington, v. 106, n. 42, p. 17787–17792, Oct. 2009.

HOLE, A. S. et al. Activation and inhibition of nuclear factor kappa b activity by cereal extracts: Role of dietary phenolic acids. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 57, n. 20, p. 9481–9488, 2009.

HOLE, A. S. et al. Synergistic and suppressive effects of dietary phenolic acids and other phytochemicals from cereal extracts on nuclear factor kappa B activity. **Food Chemistry**, London, v. 133, n. 3, p. 969–977, Aug. 2012.

HOTAMISLIGIL, G. S. et al. IRS-1-mediated inhibition of insulin receptor tyrosine kinase activity in TNF- α - and obesity-induced insulin resistance. **Science**, London, v. 271, n. 5249, p. 665–668, Feb. 1996.

HOTAMISLIGIL, G. S. Inflammatory pathways and insulin action. **International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders**, London, Bethesda, v. 27, n. 3, 53–55, Dec. 2003. Suplemento.

HUANG, Y.; ZHENG, Y. The probiotic *Lactobacillus acidophilus* reduces cholesterol absorption through the down-regulation of Niemann-Pick C1-like 1 in Caco-2 cells. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 103, v. 473–478, Feb. 2010.

IACONO, A. et al. Probiotics as an emerging therapeutic strategy to treat NAFLD: focus on molecular and biochemical mechanisms. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, Stoneham, v. 22, n. 8, p. 699–711, Aug. 2011.

IBRAHIM, S. A.; BEZKOROVAINY, A. Growth-promoting factors for *Bifidobacterium longum*. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 59, n. 1, p. 189–191, Aug. 1994.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Pesquisa de orçamentos familiares 2002-2003: análise da disponibilidade domiciliar de alimentos e estado nutricional no Brasil**. Rio de Janeiro: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2004.

ISHIZUKA, A. et al. Effects of administration of *bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* GCL2505 on defecation frequency and bifidobacterial microbiota composition in humans. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, Osaka, v. 113, n. 5, p. 587–591, 2012.

ISOLAURI, E. et al. Probiotics in the management of atopic eczema. **Clinical & Experimental Allergy**, Oxford, v. 30, n. 11, p. 1604–1610, Nov. 2000.

ITAYA, N. M.; CARVALHO, M. A. M. de; FIGUEIREDO-RIBEIRO, R. D. L. Fructosyl transferase and hydrolase activities in rhizophores and tuberous roots upon growth of *Polymnia sonchifolia* (Asteraceae). **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 116, p. 451–459, 2002.

JÁUREGUI, A. M. M. et al. Evaluación de la capacidad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos en recursos vegetales promisorios. **Revista de la Sociedad Química del Perú**, Lima, v. 73, n. 3, p. 142–149, Jul./Set. 2007.

JENKINS, D. J.; KENDALL, C. W.; VUKSAN, V. Inulin, oligofructose and intestinal function. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 129, n. 7, p. S1431–S1433, 1999.

JI, Y.; SAKATA, Y.; TSO, P. Nutrient-induced inflammation in the intestine. **Current Opinion in Clinical Nutrition**, Ohio, v. 14, n. 4, p. 315–321, July 2011.

JUNTUNEN, K. S. et al. Postprandial glucose, insulin, and incretin responses to grain products in healthy subjects. **American Journal of Clinical Nutrition**, New York, v. 75, n. 2, p. 254–262, Feb. 2002.

JUSKIEWICZ, J. et al. Performance and gastrointestinal tract metabolism of turkeys fed diets with different contents of fructooligosaccharides. **Poultry Science**, London, v. 85, p. 886–891, 2006.

KADOOKA, Y. et al. Regulation of abdominal adiposity by probiotics (*Lactobacillus grasseri* SBT2055) in adults of obese tendencies in a randomized controlled trial. **European Journal of Clinical Nutrition**, London, v. 64, n. 6, p. 636–643, June 2010.

KAILASAPATHY, K. Microencapsulation of probiotic bacteria: technology and potential applications. **Current Issues in Intestinal Microbiology**, Champaign, v. 3, n. 2, p. 39–48, Sept. 2002.

KALLIOMAKI, M. et al. Early differences in fecal microbiota composition in children may predict overweight. **American Journal of Clinical Nutrition**, New York, v. 87, n. 3, p. 534–538, Mar. 2008.

KANDA, H. et al. MCP-1 contributes to macrophage infiltration into adipose tissue, insulin resistance, and hepatic steatosis in obesity. **Journal Of Clinical Investigation**, New York, v. 116, n. 6, p. 1494–1505, 2006.

KANG, J. H.; YUN, S. I.; PARK, H. O. Effects of *Lactobacillus gasseri* BNR17 on body weight and adipose tissue mass in diet-induced overweight rats. **Journal of Microbiology**, Korea, v. 48, n. 5, p. 712–714, Oct. 2010.

KAUR, N.; GUPTA, A. K. Applications of inulin and oligofructose in health and nutrition. **Journal of Bioscience**, Oxford, v. 27 n. 7, p. 703–714, Dec. 2002.

KEENAN, M. J. et al. Effects of resistant starch, a non-digestible fermentable fiber, on reducing body fat. **Obesity Research**, Silver Spring, v. 14, n. 9, p. 1523–1534, Sept. 2006.

KENDALL, C. W. et al. Nuts, metabolic syndrome and diabetes. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 104, n. 4, p. 465–473, 2010.

KENNEDY, A. et al. Antiobesity mechanisms of action of conjugated linoleic acid. **Journal of Nutritional Biochemistry**, Stoneham, v. 21, n. 3, p. 171–179, Mar. 2010.

KIM, J. K. et al. Redistribution of substrates to adipose tissue promotes obesity in mice with selective insulin resistance in muscle. v. 105, n. 12. **Journal of Clinical Investigation**, New York, v. 105, n. 12, p. 1791–1797, 2000.

