

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS  
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

**Efeitos dos prebióticos, probióticos e simbióticos associados ao queijo  
cottage em parâmetros de saúde de ratos wistar saudáveis**

**BÁRBARA CRISTOVÃO CARMINATI**

**Dourados - MS  
2019**

BÁRBARA CRISTOVÃO CARMINATI

Efeitos dos prebióticos, probióticos e simbióticos associados ao queijo cottage  
em parâmetros de saúde de ratos wistar saudáveis

Área do CNPq: 4.09.00.00-2

Banca de defesa apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.

Área de concentração: Farmacologia

Orientador: Prof. Dr. Pablo Christiano Barboza Lollo

Dourados - MS  
2019



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS  
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

ATA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO APRESENTADA POR BÁRBARA CRISTÓVÃO CARMINATI, ALUNA DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO STRICTO SENSU EM CIÊNCIAS DA SAÚDE, ÁREA DE CONCENTRAÇÃO "FARMACOLOGIA", REALIZADA NO DIA 12 DE MARÇO DE 2019.

Ao décimo segundo dia do mês de março do ano de dois mil e dezenove (12/03/2019), às 14h, em sessão pública, realizou-se, no Auditório da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Grande Dourados, a Defesa de Dissertação de Mestrado intitulada "Efeitos dos prebióticos, probióticos e simbióticos associados ao queijo cottage em parâmetros de saúde de ratos Wistar saudáveis" apresentada pela mestranda BÁRBARA CRISTÓVÃO CARMINATI, do Programa de Pós-Graduação Mestrado em Ciências da Saúde, à Banca Examinadora constituída pelos professores **Dr. Pablo Christiano Barboza Lollo** (Presidente/orientador), **Dr. Mario Sérgio Vaz da Silva** (membro titular), **Dr. Daniel Traina Gama** (membro titular), **Dra. Elisvânia Freitas dos Santos** (membro suplente) e **Dra. Kelly Mari Pires de Oliveira** (membro suplente). Iniciada sessão, a presidência deu a conhecer a candidata e aos integrantes da Banca as normas a serem observadas na apresentação da Dissertação. Após a candidata ter apresentado a sua Dissertação, no tempo previsto de 30 até 40 minutos, os componentes da Banca Examinadora fizeram suas arguições, que foram intercaladas pela defesa da candidata, no tempo previsto de até 240 minutos. Terminadas as arguições, a Banca Examinadora, em sessão secreta, passou ao julgamento, tendo sido a candidata considerada **APROVADA**, fazendo jus ao título de **MESTRE EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**. Nada mais havendo a tratar, lavrou-se a presente ata, que vai assinada pelos membros da Banca Examinadora.

Dourados, 12 de março de 2019.

Dr. Pablo Christiano Barboza Lollo \_\_\_\_\_

Dr. Mario Sérgio Vaz da Silva \_\_\_\_\_

Dr. Daniel Traina Gama \_\_\_\_\_

ATA HOMOLOGADA EM: 12/03/2019, PELA PRÓ-REITORIA DE ENSINO DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA / UFGD.

Profa. Kely de Picoli Souza  
Pró-Reitora de Ensino de Pós-Graduação e Pesquisa

## **AGRADECIMENTO(S)**

À Deus por me sustentar até aqui.

Aos meus pais por me darem a base de tudo e estarem sempre ao meu lado.

E a todos que de alguma forma me ajudaram a chegar até esse momento, em especial ao prof. Pablo meu orientador e aos meus colegas Suelen, Murilo, Fernanda e Fred.

## **LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS**

PRE	Prebiótico
PRO	Probiótico
SIM	Simbiótico
AST	Aspartato transaminase
ALT	Alanina aminotransferase
AU	Ácido úrico
SOD	Superóxido dismutase
GPx	Glutathiona peroxidase
IG	Imonoglobulina

## **EFEITOS DOS PREBIÓTICOS, PROBIÓTICOS E SIMBIÓTICOS NA SAÚDE GERAL: REVISÃO DE LITERATURA**

### **RESUMO**

O aumento da expectativa de vida relacionado ao crescimento de algumas doenças alavancou pesquisas no campo da nutrição. Uma alimentação saudável pode produzir efeitos que beneficiem a vida com o passar dos anos, os componentes químicos de determinados alimentos podem modificar o organismo do indivíduo e por fim auxiliar na promoção de saúde. O consumo dos alimentos funcionais cresceu por possuírem estes componentes químicos e produzirem efeitos metabólicos e/ou fisiológicos no organismo, promovendo saúde. Dentre os alimentos funcionais os prebióticos, probióticos e simbióticos são os mais utilizados. Os probióticos quando consumidos em quantidade adequada garantem benefício à saúde do hospedeiro, os prebióticos servem de substratos para os microrganismos já existentes na microbiota intestinal, proporcionando a proliferação somente das bactérias benéficas e o simbiótico é a junção de probiótico e prebiótico, que em sinergia produzem os efeitos conferidos aos dois alimentos. Os próbióticos são consumidos pela população principalmente por meio de produtos lácteos e alguns estudos vêm associando probióticos a determinados tipos de queijo. O queijo tipo cottage é considerado um queijo com baixa gordura, proporcionando-lhe uma maior qualidade, e também é um alimento que viabiliza a proliferação das cepas probióticas, o que poderia ser associado ao probiótico tornando-se um alimento muito benéfico à saúde. Desta forma esse estudo teve como objetivo avaliar quais os efeitos de uma associação dos alimentos funcionais prebiótico, probiótico e simbiótico em alguns parâmetros da função renal, hepática, antioxidante e lesão muscular em ratos wistar saudáveis. Foram utilizados 30 ratos que aleatoriamente foram divididos em cinco grupos: controle, cottage normal, cottage prebiótico, cottage probiótico e cottage simbiótico, cada grupo recebeu 20g por dia da dieta, o grupo controle recebia ração comercial na mesma proporção. Após 12 horas da última administração da dieta, amostras sanguíneas foram retiradas para verificar os parâmetros de saúde, sendo eles: CK, ALT, AST, LDH, AU, Ureia, Proteína total, Albumina, SOD, catalase, glutathione e GPx. Nos parâmetros relacionados a função renal (AU, uréia, albumina e proteína total) observou-se apenas um resultado significativo, o grupo cottage prebiótico reduziu o nível de ácido úrico ( $p \geq 0,05$ ), quanto aos parâmetros antioxidantes (glutathione, GPx, SOD e Catalase) os resultados significativos foram: o grupo cottage probiótico aumentou o nível de GPx ( $p \geq 0,05$ ), o cottage simbiótico aumentou a atividade da catalase ( $p \geq 0,05$ ), e diminuiu os níveis de glutathione ( $p \geq 0,05$ ). Nos parâmetros marcadores de lesão muscular e de doenças hepáticas (ALT, AST, CK e LDH) o consumo de cottage probiótico diminuiu a CK ( $p \geq 0,05$ ) e o cottage prebiótico aumentou os níveis de AST ( $p \geq 0,05$ ). Desta forma observamos o consumo de prebiótico, probiótico e simbiótico mesmo sendo inócuos a saúde humana, em ratos wistar saudáveis a ingestão desses alimentos funcionais associados ao queijo cottage apresentaram resultados controversos, mais estudos utilizando estes alimentos funcionais e com indivíduos saudáveis devem ser realizados para elucidar os seus reais efeitos.

**Palavras-chave:** Probiótico. Prebiótico. Simbiótico.

## ABSTRACT

The increase in life expectancy related to the growth of some diseases has leveraged research in the field of nutrition. Healthy eating can produce effects that benefit life over the years, the chemical components of certain foods can change the individual's body and ultimately help promote health. The consumption of functional foods has increased because they have these chemical components and produce metabolic and/or physiological effects in the body, promoting health. Among the functional foods the prebiotics, probiotics and symbiotics are the most used. The probiotics when consumed in adequate quantity guarantee benefit to the host health, the prebiotics serve as substrates for the microorganisms already existing in the intestinal microbiota, providing the proliferation only of the beneficial bacteria and the symbiotic is the junction of probiotic and prebiotic, which in synergy produce the effects conferred to the two foods. Probiotics are consumed by the population mainly through dairy products and some studies have been associating probiotics with certain types of cheese. The cottage cheese type is considered a cheese with low fat, providing a higher quality, and is also a food that enables the proliferation of probiotic strains, which could be associated with the probiotic becoming a food very beneficial to health. Thus, this study aimed to evaluate the effects of an association of prebiotic, probiotic and symbiotic functional foods on some parameters of renal, hepatic, antioxidant function and muscle injury in healthy wistar rats. Thirty rats were used and randomly divided into five groups: control, normal cottage, prebiotic cottage, probiotic cottage and symbiotic cottage, each group received 20g per day of the diet, the control group received commercial feed in the same proportion. After 12 hours from the last administration of the diet, blood samples were taken to verify the health parameters: CK, ALT, AST, LDH, AU, Urea, Total protein, Albumin, SOD, catalase, glutathione and GPx. In the parameters related to renal function (AU, urea, albumin and total protein) only a significant result was observed, the prebiotic cottage group reduced the level of uric acid ( $p \geq 0.05$ ), as for the antioxidant parameters (glutathione, GPx, SOD and Catalase) the significant results were: the probiotic cottage group increased the level of GPx ( $p \geq 0.05$ ), the symbiotic cottage increased the activity of catalase ( $p \geq 0.05$ ), and decreased the levels of glutathione ( $p \geq 0.05$ ). In the parameters markers of muscle damage and liver disease (ALT, AST, CK and LDH) consumption of probiotic cottage decreased CK ( $p \geq 0.05$ ) and prebiotic cottage increased levels of AST ( $p \geq 0.05$ ). Thus, we observed the consumption of prebiotic, probiotic and symbiotic even though they are harmless to human health, in healthy wistar rats the intake of these functional foods associated with cottage cheese showed controversial results, further studies using these functional foods and with healthy individuals should be conducted to elucidate their real effects.

**Keywords:** Probiotic. Prebiotic. Symbiotic.

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	08
2. REVISÃO DE LITERATURA	11
2.1 Probiótico	11
2.2 Prebiótico	16
2.3 Simbiótico	19
3. OBJETIVOS	23
4. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	24
5. Artigo 1: Effects of prebiotics, probiotics and symbiotics associated with a cottage cheese on health parameters of healthy wistar rats	32
6. CONCLUSÕES	47



## 1. INTRODUÇÃO

A expectativa de vida da população aumentou, e junto a ela uma série de problemas relacionados à saúde. A sociedade necessita vencer novos desafios, seja por meio de novas descobertas científicas ou das novas tecnologias, que resultem em modificações relevantes no estilo de vida das pessoas, tornando-as mais saudáveis (SAAD, 2006).

O ritmo de vida da sociedade tem-se modificado ao longo dos tempos. O aumento crescente de sobrepeso e obesidade, e a sua associação com doenças crônicas não-transmissíveis (DCNT) na população brasileira podem ser explicadas devido a grandes mudanças dos hábitos alimentares, rotina de trabalho e um lazer com menor gasto energético originando vários problemas de saúde e um crescimento exponencial dos custos médicos-hospitalares (BRASIL, 2005; MAESTRI, et al., 2014).

Visto que providências em relação ao aumento de problemas de saúde precisavam ser tomadas, alguns fatores passaram a ser essenciais, dentre eles a alimentação. A alimentação é um dos aspectos fundamentais para a promoção da saúde, e a busca de saúde por meio do alimento vem desde a antiguidade, Hipócrates já dizia: “Que o teu remédio seja teu alimento e o teu alimento seja o teu remédio” (CARVALHO, 2008). Os alimentos atualmente são veículos de promoção do bem-estar e saúde e, ao mesmo tempo, redutores dos riscos de algumas doenças (DE OLIVEIRA et al., 2002).

Os componentes químicos presentes nos alimentos podem ter ação biológica auxiliando no processo de promoção/manutenção da saúde. O consumo de alguns alimentos específicos (soja, peixes, frutas e vegetais) parece reduzir o desenvolvimento de algumas doenças frequentes em determinados povos, essas doenças foram verificadas por meio de evidências epidemiológicas, e os componentes químicos presentes na alimentação desses povos tendem a promover saúde, por exemplo, a dieta dos esquimós com grande quantidade de ácidos graxos presente nos peixes, pode ser resultado da baixa incidência de morte por acidentes cardiovasculares; a menor ocorrência de câncer e doenças coronarianas pode estar relacionada ao consumo de frutas e vegetais na dieta mediterrânea e as mulheres asiáticas têm menor incidência de câncer de mama e osteoporose, podendo ser devido à grande presença de vegetais e soja nas suas dietas (ANGELIS, 2001).

O conhecimento do benefício de determinados tipos de alimentos na saúde do indivíduo é antigo, mas o estudo desses alimentos, denominados agora como alimentos funcionais se intensificou nos últimos anos. Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) os alimentos funcionais são definidos como: qualquer alimento ou

ingrediente que apresente propriedades funcionais ou de saúde, preservando ainda as suas funções nutricionais básicas, e quando se referir a um nutriente, o mesmo deve ter a produção de efeitos fisiológicos e/ou metabólicos e ser benéfico à saúde, e estes alimentos/ingredientes devem garantir segurança para o consumo sem orientação médica (BRASIL,1999).

O consumo de alimentos funcionais tem grandes vantagens. Pois, além das funções nutricionais básicas, ser fonte de energia e substrato para a formação de tecidos e células, os alimentos funcionais possui substâncias que modulam e ativam processos metabólicos, capazes de melhorar as condições de saúde por aumentar a efetividade do sistema imune, prevenir o surgimento de alterações patológicas e de doenças degenerativas, que podem levar uma menor longevidade (PARK; KOO; CARVALHO, 1997; SGARBIERI; PACHECO, 1999).

A classificação dos alimentos funcionais pode ser feita conforme a presença de substâncias biologicamente ativas. Segundo Moraes e Colla (2006), a divisão dos alimentos funcionais pode ocorrer em grupos como: prebióticos, probióticos, simbióticos, pigmentos, vitaminas, compostos fenólicos, alimentos sulfurados e nitrogenados, ácidos graxos poli-insaturados e fibras.

Os prebióticos, os probióticos e os simbióticos têm alavancado pesquisas sobre os seus benefícios. Todos os três determinam que os seus efeitos tenham relação direta com a alteração da microbiota intestinal do hospedeiro tornando-a saudável. Os prebióticos são ingredientes alimentares que servem como substratos para microrganismos benéficos já existentes no cólon, os probióticos são alimentos que contém microrganismos vivos capazes de alterar a microbiota beneficiando a mesma e o simbiótico é a combinação de prebiótico com probiótico, que em sinergia produz efeitos característicos dos dois alimentos funcionais.

