

JOICE DE FÁTIMA LAUREANO MARTINS

EFEITO DE UM PRODUTO A BASE DE YACON (*Smallanthus
Shonchifolius*) NO CONTROLE DA MASSA CORPÓREA, NO PERFIL DE
LIPÍDEOS E NA TOXICIDADE CRÔNICA EM RATAS *Wistar*
OVARIECTOMIZADAS

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2014

Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa

T

M379e
2014
Martins, Joice de Fátima Laureano, 1982-
Efeito de um produto a base de yacon (*Smallanthus
Shonchifolius*) no controle da massa corpórea, no perfil de
lipídeos e na toxicidade crônica em ratas wistar
ovariectomizadas / Joice de Fátima Laureano Martins. – Viçosa,
MG, 2014.

xxii, 146f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Inclui anexos.

Orientador: Célia Lúcia de Lucas Fortes Ferreira.
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.
Inclui bibliografia.

1. Raiz de Yacon. 2. Alimentos funcionais. 3. Prebióticos.
4. Toxicidade. 5. Lipídeos. 6. Ratos como animais de
laboratório. I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de
Tecnologia de Alimentos. Programa de Pós-graduação em
Ciência e Tecnologia de Alimentos. II. Título.

CDD 22. ed. 635.2

JOICE DE FÁTIMA LAUREANO MARTINS

EFEITO DE UM PRODUTO A BASE DE YACON (*SMALLANTHUS SHONCHIFOLIUS*) NO CONTROLE DA MASSA CORPÓREA, NO PERFIL DE LIPÍDEOS E NA TOXICIDADE CRÔNICA EM RATAS *WISTAR* OVARIECTOMIZADAS

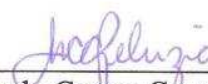
Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

APROVADA: 09 de Setembro de 2014.



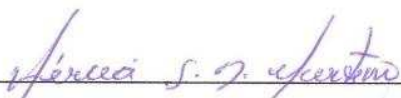
Profa. Sirlene Souza Rodrigues Sartori

(Co-Orientadora)




Profa. Maria do Carmo Gouveia Peluzio

(Co-Orientadora)



Profa. Hércia Stampini Duarte Martino



Profa. Fabiana Carvalho Rodrigues



Profa. Célia Lúcia de Lucas Fortes Ferreira

(Orientadora)

Dedico

Esta tese primeiramente a Deus e às pessoas mais importantes da minha vida, minha querida mãe Maria principal responsável pela minha vida e a qual devo meu caráter e a disciplina ao trabalho. Dedico também ao meu adorado esposo Fabiano por todo companheirismo, paciência e dedicação.

E a minha razão de viver, minha filha Helena, tão pequenina, mas que preenche toda a minha vida. Ao meu pai de coração Sebastião e todos que de algum modo participaram desta conquista, da qual sem o apoio jamais alcançaria o meu objetivo.

O Sonho

“Sonhe com aquilo que você quer ser,
porque você possui apenas uma vida
e nela só se tem uma chance
de fazer aquilo que quer.

Tenha felicidade bastante para fazê-la doce.
Dificuldades para fazê-la forte.
Tristeza para fazê-la humana.
E esperança suficiente para fazê-la feliz.

As pessoas mais felizes não tem as melhores coisas.
Elas sabem fazer o melhor das oportunidades
que aparecem em seus caminhos.

A felicidade aparece para aqueles que choram.
Para aqueles que se machucam
Para aqueles que buscam e tentam sempre.
E para aqueles que reconhecem
a importância das pessoas que passaram por suas vidas.”

Clarisse Lispector

AGRADECIMENTOS

A Deus, por tudo na minha vida.

À minha querida Mãe, por lutar tanto para que meus sonhos se tornassem realidade, pelos conselhos, pela educação, pelas orações e pelos ensinamentos. Devo a ela esta conquista.

Ao meu esposo Fabiano, por ser tão maravilhosos, pela compreensão, carinho, apoio e por tornar minha vida mais feliz a cada dia.

À minha princesinha Helena. Obrigada por me permitir ouvir a palavra “mamãe” todos os dias!! Você me olha com tanto carinho e isso me dá muitas forças!! Sem contar o “abaça eu mamãe”!! Sem palavras...

Ao meu pai Sebastião, pelos conselhos, pelas orações e pelos ensinamentos.

Ao meu pai Raimundo e irmãos Randerson e Rainan pelo amor incondicional.

À Viviane amiga-irmã, por ter sido o meu braço direito durante toda pesquisa e ajudado tanto em todos os momentos.

Aos amigos em especial Emília Pio da Silva, Maristela Gomes Coelho e Fabiana Castro Rodrigues, pela amizade e por, desde o início, terem-se mostrado solícitas para qualquer ajuda.

Aos meus amigos, e luzes na minha vida durante esse ano, e espero que essa amizade se estreite por longos anos! São eles: Arthur Arruda Vasconcelos Vieira, landra de Oliveira Evangelista e Raíssa Maria de Souza Mendes.

À Roseli Gomes Pinto por ser meu braço direito e por me ajudar a cuidar de Helena.

A minha orientadora Professora Célia Lúcia de Lucas Fortes Ferreira, pela oportunidade, paciência, pelos ensinamentos, pelas orientações e, sobretudo, pela amizade ao longo deste trabalho.

À Sirlene Souza Sartori, professora do Departamento de Biologia Animal, pela paciência, pelos ensinamentos e pela atenção; sem ela, esta tese não teria sido possível!

Aos meus tios Antônio, Lúcia Helena, Luiz Augusto, Maria da Penha e Viviane pelas orações, conselhos e pelo amor incondicional.

Aos meus avós Oliveira e Sebastiana (*in memoriam*) por todos os ensinamentos e pelo amor incondicional. As meus avós Eva Martins Rosa e José Martins Rosa pelos ensinamentos.

À Maria Amélia Ramos, pelo acolhimento em Guidoal, por ter ajudado a minha mãe e a mim a não desistir, pelos ensinamentos e pelo carinho.

Ao Vicente Simões Jorge (*in memoriam*), pelas inúmeras caronas de Viçosa à Guidoal, pelos ensinamentos e conselhos.

Aos professores Evandro Marques de Oliveira, Maria do Carmo de Oliveira e Maria de Lourdes Bressan Pinto pelo grande incentivo nos estudos, pela amizade e pelos ensinamentos.

À Universidade Federal de Viçosa (UFV) e ao Departamento de Tecnologia de Alimentos (DTA), pela oportunidade concedida para a realização deste curso.

A coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão de bolsa.

Aos Professores Maria do Carmo Gouveia Pelúzio, Ita de Oliveira e Silva, Edimar Aparecida Filomeno Fontes, Tânia Toledo de Oliveira e Hércia Stampini Martino pela grande contribuição no projeto de pesquisa e durante a pesquisa.

Aos funcionários do Departamento de Tecnologia de Alimentos, em especial ao Célio, pelo apoio.

Aos colegas de laboratório Erika Karla Costa, Naomi Pires Tsutsumi, Driene Gomes Gonzaga e Michele Harumi Omura.

Aos estagiários, Carlos Henrique, Naomi, Josilene, Camila, Leise, Paola e Vanessa pela tão valiosa ajuda durante todo o experimento.

À médica Veterinária Lukiya Silva Campos Favarato pela disposição em realiza as ciurgias nas ratas, e pelo suporte em relação à saúde dos animais.

Ao Laboratório de Associações Micorrízicas do Departamento de Bioquímica Agrícola e Laboratório de Sistemática Molecular do Departamento de Biologia Animal ambos na UFV por ter cedido o espaço e os equipamentos necessários para obtermos as fotos histológicas.

Ao Laboratório de Morfofisiologia do Departamento de Biologia Animal da UFV por terem fornecido espaço, equipamentos e reagentes essenciais para o andamento da pesquisa.

Ao Biotério pelo fornecimento dos animais e ao Departamento de Veterinária da Universidade Federal de Viçosa pelo total apoio nos cuidados dos animais.

Ao Laboratório de Nutrição experimental do Departamento de Nutrição e saúde por nos permitir manter os animais e nos fornecer o suporte necessário para o preparo das dietas.

Ao Laboratório de Biofármacos do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular da UFV pelo aporte necessário às análises sanguíneas.

Ao Laboratório de Culturas Láticas do Departamento de Tecnologia de Alimentos da UFV pela concessão do espaço, reagentes e equipamentos para realização dos trabalhos.

Ao Laboratório de Tecnologia da Madeira do Departamento de Engenharia Florestal pela concessão das análises do poder Calorífico e Gravimétrico das dietas e do Produto a base de yacon (PBY).

Ao Laboratório de Frutas e Hortaliças pela permissão na elaboração do PBY.

Enfim, a todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho.

BIOGRAFIA

JOICE DE FÁTIMA LAUREANO MARTINS, filha de Raimundo Martins de Paula e Maria Aparecida Laureano da Cruz, nasceu em Carangola, Estado de Minas Gerais, em 16 de maio de 1982.

Em janeiro de 2008, graduou-se em Nutrição pela Universidade Federal de Viçosa (UFV), em Viçosa, MG.

Em março de 2008, ingressou-se no Programa de Pós-Graduação, nível de Mestrado, em Ciência e Tecnologia de Alimentos da UFV, com realização da pesquisa na área de probióticos e culturas lácticas, submetendo à defesa da dissertação em 10 de fevereiro de 2010.