KIRJAVAINEN, P. V. et al. Aberrant composition of gut microbiota of allergic infants: a target of bifidobacterial therapy at weaning? **Gut**, London, v. 51, n. 1, p. 51–55, July 2002.

KLAVER, F. A.; VAN DER MEER, R. The assumed assimilation of cholesterol by Lactobacilli and Bifidobacterium bifidum is due to their bile salt-deconjugating activity. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 59, n. 4, p. 1120–1124, Apr. 1993.

KLEESSEN, B. et al. Jerusalem artichoke and chicory inulin in bakery products affect faecal microbiota of healthy volunteers 2. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 98, n. 3, p. 540–549, Sept. 2007.

KLEIN, A. et al. *Lactobacillus acidophilus* 74-2 and *Bifidobacterium animalis* subsp DGCC 420 modulate unspecific cellular immune response in healthy adults. **European Journal of Clinical Nutrition**, London, v. 62, n. 5, p. 584–593, May 2008.

KLIGLER, B.; COHRSEN, A. Probiotics. **American Family Physician**, Kansas City, v. 78, n. 9, p. 1073–1078, Nov. 2008.

KOK, N. N.; TAPER, H. S.; DELZENNE, N. M. Oligofructose modulates lipid metabolism alterations induced by a fat-rich diet in rats. **Journal of Applied Toxicology**, Chichester, v. 18, n. 1, p. 47–53, May 1998.

KUMAR, M. et al. A probiotic fermented milk prepared by mixed culture combination reduces pathogen shedding and alleviates disease signs in rats challenged with pathogens. **International Journal of Probiotics & Prebiotics**, New Orleans, v. 4, p. 211–218, 2009b.

KUMAR, M. et al. Anticarcinogenic effect of probiotic fermented milk and Chlorophyllin on aflatoxin-B1 induced liver carcinogenesis in rats. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 10, n. 7, p. 1006–1016, Apr. 2011a.

KUMAR, M. et al. Cancer-preventing attributes of probiotics: an update. **International Journal Food Sciences and Nutrition**, Abingdon, v. 61, n. 5, p. 473–496, Aug. 2010.

KUMAR, M. et al. Effect of probiotic fermented milk and chlorophyllin on gene expressions and genotoxicity during AFB1-induced hepatocellular carcinoma. **Gene: an international journal on genes, genomes and evolution**, Amsterdam, v. 490, n. 1-2, p. 54–59, Dec. 2011b.

KUMAR, M. et al. Health-promoting probiotic functional foods: potential and prospects. **Agro Food Ind Hi-Tech**, Milano, v. 20, p. 29–33, 2009a.

KVIETYS, P. R. et al. Jejunal mucosal injury and restitution: role of hydrolytic products of food digestion. **American Journal of Physiology**, Baltimore, v. 261, n. 3, p. 384-391, Sept. 1991.

LAAKE, K. O. et al. Influence of fermented milk on clinical state, fecal bacterial counts and biochemical characteristics in patients with ileal- pouch- anal-anastomosis. **Microbial Ecology in Health And Disease**, Oslo, v. 11, p. 211–217, 1999.

LACHMAN, J. et al. Content of polyphenolic antioxidants and phenolic acids in selected parts of yacon [*Smallanthus sonchifolius* (poepp. Et endl.) H. Robinson]. **Scientia Agriculturae Bohemica**, Prague, v. 36, n. 2, p. 49-55, 2005.

LACHMAN, J. et al. Total phenolic content of yacon (*Smallanthus sonchifolius*) rhizomes, leaves, and roots affected by genotype, **New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science**, Wellington, v. 35, n. 1, p. 117-123, Jan. 2007.

LACHMAN, J.; FERNÁNDEZ, E. C.; ORSÁK, M. Yacon [*Smallanthus sonchifolia* (Poepp. et Endl.) H. Robinson] chemical composition and use: a review. **Plant Soil and Environment**, Slezská, v. 49, n. 6, p. 283–290, 2003.

LACHMAN, L. et al. Saccharides of yacon [*Smallanthus sonchifolius* (Poepp. et Endl.) H. Robinson] tubers and rhizomes and factors affecting their content. **Plant Soil and Environment**, Slezská, v. 50, n. 9, p. 383-390, 2004.

LAGO, F. et al. Adipokines as emerging mediators of immune response and inflammation. **Nature Clinical Practice Rheumatology**, Santiago, v. 3, n. 12, p. 716–724, Sept. 2007.

LARKIN, T. A.; ASTHEIMER, L. B.; PRICE, W. E. Dietary combination of soy with a probiotic or prebiotic food significantly reduces total and LDLcholesterol in mildly hypercholesterolaemic subjects. **European Journal of Clinical Nutrition**, London, v. 63, n. 2, p. 238–245, 2009.

LARON, Z. Insulin and the brain. **Archives of Physiology and Biochemistry**, Lisse, v. 115, n. 2, p. 112–116, May 2009.

LARSEN, C. N. et al. Dose–response study of probiotic bacteria *Bifidobacterium animalis* subsp *lactis* BB-12 and *Lactobacillus paracasei* subsp *paracasei* CRL-341 in healthy young adults. **European Journal of Clinical Nutrition**, London, v. 60, n. 11, p. 1284–1293, 2006.

LAUGERETTE, F. C. et al. Emulsified lipids increase endotoxemia: possible role in early postprandial low-grade inflammation. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, Stoneham, v. 22, p. 53–59, Nov. 2011.

LEE, Y. K. et al. **Handbook of probiotics**. New York: John Wiley, 1999.

LEVRAT, M. A. et al. Role of dietary propionic acid and bile acid excretion in the hypocholesterolemic effects of oligosaccharides in rats. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 124, n. 4, p. 531–538, 1994.

LEY, R. E. et al. Human gut microbes associated with obesity. **Nature**, London, v. 444, p. 1022–1023, Dec. 2006.