A introdução destes alimentos funcionais na alimentação pode ser favorável para desenvolver uma microbiota intestinal saudável. Os microrganismos presentes na microbiota estão diretamente envolvidos no sistema imune e regulam as respostas as bactérias patogênicas, prevenindo o desenvolvimento de novas doenças, contribuindo para a manutenção e promoção da saúde. A composição da microbiota é obtida no nascimento (especialmente no parto normal, pois, tem contato direto com a microbiota fecal da mãe), e a sua composição final é adquirida por volta dos dois anos de idade, acompanhando o ser humano até o final da sua vida, mas pode ser modificada por diversos fatores, o consumo desses alimentos funcionais modifica e proporciona benefícios a saúde do indivíduo (BARBOSA et al., 2010; PAIXÃO; DOS SANTOS CASTRO, 2016).

Nosso objetivo foi verificar os benefícios desses três alimentos funcionais para a microbiota intestinal, a relação dos mesmos com a promoção de saúde e redução do risco de patologias, desta forma realizamos uma revisão da literatura de três alimentos funcionais: os probióticos, prebióticos e simbióticos.

Essa revisão está organizada em três partes: probióticos, prebióticos e simbióticos. Em cada parte encontra-se a definição, a classificação, os principais efeitos e benefícios, e a apresentação de estudos que evidenciem esses efeitos/benefícios. Para estruturar esta revisão seguiu-se um protocolo, primeiramente buscou-se nas bases de dados (Pubmed, Scielo e Periódicos Capes) a combinação das palavras-chaves probiótico, prebiótico, simbiótico e definição (probiotics, prebiotics, symbiotics and definition), a partir dos artigos selecionados foi predeterminada a definição e os mesmos já apresentavam os principais efeitos; desta maneira na segunda parte do protocolo pesquisou-se na base de dados Pubmed o nome de um dos alimentos funcionais pesquisados e uma doença (que foi escolhida a partir dos efeitos apresentados), por exemplo, as palavras-chaves eram: probiotic and cancer, prebiotic and allergy, symbiotic and cholesterol, e assim sucessivamente com seus principais efeitos. Foram excluídos os estudos que não utilizaram humanos, ratos ou *in vitro*, e utilizaram algum outro componente associado ao alimento pesquisado, como também aqueles que não demonstraram os parâmetros modificados.

## 2. REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 Probióticos

Os probióticos eram definidos como suplementos alimentares à base de microrganismos vivos, ou componentes microbianos que, quando consumidos em determinada quantidade, afetavam benéficamente o animal hospedeiro, proporcionando o balanço da microbiota intestinal (FULLER, 1989). No entanto, a atual definição aceita internacionalmente é que “os probióticos são microrganismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefício à saúde do hospedeiro (JOINT FAO/WHO, 2002).

Para uma bactéria ser classificada como probiótica, ela deve conter algumas características, como: ser de origem humana, ser gram-positiva, aderência a mucosa intestinal, ser produtora de ácido e ser ácido resistente; capacidade de colonização no trato gastrointestinal humano, não apresentar patogenicidade, ser resistente à bile, ter atividade metabólica no intestino e produzir compostos antimicrobianos (BRIZUELA et al., 2001; OLIVEIRA et al., 2002; SANTOS et al., 2003)

As bactérias do ácido lático são as principais representantes dos probióticos. Os *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Streptococcus* e ainda algumas cepas não patogênicas de *Escherichia coli*, bem como os fermentadores *Saccharomyces Boulardii*, são as bactérias mais utilizados como probióticos por terem sido isoladas de todas as porções do trato gastrintestinal humano sadio (CHARTERIS et al., 1998; CABRÉ; GASSULL, 2007).

São bactérias consideradas como probióticos 56 espécies do gênero *Lactobacillus* e 29 do gênero *Bifidobacterium*. Os *Lactobacillus* são capazes de fermentar carboidratos produzindo ácido lático, conhecidos como homo ou hétero-fermentadores, enquanto os *Bifidobacterium* são conhecidos por estimularem o sistema imune, inibirem a proliferação dos agentes patógenos, diminuir a colesterolemia e a concentração de amônia, ajudarem a restabelecer a microbiota após tratamento com antimicrobianos e produzirem vitamina B (SHAH, 2007; STURMER et al., 2012).

O tempo de consumo e a quantidade de unidades formadoras de colônias (UFC) interferem nos efeitos benéficos dos probióticos. Para possuírem importância fisiológica e produzirem efeitos os probióticos precisam atingir populações acima de  $10^6$  a  $10^7$  ufc/g, e para que as bactérias sejam aderidas a microbiota e seus efeitos sejam observados no organismo o consumo mínimo deve ser de 14 dias, visto que para manutenção dos benefícios seu consumo deve ser feito diariamente nas doses adequadas (CHARTERIS et al., 1998; MARTINS et al., 2005; SAAD, 2006).

Segundo Forestier et al. (2001) a adesão de probióticos nas células epiteliais do intestino e sua colonização na mucosa são de fundamental importância para que efeitos benéficos ocorram na saúde do hospedeiro. Os efeitos benéficos dos probióticos na microbiota intestinal procedem da formação de um ambiente intestinal mais ajustado através de procedimentos compartilhados pela maioria dos probióticos (HILL, 2014). Os probióticos devem resistir às condições adversas do trato digestivo e conseguir se multiplicar no intestino (OLIVERIA, 2007; PERRICONE et al., 2015).

Os efeitos das bactérias probióticas podem ser observados por meio de diversas ações, como a melhora da digestão da lactose, capacidade de modulação dos mecanismos imunológicos, melhor absorção de alguns nutrientes, atividade anticarcinogênica, estímulo da motilidade intestinal, degradação de toxinas, estimulação da imunidade local e periférica, e da atividade de enzimas em borda de escova, produção de posturas sub-microbianas, prevenção de translocação microbiana, inibição de adesão de patógenos, e secreção e ativação de Imunoglobulina A (TAHMER; PENNA, 2006; ANANDHARAJ et al., 2014).

Outras ações benéficas atribuídas a essas cepas são a diminuição das concentrações plasmáticas de colesterol (ISHIMWE et al., 2015; LI, 2012.), diminuição do risco de certos tipos de câncer (como o de cólon) (ORANUSI et al., 2014; KHANI, 2012), proteção contra infecções (LOLLO et al., 2012), efeitos anti-hipertensivos (KHALESY et al., 2014; THUSHARA et al., 2016), além de efeitos inibitórios sobre a mutagenicidade (KAUR et al., 2002; TUOHY et al., 2003).

Pela ausência de efeitos secundários, o tratamento com probióticos tem grande vantagem. Os efeitos benéficos advindos destes microrganismos são praticamente o mesmo que o da microbiota normal do corpo humano, desde que se utilizem as cepas com eficácia comprovada. Segundo Saad (2006) estudos clínicos controlados com bifidobactérias e lactobacilos não apresentaram efeitos maléficos causados por essas bactérias.

Wickens et al. (2008) em um estudo randomizado controlado por placebo com mulheres gestantes, buscaram avaliar se o consumo de probióticos poderia impedir o desenvolvimento de eczema e atopia nos bebês até os dois anos de vida. As gestantes foram incluídas caso elas ou os pais dos bebês tivessem histórico de asma, eczema ou febre do feno tratada. Estas gestantes foram divididas em três grupos, onde um deles receberam cápsulas com *Lactobacillus rhamnosus* HN001 (HN001) ( $6 \times 10^9$  ufg/g), e o outro, cápsulas com *Bifidobacterium lactis* HN019 ( $9 \times 10^9$  ufc/g) e o grupo controle-placebo recebeu uma cápsula idêntica na aparência e no cheiro contendo dextrano, sal e um extrato de levedura. As gestantes começaram a ingerir as cápsulas na 35ª semana de gestação, estendendo essa

suplementação até os seis meses de amamentação. Para seus bebês o consumo foi iniciado entre o 2º e o 16º dia após o nascimento e estendeu-se até os dois anos, o pó da cápsula foi administrado misturado com água ou leite materno, por meio de uma colher de chá ou uma seringa, até que a alimentação com sólidos fosse iniciada, onde os probióticos eram polvilhados sobre os alimentos. Os resultados deste estudo demonstraram que as crianças que receberam *Lactobacillus rhamnosus* reduziram significativamente os riscos de eczema quando comparado ao placebo, o grupo que recebeu *Bifidobacterium lactis* não apresentou resultado significativo, e os dois grupos probióticos não apresentaram resultados em atopia.

Winckens et al. (2012, 2013 e 2018) corroborando com o estudo acima, fizeram o acompanhamento dessas crianças até os 11 anos de idade, no intuito de verificar a ocorrência de eczemas e atopia, e se a suplementação de probióticos surtia efeitos ao longo desse tempo. As crianças foram avaliadas com 4, 6 e 11 anos de idade. Ao completar cada uma das idades citadas anteriormente, os pais compareciam no laboratório de estudo inicial com seus filhos, as crianças eram avaliadas pelos médicos, por meio de protocolos e exames, e também os pais relataram a ocorrências de qualquer manifestação de eczemas e atopia ao longo desse percurso. Os resultados de todos os estudos indicaram que apenas o consumo de *Lactobacillus rhamnosus* HN001 reduziu significativamente os eczemas até os 11 anos de idade quando comparado ao grupo placebo, e observou também uma possível extensão a sensibilização atópica, rinite e febre de feno. Os autores consideraram que uma simples intervenção com probióticos no começo da vida pode gerar benefícios que se estende por pelo menos até a primeira década de vida, alegando que entender o mecanismo deste probiótico é de grande importância.

Como já relatado, um dos benefícios dos probióticos é a digestão de lactose. A *b-lactoglobulina* (BLG) é o principal peptídeo do soro do leite, por possuir estrutura rígida, ela se mantém estável em pH baixo e resiste a hidrólise por pepsina, tendo um alto potencial alergênico (MAIER et al., 2006). Pescuma et al. (2015) objetivou verificar a hidrólise de BLG ensaiada *in vitro* adicionando *Lactobacillus delbrueckii sub sp. bulgaricus* CRL 454, a cepa probiótica foi capaz de hidrolisar a BLG neste meio, aumentando a sua digestão sem que perdesse sua qualidade e seu valor biológico. Outro estudo de Pescuma et al. (2007) também *in vitro*, ao adicionar Bactérias Ácido lácticas (*Lactobacillus delbrueckii sub sp. bulgaricus* CRL 454, *Lactobacillus acidophilus* CRL 636 e *Streptococcus thermophilus* CRL 8) observou que as cepas foram capazes de degradar BLG durante o crescimento, concluindo que essas cepas poderiam ser usadas como culturas adjuvantes para aumentar a digestibilidade de BLG em soro.

Thang, Boye e Zhao (2012) objetivaram verificar o efeito de probióticos na redução de alergia à BLG de vaca em camundongos. As respostas foram avaliadas por monitoração dos escores de hipersensibilidade e imunoglobulinas específicas de BLG. Os resultados demonstraram que os escores de hipersensibilidade foram significativamente menores nos grupos que receberam suplementação probiótica quando comparado ao controle positivo (apenas sensibilizado por BLG). O consumo de probióticos diminuiu a reação alérgica, principalmente por meio do aumento de imunoglobulina A intestinal em camundongos.

Presume-se que os probióticos apresentem três mecanismos de ação em atividades cancerígenas, que seriam capazes de proteger o hospedeiro. A inibição das bactérias responsáveis por transformar substâncias pré-cancerosas em cancerígenas, a inibição direta na formação de células tumorais, e a capacidade de algumas cepas de ligação e/ou inativação cancerígena seriam os três mecanismos de atuação dos probióticos. A redução da resposta inflamatória e aumento da resposta imune também estão sendo apontados como novos mecanismos (ROWLAND; GRASSO, 1975; ORRHAGE et al., 1994; DENIPOTE; TRINDADE; BURINI, 2010).

RONG et al. (2018) verificaram em seu estudo que o consumo de *Lactobacillus helveticus* NS8 reduz significativamente o número de tumores e o grau de hiperplasia em camundongos induzidos a carcinogênese por sulfato de sódio e azoximetano e dextrano. O aumento da proliferação de enterócitos no estágio inicial do câncer colorretal associado à colite foi significativamente suprimido pelo probiótico. O *lactoailus helv.* NS8 suprimiu significativamente a ativação do *NF-κB* e regulou positivamente a citocina anti-inflamatória IL-10. Além disso, o NS8 modulou a disbiose intestinal, promovendo micróbios comensais benéficos enquanto eliminava os micróbios associados ao câncer.

Lytvyn et al. (2016) buscaram avaliar o efeito do probiótico combinado a nutrição enteral (NE) em 140 pacientes pós-operatórios com câncer gástrico. Os pacientes foram divididos em dois grupos, recebendo durante oito dias NE e probióticos, ou apenas NE. Os resultados mostraram que todos os fatores relacionados a função imune, como IgG; IgA e IgM, e também a melhoria das citocinas inflamatórias, incluindo IL-6, IL-8 e TNF- $\alpha$  foram maiores/melhores no grupo probióticos e NE, do que no grupo que recebeu apenas NE. A diarreia que é causada pela NE também foi expressivamente menor no grupo probiótico e NE, do que no grupo apenas NE, os autores consideraram que essa combinação pode melhorar a função imunológica e reduzir a diarreia e resposta inflamatória nestes pacientes.

Probióticos vem sendo estudados também como suplementação em exercício de resistência e resistido. Quinze homens treinados foram suplementados com uma combinação

de cepas probióticas em cápsulas contendo cinco bilhões de unidades formadoras de colônias (*Streptococcus (S.) thermophilus FP4 e Bifidobacterium (B.) breve BR03*) durante 21 dias, depois realizaram um exercício de força nos membros superiores, os autores observaram que o grupo suplementado atenuou o desempenho e a amplitude do movimento, sugerindo que cepas probióticas específicas podem ajudar na recuperação do desempenho após um exercício (JAGUER et al., 2016). Chen et al. (2016) suplementaram ratos durante seis semanas com *Lactobacillus plantarum*, os ratos foram submetidos a duas horas de natação e posteriormente a análises de interesse, os resultados indicaram que a suplementação com *L. plantarum* aumentou a massa muscular, energia, desempenho e demonstrou efeitos antifadiga.

Huanget et al. (2018) em um estudo duplo-cego controlado por placebo com 16 sujeitos com mais de 20 anos de idade, buscou avaliar o efeito ergogênico da suplementação com *Lactobacillus plantarum* no desempenho endurance. Os sujeitos foram suplementados por seis semanas, a avaliações fisiológicas por meio de medidas exaustivas de exercício em esteira e índices bioquímicos relacionados. Os resultados verificaram que o grupo que consumiu o probiótico apresentou maior desempenho de endurance, e também maior glicose no teste de esteira máxima comparado ao placebo, indicando que a suplementação com probiótico *Lactobacillus plantarum* pode ser um suplemento benéfico para o exercício aeróbico e também para a coleta de energia.