Nesse mesmo ano, ingressou no Programa de Pós-Graduação, nível de Doutorado, em Ciência e Tecnologia de Alimentos da UFV, com realização da pesquisa na área de prebióticos, submetendo à defesa da dissertação em 9 de setembro de 2014.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS	xv
RESUMO	xix
ABSTRACT	xxi
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA E HIPÓTESES EXPERIMENTAIS	3
Abstract	3
1. INTRODUCTION	5
2. Functional foods and substances that interfere with functionality of the organism	7
Figure 1 – Chemical structure of inulin-type fructans according to the number of fructose molecules linked to the glucose of saccharose	9
Table 1 – Concentration of FOS and Inulin (%) in different foods	10
3. Yacon: origin, composition and general aspects of functionality	10
4. The influence diagram and causality circles	11
Figure 2 – “Influence diagram” flow involved in the “circles of causality”: i) R = Reinforcing loop (where the variable X = increase(+) the variable Y = increase (+) the variable X and B = Balancing loop (where the variable X = increased (+) by the variable Y which is decreased (-) by the variable X. Adapted from: Griffith, 2013.	11
5. Main mechanisms related to the beneficial effects of FOS/inulin from yacon in type 2 diabetes mellitus	12
Figure 3. Influence diagram representing an increase in quality of life from ingesting FOS/inulin from yacon root or processed reducing the risk of type 2 diabetes in menopause. (+) increase / (-) decrease. GLP-1 – Glucagon-like peptide.	14

6. Main mechanisms related to the beneficial effects of yacon on modulation of obesity	15
Figure 4. Influence diagram representing the increase in quality of life by the ingestion of FOS/inulin from yacon root or processed with its effects on reduction of menopausal obesity. (+) increase / (-) decrease; (-----) Putatively; GLP-1 Glucagon-like peptide; PYY – Peptídeo YY	17
7. Beneficial effects of yacon in dyslipidemia and cardiometabolic diseases	18
Figure 5. Influence diagram representing the increase in quality of life from the ingestion of FOS/inulin from yacon root or processed with its effects on reduced incidence of cardiometabolic diseases in menopause. (+) increase / (-) decrease; GLP-1 – Glucagon-like peptide.....	20
8. Beneficial effects of yacon in osteometabolic diseases	20
Figure 6 Influence diagram representing the increase in quality of life or processed from the ingestion of FOS/inulin from yacon roots with its effects on lowering the risk of osteoporosis in menopause. (+) increase / (-) decrease	22
9. Beneficial effects of yacon on intestinal constipation	22
Figure 7 Influence diagram for increased quality of life by increasing the intake of FOS/inulin from yacon roots or processed and its effects on the reduction of risk of constipation in menopause. (+) increase / (-) decrease	24
10. Integrated circle of causality	24
Figure 8: Influence diagram for improving the quality of life by ingestion of FOS/inulin from yacon root with its effects on reducing the risk of comorbidities (diabetes mellitus type 2, obesity, cardiometabolic diseases, osteometabolic diseases and intestinal constipation) in menopause.	25
11. CONCLUSIONS	27
12. HIPÓTESES EXPERIMENTAIS	28
13. REFERENCES	30
CAPÍTULO 1	43
2. TESTE DA PRIMEIRA HIPÓTESE EXPERIMENTAL (I)	46
3. MATERIAL E MÉTODOS	47
3.1. Produto a base de Yacon (PBY).....	47
Figura 1. Produto à base de Yacon – PBY	48
3.2. Composição química do produto à base de yacon (PBY)	48
3.3. Medição de Calorimetria (Poder Calorífico) da dieta.....	49
3.4. Delineamento experimental	49
Figura 2. Imagem dos animais experimentais nas gaiolas.....	49
Tabela 1. Composição das dietas administradas na fase de crescimento (12 semanas).....	50

Tabela 2. Composição das dietas administradas na fase de manutenção (8 semanas).....	50
Figura 3 – Organograma do experimento com ratas SHAM e OVX.	52
Figura 4 – Organograma do experimento com ratas OVX.	53
3.4 Cirurgia de Ovariectomia ou Celiotomia	53
Figura 5. Fotos do procedimento cirúrgico a que foi submetido as ratas.	55
Figura 6. Foto ilustrativa da câmara aquecida onde as ratas foram imediatamente colocadas após as cirurgias.	55
3.5 Análises bioquímicas do soro	56
3.6 Análises microbiológicas	56
3.7 Determinação dos ácidos orgânicos	57
3.8 Determinação de pH do conteúdo cecal.....	58
3.9 Análise estatística.....	58
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	59
Tabela 3- Valores médios (n=5) de dosagens de ácidos orgânicos (mg/g) e pH, após Ovariectomia (OVX), em conteúdo cecal de ratas alimentadas com dieta controle e dieta teste durante 24 semanas.....	59
Tabela 4- Valores médios (n=5) da contagem microbiológica (log ₁₀), após ovariectomia, em conteúdo cecal de ratas alimentadas com dieta controle e/ou dieta teste durante 24 semanas.....	61
Tabela 5 – Perfil de lipídios (mg/dL) no soro de ratos <i>wistar</i> ovariectomizadas que receberam dieta suplementada ou não com 6% de FOS/inulina de PBY durante 24 semanas.....	63
5. CONCLUSÃO	66
6. REFERÊNCIA	67
CAPÍTULO 2	73
AVALIAÇÃO DA SUPLEMENTAÇÃO DE 6 % DE FOS/INULINA DE UM PRODUTO À BASE DE YACON (PBY) SOBRE PARÂMETROS INTESTINAIS E HEPÁTICOS DE RATAS <i>WISTAR</i> OVARIECTOMIZADAS	73
Resumo.....	73
1.Introdução	74
2. TESTE DA SEGUNDA HIPÓTESE EXPERIMENTAL	76
3. MATERIAL E MÉTODOS	77
3.1. Origem e manutenção dos animais.....	77
3.2 Delineamento Experimental.....	78
Tabela 1. Composição das dietas administradas na fase de crescimento (12 semanas).....	78

Tabela 2. Composição das dietas administradas na fase de manutenção (8 semanas).....	78
3.3. Delineamento Experimental.....	79
Figura 1 – Organograma do experimento com ratas ovariectomizadas (OVX) e celiotomizadas (SHAM).....	79
Figura 2 – Organograma do experimento com ratas ovariectomizadas (OVX). ...	81
3.4 Cirurgia de Ovariectomia (OVX) ou Celiotomia (SHAM).....	81
3.5 Análises bioquímicas do soro.....	81
3.6 Pesagem dos órgãos.....	82
3.7. Análise Histológica.....	82
Figura 3 – Fluxograma de inclusão em parafina.....	83
Figura 4 – Fluxograma de coloração em Hematoxilina- Eosina.....	84
3.9 Fotomicroscopia.....	84
3.10. Análise Estatística.....	85
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	86
Figura 3 – Corte histológico, corado com HE, da região medial do ceco de ratas Wistar alimentadas com (A) dieta teste (PBY com 6 % de FOS/Inulina) e com (B) dieta controle, durante 24 semanas, evidenciando-se uma cripta com seu diâmetro apical (DA), diâmetro basal (DB) e sua profundidade (P).....	86
Figura 4 – Profundidade de criptas do ceco inicial, medial e final de diferentes grupos de ratas <i>Wistar</i> ovariectomizadas (n=5/grupo). G1: dieta controle – OVX – dieta controle. G2: controle – OVX –dieta yacon. G3: dieta yacon – OVX –dieta controle. G4: dieta yacon – OVX - dieta yacon.....	87
Tabela 3- Valores médios de diâmetro apical e basal e apical das criptas do ceco inicial (CI), medial (CM) e final (CF) após Ovariectomia (OVX), em ratas alimentadas com dieta controle e dieta teste durante 24 semanas.....	88
Figura 5 – Profundidade das criptas do cólon de diferentes grupos de ratas <i>Wistar</i> ovariectomizadas. G1: dieta controle – OVX – dieta controle.G2: dieta controle – OVX –dieta yacon.G3: dieta yacon – OVX –dieta controle.G4: dieta yacon – OVX - dieta yacon.....	89
Tabela 4- Valores médios da Profundidade das criptas e altura das vilosidades do íleo de ratas ovariectomizadas alimentadas com dieta controle e dieta teste durante 24 semanas.....	90
Tabela 5- Valores médios (n=5) de Peso Relativo do Rim (PRR), Peso Relativo do Fígado (PRF), Peso Relativo do Baço (PRB) e Peso Relativo do Coração (PRCo), de ratas ovariectomizadas alimentadas com dieta controle e dieta teste durante 24 semanas.....	91
Tabela 6- Valores médios (n=5) de parâmetros sanguíneos de toxicidade: alanina aminotransferase (ALT), aspartatoaminotransferase (AST), fosfatase alcalina (FA)	

e gama glutamiltransferase (GGT), em ratas ovariectomizadas alimentadas com dieta controle e dieta teste durante 24 semanas.	93
4. CONCLUSÕES	95
5 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	96
CAPÍTULO 3	102
O CONSUMO DE PRODUTO À BASE DE YACON (<i>SMALLANTHUS SONCHIFOLIUS</i>) AUMENTA GLUKAGON LIKE PEPTIDE-1 E DIMINUI O PESO CORPORAL DE RATAS <i>WISTAR</i> OVARIECTOMIZADAS.....	102
Resumo	102
1. Introdução	103
2. TESTE DA TERCEIRA HIPÓTESE EXPERIMENTAL (III)	105
3. MATERIAL E MÉTODOS	106
3.1. Composição química do produto à base de yacon (PBY)	106
3.2. Medição de Calorimetria (Poder Calorífico) da dieta	107
3.3. Origem e manutenção dos animais	107
Tabela 1. Composição das dietas administradas na fase de crescimento (12 semanas).....	108
Tabela 2. Composição das dietas administradas na fase de manutenção (8 semanas).....	108
2.4. Delineamento Experimental.....	109
Figura 1 – Organograma do experimento com todos os animais.....	109
Figura 2 – Organograma do experimento com as ratas ovariectomizadas (OVX).....	110
3.4 Cirurgia de Ovariectomia ou Celiotomia	110
3.5. Avaliação do Tecido Adiposo Visceral (TAV) e avaliações murinométricas	111
3.6 Imunomarcção de <i>Glukagon Like peptide 1</i> (GLP-1)	111
3.7. Análise estatística.....	112
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	113
Tabela 3- Valores médios (n=5) de Ganho de peso (GP), contagem de células imunorreativa à <i>Glukagon Like Peptide-1</i> (GLP-1), consumo alimentar (CA) e Coeficiente de Eficiência Alimentar (CEA), em ratas ovariectomizadas alimentadas com dieta controle e ou dieta teste durante 24 semanas.	114
Figura 2 – Índice de massa corporal (IMC) de ratas ovariectomizadas (OVX) de ratas que receberam dieta controle/dieta yacon (6 % FOS/Inulina), durante 24 semanas, e estão delineadas em diferentes grupos experimentais. G1: dieta controle – OVX – dieta controle. G2: controle – OVX –dieta yacon. G3: dieta yacon – OVX –dieta controle. G4: dieta yacon – OVX - dieta yacon.....	117
Figura 4 – Percentual de Gordura Corporal de ratas OVX (ovarioectomizados) que receberam dieta controle/dieta yacon (6 % FOS/Inulina), durante 24	