LI, Z. et al. Probiotics and antibodies to TNF inhibit inflammatory activity and improve nonalcoholic fatty liver disease. **Hepatology**, Baltimore, v. 37, n. 2, p. 343–350, Feb. 2003.

LOBO, A. R. et al. Iron bioavailability from ferric pyrophosphate in rats fed with fructan-containing yacon (*Smallanthus sonchifolius*) flour. **Food Chemistry**, London, v. 126, n. 3, p. 885–891, 2011.

LOBO, A.R. et al. Effects of fructans-containing yacon (*Smallanthus sonchifolius* Poepp and Endl.) flour on caecum mucosal morphometry, calcium and magnesium balance, and bone calcium retention in growing rats. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 97, n. 4, p. 776–785, June 2007.

LÓPEZ-MOLINA, D. et al. Molecular properties and prebiotic effect of inulin obtained from artichoke (*Cynara scolymus* L.). **Phytochemistry: chemistry, biochemistry, molecular biology**, New York, v. 66, n. 12, p. 1476–1484, June 2005.

LOSADA, M. A.; OLLEROS, T. Towards a healthier diet for the colon: the influence of fructooligosaccharides and lactobacilli on intestinal health. **Nutrition Research**, Tarrytown, v. 22, p. 71-84, June 2002.

LOSADA, M. A.; OLLEROS, T. Towards a healthier diet for the colon: the influence of fructooligosaccharides and lactobacilli on intestinal health. **Nutrition Research**, Tarrytown, v. 22, n. 1, p. 71-84, Jan. 2002.

LOURENS-HATTINGH, A.; VILJOEN, B. Yogurt as probiotic carrier food. **International Dairy Journal**, Barking, v. 11, n. 1-2, p. 1-17, Feb. 2001.

LUNDELL, A. C. et al. Increased levels of circulating soluble CD14 but not CD83 in infants are associated with early intestinal colonization with *Staphylococcus aureus*. **Clinical & Experimental Allergy**, Oxford, v. 37, n. 1, p. 62–71, Jan. 2007.

LUO, J. et al. Chronic consumption of short-chain fructooligosaccharides by healthy subjects decreased basal hepatic glucose production but had no effect on insulin-stimulated glucose metabolism. **American Journal of Clinical Nutrition**, New York, v. 63, n. 6, p. 939–945, June 1996.

LUOTO, R. et al. The impact of perinatal probiotic intervention on the development of overweight and obesity: follow-up study from birth to 10 years. **International Journal of Obesity**, London, v. 34, n. 10, 1531–1537, Oct. 2010.

MA, X.; HUA, J.; LI, Z. Probiotics improve high fat diet-induced hepatic steatosis and insulin resistance by increasing hepatic NKT cells. **Journal of Hepatology**, Oxfordshire, v. 49, n. 5, p. 821–30, Nov. 2008.

MACHADO, F. D. et al. Efeito de prebiótico na modulação dos níveis de colesterol sérico e no peso de fígado de ratos alimentados com dieta rica em colesterol e ácido cólico. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 23, n. 2, p. 270-275, maio/ago. 2003.

MALLAPPA, R. H. et al. Management of metabolic syndrome through probiotic and prebiotic interventions. **Indian Journal of Endocrinology and Metabolism**, North Sydney, v. 16, n. 1, p. 20-27, Jan. 2012.

MALO, M. S. et al. Intestinal alkaline phosphatase preserves the normal homeostasis of gut microbiota. **Gut**, London, v. 59, n. 1, p. 1476–1484, Aug. 2010.

MALTA, D. C. et al. A construção da vigilância e prevenção das doenças crônicas não transmissíveis no contexto do Sistema Único de Saúde. **Epidemiologia e Serviços de Saude**, Brasília, v. 15, n. 3, p. 47-65, Set. 2006.

MANCO, M.; PUTIGNANI, L.; BOTTAZZO, G. F. Gut microbiota, lipopolysaccharides, and innate immunity in the pathogenesis of obesity and cardiovascular risk. **Endocrine Review**, Baltimore, v. 31, n. 6, p. 817–844, Dec. 2010.

MANRIQUE, I.; HERMANN, M.; BERNET, T. **Yacon**: fact sheet. Peru: International Potato Center, 2004. Disponível em: <www.cipotato.org/artc/cipcrops/factsheetyacon.pdf>. Acesso em: 08 jul. 2010.

MANRIQUE, I.; PÁRRAGA, A. **Conservación y uso de la biodiversidad de raíces y tubérculos Andinos**: una década de investigación para el desarrollo (1993-2003): jarabe de yacón: principios y procesamiento. Lima: Centro Internacional de La Papa, 2005.

MANZONI, M. S. J.; CAVALLINI, D. C. U.; ROSSI, E. A. Efeitos do consumo de probióticos nos lípides sanguíneos. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 19, n. 3, p. 351-360, jul./set. 2008.

MARITIM, A. C.; SANDERS, R. A.; WATKINS, J. B. Diabetes, oxidative stress, and antioxidants: a review. **Journal of Biochemical and Molecular Toxicology**, London, v. 17, n. 1, p. 24–38, 2003.