Madjidet et al. (2016) objetivaram comparar o efeito benéfico do consumo de um iogurte probiótico comparado ao iogurte desnatado sobre a perda de peso em 89 participantes. Os resultados não demonstraram diferenças significativas na perda de peso, porém observou-se que a ingestão de iogurte probiótico pode ter efeitos positivos sobre a sensibilidade a insulina e o perfil lipídico.

Jones et al. (2012) em seu estudo com adultos hipercolesterolêmicos que consumiram iogurte formulado contendo *Lactobacillus reuteri* NCIMB 30242, observaram que o consumo do iogurte com probiótico reduziu significativamente os níveis séricos de LDL, colesterol total e não HDL, quando comparados aos que consumiram placebo. Já em um estudo realizado por Ivey et al. (2015) com 156 mulheres e homens obesos, a suplementação probiótica com cepas de *Lactobacillus acidophilus* LA5 e *Bifidobacterium animalis subsp. Lactis* Bb12, não apresentaram melhora no perfil lipídico e como também não apresentaram efeito anti-hipertensivo.

Desta forma podemos observar que a modificação da microbiota por meio do consumo de probióticos origina resultados benéficos a saúde humana e que cada cepa bacteriana tem uma função exclusiva no organismo. Cepas que possuem uma mesma espécie são



incomparáveis, e podem apresentar áreas de adesão distintas, diferentes efeitos no sistema imune e mecanismos de ação sobre a mucosa saudável ou inflamada (ISOULARI et al., 2004).

## 2.2 - Prebióticos

Os prebióticos são ingredientes alimentares não digeríveis que afetam benéficamente o hospedeiro. Os prebióticos segundo Raizel et al. (2011) foram introduzidos por Gibson e Roberfroid em 1995, e são essenciais para o crescimento dos microrganismos no intestino, pois são substratos para eles.

Alguns critérios são definidos para que um ingrediente alimentar se caracterize como prebiótico. Para ser considerado um prebiótico, o ingrediente deve fazer parte de um conjunto de moléculas complexas, ter origem vegetal, não ser digerido por enzimas digestiva, nem absorvido no trato intestinal na sua porção superior, ser seletivamente fermentado por cepas bacterianas benéficas ao cólon e ter a capacidade de alterar a microbiota, sendo osmoticamente ativo (KOLIDA; TUOHY; GIBSON, 2002; GIBSON; FULLER, 2000; ROBERFROID, 2007).

Os prebióticos resistem às enzimas digestivas e são degradados apenas no intestino grosso. Os compostos prebióticos são moléculas grandes e por isso não podem ser digeridas na parte superior do trato gastrointestinal, resistindo as enzimas digestivas, ao atingir o intestino grosso são degradados pela microflora bacteriana e estimulam rigorosamente a atividade metabólica e o crescimento das cepas bacterianas, desta forma auxiliam estas cepas em seu crescimento e metabolismo por meio da competição pelo alimento probiótico, o que favorece a proliferação de bactérias benéficas como os *lactobacillus* e as *bifidubacterium*, gerando efeitos fisiológicos importantes para a saúde (OLAGNERO et al., 2007; RAIZEL et al., 2011).

São conhecidos como prebióticos os oligossacarídeos (gentiologossacarídeos, xilologossacarídeos, isomaltoligossacarídeo, frutooligossacarídeos) e a lactulose (GIBSON; FULLER, 2000; SAAD, 2006), porém segundo Carabin e Flamm (1999), com a nova definição os outros carboidratos não digeríveis passam a integrar o grupo de fibras de dieta. Assim, os frutanos (oligofrutose e inulina) fibras solúveis e fermentáveis, e não digeridas por enzimas hidrolíticas e pela  $\alpha$ -amilase na parte superior do trato gastrointestinal, são utilizados como prebióticos, pois influenciam sobre processos bioquímicos e fisiológicos do organismo, melhorando a saúde e reduzindo o risco de manifestação de várias doenças (CUMMINGS; MACFARLANE, 2002; KAUR; GUPTA, 2002).

Além de propiciar o crescimento das bactérias benéficas presentes no cólon, outras vantagens podem ser obtidos ao uso de prebióticos: capacidade de articular-se com funções fisiológicas como o metabolismo de lipídios e absorção de cálcio (SAAD, 2006), produção de nutrientes, inibição de agentes patógenos, alívio de constipação, efeito na glicemia (PIMENTEL; GARCIA; PRUDENCIO, 2012) e na prevenção de doenças alérgicas (SOUZA et al, 2010).

Os prebióticos podem ser consumidos em sua forma natural por meio de alguns vegetais como a cebola, grão-de-bico, alho, alcachofra, aspargo, cevada, centeio, grãos de soja e chicória, como também podem ser extraídos por cozimento ou ação enzimática alcoólica, e polimerização direta (FLESH; POMIOMYCK; DAMIN, 2014).

Segundo a ANVISA o consumo diário recomendado de prebióticos é de 3 a 5 g (BRASIL, 2016). Segundo Anjo (2004) a utilização em excesso pode gerar efeitos divergentes, levando em consideração as substâncias ativas presentes nos alimentos/produtos, quando fermentados os prebióticos aumentam a produção de gás, elevando desta forma o risco de desenvolvimentos de diarreias (por seu efeito osmótico), flatulência, cólicas, inchaço e distensão abdominal, estado este reversível com a interrupção da ingestão e são pouco aceitos por portadores de síndrome do intestino irritável, porém a utilização dentro das doses recomendadas tem apresentado grande aceitação. (MATHEW et al., 1993; COLETT, 2000; MACARI; MAIORKA, 2000; SILVA, 2000; RAIZEL et al. 2011).

Os compostos prebióticos utilizados em humanos são os oligossacarídeos, grande parte dos experimentos científicos analisando os efeitos prebióticos referem-se a inulina e aos frutooligossacarídeos (PUUPPONEN-PIMIÄ et al., 2002).

Savino *et al.* (2003) em um estudo prospectivo observacional em 214 lactantes de até 3 meses de idade com cólica, averiguaram a administração de uma fórmula láctea parcialmente hidrolisada contendo prebióticos (fruto e galacto-oligossacarídeos) reduziram a frequência da cólica em 79% dos bebês. Para confirmar o efeito da fórmula láctea com adição de prebióticos, Savino et al. (2006) realizaram um estudo randomizado e controlado, com 199 lactantes com até 4 meses de idade, observando uma redução significativa nos episódios de cólica dos bebês que receberam a fórmula quando comparados ao controle. Além disso, após o décimo quarto dia o chorar os bebês foram significativamente diferentes entre os dois grupos.

Van Hoffen et al. (2009) em um estudo duplo-cego, randomizado controlado por placebo, objetivaram analisar o efeito de prebióticos (GOS/FOS) na resposta imune de lactantes. Durante seis meses um grupo de bebês recebeu uma fórmula de soro hipoalergênico

com prebióticos e o outro grupo placebo (maltodextrina). A suplementação prebiótica reduziu significativamente os níveis plasmáticos de Imonoglobina (IG) E total, IgG1; IgG2; e IgG3, não observando efeitos sobre a IgG4. A IgG1 específica para alergia ao leite de vaca diminuiu significativamente, considerando os resultados a suplementação prebiótica induz um perfil de anticorpos benéfico.

Em um estudo com ratos, Delzene e Kok (1999) observaram que a adição de oligofrutose a uma dieta rica em gordura durante três semanas reduziu em 50% o triglicérido pós-prandial e evitou o aumento do colesterol livre no soro induzido por dieta rica em gordura.

Buscando verificar o efeito da adição de prebióticos nas características de crescimento, resistência às condições do trato gastrointestinal e remoção de colesterol *in vitro*, Robi (2012) adicionou inulina a cepas de *Lactobacillus helveticus* 416 e *Enterococcus faecium* CRL183, os resultados indicaram que a adição de inulina as cepas melhorou a resistência intestinal e potencializou a capacidade de reduzir o colesterol, visto que a inulina também não impossibilitou o crescimento das cepas.

Um dos principais benefícios da inclusão de prebióticos na dieta é seu efeito bifidogênico. Pimentel, Francki e Gollucke (2005) destacam que vários trabalhos *in vitro* e em humanos demonstram que a inulina e o FOS produzem este efeito por terem um processo de fermentação diferente. A intensidade dos efeitos pode depender da quantidade ingerida e ter relação com o grau de fermentação dos carboidratos na microbiota. Em humanos o efeito dos frutanos na absorção do cálcio é positivo, parecendo ocorrer em condições de maior necessidade do mesmo, como em adolescentes e mulher pós-menopausa (CUPPARI, 2014).

Em um estudo com adolescentes do sexo masculino saudáveis, os autores objetivaram verificar o efeito do consumo de 15g de oligofrutose durante 19 dias na absorção de cálcio. Os resultados demonstraram um aumento na absorção fracionada de cálcio no grupo que recebeu oligofrutose quando comparado ao placebo (VAN DEN HEUVEL et al.,1999). Corroborando com estudos sobre prebióticos e cálcio, Abrams et al. (2005) verificaram os efeitos do consumo de 8g inulina em adolescente na absorção de cálcio e acúmulo de mineral ósseo após 8 semanas e 1 ano. A absorção de cálcio foi significativamente maior em 8 semanas e em 1 ano no grupo frutano quando comparado ao grupo placebo (maltodextrina). O consumo de inulina aumentou também a mineralização óssea durante o crescimento puberal.

Em um estudo cruzado, duplo-cego e randomizado com mulheres pós-menopausa durante 19 dias, Van Den Heuvel, Schoterman e Muijs (2000) buscaram investigar se um produto rico em prebiótico (20g transgalacto-oligossacarídeos) estimularia a absorção de

cálcio. Os resultados indicaram que a maior absorção de cálcio foi no grupo com consumo de probiótico quando comparado ao grupo de tratamento de referência (isotópicos estáveis de Cálcio), e este aumento na absorção não foi acompanhado pelo aumento de excreção de cálcio na urina, o que pode indiretamente aumentar a captação de cálcio pelos ossos.

Além da inserção de microrganismos vivos no colón por meio de suplementos alimentícios, pode-se também multiplicar o número dos microrganismos benéficos já existentes por meio do consumo de prebióticos (CARDELLI, 2006). O consumo de prebióticos propicia energia para a proliferação das cepas benéficas, mas não incentivam o crescimento das bactérias patogênicas. Os efeitos produzidos por uma microbiota saudável foi observado com a introdução dos prebióticos na alimentação ou como forma de suplementação, visto que os efeitos dos prebióticos são praticamente os mesmos dos probióticos, onde o primeiro estimula o crescimento do segundo.

### **2.3 - Simbióticos**

A combinação simultânea de ingredientes prebióticos e microrganismos probióticos formam os alimentos simbióticos, gerando um produto com as características funcionais dos dois grupos, que em sinergia vão beneficiar a saúde do hospedeiro (FOOD INGREDIENTS BRASIL, 2011; SCHREZENMEIR; VRESE, 2010). Segundo Anandharaj et al. (2014) a sinergia dessa combinação promove a proliferação de bactérias benéficas já existentes no cólon, como também das bactérias adicionadas, e aumenta a qualidade e o tempo de sobrevivência dessas cepas.

Os produtos simbióticos podem ser indicados para alguns casos clínicos, nos quais sua eficácia já é relatada, sendo eles: encefalopatia hepática, síndrome do intestino irritável, constipação, diarreia em pacientes em nutrição enteral por sonda nasogástrica, diarreia em pacientes portadores da síndrome da imunodeficiência adquirida, diarreia dos viajantes, diarreia viral aguda, doença inflamatória intestinal, infecções e complicações gástricas pelo *Helicobacter pylori*, síndrome da resposta inflamatória sistêmica, alergia, redução do colesterol e triacilglicerol plasmático, carcinogênese, radioterapia envolvendo a pelve, melhoria da saúde urogenital de mulheres, efeitos benéficos no metabolismo mineral, principalmente na densidade e estabilidade óssea (KARKOW; FAINTUCH; KARKOW, 2007; SCHREZENMEIR; VRESE, 2010).

Segundo Badaró et al. (2008) os efeitos benéficos produzidos pelos prebióticos e probióticos tem despertado o interesse tanto das indústrias alimentícias como também de pesquisadores, para o desenvolvimento de produtos e estudos com simbióticos. A redução de infecções intestinais e de citocinas pró-inflamatórias, a melhora do sistema imune, a redução

de massa gorda e aumento de massa magra, redução da proliferação de células cancerígenas e diminuição dos níveis de glicemia e colesterol, são alguns dos efeitos benéficos apresentados com o consumo de alimentos simbióticos, entre outros relatos em diversos estudos que comprovam os benefícios de alimentos funcionais (RAIZEL et al., 2011).

Polakowski (2019) em um estudo com 73 pacientes com câncer de colorretal, que foram submetidos a uma suplementação (simbiótico ou placebo - maltodextrina) pré-operatória durante sete dias, os resultados mostraram que os simbióticos atenuaram no estado inflamatório e está relacionado a reduções de morbidade, do tempo de internação hospitalar e do uso de antibióticos, apresentando assim efeitos benéficos em pacientes pré-operatórios com câncer colorretal.

O consumo de simbióticos foi capaz de alterar a flora fecal aumentando os lactobacilos e as bifidobactérias, e reduzindo *Clostridium perfringens*, e também diminuindo expressivamente a proliferação de células cancerígenas e a capacidade de necrose de 43 pacientes polictomizados e 37 pacientes portadores de câncer no cólon (RAFTER et al., 2007).

No experimento de Gavresea et al. (2018) em 60 ratos induzidos a câncer de colón pré-neoplásico, os grupos que receberam carcinógeno e simbiótico apresentaram 100% de sobrevivência e também tiveram significativamente menor ocorrência de inflamação, lesões parecidas com colite e displasia de focos de criptas aberrantes quando comparado ao grupo que recebeu apenas o carcinógeno. O grupo que recebeu simbiótico ao mesmo tempo em que começou receber carcinógeno apresentou menos lesões patológicas, parecendo assim que os simbióticos protegem quanto ao aparecimento de lesões do colón pré-neoplásio, exercendo propriedades antimutâgenicas.

Em um estudo randomizado, duplo-cego e controlado por placebo Motori et al. (2012) objetivaram avaliar o efeito do consumo de simbiótico durante 30 dias sobre os níveis de glicemia e colesterol em 20 voluntários idosos. Os resultados indicaram que o grupo simbiótico apresentou um aumento significativo nos níveis de colesterol HDL e uma redução relevante na glicemia em jejum, e uma pequena redução nos triglicerídeos e colesterol total, enquanto nenhuma alteração expressiva foi observada no grupo placebo.

Fox et al. (2019) em um estudo duplo-cego, randomizado controlado, buscou verificar o efeito do consumo de simbiótico associado a uma fórmula de aminoácidos em bebês com alergia ao leite de vaca não mediada por Imunoglobulina E. Após 26 semanas de tratamento foi verificado por meio da análise do bolo fecal que no grupo aminoácidos e simbióticos as porcentagens de bifidobactérias foi significativamente maior, enquanto as porcentagens de

*Eubacterium rectale/Clostridium coccoides* foram significativamente menores quando comparado ao grupo placebo. O uso de medicamento dermatológico e relatos de infecções no ouvido também foram menores no grupo aminoácidos e simbióticos.