semanas, e estão delineadas em diferentes grupos experimentais: G1: dieta controle – OVX – dieta controle. G2: controle – OVX –dieta yacon. G3: dieta yacon – OVX –dieta controle. G4: dieta yacon – OVX - dieta yacon.....	119
4. CONCLUSÕES	121
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	122
6. REFERÊNCIA	124
ANEXOS	132
Tabela 1- Valores médios (n=5) de Coeficiente de Eficiência Alimentar (CEA), Ganho de peso (GPE) e Consumo Alimentar (CA), após SHAM e Ovariectomia (OVX), em ratas alimentadas com dieta controle e dieta teste durante 24 semanas.	132
Tabela 2- Valores médios (n=5) de Peso, Índice de Massa corporal (IMC), Circunferência Cintura (CC), Circunferência Torácica (CT) e porcentagem de gordura corporal (%GC), após SHAM e Ovariectomia (OVX), em ratas alimentadas com dieta controle e dieta teste durante 24 semanas.....	133
Tabela 3- Valores médios (n=5) de dosagens de ácidos orgânicos e pH, após SHAM e Ovariectomia (OVX), em conteúdo cecal de ratas alimentadas com dieta controle e dieta teste durante 24 semanas.....	134
Tabela 4- Valores médios (n=5) da contagem microbiológica (log ₁₀), após SHAM e Ovariectomia (OVX), em conteúdo cecal de ratas alimentadas com dieta controle e dieta teste durante 24 semanas.....	135
Tabela 5- Valores médios (n=5) de Peso Relativo do Ceco (PRC), Peso Relativo do Rim (PRR), Peso Relativo do Fígado (PRF), Peso relativo do Baço (PRB) e Peso Relativo do Coração (PRCo), após SHAM e Ovariectomia (OVX), em ratas alimentadas com dieta controle e dieta teste durante 24 semanas.....	136
Tabela 6- Valores médios (n=5) de Colesterol Total (CT), Triglicerídeos, VLDL e LDL, após SHAM e Ovariectomia (OVX), em ratas alimentadas com dieta controle e dieta teste durante 24 semanas.	137
Tabela 7- Valores médios (n=5) de Glicose, Insulina e Índice HOMA, após SHAM e Ovariectomia (OVX), em ratas alimentadas com dieta controle e dieta teste durante 24 semanas.	138
Tabela 8- Valores médios (n=5) Ganho de peso (GP) e Consumo Alimentar (CA), após SHAM e Ovariectomia (OVX), em ratas alimentadas com dieta controle e dieta teste durante 24 semanas.	139
Tabela 9- Valores médios (n=5) Aspartato Transferase (AST), Alanina Transferase (ALT), Fosfatase Alcalina (FA), Gama Glutamil Transferase (GGT), após SHAM e Ovariectomia (OVX), em ratas alimentadas com dieta controle e dieta teste durante 24 semanas.	140
Tabela 10- Valores médios (n=5) imunomarcção de Glucagon Like Peptide-1 (GLP-1), após SHAM e Ovariectomia (OVX), em ratas alimentadas com dieta controle e dieta teste durante 24 semanas.....	141

Tabela 11- Valores médios (n=5) profundidade, diâmetro basal e diâmetro do intestino grosso, após SHAM e Ovariectomia (OVX), em ratas alimentadas com dieta controle e dieta teste durante 24 semanas.	142
Tabela 12- Valores médios (n=5) da Profundidade das criptas e altura das vilosidades do íleo, após SHAM e Ovariectomia (OVX), em ratas alimentadas com dieta controle e dieta teste durante 24 semanas.	143
Tabela 13- Valores médios (n=5) profundidade, diâmetro basal e diâmetro do ceco inicial, após SHAM e Ovariectomia (OVX), em ratas alimentadas com dieta controle e dieta teste durante 24 semanas.	144
Tabela 14- Valores médios (n=5) profundidade, diâmetro basal e diâmetro do ceco medial, após SHAM e Ovariectomia (OVX), em ratas alimentadas com dieta controle e dieta teste durante 24 semanas.	145
Tabela 15- Valores médios (n=5) profundidade, diâmetro basal e diâmetro do ceco final, após SHAM e Ovariectomia (OVX), em ratas alimentadas com dieta controle e dieta teste durante 24 semanas.	146

LISTA DE ABREVIATURAS

ABESO	Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica
ADA	American Diabetes Association
AGCC	Ácidos graxos de cadeia curta
AGEs	advanced glycation end products
ALT	Alanina amino-transferase
ANOVA	Análise de Variância
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AOAC	Association of Official Analytical Chemists
AST	Aspartato amino-transferase
BHI	Brain Heart Infusion
BS	Bile salts
CEA	Coeficiente de eficiência alimentar
CERAT	Centro de Raízes e Amidos Tropicais
CA	Consumo alimentar
CG	Cromatografia gasosa
CI	Constipação intestinal

CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
CVA	Cerebrovascular accidents
DA	Diâmetro apical
DAB	Diaminobenzidina
DB	Diâmetro basal
DCNT	Doenças crônicas não transmissíveis
DCV	Doença cardiovascular
DG	Diabetes Gestacional
DIC	Delineamento inteiramente casualizado
DM2	Diabetes <i>mellitus</i> tipo 2
DP	Degree of polymerization
DTA	Departamento de Tecnologia de Alimentos
FA	Fosfatase Alcalina
FAI	Fibra alimentar insolúvel
FAO	Food and Agriculture Organization
FAZ	Fibra alimentar solúvel
FOS	Fruto-oligossacarídeos
FY	Farinha de yacon
%GC	Percentual de gordura corporal
GGT	Gama glutamiltransferase
GIP	Gastric inhibitory polypeptide
GIT	Gastrointestinal tract
GLP-1	Glukagon Like Peptide-1
GP	Grau de polimerização
GPE	Ganho de peso
HDL	High-density lipoprotein

HDL-c	Colesterol-HDL (lipoproteína de alta densidade)
HE	Hematoxilina e Eosina
HAS	Hipertensão arterial sistêmica
HOMA-RI	Homeostasis Models Assessment
HPLC	Cromatografia líquida de alta eficiência
IDEA	International Day for the Evaluation of Abdominal Obesity
IMC	Índice de massa corporal
LDL-c	Colesterol-LDL (lipoproteína de baixa densidade)
LDL	Low density lipoprotein
NCDs	chronic non-communicable diseases
MHLW	Ministry of health, labour and welfare
MRS	De Mann, Rogosa e Sharpe
OVX	Ovariectomizadas
PAP	Peroxidase-anti-peroxidase
PBY	Produto a base de yacon
PBY	Product base yacon
PCA	Plate count agar
PYY	Peptide YY
PRB	Peso relativo do baço
PRCo	Peso relativo do coração
PRF	Peso relativo do Fígado
PRR	Peso relativo do Rim
PKC	protein kinase C
SAS	Statistical Analysis System
SBC	Sociedade Brasileira de Cardiologia
SCFAs	Short-chain fatty acids
SHAM	Celiotomizadas

T1DM	Diabetes mellitus type 1
T2DM	Diabetes mellitus type 2
TAV	Tecido adiposo visceral
TG	Triglycerides
UFV	Universidade Federal de Viçosa
VEGF	Vascular endothelial growth factor
VLDL	Very low density lipoproteins
WHO	World Health Organization

RESUMO

MARTINS, Joice de Fátima Laureano D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, setembro de 2014. **Efeito de um produto a base de yacon (*Smallanthus shonchifolius*) no controle da massa corpórea, no perfil de lipídeos e na toxicidade crônica em ratas Wistar ovariectomizadas**
Orientadora: Célia Lúcia de Luces Fortes Ferreira. Coorientadoras: Sirlene Souza Rodrigues Sartori e Maria do Carmo Gouveia Peluzio.

O yacon é um alimento promissor pelas múltiplas funções comprovadas em diferentes estudos, e em função da vida de prateleira curta de sua raiz vislumbrou-se a elaboração de um produto a base de yacon (PBY). Nesse sentido a utilização desse produto garante a ingestão de yacon durante todo ano e exerce diferentes efeitos benéficos. Os objetivos desse estudo foram: avaliar a modulação da microbiota gastrintestinal, o perfil de ácidos graxos e a modulação de lipídios. Também objetivou-se avaliar a segurança do uso do PBY, analisando se tal produto não proporcionaria além das ações prebióticas benéficas, alguma alteração indesejável, especialmente, sobre parâmetros intestinais e hepáticos, avaliar o consumo alimentar, a modulação de medidas antropométricas e imunomarcador da saciedade em ratas *wistar* ovariectomizadas (OVX) que receberam dieta suplementada ou não de 6 % de Frutooligossacarídeos (FOS) e Inulina do produto a base de yacon (PBY). Para tal, analisou-se o peso do ceco, pH, ácidos orgânicos e modulação da microbiota. Além disso, analisou-se o peso dos rins, do fígado, coração e baço; realizou-se a histomorfometria do ceco e do fígado;

avaliou-se as concentrações séricas dos marcadores hepáticos de toxicidade: aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT), fosfatase Alcalina (FA) e gama glutamiltransferase (GGT). Também analisou-se o consumo alimentar, a porcentagem de gordura corporal pelo índice de LEE (Novelli; Diniz et al., 2007), o peso, o índice de massa corporal (IMC) e circunferência abdominal. Fragmentos do ceco foram utilizados para imunomarcação de *Glucagon Like Peptide-1*(GLP-1), de ratas OVX, após serem alimentadas por 24 semanas com dieta padrão adicionadas ou não de 6 % de FOS/inulina originados de produto à base da raiz do yacon (PBY). No grupo que recebeu 6% de FOS/inulina na dieta, durante todo o período experimental, foi observado aumento na profundidade e nos diâmetros basal e apical das criptas do ceco. Não houve diferença significativa nas concentrações séricas dos marcadores de toxicidade hepática, entre os tratamentos, ALT (p=0,5852), AST (p=0,2326), FA (p=0,7691) e GGT (P=0,1009). Observou-se diminuição da circunferência abdominal (p=0,2173), de IMC (p=0,3822) e de percentual de gordura corporal (p=0,3528) em animais que receberam PBY continuamente. Também ocorreu aumento de *GLP-1*(p<0,0001), nesse grupo, paradoxalmente, aumentou o consumo alimentar (p=0,0064), contradizendo a hipótese da saciedade estimulada pelo aumento do GLP-1, e mesmo ocorrendo maior consumo alimentar as ratas obtiveram menor ganho de peso (p<0,0001). Sugerindo-se que o hábito de consumo contínuo do yacon tem potencial modulação da microbiota e do perfil de ácidos graxos, esses ácidos desempenham efeitos sistêmicos para diminuir os riscos de estabelecimento Diabetes *mellitus* tipo 2 (DM2) e dislipidemias que são comorbidades comuns na menopausa. Conclui-se também que o PBY, contendo 6% de FOS/inulina, não provocou alterações que pudessem comprometer a saúde dos animais, o que demonstra que o PBY possui efeitos na modulação da obesidade, sugerindo-se que o hábito de consumo do yacon tem potencial para diminuir os riscos de estabelecimento de obesidade e, portanto, melhoria da qualidade de vida.