- MAROTTI, I. et al. Prebiotic effect of soluble fibres from modern and old durum-type wheat varieties on *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 92, n. 10, p. 2133–2140, Aug. 2012.
- MARQUES-LOPES, I. et al. Aspectos genéticos na obesidade. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 17, n. 3, p. 327-38, jul./set. 2004.
- MARTINEZ, T. F.; MOYANO, F. J. Effect of tannic acid on in vitro enzymatic hydrolysis of some protein sources. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 83, n. 5, p. 456-464, 2003.
- MATSUBARA, S. Alimentos funcionais: uma tendência que abre perspectivas aos laticínios. **Revista Indústria de Laticínios**, São Paulo, n. 34, p. 10-18, 2001.
- MCCLEARY, B. V.; MURPHY, A.; MUGFORD, D. Measurement of total fructan in foods by enzymatic/spectrophotometric method: collaborative study. Inulin and oligofructan. **Journal of AOAC International**, Arlington, v. 87, n. 3, p. 707-717, 2004.
- MCGARRY, J. D. Dysregulation of fatty acid metabolism in the etiology of type 2 diabetes. **Diabetes**, New York, v. 51, p. 7–18, Jan. 2002.
- MIGUEL, D. P.; ROSSI, E. A. Viabilidade de bactérias ácido-láticas em sorvetes de iogurte, durante o período de estocagem. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 14, n. 1, p. 93-96, 2003.
- MILANSKI, M. et al. Saturated fatty acids produce an inflammatory response predominantly through the activation of TLR4 signaling in hypothalamus: implications for the pathogenesis of obesity. **The Journal of Neuroscience**, Baltimore, v. 29, n. 2, p. 359-370, Jan. 2009.
- MILELLA, L. et al. Total phenolic content, RAPDs, AFLPs and morphological traits for the analysis of variability in *Smallanthus sonchifolius*. **Genetic Resources and Crop evolution**, Dordrecht, v. 58, p. 545–551, 2011.
- MILLER, J.; ROSEMBLOOM, A.; SILVERSTEIN, J. Childhood obesity. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, Baltimore, v. 89, n. 9, p. 4211-8, Sept. 2004.

MILLION, M. et al. Obesity-associated gut microbiota is enriched in *Lactobacillus reuteri* and depleted in *Bifidobacterium animalis* and *Methanobrevibacter smithii*. **International Journal of Obesity**, London, v. 36, n. 6, p. 817–825, June 2012.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Portal Da Saúde. **Quase metade da população brasileira está acima do peso**. Brasília: Ministério da Saúde, 2012. Disponível em: < <http://portalsaude.saude.gov.br/portalsaude/noticia/4718/162/quase-metade-da-populacao-brasileira-esta-acima-do-peso.html>>. Acesso: 14 dez. 2012.

MIZOTA, T. Functional and nutritional foods containing bifidogenic factors. **Bulletin of the International Dairy Federation**, Brussels, n. 313, p. 31-35, 1996.

MONZILLO, L. et al. Effect of lifestyle modification on adipokine levels in obese subjects with insulin resistance. **Obesity Research**, Silver Spring, v. 11, n. 9, p. 1048–1054, Sept. 2003.

MOREIRA, A. P. et al. Influence of a high-fat diet on gut microbiota, intestinal permeability and metabolic endotoxaemia. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 108, n. 5, p. 801–809, May 2012.

MOROTI, C. et al. Effect of the consumption of a new symbiotic shake on glycemia and cholesterol levels in elderly people with type 2 diabetes mellitus. **Lipids in Health and Disease**, Seoul, v. 11, n. 29, Feb. 2012.

MOURA, N. A. et al. Protective effects of yacon (*Smallanthus sonchifolius*) intake on experimental colon carcinogenesis. **Food and Chemical Toxicology**, Oxford, v. 50, n. 8, p. 2902–2910, Aug. 2012.

MUCCIOLI, G. G. et al. The endocannabinoid system links gut microbiota to adipogenesis. **Molecular Systems Biology**, Bethesda, v. 27, n. 6, p. 392, July 2010.

MUÑOZ, A. M. J. et al. Evaluación del contenido nutricional de yacón (*Polimnia sonchifolia*) procedente de sus principales zonas de producción nacional. **Revista Horizonte Médico**, Belo Horizonte, v. 6, n. 2, p. 69-73, 2006.

MUNUKKA, E. et al. Women with and without metabolic disorder differ in their gut microbiota composition. **Obesity**, Silver Spring, v. 20, n. 5, p. 1082–1087, Nov. 2012.

NAGPAL, R. et al. Potential of probiotics and prebiotics for synbiotic functional dairy foods. **International Journal of Probiotics & Prebiotics**, New Orleans, v. 2, p. 75–84, 2007.

NAGPAL, R.; KUMAR, A.; ARORA, S. In-vitro probiotic potential of Lactobacilli from indigenous milk products. **International Journal of Probiotics & Prebiotics**, New Orleans, v. 5, p. 103–110, 2010.

NAITO, E. et al. Beneficial effect of oral administration of Lactobacillus casei strain Shirota on insulin resistance in diet-induced obesity mice. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v. 110, n. 3, p. 650–7, Mar. 2011.

NAKAMURA, Y. K.; FLINTOFF-DYE, N.; OMAYE, S.T. Conjugated linoleic acid modulation of risk factors associated with atherosclerosis. **Nutrition & Metabolism**, Basel, v. 5, n. 22, p. 1-20, Aug. 2008.

NAKAMURA, Y. K.; OMAYE, S. T. Conjugated linoleic acid isomers' roles in the regulation of PPAR γ and NF- κ B DNA binding and subsequent expression of antioxidant enzymes in human umbilical vein endothelial cells. **Nutrition**, Nevada, v. 25, n. 7, p. 800–811, July 2009.

NAKAMURA, Y. K.; OMAYE, S. T. Metabolic diseases and pro- and prebiotics: mechanistic insights. **Nutrition & Metabolism**, Basel, v. 9, n. 60, p. 1-9, June 2012.

NARAI-KANAYAMA, A.; TOKITA, N.; ASO, K. Dependence of fructooligosaccharide content on activity of Fructooligosaccharidemetabolizing enzymes in yacon (*Smallanthus sonchifolius*) tuberous roots during storage. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 72, n. 6, Aug. 2007.

NILSSON, A. C. et al. Including indigestible carbohydrates in the evening meal of healthy subjects improves glucose tolerance, lowers inflammatory markers, and increases satiety after a subsequent standardized breakfast. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 138, n. 4, p. 732–739, Apr. 2008.