De acordo com Souza et al. (2010) a utilização de galacto-oligossacarídeos e frutooligossacarídeos, associados ou não a probióticos (LGG) em crianças com dermatite atópica moderada e grave, ambas suplementações promove melhora dos sinais clínicos baseados em escores de gravidade. Corroborando com este estudo, Ibanez et al. (2018) em seu estudo prospectivo observacional verificou que a suplementação simbiótica em crianças com dermatite atópica ajuda a melhorar os sintomas da doença, E mais de 80% das crianças melhoraram os sintomas clínicos observadas por pais e médicos.

Haghighat et al. (2018) em um estudo randomizado, duplo-cego e controlado por placebo, objetivaram investigar o efeito da suplementação simbiótico e probiótico na disfunção vascular sérica e em marcadores de necrose em pacientes em hemodiálise. Os pacientes (75) foram divididos aleatoriamente em três grupos: Simbiótico, que receberam 15g de prebióticos e 5g de probiótico; Probiótico, que receberam 5g probiótico e 15g de pó de maltodextrina e o placebo que receberam apenas 20g de pó de maltodextrina durante 12 semanas. Os resultados mostraram que o consumo de simbiótico reduziu significativamente o nível das concentrações séricas de molécula de adesão intercelular solúvel tipo 1 que é um fator de risco para doenças cardiovasculares em pacientes em hemodiálise, mas não tem efeito sobre o marcador de necrose.

Ipar et al. (2015) em um estudo aberto, randomizado, controlado, incluindo crianças com obesidade primária com duração de 30 dias, verificou que o grupo de crianças que tiveram mudanças no estilo de vida (diminuição de 10% da ingestão calórica e 30 minutos por dia de atividade física) e receberam a suplementação simbiótica diminuíram significativamente o peso, o índice de massa corporal, as medidas antropométricas, o colesterol total sérico, o colesterol de lipoproteína de baixa densidade e os níveis de estresse oxidativo quando comparados ao grupo controle que tiveram apenas mudanças no estilo de vida.

Lobão (2008) verificou em seu estudo que o consumo de simbiótico em pó (frutooligossacarídeos e *Lactobacillus Casei*, *Lactobacillus Rhamnosus*, *Lactobacillus Acidophilus*, *Bifidobacterium bifidum*) por atletas de futebol, acelerou os ganhos de massa magra e reduziu a gordura corporal junto com a realização do treinamento físico. O simbiótico vem apresentando resultados positivos em parâmetros de saúde, os estudos vem se direcionando na busca de melhoria de patologias comuns, mas tem aumentado o interesse em

descobrir sua eficácia como forma de suplementação relacionada a exercícios físicos e em outras associações.

A utilização de simbiótico na alimentação diária parece ter grandes benefícios. Aumentar o número das bactérias benéficas já existentes, bem como aumentar também as bactérias adicionadas por meio do probiótico, pode originar resultados com grandes impactos, visto os efeitos que tanto o probiótico como o prebiótico já produzem separadamente.

De modo geral, os alimentos funcionais pesquisados apresentam benefícios à saúde do hospedeiro. Os três alimentos mostraram uma capacidade de alterar a microbiota intestinal tanto humana como animal, de modo que as bactérias benéficas se proliferem diminuindo o número das bactérias maléficas, o que torna a microbiota equilibrada e o organismo saudável, prevenindo o surgimento de novas patologias.

Os números de microrganismos formadores de colônias e tempo de consumo interferem na eficiência da bactéria utilizada. Para que o probiótico tenha eficácia é necessário que o número de UFC esteja na quantidade recomenda e o um tempo mínimo de consumo de 14 dias. Outro ponto chave para resultados fidedignos é quanto a especificidade da cepa, cada cepa possui sua especificidade e a utilização de uma cepa incorreta pode acarretar em resultados insignificantes.

O consumo desses alimentos tem apresentado resultados pertinentes. Redução de ocorrência de alergias, de doenças intestinais, da proliferação de células cancerígenas alteração no sistema imune propiciando o seu fortalecimento, entre outros. A realização de mais estudos que comprovem de fato esses resultados auxiliaria na resolução dessas patologias, sendo de grande importância para a ciência da saúde, porém deve haver uma padronização das cepas, das doses e tempo de consumo para alavancar esses resultados, o consumo dos mesmos por pessoas saudáveis também deve ser investigado, buscando analisar quais as modificações no organismo saudável.

### **3. OBJETIVOS**

#### **OBJETIVO GERAL**

Avaliar os efeitos do probiótico, prebiótico e simbiótico em alguns parâmetros da função renal, hepática, antioxidante e lesão muscular.

#### **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

Avaliar os efeitos do consumo de probiótico, prebiótico e simbiótico associados ao um queijo tipo cottage nos seguintes parâmetros:

- Marcadores Função renal (Ureia, Ácido úrico, albumina e proteínas totais)
- Marcadores antioxidantes (SOD, Glutathione, GPx, catalase)
- Marcadores indicadores de lesão (CK, LDH, ALT, AST)



#### 4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABRAMS, Steven A. et al. A combination of prebiotic short-and long-chain inulin-type fructans enhances calcium absorption and bone mineralization in young adolescents–. **The American journal of clinical nutrition**, v. 82, n. 2, p. 471-476, 2005.
- ANANDHARAJ, M., SIVASANKARI, B., RANI, R.P. Effects of probiotics, prebiotics and synbiotics on hipercholesterolemia: A review. *Chinese Journal of Biology* Volume 2014, Article ID 572754.
- ANGELIS, R. C. de; Importância de alimentos vegetais na proteção da saúde: fisiologia da nutrição protetora e preventiva de enfermidades degenerativas. São Paulo, Rio de Janeiro, Belo Horizonte: Atheneu, 2001. 295p.
- ASHWELL M. Conceptos sobre Alimentos Funcionales. ILSI Europe Concise Monograph Series, ILSI Press 2005.
- BADARÓ, ANDRÉA CÁTIA LEAL et al. Alimentos probióticos: aplicações como promotores da saúde humana–parte 1. **Nutrir Gerais**, v. 2, n. 3, p. 1-29, 2008.
- BRANDÃO SCC. Novas Gerações de Produtos Lácteos Funcionais [artigo na internet]. Belo Horizonte; 2002 . Disponível em [http://www.laticinio.net/inf\\_tecnicas.asp?cod=33](http://www.laticinio.net/inf_tecnicas.asp?cod=33)
- BRASIL. Ministério da Saúde. ANVISA. Alimentos Com Alegações de Propriedades Funcionais e ou de Saúde. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/>. (2016). Acesso em: 15 de Novembro de 2018.
- BRASIL. Ministério da Saúde. ANVISA. Resolução nº 18, de 30 de abril de 1999: diretrizes básicas para análise e comprovação de propriedades funcionais e ou de saúde alegadas em rotulagem de alimentos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 14 de maio 1999. Seção 2. p.11.
- BRASIL. Ministério da Saúde. ANVISA. Resolução RDC nº 2, de 07 de janeiro de 2002. Aprova o Regulamento Técnico de Substâncias Bioativas e Probióticos Isolados com Alegação de Propriedades Funcional e ou de Saúde. **D.O.U. - Diário Oficial da União; Poder Executivo**, de 09 de janeiro de 2002.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de atenção à saúde. Coordenação-geral da política de alimentação. Guia alimentar para a população brasileira. Brasília. Ministério da Saúde. Série A. **Normas e manuais técnicos**. 2005. Disponível em: <http://www.materiasespeciais.com.br/saude/guia/guiaalimentar.doc>.
- BRASIL. Pesquisa revela que 57,4 milhões de brasileiros têm doença crônica. Disponível em: <http://www.brasil.gov.br/saude/2014/12/pesquisa-revela-que-57-4-milhoes-de-brasileiros-tem-doenca-cronica>.
- BRIZUELA, M. A.; SERRANO, P.; PEREZ, Y. Studies on probiotics properties of two lactobacillus strains.**Braz. arch. biol. technol.** v. 44, n. 1, p. 95-99, 2001
- CABRÉ, E., GASSULL, M. Probiotics for preventing relapse or recurrence in Chrohn's disease involving the ileum: are there reasons for failure? **Journal of Chohn's and Colitis**, v.1, p.47-52, 2007.
- CARABIN, Ioana G.; FLAMM, W. Gary. Evaluation of safety of inulin and oligofructose as dietary fiber. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 30, n. 3, p. 268-282, 1999.
- CARDARELLI, Haissa Roberta. **Desenvolvimento de queijo\'petit-suisse\'simbiótico**. 2006. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

Carvalho MA, Pereira Junior A. Nutrição e estados de humor: da medicina chinesa antiga à neurociência. RevSimbio-Logias [periódico na internet]. 2008 Disponível em: [http://www.ibb.unesp.br/servicos/publicacoes/simbio\\_logias/documentos/v1n1/ARTIGO\\_03\\_FILO\\_nutricao\\_estados\\_de\\_humor.pdf](http://www.ibb.unesp.br/servicos/publicacoes/simbio_logias/documentos/v1n1/ARTIGO_03_FILO_nutricao_estados_de_humor.pdf)

CHARTERIS, W.P., KELLY, P.M., MORELLI, L., COLLINS, J.K. Ingredient selection criteria for probiotic microorganisms in functional dairy foods. **Int. J. Dairy Technol.**, Long Hanborough, v. 51, n.4, p.123-136, 1998.

CHEN, Yi-Ming et al. Lactobacillus plantarum TWK10 supplementation improves exercise performance and increases muscle mass in mice. **Nutrients**, v. 8, n. 4, p. 205, 2016.

CUMMINGS, J. H.; MACFARLANE, G. T. Gastrointestinal effects of prebiotics. **British Journal of Nutrition**, v. 87, n. S2, p. S145-S151, 2002. PUUPPONEN-PIMIÄ, R. A. M. A. et al. Development of functional ingredients for gut health. **Trends in Food Science & Technology**, v. 13, n. 1, p. 3-11, 2002.

CUPPARI, Lilian. Guia de nutrição: clínica no adulto. In: **Guia de nutrição: clínica no adulto**. 2014.

DE OLIVEIRA, Maricê Nogueira et al. Aspectos tecnológicos de alimentos funcionais contendo probióticos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 38, n. 1, p. 1-21, 2002.

DE VRESE, M.; STEGELMANN, A.; RICHTER, B.; FENSELAU, S.; LAUE, C.; SCHREZENMEIR, J. Probiotic – compensation for lactose insufficiency. *American Journal of Clinical Nutrition*, v. 73, n. 2, p. 421-429, 2001.

DELZENNE, N.M., KOK, N. Biochemical basis of oligofructose induced hypolipidemia in animal models. *J Nutr.* 1999 Jul;129(7 Suppl):1467S-70S.

DENIPOTE, Fabiana Gouveia; TRINDADE, Erasmo Benício Santos de Moraes; BURINI, Roberto Carlos. Probiotics and prebiotics in primary care for colon cancer. **Arquivos de gastroenterologia**, v. 47, n. 1, p. 93-98, 2010.

FERREIRA BARBOSA, Flávio Henrique et al. Microbiota indígena do trato gastrintestinal. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v. 10, n. 1, 2010.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION et al. **Probiotics in food: health and nutritional properties and guidelines for evaluation**. FAO, 2006.

FLESCH, Aline Gamarra Taborda; POZIOMYCK, Aline Kirjner; DAMIN, Daniel De Carvalho. The therapeutic use of symbiotics. **ABCD. Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva (São Paulo)**, v. 27, n. 3, p. 206-209, 2014.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS, WORLD HEALTH ORGANIZATION. Evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. Córdoba, 1-4 october 2001. 34p.

FOODS INGREDIENTS BRASIL. Probióticos, prebióticos e simbióticos. **REVISTA FOOD INGREDIENTS BRASIL**. São Paulo, n. 17, p. 58-65, 2001. Disponível em: [http://revista-fi.com.br/upload\\_arquivos/201606/2016060596087001465308998.pdf](http://revista-fi.com.br/upload_arquivos/201606/2016060596087001465308998.pdf).

FORESTIER, C., DE CHAMPS, C., VATOUX, C., JOLY, B. Probiotic activities of *Lactobacillus casei* rhamnosus: in vitro adherence to intestinal cells and antimicrobial properties. **Res Microbiol.** 2001; 152 (2): 167-173.

- FOX, Adam T. et al. A specific synbiotic-containing amino acid-based formula in dietary management of cow's milk allergy: a randomized controlled trial. **Clinical and translational allergy**, v. 9, n. 1, p. 5, 2019.
- GAVRESEA, Fani et al. Beneficial effect of synbiotics on experimental colon cancer in rats. 2018.
- GUARNER, F., MALAGELADA, J.R. Gut flora in health and diseases. **Lancet**, v.360, p.512-518, 2003.
- GUARNER, F., SCHAAFSMA, G.J. Probiotics. **Int J Food Microbiol** 1998;39:237e8.
- HUANG, Wen-Ching et al. Effect of *Lactobacillus plantarum* TWK10 on improving endurance performance in humans. **Chin. J. Physiol**, v. 61, p. 163-170, 2018.
- HUTKINS, R.W., KRUMBECK, J.A., BINDELS, L.B., CANI, P.D., FAHEY JR, G., GOH, Y.J., HAMAKER, B., MARTENS, E.C., MILLS, D.A., RAASTAAL, R.A., VAUGHAN, E., SANDERS, M.E. Prebiotics: why definitions matter. *Curr Opin Biotechnol*. 2016 February; 37: 1-7.
- IBÁÑEZ, M. Dolores et al. Effect of synbiotic supplementation on children with atopic dermatitis: an observational prospective study. **European journal of pediatrics**, v. 177, n. 12, p. 1851-1858, 2018.
- IPAR, N. et al. Effects of synbiotic on anthropometry, lipid profile and oxidative stress in obese children. **Beneficial microbes**, v. 6, n. 6, p. 775-781, 2015.
- ISOLAURI, E., SALIMEN, S., OUWEHAND, A.C. Probiotics. **Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol.**, London, v.18, n.2, p.229-313, 2004.
- JÄGER, Ralf et al. Probiotic *Bacillus coagulans* GBI-30, 6086 reduces exercise-induced muscle damage and increases recovery. **PeerJ**, v. 4, p. e2276, 2016.
- JÄGER, Ralf et al. Probiotic *Streptococcus thermophilus* FP4 and *Bifidobacterium breve* BR03 supplementation attenuates performance and range-of-motion decrements following muscle damaging exercise. **Nutrients**, v. 8, n. 10, p. 642, 2016.
- JOINT FAO/WHO WORKING GROUP et al. Guidelines for the evaluation of probiotics in food. **London: World Health Organization, ON, Canada: Food and Agriculture Organization**, 2002.
- KARKOW, Francisco Juarez Almeida; FAINTUCH, Joel; KARKOW, Antonio Gustavo Macedo. Probióticos: perspectivasmédicas. **Rev. AMRIGS**, v. 51, n. 1, p. 38-48, 2007.
- KAUR, I.P., CHOPRA, K., SAINI, A. Probiotics: potential pharmaceutical applications. **Eur. J. Pharm. Sci.**, Amsterdam, v.15, p. 1-9, 2002.
- KAUR, Narinder; GUPTA, Anil K. Applications of inulin and oligofructose in health and nutrition. **Journal of biosciences**, v. 27, n. 7, p. 703-714, 2002.
- KHALESI, S., SUN, J., BUYS, N., JAYASINGHE, R. Effect of probiotics on blood pressure. A systematic review and meta-analysis of randomized, controlled trials. **Hypertension**. 2014;64:897-903. doi: <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.114.03469>.
- KHANI, S., HOSSEINI, H.M., TAHERI, M., NOURANI, M.R., FOOLADI, A.A.I. Probiotics as na alternative strategy for prevention and treatment of human diseases: A review. **Inflammation & Allergy - Drug Targets**, 2012, 11, 79-89

KLEIN, A., FRIEDRICH, U., VOGELSANG, H., JAHREIS, G. Lactobacillus acidophilus 74-2 and Bifidobacterium animalissubsp lactis DGCC 420 modulate unspecific cellular immune response in healthy adults. **Eur J Clin Nutr.** 2008 May;62(5):584-93.