ABSTRACT

MARTINS, Joice de Fátima Laureano D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, september, 2014. **Effect of a product yacon base (*Smallanthus shonchifolius*) in the control of body mass, in lipid profile and chronic toxicity in Wistar rats ovariectomized.** Adviser: Célia Lúcia de Luces Fortes Ferreira. Co-advisers: Sirlene de Souza Rodrigues Sartori and Maria do Carmo Gouveia Peluzio.

The yacon is a promising food for multiple functions proven in different studies, and depending on the short life of yacon root shelf saw the elaboration of a product based on yacon (PBY). In this sense the use of this product ensures yacon intake throughout the year and carries different beneficial effects. The objectives of this study were to assess the modulation of gastrointestinal microbiota, the fatty acid profile and the modulation of lipids. Also aimed to evaluate the safety of using the PBY, analyzing if this product does not provide beyond beneficial prebiotic actions, some undesirable change, especially on intestinal and hepatic parameters, assess dietary intake, anthropometric measurements and modulation imunomarcador satiety in wistar rats ovariectomized (OVX) received the diet supplemented or not 6% fructooligosaccharides (FOS) and inulin product the base yacon (PBY). To this end, we analyzed the weight of the cecum, pH, organic acids and modulation of the microbiota from fecal content, the weight

of kidney, liver, heart, and spleen; histomorphometry was performed caecum and liver; we evaluated serum concentrations of hepatic markers of toxicity: aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), alkaline phosphatase (AP) and gamma glutamyl transferase (GGT). Also analyzed the food consumption, body fat percentage by LEE index (Novelli; Diniz et al, 2007), weight, body mass index (BMI) and waist circumference. Furthermore, cecum fragments were used for immunostaining Glucagon-Like Peptide 1 (GLP-1), OVX rats after they were fed for 24 weeks with standard diet with or without added 6% FOS / inulin derived based product the root of yacon (PBY). In the group that received a 6% FOS / inulin in the diet throughout the experimental period, there was an increase in the depth and diameter in the basal and apical regions of the crypts of the cecum. There was no significant difference in serum concentrations of liver toxicity markers, between treatments, ALT ($p = 0.5852$), AST ($p = 0.2326$), FA ($p = 0.7691$) and GGT ($P = 0, 1009$). There was a decrease in waist circumference ($p = 0.2173$), BMI ($p = 0.3822$) and percentage of body fat ($p = 0.3528$) in animals receiving PBY continuously. Also there was an increase of GLP-1 ($p < 0.0001$) in this group, paradoxically, increased food consumption ($p = 0.0064$), contradicting the hypothesis of satiety stimulated by the increase in GLP-1, and even with the greater consumption feed rats had lower weight gain ($p < 0.0001$). Suggesting that continuous consumption habits of yacon has the potential modulation of microbiota and the fatty acid profile, these acids play systemic effects to decrease the risk of Diabetes establishment mellitus type 2 (DM2) and dyslipidemia which are common comorbidities in menopause. Also concluded that the PBY, containing 6% FOS / inulin did not cause changes that could affect the health of animals, showing that the PBY has effects on obesity modulation, suggesting that the consumption habits of yacon has the potential to reduce the risk of obesity property and, therefore, improving the quality of life.

1. INTRODUÇÃO

O aumento da expectativa de vida é crescente em todo mundo. Estima-se que a população com idade maior ou igual a 60 anos será de aproximadamente 1,2 bilhões em 2020 e 2,0 bilhões em 2050 (WHO, 2010). Neste contexto, algumas doenças assumem maior expressão no conjunto da sociedade resultando em maior gasto governamental (Won et al., 2011).

Com o avançar da idade tem-se o surgimento de doenças crônicas não transmissíveis como: diabetes mellitus tipo 2 (DM2) (ADA, 2010); dislipidemia, doenças cardiometabólicas (Marques, 2010; Wehr et al., 2011) e ósseas (Nascimento et al., 2011). O risco de adquirir essas comorbidades tende a aumentar em função do hipoestrogenismo, em mulheres na menopausa (Silva e Sá, 2012), com acúmulo progressivo da gordura abdominal (Marques, 2010).

Com a crescente preocupação da população com a saúde, têm-se uma maior demanda por alimentos funcionais, o que tem impulsionado inúmeras pesquisas com o intuito de elucidar os benefícios proporcionados por diferentes tipos de alimentos (Antunes et al.; 2007).

Dentre os alimentos/ingredientes funcionais que têm sido muito utilizados, encontram-se os prebióticos, os quais são ingredientes que atuam estimulando a produção de ácidos graxos de cadeia curta e na modulação da microbiota do cólon (Magalhães et al, 2011), e, dessa forma, tem efeito estimulador na produção de *Glucagon Like Peptide-1* (GLP-1), que desencadeia uma série de benefícios (Delzenne et al., 2005; Genta et al., 2009). No rol dos alimentos funcionais, um alimento que tem despertado

grande interesse é o yacon (*Smallanthus sonchifolius*), que ganhou ênfase a partir de meados da década de 80, quando foram descobertos seus compostos bioativos com potencialidade para trazer benefícios à saúde humana.

Levando-se em consideração essa especulação e os eventos que podem determinar a diminuição da qualidade de vida em mulheres na menopausa, é importante o conhecimento sobre as propriedades bioativas dos alimentos funcionais que os direcionem para serem utilizados como adjuntos dietéticos, diminuindo o risco de diferentes patologias (FAO, 2007).

2. REVISÃO DE LITERATURA E HIPÓTESES EXPERIMENTAIS

Revisão submetida à Revista Trends in Food Science & Technology

Yacon (*Smallanthus sonchifolius*): action on common comorbidities of menopause

Abstract

Currently, an increase in the search for functional foods has been observed which has generated greater interest for studies in this field. Yacon (*Smallanthus sonchifolius*) provides systemic benefits to the body by providing a wide variety of bioactive components, including fructooligosaccharides (FOS) and inulin. The microbial fermentation of these inulin-type fructans in the colon promotes the accumulation of short chain fatty acids (SCFA), among other metabolites, and triggers a series of beneficial mechanisms. This review seeks to discuss common comorbidities of menopause such as android obesity (abdominal obesity), diabetes mellitus type 2 and dyslipidemia, caused by increased levels of triglycerides, total cholesterol and cardiovascular disease, as well as the function of yacon in decreasing the risk of these comorbidities. Considering the possible variables identified and involved in the dynamics of evolution of comorbidities discussed here, along with possible methods of modulation, these will be used to compose the “circles of causality” compiled from the thinking tools systems. These interrelationships will be the focus to demonstrate the mechanisms involved in the observed benefits in light of the knowledge accumulated so far. Understanding how this prebiotic source contributes

when included in the diet of consumers may also aid to reduce the risk of the comorbidities discussed herein.

Keywords: functional food, yacon, prebiotic, inulin-type fructans, android obesity, type 2 diabetes, dyslipidemia and cardiovascular diseases, intestinal constipation and osteometabolic diseases.

1.INTRODUCTION

Globally, it is estimated that the population 60 years or older will be approximately 1.2 billion in 2020 and 2.0 billion in 2050 (WHO, 2010). In this context, some diseases play a major role in increasing the concern for maintaining the quality of life for this segment of society, constituting a public health challenge with a consequent increase in government spending (Won et al., 2011). Usually, chronic non-communicable diseases (NCDs) are established with advancing age, where among the most common are diabetes mellitus type 2 (T2DM), mainly triggered by insulin resistance and glucose intolerance (Park, Lertdumrongluk, Molnar, Kovesdy, & Kalantar-Zadeh, 2012), dyslipidemia caused mostly by metabolic changes that lead to alterations in serum lipoproteins (Wehr, Pilz, Boehm, März, & Obermayer-Pietsch, 2011), osteometabolic diseases, where osteoporosis and osteopenia are prevalent (Nascimento, Gomes, & Sardinha, 2011), and constipation by delayed colonic transit which mechanistically involves the gut brain axis (Sant'anna & Ferreira in press in, 2014) and an alteration of the intestinal microbiota (Quigley, 2011; Sant'Anna & Ferreira, 2013). The risk of these comorbidities tends to increase particularly in function of the hypoestrogenism that occurs in menopause (Silva & Sá, 2012). One of the consequences of the decrease in this hormone is also related to decrease of the hormone glucagon like peptide (GLP-1), which is linked to both diabetes and obesity

Taking into account these events, the fundamentals regarding the bioactive properties of functional foods is becoming increasingly important in

order to consolidate, their insertion into the population's diets and thereby decreasing the risk of different diseases/comorbidities characterized as public health problems (FAO, 2007). The functional foods/ingredients mostly studied in comorbidities associated with menopause, among others, are fibers (Sales, Rodrigues, Costa, & Ferreira, 2010), bioactive peptides (Samaranayaka & Li-Chan, 2011), isoflavones (Moraes, Pastore, Sato, & Park, 2009), conjugated linoleic acid - CLA (Lima Junior, Monteiro, Rangel, Oliveira, & Maciel, 2011); probiotics, prebiotics and synbiotics (Ferreira, Teshima, Costa, 2008).