NILSSON, U.; NYMAN, M. Short-chain fatty acid formation in the hindgut of rats fed oligosaccharides varying in monomeric composition, degree of polymerisation and solubility. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 94, n. 5, p. 705–713, Nov. 2005.

- NOVA, E. et al. Beneficial effects of a symbiotic supplement on self-perceived gastrointestinal well-being and immunoinflammatory status of healthy adults. **Journal of Medicinal Food**, Washington, v. 14, n. 1-2, p. 79-85, Jan./Feb. 2011.
- OJANSIVU, I.; FERREIRA, C. L.; SEPPO, S. Yacon, a new source of prebiotic oligosaccharides with a history of safe use. **Trends in Food Science & Technology**, Cambridge, v. 22, n. 1, p. 40-46, Jan. 2011.
- OLANO-MARTIN, E. et al. In vitro fermentability of dextran, oligodextran and maltodextrin by human gut bacteria. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 83, n. 3, p. 247-255, Mar. 2000.
- OLIVEIRA, M. A.; NISHIMOTO, E. K. Avaliação do desenvolvimento de plantas de yacon (*Polymnia sonchifolia*) e caracterização dos carboidratos de reservas em HPLC. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 7, n. 2, p. 215–220, 2004.
- OLIVEIRA, M.; DAMIN, M. R. Efeito do teor de sólidos e da concentração de sacarose na acidificação, firmeza e viabilidade de bactérias do iogurte e probióticas em leite fermentado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 23, supl., p. 172-176, dez. 2003.
- PAPASTOYIANNIDIS, G. et al. Fermented Milks Fortified with B-group Vitamins: Vitamin Stability and Effect on Resulting Products. **Food Science and Technology International**, London, v. 12, n. 6, p. 521–529, Dec. 2006.
- PARK, Y. H. et al. Effects of *Lactobacillus acidophilus* 43121 and a mixture of *Lactobacillus casei* and *Bifidobacterium longum* on the serum cholesterol level and fecal sterol excretion in hypercholesterolemia-induced pigs. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, Tokyo, v. 72, n. 2, p. 595–600, 2008.
- PARK, Y.H. et al. Effect of dietary inclusion of *Lactobacillus acidophilus* ATCC 43121 on cholesterol metabolism in rats. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, Oxford, v.17, n. 4, p. 655–662, 2007.
- PARNELL, J. A.; REIMER, R. A. Effect of prebiotic fibre supplementation on hepatic gene expression and serum lipids: a dose–response study in JCR:LA-cp rats. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 103, n. 11, p. 1577–1584, June 2010.

PARNELL, J. A.; REIMER, R. A. Prebiotic fibres dose-dependently increase satiety hormones and alter Bacteroides and Firmicutes in lean and obese JCR: LA-cp rats. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 18, n. 1, p. 1–13, 2011.

PEDRESCHI, R. et al. Andean yacon root (*Smallanthus sonchifolius* Poepp. Endl) fructooligosaccharides as a potential novel source of prebiotics. **Journal of Agriculture and Food Chemical**, Lima, v. 51, n. 18, p. 5278–5284, 2003.

PEREIRA, D. I. A.; GIBSON, G. R. Cholesterol assimilation by lactic acid bacteria and bifidobacteria isolated from the human gut. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 68, n. 9, p. 4689–4693, Sept. 2002a.

PEREIRA, D. I.; GIBSON, G. R. Effects of consumption of probiotics and prebiotics on serum lipid levels in humans. **Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology**, Boca Raton, v. 37, n. 4, p. 259–281, 2002b.

PETERS, H. P et al. No effect of added beta-glucan or of fructooligosaccharide on appetite or energy intake. **American Journal of Clinical Nutrition**, New York, v. 89, n. 1, p. 58–63, Jan. 2009.

POMPEI, A. et al. *In vitro* comparison of the prebiotic effects of two inulin-type fructans. **Anaerobe**, Oxford, v. 14, n. 5, p. 280–286, Nov. 2008.

POOL-ZOBEL, B. L.; SAUER, J. Overview of experimental data on reduction of colorectal cancer risk by inulin-type fructans. **Nutrition**, Philadelphia, v. 137, n. 11, p. 2580–2584, Nov. 2007.

PRETER, V. de et al. Baseline microbiota activity and initial bifidobacteria counts influence responses to prebiotic dosing in healthy subjects. **Alimentary Pharmacology & Therapeutics**, Amsterdam, v. 27, n. 6, p. 504–513, 2008.

PUSSINEN, P. J. et al. Endotoxemia is associated with an increased risk of incident diabetes. **Diabetes Care**, Alexandria, v. 34, n. 2, p. 392–7, Feb. 2011.

R FOUNDATION FOR STATISTICAL COMPUTING. **R: A language and environment for statistical computing: volume 1**. Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2012.

RANGANATH, L. R. The entero-insular axis: implications for human metabolism. **Clinical Biochemistry and Laboratory Medicine**, Liverpool v. 46, n. 1, p. 43–56, 2008.

RAO, V. A. The prebiotic properties of oligofructose at low intake levels. **Nutrition Research**, Tarrytown, v. 21, p. 843-848, 2001.

REEVES, P. G.; NIELSEN, F. H.; FAHEEY, G. C. AIN-93 Purified diets for laboratory rodents: Final report of the American Institute of Nutrition ad Hoc Writing Committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 123, n. 11, p. 1939-1951, Nov. 1993.

REIMER, R. A.; RUSSELL, J. C. Glucose tolerance, lipids, and GLP-1 secretion in JCR: LA-cp rats fed a high protein fiber diet. **Obesity**, Silver Spring, v. 16, n. 1, p. 40-46, Jan. 2008.

REMESY, C. et al. Cecal fermentations in rats fed oligosaccharides (inulin) are modulated by dietary calcium level. **American Journal of Physiology**, Baltimore, v. 264, n. 5, p. 855-862, May 1993.