KOLIDA S, TUOHY K, GIBSON G. Prebiotic effects of Inulin and Oligofructosa. Br J Nutr. 2002 87, Suppl. 2, S193-S197.

LI, G. Intestinal probiotics: Interactions with bile salts and reduction of cholesterol. **Procedia Environmental Sciences** .12 ( 2012 ) 1180 – 1186.

LOLLO, P.C.B., CRUZ, A.G., MORATO, P.N., MOURA, C.S., SILVA, L.B.C., OLIVEIRA, C.A.F., FARIA, J.A.F., AMAYA-FARFAN, J. Probiotic cheese attenuates exercise-induced immune suppression in Wistar rats. **J Dairy Sci.** 2012 Jul;95(7):3549-58. doi: 10.3168/jds.2011-5124.

LYTVYN, L. et al. Probiotics and synbiotics for the prevention of postoperative infections following abdominal surgery: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. **Journal of hospital infection**, v. 92, n. 2, p. 130-139, 2016.

MADJD, A., TAYLOR, M.A., MOUSAVI, N., et al. Comparison of the effect of daily consumption of probiotic compared with low-fat conventional yogurt on weight loss in healthy obese women following an energy-restricted diet: a randomized controlled trial. **Am J Clin Nutr.** 2016 Feb;103(2):323-9. doi: 10.3945/ajcn.115.120170.

MAESTRI, B., HERRERA, L., SILVA, N.K., RIBEIRO, D.H.B., CHAVES, A.C.S. Avaliação do impacto da adição de inulina e de maçã em leite fermentado probiótico concentrado. **Braz. J. Food Technol**, Campinas, v.17, n.1, p.58-66, jan./mar. 2014.

MAIER, Irene et al. Changes in peptic digestibility of bovine  $\beta$ -lactoglobulin as a result of food processing studied by capillary electrophoresis and immune chemical methods. **Journal of Chromatography B**, v. 841, n. 1, p. 160-167, 2006

MARTINS, F.S.; TIAGO, F. C.P.; BARBOSA, F.H.F.; PENNA, F.J.; ROSA, C.A.; NARDI, R.M.D.; NEVES, M.J.; NICOLI, J.R. Utilização de leveduras como probióticos. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v. 5, n. 2, p.14-20, 2005.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Resolução RDC nº 2, de 7 de janeiro de 2002. Regulamento Técnico de Substâncias Bioativas e Probióticos Isolados com Alegação de Propriedades Funcional ou de Saúde [resolução na internet]. Disponível em: <http://legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=1567>.

MORAES, F.P., COLLA, L.M. Alimentos funcionais e nutracêuticos: Definições, legislação e benefícios à saúde. **Revista Eletrônica de Farmácia** Vol 3(2), 109-122, 2006 ISSN 1808-0804.

MOROTI, C., MAGRI, L.F.S., COSTA, M.R., CAVALINI, D.C.U., SIVIERI, K. Effect of the consumption of a new symbiotic shake on glycemia and cholesterol levels in elderly people with type 2 diabetes mellitus. **Lipids Health Dis.** 2012;11(1):1.

NAGPAL, R., KUMAR, A., KUMAR, M., BEHARE, P.V., JAIN, S., YADAV, H. Probiotics, their health benefits and applications for developing healthier foods: a review. **FEMS Microbiol Lett** 334 (2012) 1-15.

OLAGNERO, Gabriela et al. Alimentos funcionais: fibra, prebióticos, probióticos y simbióticos. **Diaeta**, v. 25, n. 121, p. 20-33, 2007.

OLIVEIRA, M.N. Probióticos: seus benefícios a saúde humana. **Nutrição em Pauta**, v. 15, n.87, 2007.

- ORANUSI, S., ADEDEJI, O.M., OLOPADE, B.K. Probiotics in the management of diseases: A review. *Int. j. Curr. Res. Aca. Rev.* 2014; 2 (8): 138-158.
- ORRHAGE K, SILLERSTROM E, GUSTAFSSON JA, Nord C, RAFTER JJ. Binding of mutagenic heterocyclic amines by intestinal and lactic acid bacteria. *Mutat Res.* 1994;311: 239-48.
- PAIXÃO, Ludmilla Araújo; DOS SANTOS CASTRO, Fabiola Fernandes. Colonização da microbiota intestinal e sua influência na saúde do hospedeiro. **Universitas: Ciências da Saúde**, v. 14, n. 1, p. 85-96, 2016.
- PARK, Y. K., KOO, M. H., CARVALHO, P. O. Recentes progressos dos alimentos funcionais. *Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v. 5, n. 31, p. 200-206, 1997.
- PERRICONE, M., BEVILACQUA, A., ALTIERI, C., SINIGAGLIA, M., CORBO, M.R. Challenges for the production of probiotic fruit juice. **Beverages** 2015, 1, 95-103; doi:10.3390/beverages1020095.
- PESCUMA, M. et al. Hydrolysis of whey proteins by *Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii* sp. *Bulgaricus* grown in a chemically defined medium. **Journal of applied microbiology**, v. 103, n. 5, p. 1738-1746, 2007.
- PESCUMA, Micaela et al. *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* CRL 454 cleaves allergenic peptides of  $\beta$ -lactoglobulin. **Food chemistry**, v. 170, p. 407-414, 2015.
- PIMENTEL, T. C; GARCIA S; PRUDENCIO S. H. Aspectos funcionais, de saúde e tecnológicos de frutanos tipo inulina. B.CEPPA. Curitiba. V30, n1, p103-118. Jun 2012.
- POLAKOWSKI, Camila Brandão et al. Impact of the preoperative use of synbiotics in colorectal cancer patients: A prospective, randomized, double-blind, placebo-controlled study. **Nutrition**, v. 58, p. 40-46, 2019.
- PUUPPONEN-PIMIÄ , R. A. M. A. et al. Development of functional ingredients for gut health. **Trends in Food Science & Technology**, v. 13, n. 1, p. 3-11, 2002.
- QUIGLEY, E.M.M. Gut bacteria in health and diseases. *Gastroenterology & Hepatology*, Volume 9, Issue 9 September 2013.
- RAFTER J. The role of lactic acid bacteria in colon cancer prevention. *Scand J Gastroenterol.* 1995;30:497-502.
- RAFTER, Joseph et al. Dietary synbiotics reduce cancer risk factors in polypectomized and colon cancer patients-. **The American journal of clinical nutrition**, v. 85, n. 2, p. 488-496, 2007.
- RAIZEL, R., SANTINI, E., KOOPER, A.M., REIS FILHO, A.D. Efeitos do consumo de probióticos, prebióticos e simbióticos para o organismo humano. *Revista Ciência & Saúde*, Porto Alegre, v. 4, n. 2, p. 66-74, jul./dez. 2011.
- ROBERFROID MB. Introducing inulin-type fructans. *Br J Nutr.* 2005 Apr;93 Suppl 1:S13-25.
- ROBERFROID, M. Prebiotics: The concept revisited. *J Nutr.* 2007 Mar;137(3 Suppl 2):830S-7S.
- ROBI, Gabriela Carrara. Efeito da adição de inulina no crescimento, resistência gastrintestinal e capacidade de remoção de colesterol de *Lactobacillus helveticus* 416 e *Enterococcus faecium*

CRL 183. 2012. 52 f. Trabalho de conclusão de curso (Farmácia-Bioquímica) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, 2012. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/120790>>.

RONG, Jingjing et al. Single probiotic supplement suppresses colitis-associated colorectal tumorigenesis by modulating inflammatory development and microbial homeostasis. **Journal of Gastroenterology and Hepatology**, 2018.

ROWLAND IR, GRASSO P. Degradation of N-nitrosamines by intestinal bacteria. *Appl Microbiol.* 1975;29:7-12.

RYAN, P.M., ROSSC, P., FITZGERALD, G.F., CAPLICEE, N.M., STANTONA, C. Functional food addressing heart health: do we have to target the gut microbiota? **Curr Opin Clin Nutr Metab Care** 2015, 18:566–571 DOI:10.1097/MCO.0000000000000224

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

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

SAAD, Susana Marta Isay. Probiotics and prebiotics: the state of the art. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 42, n. 1, p. 1-16, 2006.

SAFAVI, M., FARAJIAN, S., KELISHADI, R. et al. The effects of synbiotic supplementation on some cardio-metabolic risk factors in overweight and obese children: a randomized triple-masked controlled trial. **Int J Food Sci Nutr.** 2013 Sep;64(6):687-93. doi: 10.3109/09637486.2013.775224.

SANDERS, T. A. B. Food production and food safety. **British Medical Journal**, vol. 318, no. 7199, pp. 1689–1693, 1999.

SANTOS, M. S; FERREIRA, C. L. L. F; GOMES, P. C.; SANTOS, J. L.; POZZA, P. C.; TESHIMA, E. Influência do fornecimento de probiótico à base de *Lactobacillus* sp. sobre a microbiota intestinal de leitões. **Ciência. agrotec.**, v. 27, n. 6, p. 1395-1400, 2003.

SAVINI, M., CECCHINI, C., VERDENELLI, M.C., SILVI, S., PERPIANESI, C., CRESCI, A. Pilot-scale production and viability analysis of freeze-dried probiotic bacteria using different protective agents. *Nutrients* 2010, 2, 330-339; doi:10.3390/nu2030330

Savino F, Cresi F, Maccario S, et al. “Minor” feeding problems during the first months of life: effect of a partially hydrolysed milk formula containing fructo- and galacto-oligosaccharides. *Acta Paediatr.* 2003;92:86–90.

Savino F, Palumeri E, Castagno E, et al. Reduction of crying episodes owing to infantile colic: a randomized controlled study on the efficacy of a new infant formula. *Eur J Clin Nutr.* 2006

SCHREZENMEIR, Jürgen; DE VRESE, Michael. Probiotics, prebiotics, and synbiotics—approaching a definition—. **The American journal of clinical nutrition**, v. 73, n. 2, p. 361s-364s, 2001.

SGARBIERI, V. C., PACHECO, M. T. B. Revisão: Alimentos funcionais fisiológicos. *Brazilian Journal of Food Technology*, n. 2, p. 7-19, 1999.

SHAH, Nagendra P. Functional cultures and health benefits. **International dairy journal**, v. 17, n. 11, p. 1262-1277, 2007.

SHAHIDI, F. Nutraceuticals and functional foods in health promotion and disease risk

SOUZA, F. S. et al. Prebióticos, probióticos e simbióticos na prevenção e tratamento das doenças alérgicas. *Revista Paulista de Pediatria*, São Paulo, v.23, n.1, p.86-97, 2010.

SOUZA, Fabíola Suano et al. Prebióticos, probióticos e simbióticos na prevenção e tratamento das doenças alérgicas. **Revista Paulista de Pediatria**, 2010.

STEFE, C.A., ALVES, M.A.R., RIBEIRO, R.L. probióticos, prebióticos e simbióticos – Artigo de Revisão. **Saúde & Ambiente em Revista**, Duque de Caxias, v.3, n.1, p. 16-33, jan-jun 2008.

STRINGHETA, P.C., OLIVEIRA, T.T., GOMES, R.C., AMARAL, M.P.H., CARVALHO, A.F., VILELA, M.A.P. Políticas de saúde e alegações de propriedades funcionais e de saúde para alimentos no Brasil. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**. v.43, n.2., abr./jun., 2007.

STÜRMER, Elisandra Saete et al. A importância dos probióticos na microbiota intestinal humana. **Rev Bras Nutr Clin**, v. 27, n. 4, p. 264-72, 2012.

TALBERT, R.L. New therapeutic options in the National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III. *Am J. Manag. Care* 8, S301-307, 2002.

TANNOCK, G.W., *Normal Microflora*, London: Chapman & Hall, 1995

THANG, Cin L.; BOYE, Joyce I.; ZHAO, Xin. Low Doses of Allergen and Probiotic Supplementation Separately or in Combination Alleviate Allergic Reactions to Cow  $\beta$ -Lactoglobulin in Mice, 2. **The Journal of nutrition**, v. 143, n. 2, p. 136-141, 2012.

THUSHARA, R.M., GANGADARAN, S., SOLATI, Z., MOGHADASIAN, M.H. Cardiovascular benefits of probiotics: a review of experimental and clinical studies. *Food Funct.*, 2016, 7, 632–642.

TRAUTVETTER, U., DITSCHIED, B., KIEHNTOPF, M., JAHREIS, G. A combination of calcium phosphate and probiotics beneficially influences intestinal lactobacilli and cholesterol metabolism in humans. **Clin Nutr.** 2012 Apr;31(2):230-7. doi: 10.1016/j.clnu.2011.09.013.

VAN DEN HEUVEL, Ellen GHM et al. Oligofructose stimulates calcium absorption in adolescents–. **The American journal of clinical nutrition**, v. 69, n. 3, p. 544-548, 1999.

VAN DEN HEUVEL, Ellen GHM; SCHOTERMAN, Margriet HC; MUIJS, Theo. Transgalactooligosaccharides stimulate calcium absorption in postmenopausal women. **The Journal of nutrition**, v. 130, n. 12, p. 2938-2942, 2000.

VAN HOFFEN, Els et al. A specific mixture of short-chain galacto-oligosaccharides and long-chain fructo-oligosaccharides induces a beneficial immunoglobulin profile in infants at high risk for allergy. **Allergy**, v. 64, n. 3, p. 484-487, 2009.