Probiotics are microorganisms that when ingested beneficially affect the host and/or beneficially stimulate one or more microbial groups in the gastrointestinal tract (GIT), while prebiotics are ingredients that beneficially affect the host by stimulating one or more microbial groups in the colon (FAO 2007). On the other hand, synbiotic is a food and/or ingredient that contain at the same time a probiotic and a synbiotic (Gibson, 2008). Both probiotics and prebiotics have been reported to favorably modulate NCDs such as diabetes (Genta et al., 2009; Martins, Delmaschio, & Cordeiro, 2011), osteoporosis (Lobo, Colli, Alvares, & Filisetti, 2007), obesity (Genta et al., 2009; Moreira, Teixeira, Peluzio, & Alfenas, 2012) and dyslipidemia (Genta, Cabrera, Grau, & Sánchez, 2005; Manrinque et al., 2005; Teixeira et al., 2013).

In this context, yacon (*Smalanthus sonchifolius*), a multifunctional food (Paula, Abranches, & Ferreira, 2014 in press) has risen great interest. Yacon root is a source of Fructooligosaccharide FOS e inulin, ingredients considered prebiotics which are not digested by human enzymes, but rather by colonic, microorganisms. By means of fermentation they produce, among other compounds, short chain fatty acids (SCFAs). The SCFAs stimulate the activity of GLP-1 that modulate satiety (Genta et al., 2009) and aid in the control of obesity (Genta et al., 2009; Verhoef, Meyer, & Westerterp, 2011). Short chain fatty acids are also involved in the stimulation of the fecal matter's transit (Sant'Anna & Ferreira, 2013), in the lowering of the serum cholesterol's concentration (Rodrigues et al., 2012), in the modulation of triglycerides (Valentova et al., 2008; Rodrigues et al., 2012), in the control of blood glucose (Rodrigues, 2011; Campos et al., 2012), in the improvement of bone health (Rodrigues et al., 2012; Paula, 2013), and calcium absorption

(Saulnier, Spinler, Gibson, & Versalovic, 2009; Rodrigues et al., 2012). In addition, the prebiotics FOS/inulin have been proved to stimulate the immune system (Santana & Cardoso, 2008), and might contribute to the maintenance of the host well being.

Yacon (*Smallanthus sonchifolius*) is a seasonal plant and its root presents a high content of FOS/inulin (3 - 19% p/p). However it also carries a high moisture content (70 % to 93 %) being very perishable (Grau & Rea, 1997). Processing the yacon root in the form of flours, syrups and concentrates generates products with higher shelf life and higher contents of FOS/inulin. Thus, the processed yacon root has been the focus of several studies in the context of its functionality (Lobo, Colli, Alvares, & Filisetti, 2007; Rodrigues, Castro, Martino, & Ferreira, 2011; Rodrigues et al., 2012; Sant'Anna & Ferreira, 2013; Sant'Anna & Ferreira, 2014).

In the present work, to explain the implications of yacon root and its products on some diseases/co-morbidities, circles of causality were used, based on the theory of thinking systems (Senge, 2009). With this methodology it is expected to summarize the effects of FOS/inulin (having, yacon root as example) on diabetes mellitus type 2, obesity, cardiometabolic diseases, osteometabolic diseases and intestinal constipation, common diseases/co-morbidities that might onset during menopause.

The methodology to obtain the data to feed the circles of causality consisted on a literature review, using scientific papers published in the last 15 years, covering animal studies as well as clinical studies located elsewhere and retrieved from the databases SciELO and MEDLINE published in the last 15 years.

2. Functional foods and substances that interfere with functionality of the organism

With growing concerns of the consumers regarding health, a search for functional foods is observed along with an increase in research seeking to identify the active ingredients in these foods, and to elucidate the beneficial mechanisms provided by their consumption (Murador & Rosso, 2013).

The concept of functional foods originated in Japan, referring to foods used as part of a normal diet, which besides nutrition, provide physiological

benefits with action in reducing the risk of NCDs (MHLW, 1993; Health Canadá, 2002). Thus, in a globalized world efforts have been taken to investigate functional foods, which in the food industry, represent the fastest growing segment (FAO, 2007; Murador & Rosso, 2013).

The bioactive foods/ingredients and substances can be classified according to: i) the function they exert on the organism (e.g. antioxidants; probiotics; prebiotics.), ii) chemical composition (e.g. carbohydrates, polyols, proteins), or iii) origin such as animal (e.g. omega-3, conjugated linoleic acid (CLA); microbial (e.g. species of the genera *Lactobacillus* and *Bifidobacterium*); or plant (e.g. isoflavones; oligosaccharides). Currently, the prebiotics available on the market are classified as resistant starch; disaccharides (e.g. lactitol, lactulose, xylitol) and oligosaccharides (e.g., galactooligosaccharides, soybean oligosaccharides, fructooligosaccharides /inulin) (FAO, 2007; Magalhães, Salminen, Ferreira, & Tommola, 2011).

Much of the functionality of ingesting prebiotics is associated with stimulation of the growth of specific microbial genera. The metabolism of these microorganisms generates a series of compounds including organic acids, hydrogen peroxide and bacteriocin, among others, which contribute to the maintenance of a balanced intestinal microbiota (Gibson & Roberfroid, 1995; FAO, 2007).

Chemically, inulin-type fructan compounds are formed by oligo- and polysaccharides in which one or more fructosyl-fructose linkages comprise the majority of glycosidic bonds. To be inulin-type a fructan must have beta $\beta(2-1)$ fructosyl-fructose glycosidic bonds, which gives inulin its unique structural and physiological properties, allowing it to resist enzymatic hydrolysis by human salivary and small intestinal digestive enzymes. Where the FOS and inulin are differentiated by their degree of polymerization (DP). FOS contain 2 to 10 fructose molecules, while inulin has 11 to 60 fructose molecules (Figure 1). Fructooligosaccharides and inulin are present in high concentrations in the yacon root ranging from 50% to 70% on a dry basis (Seminario, Valderrama, & Manrique, 2003).

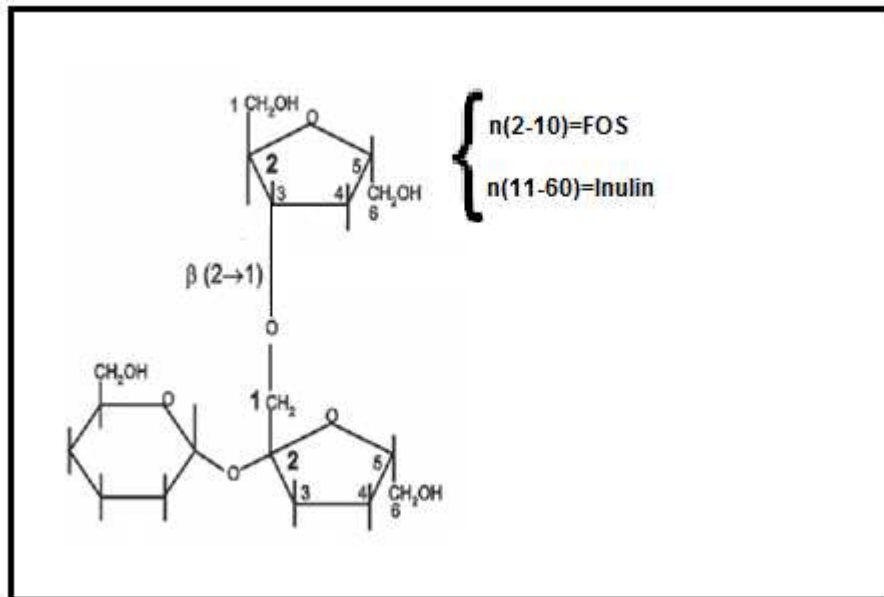


Figure 1 – Chemical structure of inulin-type fructans according to the number of fructose molecules linked to the glucose of saccharose

Prebiotics, in function of their structure, are not hydrolyzed nor absorbed in the small intestine. In the large intestine, especially the colon, they are selectively fermented by anaerobic bacteria (especially the genera *Bifidobacterium*) which mainly produce organic acids such as lactate and short-chain fatty acids (SCFA) in the form of acetate, propionate and butyrate (Geyer, Manrique, Degen, & Beglinger., 2008; Paula et al.; 2012; Rodrigues et al., 2012).

Although FOS/inulin are common compounds in many foods (Table 1), commercially they are mainly isolated from the roots of chicory (*Cichorium endivia* L.) and jerusalem artichoke (*Cynara scolymus* L.). However, FOS/inulin from these sources are used as ingredients in the extracted form, while in yacon roots both FOS and inulin are consumed as raw and/or processed (concentrated) food. Indeed, both FOS and inulin are already present in such high functional concentrations in yacon root raw and or in the processed form as in the PBY (product base yacon: a concentrated root form) (Ojansivu, Ferreira, & Salminen, 2011).

Table 1 – Concentration of FOS and Inulin (%) in different foods

Food	Source	% FOS	% Inulin
Onion	Bulb	2-6	2-6
Jerusalem artichoke	Tuber*	16-20	10-15
Chicory	Root*	15-20	5-10
Garlic	Bulb	9-16	3-6
Banana	Fruit	0.3-0.7	0.3-0.7
Barley	Cereal	0.5-1.5	0.5-1.5
Wheat	Cereal	1-4	1-4
Dandelion	Leaves	12-15	ND
PBY**,***	Processed Root	14-38	5-8
Yacon	Root***	3-19	3-19

Adapted from: Van Loo et al., 1995; Genta et al., 2009; Paula et al. 2012.

* Needs extraction, consumed as ingredient (powder); ** yacon based product – PBY(concentrated root, consumed as food) (Paula et al., 2012; Sant’Anna, 2013). ***(consumed as food)

3.Yacon: origin, composition and general aspects of functionality

Yacon (*Smallanthus sonchifolius*) belongs to the family Asteraceae originating from the Andean region and forms subterranean tuberous roots. It is grown mainly in Colombia, Ecuador, Peru, Bolivia and northwestern Argentina since ancient Inca civilization (Ojansivu, Ferreira, & Salminen, 2011).

The yacon root presents a sweet flavor similar to pear/apple, with a slightly yellowish and crisp flesh. It may be consumed “in natura”, cooked, roasted or processed in the form of flour (Rodrigues, Castro, Martino, & Ferreira, 2011), jelly (Prati, Berbari, Pacheco, Silva, & Nacazume, 2009), syrup (Manrique, Párraga, & Hermann, 2005), vinegar (Hondo, Okumura, & Yamaki, 2000) or as a concentrate (Paula, 2013).