RESPONDEK, F. et al. Dietary supplementation with short-chain fructooligosaccharides improves insulin sensitivity in obese horses. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 89, n. 1, p. 77-83, Jan. 2011.

RESPONDEK, F. et al. Shortchain fructooligosaccharides influence insulin sensitivity and gene expression of fat tissue in obese dogs. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 138, n. 9, p. 1712-1718, Sept. 2008.

RIBEIRO, J. A. **Estudo químico e bioquímico do yacon (*Smallanthus sonchifolius*) in natura e processado e influência do seu consumo sobre níveis glicêmicos e lipídios fecais de ratos**. 2008. 166 f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

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

ROBERFROID, M. B. Inulin-type fructans: functional food ingredients. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 137, n. 11, p. 2493-2502, Nov. 2007.

ROBERFROID, M. B.; DELZENNE, N. M. Dietary fructans. **Annual Review of Nutrition**, Palo Alto, v. 18, n. 1, p. 117-143, 1998.

RODAS, B. Z.de; GILLILAND, S. E.; MAXWELL, C. V. Hypocholesterolemic action of *Lactobacillus acidophilus* ATCC 43121 and calcium in swine with hypercholesterolemia induced by diet. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 79, n. 12, p. 2121–2128, Dec. 1996.

RODRIGUES, A. E. et al. Análise da taxa metabólica de repouso avaliada por calorimetria indireta em mulheres obesas com baixa e alta ingestão calórica. **Arquivo Brasileiro de Endocrinologia e Metabolismo**, São Paulo, v. 52, n. 1, p. 76-84, Feb. 2008.

ROESCH, L. F. et al. Culture-independent identification of gut bacteria correlated with the onset of diabetes in a rat model. **The ISME Journal**, Gainesville, v. 3, n. 5, p. 536–548, May 2009.

RUAN, X. et al. Encapsulated bifidobacteria reduced bacterial translocation in rats following hemorrhagic shock and resuscitation. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 23, n. 10, p. 754–761, Oct. 2007.

RUFINO, M. S. M. et al. **Metodologia científica**: determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH. Fortaleza: EMBRAPA, 2007a. (Comunicado Técnico, 127).

RUFINO, M. S. M. et al. **Metodologia científica**: determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre ABTS. Fortaleza: EMBRAPA, 2007b. (Comunicado Técnico, 128).

RUSELER-VAN-EMBDEN, J. G. et al. Inability of *Lactobacillus casei* strain GG, *L. acidophilus*, and *Bifidobacterium bifidum* to degrade intestinal mucus glycoproteins. **Scandinavian Journal of Gastroenterology**, Oslo, v. 30, n. 7, p. 675–680, July 1995.

RYBKA, S.; FLEET, G. H. Populations of *Lactobacillus delbrueckii* spp. *bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium* species in Australian yoghurts. **Food Australia**, North Sydney, v. 49, n. 10, p. 471-475, 1997.

SAKAKIBARA, S. et al. Acetic acid activates hepatic AMPK and reduces hyperglycemia in diabetic KK-A(y) mice. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, Orlando, v. 344, p. 597–604, Apr. 2006.

SALIM, S. Y.; SODERHOLM, J. D. Importance of disrupted intestinal barrier in inflammatory bowel diseases. **Inflammatory Bowel Diseases**, Linköping, v. 17, n. 1, p. 362–381, Aug. 2011.

SALMINEN, S. J.; GUEIMONDE, M.; ISOLAURI, E. Probiotics that modify disease risk. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 135, n. 5, p. 1294–1298, May 2005.

SANDERS, M. E.; KLAENHAMMER, T. R. Invited review: the scientific basis of *Lactobacillus acidophilus* NCFM functionality as a probiotic. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 84, n. 2, p. 319–331, Aug. 2001.

SANTACRUZ, A. et al. Gut microbiota composition is associated with body weight, weight gain and biochemical parameters in pregnant women. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 104, n. 1, p. 83–92, Mar. 2010.

SANTACRUZ, A. et al. Interplay between weight loss and gut microbiota composition in overweight adolescents. **Obesity**, Silver Spring, v. 17, n. 10, p. 1906–1915, Oct. 2009.

SANTANA, I.; CARDOSO, M. H. Raiz tuberosa de yacon (*Smallanthus sonchifolius*): potencialidade de cultivo, aspectos tecnológicos e nutricionais. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 3, p. 898–905, maio/jun. 2008.

SAVARD, P. et al. Impact of *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 and *Lactobacillus acidophilus* LA-5-containing yoghurt, on fecal bacterial counts of healthy adults. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 149, n. 2, p. 50–57, Feb. 2011.

SEMINARIO, J.; VALDERRAMA, M. **El yacon**: fundamentos para el aprovechamiento de un recurso promisorio. Lima, Peru: Centro Internacional de la Papa, 2003. Disponível em: <http://www.cipotato.org/market/pdfdocs/Yacon_Fundamentos_password.pdf>. Acesso em: 20 nov. 2012.

SENDRA, E. et al. Incorporation of citrus fibers in fermented milk containing probiotic bacteria. **Food Microbiology**, London, v. 25, n. 1, p. 13–21, Sept. 2008.

SENOK, A. C.; ISMAEEL, A. Y.; BOTTA, G. A. Probiotics: facts and myths. **Clinical Microbiology and Infection**, Paris, v. 11, n. 12, p. 958–66, Aug. 2005.