WALLACE, T.C., GUARNER, F., MADSEN, K. et al. Human gut microbiota and its relationship to health and disease. **Nutr Rev.** 2011 Jul;69(7):392-403. doi: 10.1111/j.1753-4887.2011.00402.x

Wickens K, Black P, Stanley TV, et al. A protective effect of 6 years: does it also reduce atopic sensitization? 2012;42:1071-1079.;60:1304–1310.[Crossref], [PubMed], [Web of Science @]

Wickens K, Stanley TV, Mitchell E, et al. Early supplementation 2013;43:1048-1057. [Crossref], [Web of Science @]

WICKENS, Kristin et al. A differential effect of 2 probiotics in the prevention of eczema and atopy: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 122, n. 4, p. 788-794, 2008.

WICKENS, Kristin et al. Effects of *Lactobacillus rhamnosus* HN001 in early life on the cumulative prevalence of allergic disease to 11 years. **Pediatric Allergy and Immunology**, v. 29, n. 8, p. 808-814, 2018.

WORLD GASTROENTEROLOGY ORGANIZATION (WGO). Diretrizes Mundiais da Organização Mundial de Gastroenterologia: Probióticos e prebióticos. Outubro, 2011. Disponível em: <http://www.worldgastroenterology.org/UserFiles/file/guidelines/probiotics-portuguese-2011.pdf>



**EFFECTS OF PREBIOTICS, PROBIOTICS AND SYMBIOTICS ASSOCIATED  
WITH A COTTAGE CHEESE ON HEALTH PARAMETERS OF HEALTHY  
WISTAR RATS**

**ABSTRACT**

Functional foods stand out for their nutritional quality and for the physiological and metabolic effects they promote in the body, promoting its benefits. Prebiotics, probiotics and symbiotics are the most used within the group of functional foods, for their benefits in the intestinal microbiota. The objective of this study was to evaluate the effects of prebiotics, probiotics and symbiotics associated with cottage cheese on some parameters of renal function, liver, antioxidant and muscle injury healthy wistar rats. The animals were subdivided into five groups: control, normal cottage, prebiotic cottage, probiotic cottage and symbiotic cottage, the diet was administered for 14 days, 20g/day, the control group received commercial feed in the same proportion. After 12 hours of the last day of supplementation, blood samples were collected for analysis of the parameters: ALT, AST, LDH, CK, SOD, Glutathione, GPx, Catalase, total protein, AU, urea and albumin. In the parameters related to renal function, only a significant result was observed, the prebiotic cottage group reduced the level of uric acid ( $p \geq 0.05$ ), in the antioxidant parameters the significant results were: the probiotic cottage group increased the level of GPx ( $p \geq 0.05$ ), symbiotic cottage increased the activity of catalase ( $p \geq 0.05$ ), and decreased glutathione levels ( $p \geq 0,05$ ). In the parameters markers of muscle injury and liver diseases the consumption of probiotic cottage decreased the CK ( $p \geq 0.05$ ) and prebiotic cottage increased AST levels ( $p \geq 0,05$ ). The consumption of these functional foods, even though they are harmless to human health, in healthy wistar rats presented controversial results; we suggest that more studies be conducted to elucidate their real effects.

**Keywords:** Prebiotic. Probiotic. Symbiotic.

## **INTRODUCTION**

The increase in life expectancy and its changes in lifestyle are associated with the development of various pathologies. This association enables several studies in the field of nutrition, which aim to observe food and its effects on the human body, aiming to improve the nutritional and life quality, since food is a fundamental factor both for prevention and promotion of human health, preventing and reducing numerous diseases (SOUZA et al., 2010; RAIZEL et al., 2011).

This search for food that produces benefits to human health has increased interest in so-called functional foods. Functional foods are defined by the Health Surveillance Agency (ANVISA) as "any food or ingredient that has functional or health properties, while

preserving its basic nutritional functions, and when it refers to a nutrient, it must have physiological and/or metabolic effects and be beneficial to health, these foods/ingredients must ensure safety for consumption without medical guidance" (BRAZIL, 1999).

Functional foods have substances that modulate and trigger favorable metabolic processes to improve health status. These substances increase the efficiency of the immune system, preventing the appearance of pathological alterations and degenerative diseases, which can reduce longevity (PARK; KOO; CARVALHO, 1997; SGARBIERI; PACHECO, 1999).

The main functional foods used in studies are probiotics, prebiotics and symbiotics. Probiotics are characterized as living microorganisms that, when consumed in adequate quantities, produce host health benefits (JOINT FAO/WHO, 2002). In addition to this ingestion of live microorganisms, the conservation of the great effectiveness of probiotic cells can be acquired through the addition of substances for cell protection in the fight against injuries originating from processing, the prebiotics. Prebiotics are able to extend the survival of probiotics because they are substrates for these bacteria and for the bacteria already present in the colon, in addition to benefiting the digestion process (SAVINE et al., 2010), and the symbiotic is the junction of prebiotics and probiotics, which in synergy produce the characteristic benefits of both foods (FOOD INGREDIENTS BRASIL, 2001).

Probiotics, prebiotics and symbiotics are directly related to the alteration of the human microbiota making it healthy. The consumption of these foods can generate an alteration in the number of beneficial bacteria in the microbiota, almost always multiplying its quantity, and reducing the proliferation of malefic/pathogen bacteria, leaving the microbiota in balance, which reduces the incidence of pathologies in the body (COLLINS; GIBSON, 1999).

Probiotics are frequently used in the food market. According to Raizel et al. (2011), the main probiotic strains present in the intestine of a healthy adult are Bifidobacteria and Lactobacilli, these two species can be found in yogurt, dairy products and food supplements. The use of probiotics in food production is acceptable when such food preserves these microorganisms alive and makes the environment conducive to their development.

The cottage cheese enables the microorganism to preserve it in a viable form, demonstrating desirable characteristics for the insertion of a probiotic strain. Probiotic strains can be added in *dressing*, the creamy liquid that surrounds the cheese granules, to *dressing* could also be added a prebiotic, making cottage a symbiotic food. A cottage cheese associated with these microorganisms and carbohydrates would offer great health benefits, especially for its low fat content making it a healthier cheese (ARAUJO, 2007).

Observing that the search for disease-free aging can be benefited by the consumption of foods that produce beneficial effects on the health of the body, with functional foods being the main representatives of this group, and that the ingestion of these foods is usually associated with dairy products, as it provides proliferation of live microorganisms, the aim of this study was to verify what the effects of prebiotics, probiotics and symbiotes associated with cottage cheese in parameters of renal, liver, antioxidant and muscle injury of healthy wistar rats.

## MATERIAL AND METHODS

Newly weaned male rats (21 days of age) of the Wistar lineage, free of specific pathogens, raised at the Multidisciplinary Center for Biological Research (University of Campinas, SP, Brazil), were housed ( $\sim 22^{\circ}\text{C}$ , 55% relative air humidity, inverted 12 h light / dark cycles of 12 hours) in individual growth cages, with free access to commercial feed (Labina, Purina, Brazil) and water at all times, until they reach a body weight of  $111.8 \pm 7.1$  g. The research methodology was approved by the Ethics Committee on Animal Experimentation (CEUA-UFGD, protocol No. 10/2018). The animals were randomly assigned to five groups, depending on the type of diet: cottage, cottage with prebiotic, cottage with probiotic, cottage with symbiotic or control group receiving only commercial feed. During 14 days, 20 g of cheese were placed in each cage and this amount was completely ingested by the animals every day, with the exception of the control group that received 20 g of commercial feed (Figure 1). Similar experimental projects were sought in other studies with probiotic, prebiotic, symbiotic and conventional dairy foods (EJTAHED et al., 2011; SAVARD et al., 2011; LAHTINEN et al., 2012).

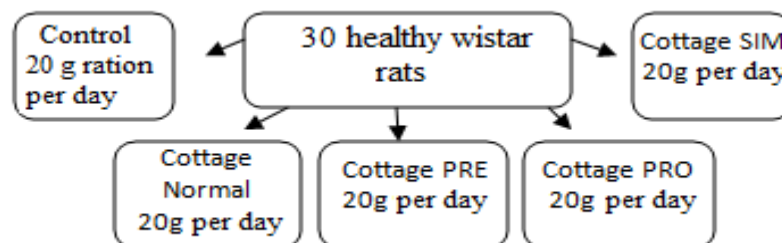


Figure 1: Experimental design.

### Starter culture and probiotic strains

The starter culture used in this study was a type O mesophilic, composed of *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* and *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* (R-704). The probiotic strains were *Lactobacillus acidophilus* LA-5 and *Bifidobacterium animalis* subsp.

*lactis* Bb-12. Both *starter* culture and probiotic strains were acquired lyophilized from Christian Hansen (Valinhos, São Paulo, Brazil).

The prebiotic used was fructooligosaccharide (FOS) in the amount of 3% relative to the probiotic.

### **Food Matrix**

Cottage is a fresh, fermented cheese with a relatively salty and acidic taste. Its consistency is granular and grain immersed in *dressing*, composed of standardized cream. It has a low fat content of about 4% and high humidity of 80% (Araujo, 2007; Viana et al., 2002). The cottage cheese enables the microorganism to preserve it in a viable form, demonstrating desirable characteristics for the insertion of a probiotic strain. The production of cottage cheese has increased sharply in Brazil. According to Dutra et al. (2003) the production of cottage cheese is still considered small compared to more traditional cheeses (freshwater mines, musarelle and plate), but frequent consumption has required better quality cheeses, in addition to the emergence of new options on the market. Research with the use of cottage cheese, as well as its supplementation with functional foods, were verified for the choice.

### **Preparation of cottage cheese and inoculation**

The processing of cottage cheese followed the methodology proposed by Jesus *et al.* (2016) with modifications. The following ingredients were used: skimmed and pasteurized milk (0% fat, Type A, Xandô, Araras, Brazil), heated to a temperature of 37°C, 0.25g L<sup>-1</sup> of CaCl<sub>2</sub> (P.A, Labsynth, Diadema, Brazil) and the *starter* culture composed of the microorganisms *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* and *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* R-704 (Christian Hansen), in the form DVS (*direct vat set*), previously heavy (5% w/v), corresponding to the value of 7 log UFC.g<sup>-1</sup> in the final product. After a fermentation period of 16 hours, in which the pH of the milk reached a value of 4.6, the curd was formed. The dough was cut and then slowly heated to a final temperature of 50°C to obtain firm grains and compact texture. In the next step, the draining was performed, three consecutive washes of the mass with cold water (3 to 4°C) and addition of *dressing*. In relation to the final weight of the cheese, 30% of *dressing* (creamy liquid) was added, composed of pasteurized cream (17% fat, Nestlé, Brazil) added to UHT skim milk (0% fat, Lider, Brazil) to standardize the fat content up to 4% (final product).

In *dressing*, of groups 4 and 5, probiotic cultures *Lactobacillus acidophilus* La-5 and *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12 (Christian Hansen, Valinhos, Brazil) were added as DVS (*direct set vat*), previously weighed (5% w/v), in order to achieve a final count

of  $10^9$  log UFC.g<sup>-1</sup>. For each treatment the other ingredients were added directly to the *dressing*: potassium sorbate (0.10% w/w, Labsynth, Diadema, Brazil) and sodium chloride salt (1% w/w) (Swan, Cabo Frio, Rio de Janeiro, Brazil). In group 3 and 5 3%(w/w) of fructooligosaccharide (FOS) was added.

### **Determination of the viability of starter culture and probiotics**

*Lactococcus lactis* subsp. *lactis* and *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* R-704 were counted by plating in depth 1 mL of each dilution in M17 agar (Himedia Laboratories, Mumbai, India), with the addition of 5% (v/v) lactose solution at 10% (w/v), followed by incubation at 30 °C ± 1 °C for 48 h (IDF, 1997).

For *Lactobacillus acidophilus* La-5 the MRS-agar medium (Himedia Laboratories, Mumbai, India) with 10% (v/v) maltose solution 20% (w/v) was used. The plates were incubated at 37 °C ± 1 °C for 72 hours (IDF, 1999).

*Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb12 was enumerated using MRS-agar (Himedia Laboratories, Mumbai, India) with the addition of 100 mL 20% glucose solution (w/v), 5 mL dicloxacillin solution (Sigma-Aldrich, Saint Louis, USA) at 0.01% (w/v), 10 mL lithium chloride solution at 11.11% (w/v) and 5 mL cysteine chloride solution at 10% (w/v). After inoculation, the plates were incubated in jars containing anaerobiosis generator (BD GasPak™ EZ Container Systems) at 37 °C ± 1 °C for 72 hours. All culture media were previously tested in order to ensure the selective growth of these microorganisms.

### **Determination of pH**

The pH of the samples was determined using a Digimed potentiometer (São Paulo - SP), model DM-20, at 25°C, with determination by direct insertion of the electrode in the samples (BRASIL, 2006). The pH measurements of the cheeses were performed after manufacture and after 15 days of storage.

### **Biochemical Parameters**

Blood samples were collected 12 hours after consumption of the cheeses/feed in BD Vacutainers (Becton Dickinson, Franklin Lakes, New Jersey), kept at 4°C and centrifuged at  $3.000 \times g$  (4 ° C, 12 min) to obtain serum for evaluation of albumin, total protein, aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), creatine kinase (CK), urea, uric acid (AU), Superoxide desmutase (SOD), catalase, glutathione and glutathione peroxidase (GPx).

### **Statistical Analysis**

Data presented as mean ± standard error of the mean. For continuous data, the Shapiro-Wilk normality test was performed ( $\alpha = 0.05$ ). Parametric data were analyzed using

oneway ANOVA with multiple comparisons by the Bonferroni method. The level of significance was defined as  $\alpha = 0.05$ . Data were analyzed using free software R version 3.5.2 for Windows. The images were generated using GraphpadPrism software version 7.

## RESULTS AND DISCUSSION

Based on the reported capacity that functional foods are capable of altering the intestinal microbiota, improving host health (PARK; KOO; CARVALHO, 1997; SGARBIERI; PACHECO, 1999), and producing metabolic or physiological effects that benefit the individual, the objective of this study was to evaluate the prebiotic, probiotic and symbiotic effect associated with cottage cheese on renal health parameters, antioxidant, liver and muscle injury markers in healthy wistar rats.

The dosage used is that expected for micro-organisms to adhere to intestinal microbiota. In the literature, probiotics should reach populations above  $10^6$  and  $10^7$  CFU/g for bacteria to be adhered to the colon and produce their effects, since the time of supplementation should be equal to or above 14 days to verify their benefits (CHARTERIS et al., 1998; MARTINS et al., 2005; SAAD, 2006).