The yacon root is composed of approximately 87.45 % water and 12.04 % carbohydrates, predominantly in the form of fructooligosaccharides (FOS) and some free sugars (Marangoni, 2007). Besides its use as a natural sweetener, intended mainly for the control of blood glucose (Genta et al.; 2009). The yacon root and its products have shown effects on improving and balancing of intestinal microbiota (Genta et al.; 2009; Sant’Anna & Ferreira, 2013), on stimulating the colonic transit and promoting water retention in the

fecal matter (Chen, Lu, Lin, & Ko, 2000; Sant'Anna & Ferreira, in press in 2014). It has also been reported to control obesity by means of stimulating satiety hormones (Genta et al., 2009); and to modulate blood serum cholesterol (Manrique, Párraga, & Hermann, 2005).

When oligosaccharides from yacon are fermented in the colon, SCFAs reduce hepatic cholesterol synthesis (Sakakibara, Yamauchi, Oshima, Tsukamoto, & Kadowaki, 2006) and interfere with the modulation of triglycerides by decreasing hepatic lipogenesis (Delzenne & Kok, 2001). Yacon root has also been associated with bone health improvement from increased calcium absorption (Lobo, Colli, Alvares, & Filisetti, 2007; Rodrigues et al.; 2012; Paula, 2013).

Thus, FOS/inulin from yacon roots seem to have a role in decreasing the risk of a number of diseases. In this review we will focus on their effects on Diabetes mellitus tipo 2 (T2DM), obesity, dyslipidemia and cardiometabolic diseases osteometabolic diseases and constipation (Sant' Anna & Ferreira, 2013) and whose circles of causalities are described below.

4. The influence diagram and causality circles

System thinking is a tool that seeks to visualize the whole and to, detect patterns and interrelationships, allowing these interrelationships to be harmoniously schematized. It is a circular arrangement developed to elucidate a problem by means of its causal relations (variables) in which an initial cause influences the other connections until the occurrence of feedback. It is composed of reinforcing (R) or balancing loops (B) (Figure 2) (Senge, 2009).

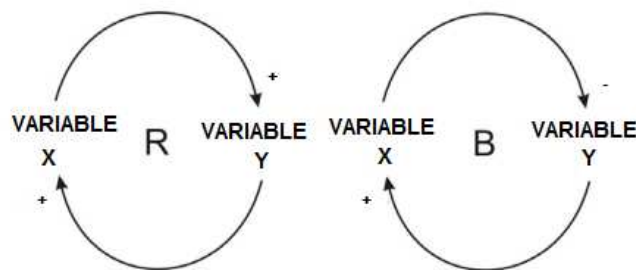


Figure 2 – “Influence diagram” flow involved in the “circles of causality”: i) R = Reinforcing loop (where the variable X = increase(+), the variable Y = increase (+) the variable X and B = Balancing loop (where the variable X = increased (+) by the variable Y which is decreased (-) by the variable X. Adapted from: Griffith, 2013.

The reinforcing loop “R” comprises a variable that has a response in one direction, i.e., the increase of a given variable will result in an increase in the variable that follows. The balancing loop “B” involves a variable whose response has opposite responses, i.e., an increase in a variable implies a decrease in the variable that follows, and vice-versa. For designing the diagram usually it is used the program Visio 2007 of Microsoft®.

The “circles of causality” are composed of known (and/or putative) variables (which may decrease and increase over time) interconnected by connectors (arcs with arrows) that indicate direction of causality. Sets of these circles may be called the “influence diagram” (Senge, 2009) and are a tool in the process to depict a known (and/or putative) mechanism.

In the present study it was sought to restructure the interrelations established between intake of yacon root, in natura or in the processed form, and the modulation of some comorbidities, especially those brought on by menopause, using circles of causality also known as “influence diagrams” of systematic thinking.

5. Main mechanisms related to the beneficial effects of FOS/inulin from yacon in type 2 diabetes mellitus

The fermentation of FOS and inulin stimulates the secretion of the intestine satiating hormone Glucagon-like peptide-1 (GLP-1). This peptide is secreted by intestine endocrine cells in response to nutrient intake. Secretion of GLP-1 stimulates the release of insulin, reducing motility of the GIT (Haber, Heaton, Murphy, & Burroughs, 1977), reducing the appetite and food intake, as well as favoring the control of blood glucose levels (Drucker, 2001).

By stimulating insulin and satiety, ingestion of FOS and inulin may be important for modulation of glucose, and/or weight control. Weight control can mitigate co-morbidities such as dyslipidemia, and thus the risk for cardiovascular diseases.

With menopause there is a drop in progesterone levels, and in parallel, a decrease in estradiol and testosterone levels. Under these circumstances women are subjected to a risk 12 times greater for developing type 2 diabetes (T2DM) (Mielczarski, Costa, & Olinto, 2012). With the increase in abdominal fat as a function of menopause, there is also an increased lipid

mobilization, i.e., increased flow of fatty acids into the bloodstream since abdominal fat is easily mobilized. As a result, three phenomena may occur: i) increased neoglucogenesis ii) increased insulin resistance, and iii) tendency to onset T2DM (Ganguli, Das, Saha, Sanapala, Chaudhuri, & Ghosh, 2011).

There are four types of diabetes mellitus: i) type 1 (T1DM), ii) type 2 (T2DM), iii) Type 3 diabetes and iv) gestational diabetes (GD). In T1DM, also known as insulin dependent diabetes, insulin production in the pancreas is insufficient because its cells suffer from what is known as “autoimmune destruction”. Control of the T1DM is performed by daily injections of insulin to maintain normal blood glucose levels. It might occur at any stage of life, but is most common in children, adolescents and young adults (SBD, 2013). T2DM, also known as non-insulin dependent diabetes or adult diabetes, usually occurs in obese individuals over the age of 40, where the main causes are poor eating habits, sedentary lifestyle and stress of urban life. In this type of diabetes insulin is present, but its action is hampered by obesity, a fact known as “insulin resistance”, being one of the causes of hyperglycemia. The type III diabetes is a recently renaming of Alzheimer’s disease. This nomenclature has been established after evidence of insulin resistance in the brain of Alzheimer’s patients (Bekkering, Jafri, Van Overveld, & Rijkers, 2013). Gestational diabetes is the presence of high glucose levels during pregnancy. In this type of diabetes, glucose is normalized after birth. However, there is a predisposition for future development of T2DM (SBD, 2013).

In T2DM there is a decrease in the hormone GLP-1 which stimulates insulin secretion. This mechanism helps to regulate postprandial glucose levels and it is responsible for 60% of insulin secretion in response to glucose ingestion, resulting in decreased insulin resistance (Meier, 2009). Furthermore, it was demonstrated that GLP-1 promotes proliferation and restores the function of β cells from pancreatic islets, responsible for secretion of insulin. This modulation is of great importance in T1DM, insulin-dependent diabetes, since in this disease there occurs the autoimmune destruction of β cells of the pancreatic islets (Talaucar, 2008).

There is a strong correlation between the drop in GLP-1 production and increased probability to establishment of T2DM, since in this disease there is a decrease in the levels of GLP-1 by roughly 20% to 30% (Talaucar,

2008; Meier, 2009). Therefore, intake of yacon, a food rich in FOS and inulin, has the potential to decrease the risk of T2DM by promoting increased secretion of GLP-1, modulating blood glucose levels, and thereby positively affecting the quality of life (Figure 3).

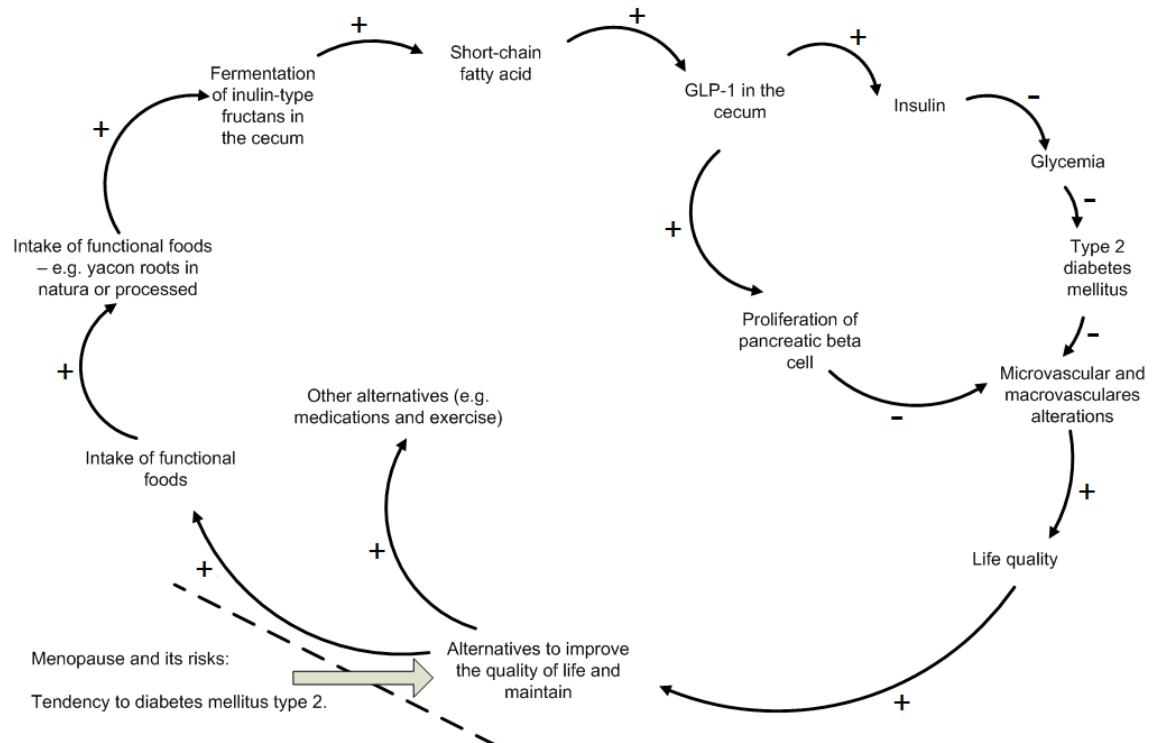


Figure 3. Influence diagram representing an increase in quality of life from ingesting FOS/inulin from yacon root or processed reducing the risk of type 2 diabetes in menopause. (+) increase / (-) decrease. GLP-1 – Glucagon-like peptide.