- SHAH, N. P. Probiotic bacteria: enumeration and survival in dairy foods. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 83, n. 4, p. 894-907, Apr. 2000.
- SHAH, N. P.; LANKAPUTHRA, W. E. V. Improving viability of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium* ssp. in yogurt. **International Dairy Journal**, Barking, v. 7, n. 5, p. 349-356, 1997.
- SHEN, L.; SU, L.; TURNER, J. R. Mechanisms and functional implications of intestinal barrier defects. **Digestive Diseases and Sciences**, New York, v. 27, n. 4, p. 443-449, Nov. 2009.
- SHI, H. et al. TLR4 links innate immunity and fatty acid-induced insulin resistance. **Journal of Clinical Investigation**, New York, v. 116, n. 11, p. 3015-3025, Nov. 2006.
- SHOELSON, S. E.; HERRERO, L.; NAAZ, A. Obesity, Inflammation, and Insulin Resistance. **Gastroenterology**, Philadelphia, v. 132, p. 2169-2180, 2007.
- SILVA, L. L.; STAMFORD, T. L. M. Alimentos probióticos: uma revisão. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 14, n. 68-69, p. 41-50, 2000.
- SIMONOVSKA, B. et al. Investigation of phenolic acids in yacon (*Smallanthus sonchifolius*) leaves and tubers. **Journal of Chromatography A**, Czech Republic, v. 1016, n. 1, p. 89-98, 2003.
- SINGH, S. K. et al. Evidence-based critical evaluation of glycemic potential of *Cynodon dactylon*. **Evid-Based Complementary and Alternative Medicine**, Oxford, v. 5, n. 4, p. 415-420, Dec. 2008.
- SONG, M. J. et al. Activation of Toll like receptor 4 is associated with insulin resistance in adipocytes. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, Orlando, v. 346, n. 3, p. 739-745, 2006.
- SPIEGEL, J. E. et al. Safety and benefits of fructooligosaccharides as food ingredients. **Food Technology**, Boston, v. 48, n. 10, p. 85-89, 1994.
- SPOSITO, A. C. et al. Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia. IV Diretriz brasileira sobre dislipidemias e prevenção da aterosclerose. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, São Paulo, v. 88, n. 1, p. 1-18, abr. 2007. Suplemento.

STABELINI NETO, A. et al. Síndrome metabólica em adolescentes de diferentes estados nutricionais. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabolismo**, São Paulo, v. 56, n. 2, p. 104-109, Mar. 2012.

STOWELL, J.; BERNARD, A. Study of Danisco probiotics shows positive impact on Metabolic Syndrome. **DANISCO**, Health, abr. 2010. Disponível em: <<http://www.danisco.com/about-dupont/news/news-archieve/2010/study-of-danisco-probiotics-shows-positive-impact-on-metabolic-syndrome-mets/>>. Acesso em: 26 dez. 2012.

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

STSEPETOVA, J. et al. Diversity and metabolic impact of intestinal *Lactobacillus* species in healthy adults and the elderly. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 105, n. 8, p. 1235–1244, Apr. 2011.

SUR, R. et al. Avenanthramides, polyphenols from oats, exhibit anti-inflammatory and anti-itch activity. **Archives of Dermatological Research**, Berlin, v. 300, n. 10, p. 569–574, Nov. 2008.

SUTTON, A. Product development of probiotics as biological drugs. **Clinical Infectious Diseases**, Chicago, v. 46, n. 2, p. 128-132, 2008. Suplemento.

TABASCO, R. et al. Selective enumeration and identification of mixed cultures of *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *L. acidophilus*, *L. paracasei* subsp. *paracasei* and *Bifidobacterium lactis* in fermented milk. **International Dairy Journal**, Barking, v. 17, p. 1107-1114, 2007.

TAKENAKA, M. Caffeic acid derivatives in the roots of yacon (*Smallanthus sonchifolius*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 51, n. 3, p. 793-796, 2003.

TEITELBAUM, J. E.; WALKER, W. A. Nutritional impact of pre- and probiotics as protective gastrointestinal organisms. **Annual Review of Nutrition**, v. 22, p. 107–138, 2002.

TIEN, M. T. et al. Anti-inflammatory effect of *Lactobacillus casei* on Shigella-infected human intestinal epithelial cells. **Journal of Immunology**, Baltimore, v. 176, n. 2, p. 1228–1237, Mar. 2006.

TOMATSU, H. Health effects of oligosaccharides. **Food Technology**, Boston, v. 48, n. 10, p. 61-65, 1994.

TORRES, E. A. F. S. Composição centesimal e valor calórico de alimentos de origem animal. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 20, n. 2, fev. 2000.

TOUNSI, M. S. et al. Juice components and antioxidant capacity of four Tunisian *Citrus* varieties. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 91, n. 1, p. 142–151, 2011.

TRAYHURN, P.; WOOD, I. S. Adipokines: inflammation and the pleiotropic role of White adipose tissue. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 92, N. 3, p. 347-55, Sept. 2004.

TRINIDAD, T. P. et al. Glycemic index of commonly consumed carbohydrate foods in the Philippines. **Journal of Functional Foods**, London, v. 2, n. 4, p. 271-274, Oct. 2010.

TURRONI, F. et al. Microbiomic analysis of the bifidobacterial population in the human distal gut. **The ISME Journal**, Gainesville, v. 3, n. 6, p. 745–51, June 2009.

VAJRO, P. et al. Effects of *Lactobacillus rhamnosus* strain GG in pediatric obesity-related liver disease. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, Philadelphia, v. 52, n. 6, p. 740–743, June 2011.

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

VALENTOVÁ, K. et al. Antioxidant activity of extracts from the leaves of *Smallanthus sonchifolius*. **European Journal of Nutrition**, London, v. 42, n. 1, p. 61–66, 2006.

VALENTOVÁ, K.; ULRICHOVÁ, J. *Smallanthus sonchifolius* and *Lepidium meyenii* – prospective andean crops for the prevention of chronic diseases. **Biomedical Papers**, Palacky, v. 147, n. 2, p. 119–130, Dec. 2003.

VAN DE WIELE, T. et al. Inulintype fructans of longer degree of polymerization exert more pronounced in vitro prebiotic effects. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v. 102, p. 452–460, 2007.