The results were subdivided into three groups, according to characteristics common to the parameters. In the set of markers associated with renal function, UA, urea, total proteins and albumin were analyzed (figure 2). High levels of urea and uric acid in the blood may indicate kidney failure. The two parameters are substances produced after the degradation of proteins, are filtered in the kidneys and excreted by urine, the increase of these substances in the blood indicates that they are not being excreted by urine (DIAZ GONZALEZ; SCHEFFER, 2003).

The results of the group of markers associated with renal function indicated that the consumption of cottage prebiotic showed a significant reduction in UA levels ( $p \geq 0.05$ ), when compared to the normal cottage, probiotic cottage and mainly symbiotic cottage groups. The increase of uric acid in the blood can increase insulin resistance, promoting the development of diabetes, its reduction in addition to indicating normalization of kidney functions, can also prevent diabetes, the prebiotic seemed effective in reducing AU (SHAH; BJORNSTAD; JOHNSON, 2016).

Garcia-Arroyo et al. (2018) aimed at evaluating the potential of two probiotic supplements to reduce systemic concentrations of uric acid and the hypouricemic effect on kidney injury induced by hyperuricemia and hypertension in rats, supplemented the animals

for five weeks, noting that the probiotic supplements prevented high urinary excretion of acid (AU) and its intrarenal accumulation, the hypouricemic effect conferred by the probiotic also prevented renal changes and hypertension.

Urea levels showed no significant differences. The normal, prebiotic and symbiotic cottage groups maintained practically the same levels as the control group, while the consumption of probiotic cottage tended to increase blood urea. Dehghani et al. (2016) in a randomized controlled trial of 66 patients with chronic kidney disease, supplemented with symbiotic (1000 mg/day) for six weeks, observed a significant reduction of urea nitrogen in the blood compared to the placebo group. Serum creatinine, uric acid and other indicators of renal function did not show significant reductions after probiotic consumption.

In a meta-analysis analyzing 13 studies with patients with impaired renal function, the results generally decreased the levels of *glomerular filtration rate*, urea and urea nitrogen in the blood, while creatinine and uric acid tended to rise (FIROUZI; HAGHIGHATDOOST, 2018).

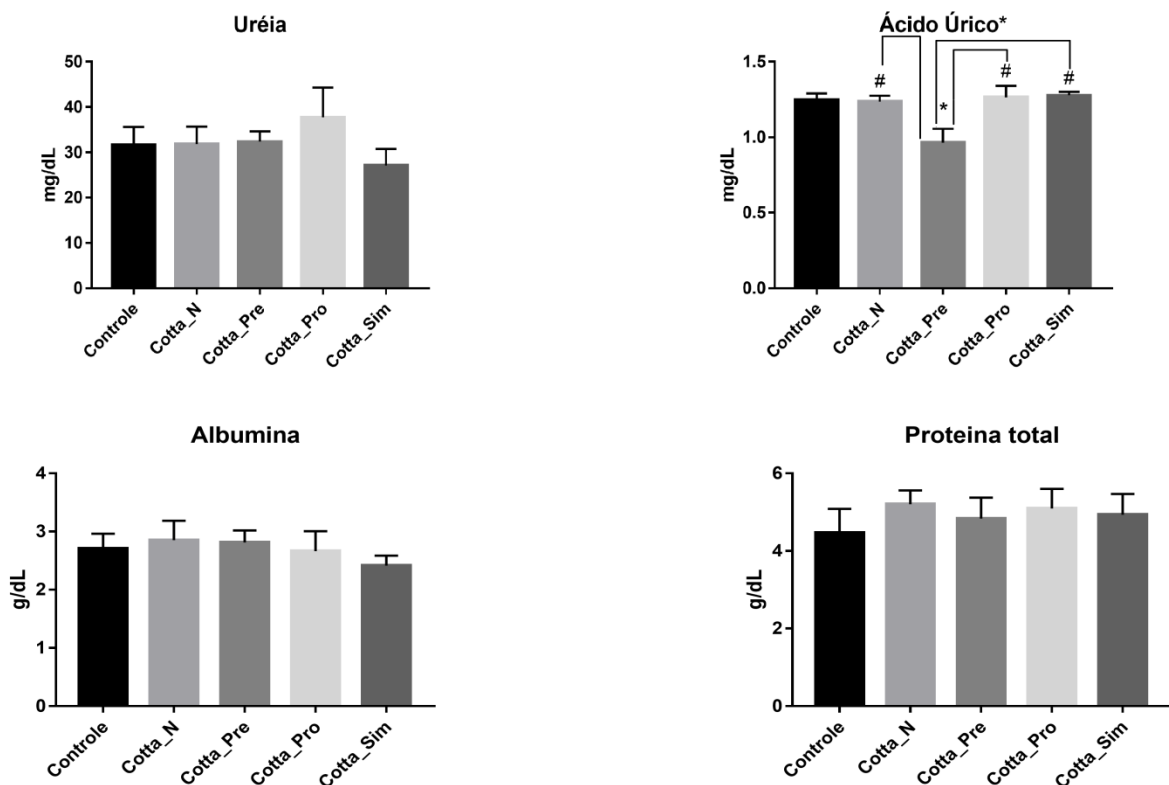


Figure 2: Graphs showing the results of the comparison between all groups of markers of renal function: urea, uric acid, albumin and total protein.

Albumin and total proteins measured in the blood indicate a person's nutritional status and the diagnosis of possible kidney and liver problems. The low levels of the two parameters in the blood indicate renal and hepatic problems, while the high levels, mainly of total

proteins indicate diseases such as cancer, autoimmune diseases, hepatitis and increased production of antibodies in infectious diseases (DIAZ GONZALEZ; SCHEFFER, 2003). The levels of albumin and total proteins did not present significant differences in our result, but the consumption of diets apparently maintained the level of the two parameters compared to the control group, since in the control group all animals were healthy and blood levels of the analyzed parameters were normal.

The consumption of PRE, PRO and SIM in these markers of renal function proved harmless to the body of healthy animals, except that the consumption of cottage with PRO tended to increase blood urea, however the use of PRE significantly reduced the AU in the blood when compared to all other groups, appearing that the consumption of cottage with PRE would have greater effectiveness in reducing the levels of AU, may help in the treatment of kidney disease.

Glutathione, GPx, SOD and catalase were analyzed in the body's defense functions (figure 3). Glutathione, GPx, SOD and catalase are substances of great importance in the antioxidant process of our body. All four substances protect cells against the action of free radicals, they prevent the aging and death of cells and improve the immune system, because they strengthen the body against pathogens. Catalase in particular is responsible for decomposing hydrogen peroxide (oxygenated water) into oxygen and water, as this is a toxic substance for the cell. The levels of these parameters decrease naturally as we age and may also decrease with a poor quality of life, the maintenance of levels necessary for our body can ensure the health of cells and the strengthening of the immune system (KUSS, 2005; BARBOSA et al., 2010; ROVER JÚNIOR et al., 2011).

It is known that glutathione and SOD, together with GPx and catalase are the main defense vehicles active in our body, maintaining the levels of these enzymes in our body helps promote health (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1989). Consumption of normal cottageage and probiotic cottage increased significantly the levels of GPx in the blood ( $p \geq 0.05$ ) when compared to the prebiotic cottage group, which significantly reduced GPx levels ( $p \geq 0.05$ ). Symbiotic cottageing has significantly reduced the level of glutathione in the blood ( $p \geq 0.05$ ) when compared to normal cottage, the other groups did not present significant differences, but tended to maintain glutathione levels compared to the control group.

In the activity of the enzyme catalase normal cottageage significantly reduced the numbers of enzymes in the blood ( $p \geq 0.05$ ) when compared to the control group, while the prebiotic and symbiotic cottage groups increased significantly ( $p \geq 0.05$ ) in relation to prebiotic cottageage, the probiotic cottage group apparently maintained the same level of



catalase as the control group. None of the groups presented significant differences in ODS, but they tended to increase the levels of this parameter in the blood.

Asemi et al. (2014) sought to elucidate the effects of symbiotic foods on metabolic profiles, inflammation and oxidative stress in diabetic patients. After six weeks of symbiotic consumption, there was a significant decrease in serum insulin, and a significant increase in GSH in plasma and UA serum levels when compared to the control group.

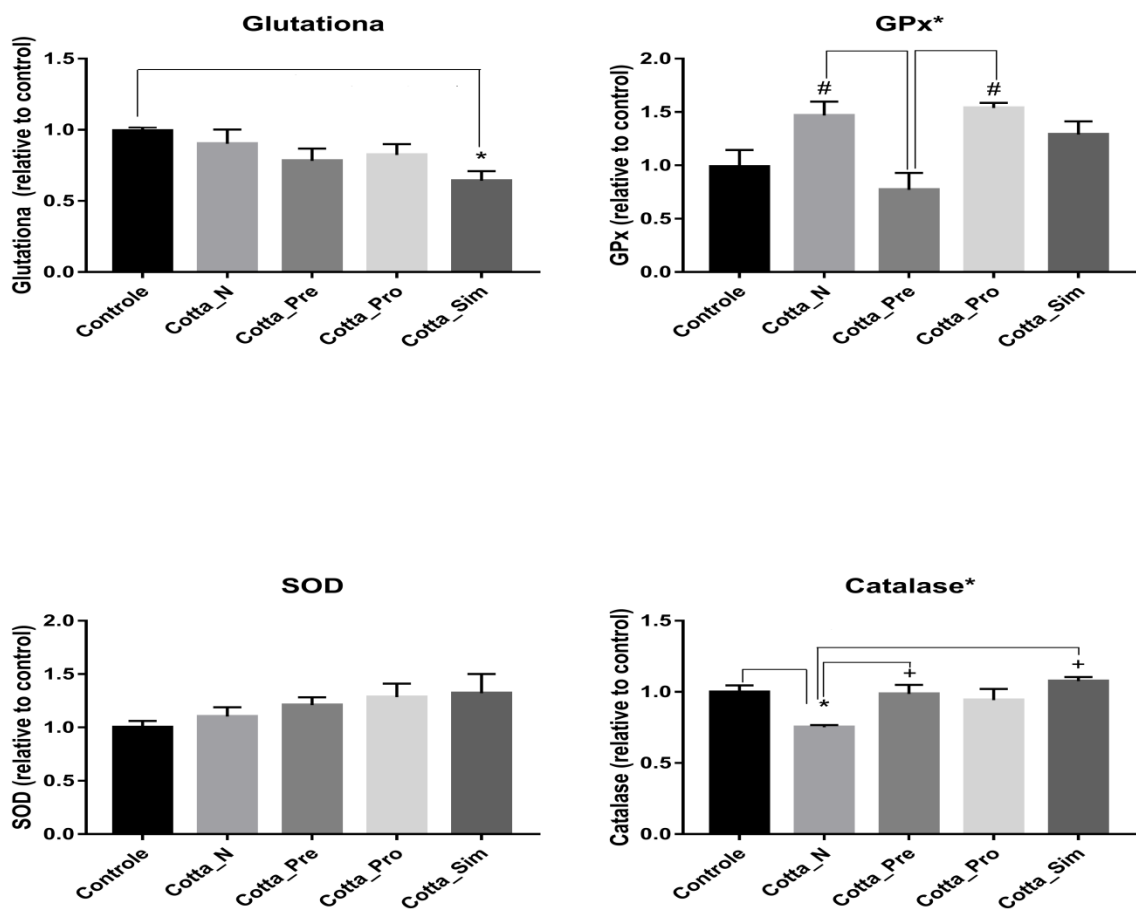


Figure 3: Graphs showing the results of the comparison between all groups of antioxidant markers: Glutathione, GPx, SOD and catalase.

Chen et al. (2011) in an induced model of oxidative stress to mimic accelerated aging, the consumption of a prebiotic (fructooligosaccharide) exerted antioxidant capacity in mice. After 52 days of treatment, the prebiotic significantly normalized hepatic SOD and GP activities, the fructooligosaccharide increased enzymatic activity and morphology of the hepatic antioxidant enzyme caused by chronic administration in mice, partially associated with its prebiotic role in the colon.

Some probiotic strains are considered to be more effective in their antioxidant capacity. Consumption of *Lactobacillus plantarum* 30B showed greater efficacy in relieving intestinal inflammation compared to the probiotic strain *Lactobacillus acidophilus* 900. While supplemented with *L. plantarum* 30B, it found a greater drop in body temperature of mice compared to control. In this study it can be verified that the lactobacilli strain with SOD-like activity is more effective in relieving intestinal inflammation than the catalase-producing strains (TOMUSIAK-PLEBANEK et al., 2018).

The strains used in this study *Lactobacillus acidophilus* LA-5 and *Bifidobacterium animalis* subsp. *Lactis* Bb-12 were chosen for their safety qualification, for being used in clinical studies from premature newborns to the elderly at doses of up to  $10^{10}$  CFU/day without adverse effects, as well as for the fact that the combination of the two strains is being accepted in food products, and in researches have already shown results in the aid of recolonization of the intestinal microbiota and increase the immune response, since our objective was not only antioxidant effects (DE VRESE et al, 2011; NORD et al. 1997; CHATTERJEE et al., 2013).

Kleniewska et al. (2016) sought to evaluate the effects of a symbiotic (*Lactobacillus casei* and inulin) on antioxidant properties in plasma. The study was conducted in 32 healthy individuals and were divided into two groups: symbiotic and control, blood samples were collected before and after seven weeks of supplementation. The consumption of the symbiotic significantly increased the activity of catalase and an insignificant increase in the activity of SOD and GPx was observed when compared to the control group, concluding that this supplementation can contribute positively in antioxidant properties. It is noted that when in healthy individuals the levels of antioxidant markers increase even without presenting oxidative processes. Our results also demonstrated increases in oxidizing parameters without oxidative processes mainly in the normal cottage and probiotic cottage groups in the parameter glutathione peroxidase. But we found that symbiotic cottage reduced glutathione levels and prebiotic cottage reduced GPx levels.

The other parameters analyzed were CK, LDH, ALT, AST (figure 4), these associated with liver problems and muscle injury. ALT and AST are directly linked to liver disease. These two substances are present in the liver cells and when their concentrations increase in the bloodstream indicates damage to the liver. ALT and AST are also associated with muscle damage, along with CK, which has its main activity in skeletal and cardiac muscle tissues, and LDH, which turns glucose into energy for cells when levels of CK and LDH increase in blood may indicate muscle damage or heart attack. Increased LDH may also be associated with liver diseases (ZAMIM JR, 2002; NUNES et al., 2015).

CK decreased significantly in the probiotic cottage group compared to the control group and AST showed a significant prebiotic increase compared to the control group. In the other groups of CK and AST, and in the ALT and LDH markers, no significant difference was found.