All forms of diabetes are characterized by chronic hyperglycemia and therefore there occurs excess production of superoxide. As a consequence there is partial inhibition of glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase (GAPDH), an enzyme of the glycolytic pathway, triggering the production of advanced glycation end products (AGEs) and protein kinase C (PKC). As consequence it is established a decrease in the activity of vasodilators such as nitric oxide, increase in activity of vasoconstrictors such as angiotensin II and endothelin-1, and in the permeability factors such as the vascular endothelial growth factor (VEGF). These alterations in diabetes are associated with acceleration of the atherosclerotic macrovascular disease affecting arteries that supply the heart. Moreover, alterations might include

nephropathy, retinopathy, neuropathy, cerebrovascular accidents (CVA) and lower limb amputation (Brownlee, 2001). Because it is little symptomatic, diabetes often remains for years without diagnosis and treatment, which favors the occurrence of complications in the heart and brain (SBD, 2013).

Therefore if unchecked, T2DM may lead to overspending on health and substantial reduction in the life's quality (Batista, Priore, Rosado, Tinôco & Franceschini, 2005).

In all these types of diabetes, alterations in the gut microbiota have been established (Bekkering, Jafri, Van Overveld, & Rijkers, 2013). Thus, probiotic and prebiotic might be considered a possible alternative to decreasing the risk of diabetes, in general, and therefore, contributing to the well being.

6. Main mechanisms related to the beneficial effects of yacon on modulation of obesity

Prebiotics, as cited previously, are dietary fibers related to a number of systemic benefits. When fermented in the cecum, prebiotics accumulate metabolites such as organic acids (Geyer, Manrique, Degen, & Beglinger, 2008), increasing concentrations of acetic, propionic and butyric acids, which play several important functions. The main mechanisms currently known to be involved in the control of obesity are related to the roles of "fibers". Fibers may be classified as soluble, which are fermentable in the cecum, or insoluble, which promote increased fecal mass and limited fermentation in the cecum (Anderson et al., 2009). Both fiber's types are related to satiety, the insoluble fibers by increasing the volume of fecal matter, and soluble fibers by reducing the intestinal transit time and delay in the absorption of glucose, as well as starch hydrolysis (Costa, Silva, & Magnoni, 1997).

Another mechanism involved in the modulation of obesity relies in the assumption that fiber-rich foods require more chewing. This prolonged chewing promotes an increase in the production of gastric juice which, together with saliva and food, causes an increase in the volume of the stomach contents, increasing satiety. Furthermore, the production of mucin increases viscosity which promotes additional protection to the stomach wall. The fibers fill in the stomach, slowing gastric emptying and thus increasing satiety (Cani, Joly, Horsmans, & Delzenne, 2006). The slower gastric

emptying delays the onset of hunger (Cani, Joly, Horsmans, & Delzenne, 2006). Moreover, when ingested, the fibers occupy the surplus calories of the diet, decreasing its energy density and also reducing the efficiency of lipid absorption in the small intestine (Rolls, 2000). It is also believed that organic acids, especially butyrate acid, act in modulating the metabolism of nutrients, more specifically carbohydrates and lipids, and reducing weight gain, a mechanism yet not fully elucidated (Mahan & Escott-Stump, 2005).

The passage of food through the cecum exerts an incretinic action. In the presence of FOS/Inulin, fermentation products in the cecum stimulate this action by triggering a series of factors including: stimulation of insulin secretion, inhibition of glucagon action and improving insulin sensitivity, which is not only beneficial for glycemic control but also reduces food intake by slowing gastric emptying (Drucker, 2011). There are reports indicating that stimulation of the peptide YY (PYY) is also related to satiety. Both PYY, and GLP-1 are produced by L-cells in the intestine, and secretion occurs by a neural control after ingestion of a meal and is enhanced during digestion. It is also believed that the presence of butyrate increases this secretion. However the mechanisms are not completely understood (Costa & Rosa, 2010).

The gastric inhibitory polypeptide (GIP) and GLP-1 are the two main hormones related to incretin. While GIP accelerates gastric emptying (Aroda & Henry, 2006). GLP-1 is a multifunctional hormone that besides its incretinic action (stimulated by the presence of nutrients), it inhibits glucagon secretion, diminishes gastric emptying and regulates satiety (Genta et al., 2009). The presence of butyrate can stimulate colonic peristalsis, and peristaltic movements have an effect on food intake. By means of such mechanism, butyrate modulates satiety by regulating food intake (Sales, Rodrigues, Costa, & Ferreira, 2010).

Studies carried out indicated that prebiotics intestinal production of a higher fatty acid short-chain is associated with increased satiety and consequent reduction in food intake. Such effects partly related to the increase of glucagon-like peptide (GLP-1 and GLP-2) and PYY which, together with reduction of ghrelin cause hypothalamic effects related the reward mechanism (Cani et al., 2009a; Cani et al., 2009b). The stimulation of GLP-1 improves glycemic response and insulin, while the secretion of GLP-2

7. Beneficial effects of yacon in dyslipidemia and cardiometabolic diseases

Some changes are common in menopause such as the decrease in estrogen and increase in androgen, which potentially influence the composition of the arterial wall and the synthesis of vasoactive substances, as well as stimulating the production of collagen and elastin and proliferation of smooth muscle cells induced by LDL (low density lipoprotein) cholesterol. These alterations favor changes in the vascular endothelium and may trigger a variety of cardiovascular changes. Hypoestrogenism can also act on the autonomous nervous system causing vasomotor and pressor changes that increase vascular resistance and contribute to the progression of atherosclerotic disease (Carlos, Palha, Veiga, & Beccaria, 2008).

After menopause, the tendency of increased abdominal fat, with high rates of lipolysis may cause increased portal flow of fatty acids. This condition triggers high levels of triglycerides and LDL cholesterol and reduced levels of HDL (high-density lipoprotein) which potentially may cause hypercholesterolemia, and exposes the liver, muscles and pancreas to a greater amount of free fatty acids. Furthermore, the increased secretion of the LDL fraction is susceptible to oxidation providing a starting for the progression of atherosclerotic diseases (Ganguli, Das, Saha, Sanapala, Chaudhuri, & Ghosh, 2011). These events are correlated to the flow of lipids risen from the android fat and favors increased risk of cardiovascular disease. Thus, after reaching menopause, coronary artery and cerebrovascular diseases are the most frequent causes of death in developed and developing countries (Brasil, 2008; Novo, Piassi, Albano, & Novo, 2011). Estrogen deficiency prevents the maintenance of a suitable lipid profile with an upward trend in total cholesterol, increase in LDL and decreased HDL. Besides, vasodilation tends to decrease while homocysteine and fibrinogen levels tend to increase, which may enhance platelet aggregation (Brasil, 2008).

The SCFA formed during the fermentation of fibers in the cecum modulate cholesterol synthesis, with acetate acting as an enhancer and propionate as an inhibitor of this synthesis (Todd, Benfield, & Goa, 1990). Moreover, high-fiber foods promote decreased absorption of lipids, total cholesterol, and consequently the reduced risk of cardiovascular disease

(Carvalho & Alfenas, 2008). Ingestion of prebiotics also results in increased excretion of bile salts (BS), increasing the mobilization of cholesterol for synthesis of BS, leading to decreased levels of cholesterol and consequently to the control of dyslipidemia (Perucha, 2005). With this scenario, it is established a decreased risk of cardiovascular diseases, since the cholesterol disorder is closely linked to early atherogenesis (SBC, 2007).

Because FOS/inulin from yacon roots are source of SCFA during fermentation, they are capable of modulating levels of blood lipids by inhibiting hepatic synthesis of cholesterol and/or by redistributing plasma cholesterol to the liver (Pereira & Gibson, 2002).

In studies performed by Roberfroid (2000) and Aarsland, Chinkes, & Wolfe, (1996) the administering of inulin to rats, decreased serum concentrations of triglycerides (TG) in the animals during fasting and in the postprandial state. It is believed that this decrease in TG is the effect of very low density lipoproteins (VLDL) in the plasma, resulting in decreases in hepatic TG synthesis and catabolism of TG-rich lipoproteins. Beylot (2005) and Delzenne et al. (2002) suggested that hypertriglyceridemia occurs in function of reduced hepatic re-esterification of fatty acids, i.e., reduced lipogenic activity in the liver, resulting in fewer TG released into circulation.

According to ADA (1999), 3 to 10 g/day of fructooligosaccharides are responsible for beneficial effects in the lipid metabolism, lowering serum cholesterol and improving the functions of the GIT. Thus, yacon roots processed in the concentrated form (PBY), at a concentration of 19-38% g of FOS/inulin in 100 grams of the product, only a small quantity will suffice to achieve the recommended daily dose. With the improvement of blood lipids there is a consequent decrease in risk of cardiovascular disease. These hypotheses provide a number of variables to compose the circle of causality that is described in Figure 5.

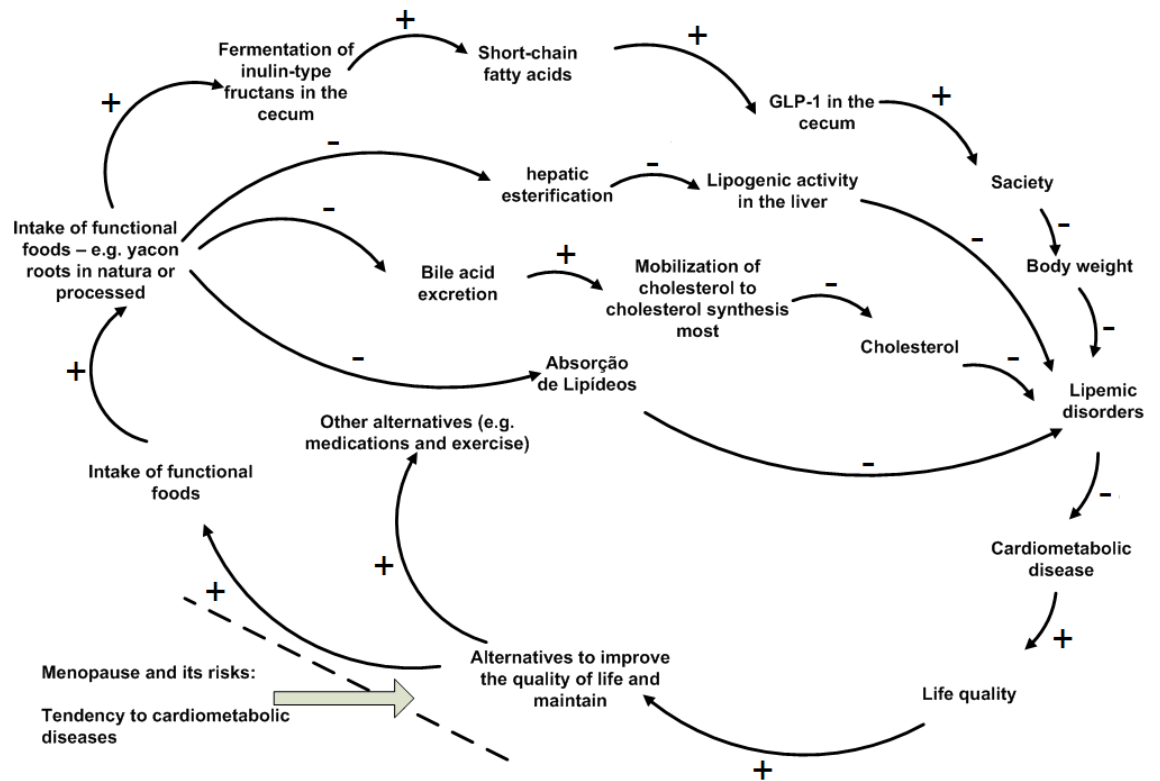


Figure 5. Influence diagram representing the increase in quality of life from the ingestion of FOS/inulin from yacon root or processed with its effects on reduced incidence of cardiometabolic diseases in menopause. (+) increase / (-) decrease; GLP-1 – Glucagon-like peptide.