VAN DER MEULEN, R.; AVONTS, L.; VUYST, L. de. Short fractions of oligofructose are preferentially metabolized by *Bifidobacterium animalis* DN-173 010. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 70, n. 4, p. 1923–1930, Apr. 2004.

VAN LOO, J. A. Prebiotics promote good health: The basis, the potential, and the emerging evidence. **Journal of Clinical Gastroenterology**, New York, v. 38, n. 6, p. 70-75, 2004. Suplemento.

VANDERHOOF, J. A.; YOUNG, R. J. Probiotics in the United States. **Clinical Infectious Diseases**, Chicago, v. 46, n. 2, p. 67-72, 2008. Suplemento.

VANDERHOOF, J. A.; YOUNG, R. J. Current and potential uses of probiotics. **Annals of Allergy Asthma & Immunology**, Omaha, v. 93, n. 3, p. 33- 37, Nov. 2004.

VASILJEVIC, T.; SHAH, N. P. Probiotics d from Metchnikoff to bioactives. **International Dairy Journal**, Barking, v. 18, n. 7, p. 714-728, Dec. 2008.

VEIGA, P. et al. *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* fermented milk product reduces inflammation by altering a niche for colitogenic microbes. **Proceedings of the Nacional Academy of Sciences**, Boston, v. 107, n. 42, p. 18132-18137, Oct. 2010.

VERHOEF, S. P. M.; MEYER, D.; WESTERTERP, K. R. Effects of oligofructose on appetite profile, glucagon-like peptide 1 and peptide YY3-36 concentrations and energy intake. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 106, n. 11, p. 1757–1762, 2011.

VINDEROLA, C. G.; REINHEIMER, J. A. Culture media for the enumeration of *Bifidobacterium bifidum* and *Lactobacillus acidophilus* in the presence of yoghurt bacteria. **International Dairy Journal**, Barking, v. 9, n. 3, p. 497-505, 1999.

VINDEROLA, C. G.; REINHEIMER, J. A. Enumeration of *L. casei* in the presence of *L. acidophilus*, bifidobacteria and lactic starter bacteria in fermented dairy products. **International Dairy Journal**, Barking, v. 10, n. 4, p. 271-275, 2000.

WALL, R. et al. Metabolic activity of the enteric microbiota influences the fatty acid composition of murine and porcine liver and adipose tissues. **American Journal of Clinical Nutrition**, New York, v. 89, p. 1393–401, 2009.

WANG, M. F. et al. Treatment of perennial allergic rhinitis with lactic acid bacteria. **Pediatric Allergy and Immunology**. v. 15, n. 2, p.152–158, April 2004.

WANG, Z. et al. The role of bifidobacteria in gut barrier function after thermal injury in rats. **The Journal of Trauma**, Baltimore, v. 61, n. 3, p. 650–657, Sept. 2006.

WATERHOUSE, A. L. **Polyphenolics**: determination of total phenolics. In: WROLSTAD, R. E. (Ed.). *Current protocols in food analytical chemistry*. New York: John Wiley, 2002. p. 11-18.

WEISBERG, S. P. et al. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. **Journal of Clinical Investigation**, New York, v. 112, p. 1796–1808, 2003.

WELLEN, K. E.; HOTAMISLIGIL, G. S. Inflammation, stress, and diabetes. **Journal of Clinical Investigation**, New York, v. 115, n. 5, p. 1111–1119, May 2005.

WILLIAMS, C. M.; JACKSON, K. G. Inulin and oligofructose: effects on lipid metabolism from human studies. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 87, suppl. 2, p. p. 261-264, May 2002.

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

WOLF, K. J.; LORENZ, R. G. Gut microbiota and obesity. **Current Obesity Reports**, Birmingham, v. 1, p. 1–8, Mar. 2012.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **10 facts on obesity**. London: WHO, 2012. Disponível em: <<http://www.who.int/features/factfiles/obesity/en/>>. Acesso em: 26 jan. 2012.

XIAO, J. Z. et al. Effects of milk products fermented by *Bifidobacterium longum* on blood lipids in rats and healthy adult male volunteers. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 86, n. 7, p. 2452-2461, July 2003.

YADAV, H.; JAIN, S.; SINHA, P. R. Anti-diabetic effect of probiotic dahi containing *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* and *Lactococcus lactis* bacteria in high fructose diet fed rats. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 72, p. 62–68, 2007b.

YADAV, H.; JAIN, S.; SINHA, P. R. Formation of oligosaccharides in skim milk fermented with mixed dahi cultures, *Lactococcus lactis* ssp. *diacetylactis* and probiotic strains of *Lactobacilli*. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 74, n. 2, p. 154– 159, May 2007a.

YADAV, H.; JAIN, S.; SINHA, P. R. Oral administration of dahi containing probiotic *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei* ameliorated the Streptozotocin-induced oxidative stress and dyslipidemia in rats. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 75, p. 189–195, 2008.

YAN, X. et al. Extraction and identification of antioxidants in the roots of Yacon (*Smallanthus sonchifolius*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 47, p. 4711- 4713, 1999.

YIN, Y. et al. Effects of four Bifidobacteria on obesity in high-fat diet induced rats. **World Journal of Gastroenterology**, Bethesda, v. 16, n. 27, p. 3394-3401, July 2010.

YUN, J. W. Fructooligosaccharides: occurrence, preparation and applications. **Enzymes and Microbial Technology**, Kyungbug, v. 19, n. 2, p. 107-117, 1996.

ZDUNCZYK, Z.; JUSKIEWICZ, J.; ESTRELLA, I. Cecal parameters of rats fed diets containing grapefruit polyphenols and inulin as single supplements or in a combination. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 22, n. 9, p. 898-904, Sept. 2006.

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

ZHAO, X. et al. *Lactobacillus* species shift in distal esophagus of high-fat-diet-fed rats. **World Journal Gastroenterology** Bethesda, v. 17, n. 8, p. 3151–3157, 2011.