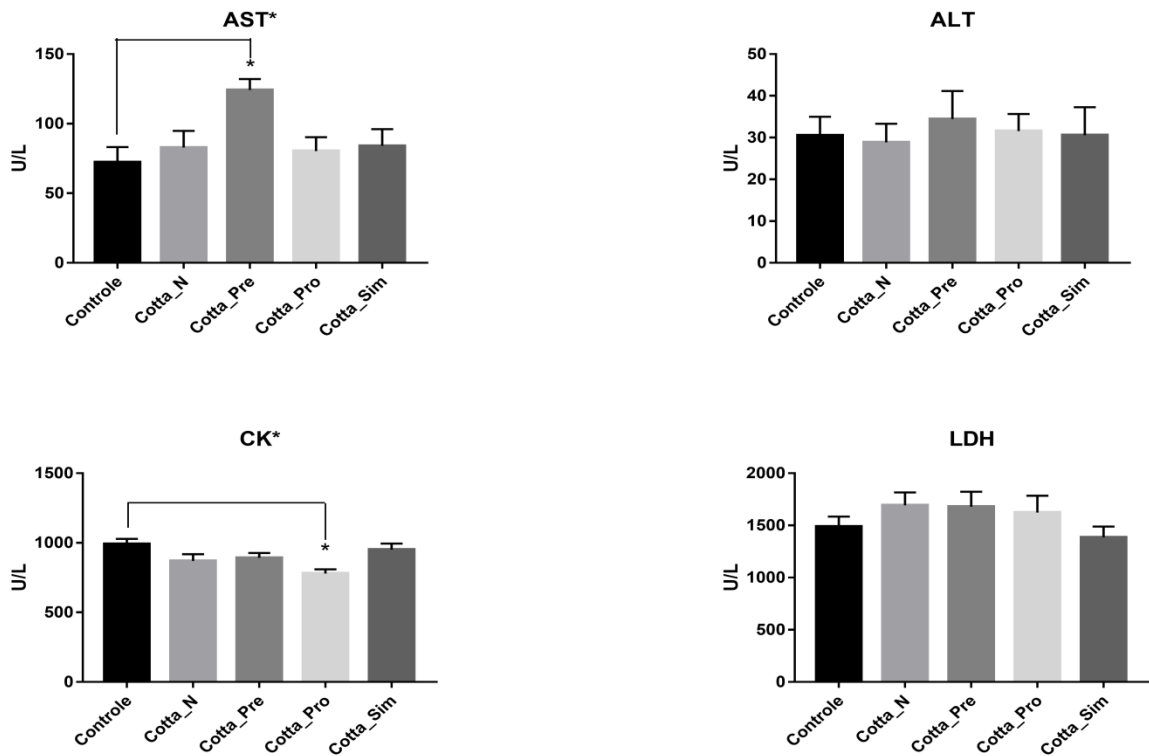


Figure 4 - Graphs showing the results of the comparison between all groups of markers of muscle injury and liver diseases: AST, ALT, CK and LDH.

Reducing CK with probiotic Cottage may indicate your help as a supplement to exercise. Probiotics already have some results related to physical exercise. Chen et al. (2016) supplemented rats for six weeks with *Lactobacillus plantarum*, the animals were submitted to two hours of swimming and later to analyses of interest, such as CK. The results indicated that supplementation with *L. plantarum* increased muscle mass, energy, performance and showed antifatigue effects; CK was reduced in the probiotic group compared to control.

Jaguer et al. (2016) aimed at verifying the effect of some probiotic strains (*Streptococcus (S.) thermophilus FP4* and *Bifidobacterium (B.)*) brief BR03) in strength exercise, selected fifteen trained men and supplemented them with probiotics for 21 days, and then performed a strength exercise in the upper limbs, the results indicated that the group supplemented with probiotics showed a significant decrease in CK compared to control, and this group also improved performance and range of motion, suggesting that specific probiotic strains may assist in recovering performance after an exercise.

ALT and AST still have an uncertain effect, with different effects in some studies. Asemi and Esmailzadeh (2013) in a study conducted with pregnant women seeking to verify the daily effects of probiotic yogurt on serum levels of calcium, iron, AST and ALT. Pregnant women consumed the yogurt for nine weeks, probiotic yogurts resulted in the maintenance of calcium levels, and no significant differences were found in iron, AST and ALT levels when compared to conventional yogurt.

Aller et al. (2011) seeking to evaluate the effects of two probiotic strains in patients with *Lactobacillus bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* in non-fatty liver disease, supplemented patients for 3 months. The results indicated a significant reduction in ALT, AST and GT gamma levels in the groups that received probiotics when compared to the control group, treated with a placebo tablet.

The increase observed in AST with prebiotic cottage consumption was not found in any other study. It is worth mentioning that all the animals of our experiment were healthy, free of any pathology, and also that the composition of the intestinal microbiota of these animals was not analyzed, so we could not know for sure what the level of adhesion of these bacteria to the colon and what its proliferation was in relation to the substrates consumed.

The prebiotic used in our study has greater properties to stimulate the proliferation of another probiotic. Phosphooligosaccharide (FOS) is capable of stimulating the growth of bifidobacteria, stimulating in such a way that this strain prevails over the others (GIBSON, 1999), perhaps this may indicate that *Lactobacillus* have been found in smaller quantities, not conferring its full effects.

We observed that the consumption of these functional foods for fourteen days produced predominant positive effects in healthy wistar rats. Most of the parameters analyzed maintained or improved their levels in the animals that received the supplementation when compared to the control group. These functional foods presenting practically the same benefits in the host organism presented controversial results in certain parameters.

The lack of analysis of the animal's intestinal microbiota is a limitation of our study. The analysis of the microbiota could verify in fact which strain had adhesion to the organism, which is the predominance and thus we associate the effects with the specificities of the strains.

## **FINAL CONSIDERATIONS**

The main activities observed were increased GPx in the normal and probiotic cottage groups, catalase in the prebiotic cottage and symbiotic cottage groups, and decreased CK by probiotic cottage and AU by prebiotic cottage.

The use of functional foods is harmless to human health, provided they are consumed within the recommended dose. Since we did not analyze the final composition of the microbiota of the animals, it cannot be stated if there was a true adherence of microorganisms to the colon, and which is the dominant probiotic strain in each animal, but the time of supplementation and dose were indicated in the literature to give effect to the host.

We recommend that more studies be conducted to test whether functional foods associated with dairy products, particularly cottage cheese, can benefit healthy individuals, associating a real health-promoting effect on their daily consumption.

## **BIBLIOGRAPHICAL REFERENCES**

- ALLER, R. et al. Effect of a probiotic on liver aminotransferases in nonalcoholic fatty liver disease patients: a double blind randomized clinical trial. **Eur Rev Med Pharmacol Sci**, v. 15, n. 9, p. 1090-5, 2011.
- ANGELIS, R. C. de; Importância de alimentos vegetais na proteção da saúde: fisiologia da nutrição protetora e preventiva de enfermidades degenerativas. São Paulo, Rio de Janeiro, Belo Horizonte: Atheneu, 2001. 295p.
- ASEMI, Zatollah et al. Effects of synbiotic food consumption on metabolic status of diabetic patients: a double-blind randomized cross-over controlled clinical trial. **Clinical nutrition**, v. 33, n. 2, p. 198-203, 2014.
- ASEMI, Zatollah; ESMAILLZADEH, Ahmad. Effect of daily consumption of probiotic yoghurt on serum levels of calcium, iron and liver enzymes in pregnant women. **International journal of preventive medicine**, v. 4, n. 8, p. 949, 2013.
- BARBOSA, Kiriaque Barra Ferreira et al. Oxidative stress: concept, implications and modulating factors. **Revista de Nutrição**, v. 23, n. 4, p. 629-643, 2010.
- CHATTERJEE, Suparna et al. Randomised placebo-controlled double blind multicentric trial on efficacy and safety of Lactobacillus acidophilus LA-5 and Bifidobacterium BB-12 for prevention of antibiotic-associated diarrhoea. **J Assoc Physicians India**, v. 61, n. 10, p. 708-712, 2013.
- CHEN, Hsiao-Ling et al. Antioxidative and hepatoprotective effects of fructo-oligosaccharide in D-galactose-treated Balb/cJ mice. **British journal of nutrition**, v. 105, n. 6, p. 805-809, 2011.
- COLLINS M, GIBSON G. Probiotics, prebiotics, and synbiotics: approaches for modulating the microbial ecology of the gut. *Am J Clin Nutr* [periódico na internet]. 1999 [capturado em 2010 set 11]. Disponível em: <http://www.ajcn.org/cgi/reprint/69/5/1052S.pdf>.

- DE VRESE, Michael et al. Probiotic lactobacilli and bifidobacteria in a fermented milk product with added fruit preparation reduce antibiotic associated diarrhea and *Helicobacter pylori* activity. **Journal of dairy research**, v. 78, n. 4, p. 396-403, 2011.
- DEGHANI, Hamideh et al. Synbiotic supplementations for azotemia in patients with chronic kidney disease: a randomized controlled trial. **Iranian journal of kidney diseases**, v. 10, n. 6, p. 351, 2016.
- DIAZ GONZALEZ, Felix Hilario; SCHEFFER, Jean LFS. Perfil sanguíneo: ferramenta de análise clínica, metabólica e nutricional. **Simpósio de Patologia Clínica Veterinária (1.; 2003, Porto Alegre)**, 2003.
- FIROUZI, Somayyeh; HAGHIGHATDOOST, Fahimeh. The effects of prebiotic, probiotic, and synbiotic supplementation on blood parameters of renal function: A systematic review and meta-analysis of clinical trials. **Nutrition**, v. 51, p. 104-113, 2018.
- FOODS INGREDIENTS BRASIL. Probióticos, prebióticos e simbióticos. **REVISTA FOOD INGREDIENTS BRASIL**. São Paulo, n. 17, p. 58-65, 2001. Disponível em: [http://revista-fi.com.br/upload\\_arquivos/201606/2016060596087001465308998.pdf](http://revista-fi.com.br/upload_arquivos/201606/2016060596087001465308998.pdf).
- GARCÍA-ARROYO, Fernando E. et al. Probiotic supplements prevented oxonic acid-induced hyperuricemia and renal damage. **PloS one**, v. 13, n. 8, p. e0202901, 2018.
- JOINT FAO/WHO WORKING GROUP et al. Guidelines for the evaluation of probiotics in food. **London: World Health Organization, ON, Canada: Food and Agriculture Organization**, 2002.
- KLENIEWSKA, Paulina et al. The influence of probiotic *Lactobacillus casei* in combination with prebiotic inulin on the antioxidant capacity of human plasma. **Oxidative medicine and cellular longevity**, v. 2016, 2016.
- KUSS, Fernando. Agentes oxidantes e antioxidantes. **Programa de pós graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal do Rio Grande do Sul**. 1º semestre, p. 5, 2005.
- LOLLO, P.C.B., CRUZ, A.G., MORATO, P.N., MOURA, C.S., SILVA, L.B.C., OLIVEIRA, C.A.F., FARIA, J.A.F., AMAYA-FARFAN, J. Probiotic cheese attenuates exercise-induced immune suppression in Wistar rats. **J Dairy Sci**. 2012 Jul;95(7):3549-58. doi: 10.3168/jds.2011-5124.
- NORD, Karin et al. Binding proteins selected from combinatorial libraries of an  $\alpha$ -helical bacterial receptor domain. **Nature biotechnology**, v. 15, n. 8, p. 772, 1997.
- NUNES, Fernando Loiola et al. Atividade sérica de enzimas musculares Ast, Ldh e Ck em equinos submetidos à diferentes tipos de esforço físico na Região de Imperatriz-MA. **PUBVET**, v. 9, p. 502-557, 2015.
- RAIZEL, R., SANTINI, E., KOOPER, A.M., REIS FILHO, A.D. Efeitos do consumo de probióticos, prebióticos e simbióticos para o organismo humano. **Revista Ciência & Saúde**, Porto Alegre, v. 4, n. 2, p. 66-74, jul./dez. 2011
- ROVER JÚNIOR, Laércio et al. Antioxidant system involving the glutathione metabolic cycle associated to electroanalytical methods in the oxidative stress evaluation. **Química Nova**, v. 24, n. 1, p. 112-119, 2001.
- SHAH, Pratik; BJORNSTAD, Petter; JOHNSON, Richard J. Hyperuricemia as a potential risk factor for type 2 diabetes and diabetic nephropathy. **Brazilian Journal of Nephrology**, v. 38, n. 4, p. 386-387, 2016.

SAVINI, M., CECCHINI, C., VERDENELLI, M.C., SILVI, S., PERPIANESI, C., CRESCI, A. Pilot-scale production and viability analysis of freeze-dried probiotic bacteria using different protective agents. *Nutrients* 2010, 2, 330-339; doi:10.3390/nu2030330

SOUZA, Fabíola Suano et al. Prebióticos, probióticos e simbióticos na prevenção e tratamento das doenças alérgicas. **Revista Paulista de Pediatria**, v. 28, n. 1, p. 86-97, 2010

TOMUSIAK-PLEBANEK, Anna et al. Lactobacilli with superoxide dismutase-like or catalase activity are more effective in alleviating inflammation in an inflammatory bowel disease mouse model. **Drug design, development and therapy**, v. 12, p. 3221, 2018.

ZAMIN JR, Idilio et al. A importância do índice AST/ALT no diagnóstico da esteatohepatite não-alcoólica. **Arq gastroenterol**, v. 39, n. 1, p. 22-6, 2002.

## CONCLUSÕES

Os alimentos funcionais vêm apresentando diversos benefícios a saúde. Os probióticos, principalmente as cepas lactobacilos e bifidobáctérias estão conferindo benefícios à saúde do hospedeiro, apresentando melhora no sistema imune, reduzindo diversos tipos de câncer, alergias, colesterol, infecções e apresentando efeitos anti-hipertensivos. Os prebióticos por proliferarem as bactérias benéficas do organismo acabam por seguir a mesma linha dos benefícios dos probióticos. Os simbióticos, dentre os três alimentos funcionais parecem que vem apresentando os melhores resultados relacionados as doenças, devido a sinergia do probiótico e prebiótico.

A utilização desses alimentos associados a um produto lácteo como o queijo cottage em ratos saudáveis, apresentou resultados controversos aos parâmetros analisados, mesmo sendo considerado inócuo seu consumo a saúde, o consumo de cottage associado ao prebiótico aumentou os níveis de AST e reduziu os níveis de GPx, e o consumo de cottage simbiótico reduziu os níveis de glutathione no sangue.

A maioria dos parâmetros analisados apresentou resultados insignificantes, mantendo os níveis próximos ao do grupo controle, visto que o grupo controle era de animais saudáveis e que todos os parâmetros estavam normais. Os efeitos positivos significativos foram a diminuição do AU pelo consumo de cottage prebiótico, diminuição da CK pelo consumo de cottage probiótico e aumento da atividade catalase pelo consumo de cottage prebiótico e simbiótico. A realização de mais estudo utilizando esses parâmetros e em indivíduos saudáveis devem ser realizados para elucidar os seus reais efeitos, assim como a utilização de diferentes cepas probióticas e outros prebióticos.