8. Beneficial effects of yacon in osteometabolic diseases

The drop in estrogen at menopause may influence the formation of the protein matrix in which calcium is deposited, since with the decrease of this hormone, protein anabolism is reduced and catabolism remains unchanged. These events increase the susceptibility to osteoporosis in women during menopause (Kalu, 1991; Turek, 1991).

Osteopenia and osteoporosis are metabolic diseases. In osteopenia there is a reduction in bone mass due to an imbalance between resorption (osteoclastic activity) and bone formation (osteoblastic activity), resulting in bone tissue with a lower degree of mineralization. Osteoporosis is the most severe form of osteopenia, consisting of a microstructural change of bone tissue, increasing fragility. The complications evolved may lead to pain, deformity and/ or bone fracture (Wactawski-Wende et al., 1996; Neto et al., 2002). One out of four women in menopause is affected by osteoporosis and postmenopausal bone loss occurs rapidly (Wactawski-Wende et al., 1996;

Mafetano, Souza, Perozini, & Pallos, 2007), predisposing the individual to the risk of fracture.

Osteoporosis has been highlighted among NCDs, recognized as a public health issue (Pinheiro, Ciconelli, Martini, & Ferraz, 2009). Currently, this disease may be considered the major geriatric syndrome and one of the major global public health problems (Legette et al., 2012). It is also considered a major cause of reduced quality of life, due to the high costs involved with the treatment, the high morbidity and mortality (Sant'anna, Ybarra, Paula, Costa, & Ferreira, 2012) and many studies have been performed to provide means to decrease this illness.

It has been established that the presence of fiber (FOS/inulin) increases the solubility of calcium in the colon facilitating its passive adsorption (Lobo, Colli, Alvares, & Filisetti, 2007; Rodrigues et al., 2012). To compensate for the loss of calcium over the years, passive absorption is the predominant route in the elderly. Thus, a variety of dietary factors, including prebiotics such as inulin-type fructans, have been used as potentiators for passive diffusion of calcium (Roberfroid, 2005).

Oligosaccharide fructans may aid in calcium homeostasis by targeting the main absorption site of this mineral to the large intestine (Coxam, 2005), especially when the active transport of calcium is compromised. Studies undertaken by Paula (2013), with administration of 6% FOS/inulin from yacon root in the concentrated form (PBY) for a period of 180 days in ovariectomized rats, showed that the PBY decreased urinary calcium loss. As a result of the same study, an increase in biomechanical properties of bones of the animals also was observed. Moreover, there was a decrease in serum amino-terminal collagen (NTx) indicating a decrease in the bone resorption process. Although a greater number of clinical studies is important to define the role of diet on the modulation of NCDs, in this study positive results were observed in relation to the calcium balance and to the levels of the marker of bone formation and bone resorption (NTX), corroborating the hypothesis that the estrogen deficiency and its negative impact on bone health could be modulated by enhancing the absorption calcium through the consumption of inulin-type fructans. However, clinical studies well designed must be undertaken in order to define mechanistically the role of diet in the modulation of NCDs. Data available currently indicate a potential role of

yacon root in decreasing the risk of bone diseases and provide the variables for elaborating the circle of causality, in order to improve the quality of life of menopausal individuals, as shown in Figure 6.

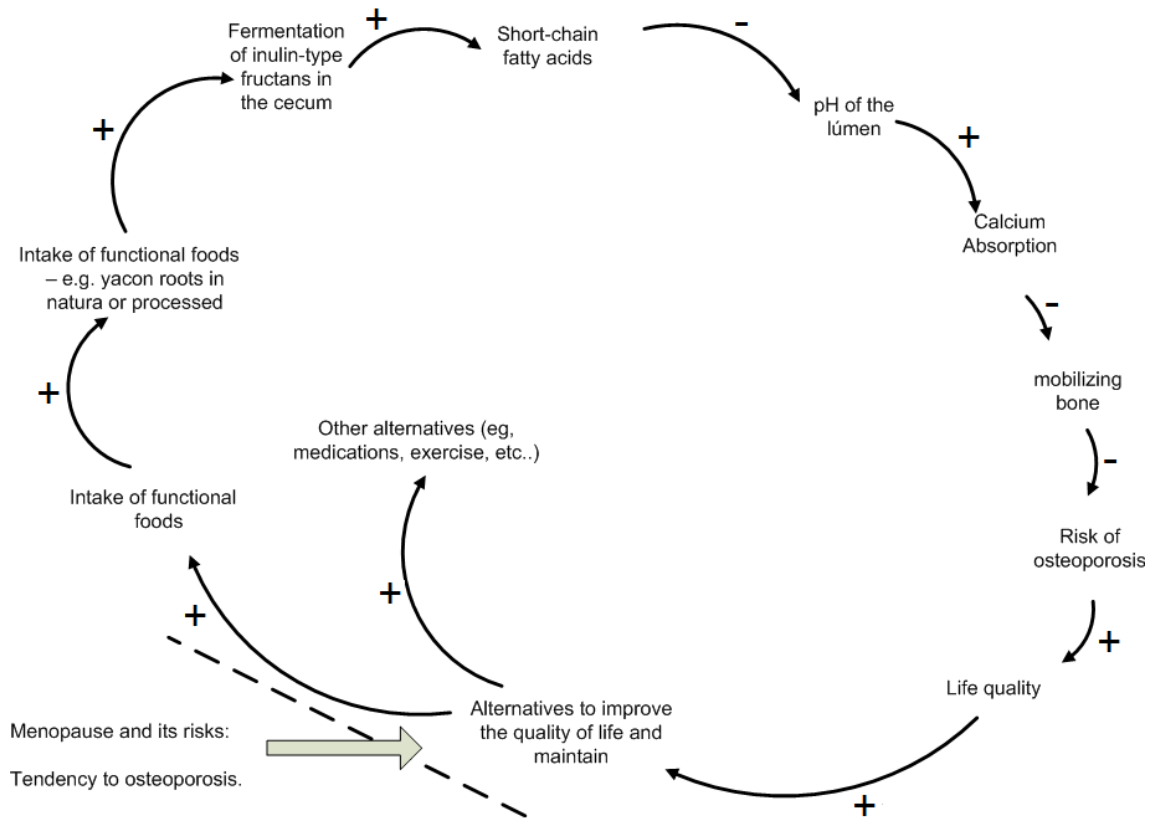


Figure 6 Influence diagram representing the increase in quality of life or processed from the ingestion of FOS/inulin from yacon roots with its effects on lowering the risk of osteoporosis in menopause. (+) increase / (-) decrease

9. Beneficial effects of yacon on intestinal constipation

As the age advances, the proportion of water in the body decreases. Thus, dehydration is common among the elderly, increasing the probability for intestinal constipation (IC) among other diseases (Vitolo, 2008). Intestinal constipation more commonly affects the female population.

Hypoestrogenism, a condition characteristic of menopause, has a role in the onset of intestinal constipation for this hormone maintains tropism to pelvic genitals that make up the structure, suspension and support. Thus, decrease in estrogen leads to weakening of the pelvic structures and favors

genital changes, generating or intensifying intestinal constipation (Halbe, 1994; Oliveira et al., 2005).

Intestinal constipation is diagnosed by less than three bowel movements a week, feeling of fullness (incomplete emptying), defecation difficulties and presence of dry and fragmented stools (Drossman, 2006). The condition leads to an increase in intestinal dysbiosis, characterized by undesirable bacteria overgrowth and decline of the beneficial ones promoting pH increase and formation of a number of undesirable and toxic metabolites such as phenols, ammonia and other pro carcinogens (Gerritsen, Smidt, Rijkers, & De Vos, 2011). With the establishment of dysbiosis there is a decrease in SCFA and increase in the production of undesirable compounds, establishing a change in the microbiota activity, from a saccharolytic fermentation to a putrefactive microbial metabolism (Woodmansey, 2007), which might be accompanied by constipation (Quigley, 2011).

To reverse this situation the consumption of soluble fibers such as FOS/Inulin has been recommended. These fibers are fermented in the colon, inhibit the growth of undesirable microorganisms (Waitzberg et al., 2012) and stimulate proliferation of desirable microbial species (Rodrigues et al.; 2012). Moreover, with the fermentation of these compounds and increase of SCFA, especially butyrate, intestinal motility and faeces output are stimulated.

An alternative for overcoming intestinal microbial dysbiosis involves manipulating the energy sources of the colon microbiota, as for example, through consumption of prebiotics which stimulate the endogenous colon probiotic bacteria. Another strategy might be the administration of synbiotics which besides the prebiotic, carries a beneficial bacterium generally of the genus *Bifidobacterium* and or *Lactobacillus* adapted to this ecological niche (Sant'anna & Ferreira in press in, 2014).

Based on evidences, studies have been focused on bioactive food products that might modulate this disease and might culminate in decreasing the quality of life. Ingestion of prebiotics modulates the intestinal microbiota and hence might decrease the risk of the onset of IC and/or beneficially modulates this illness. The variables that drive the circle of causality of IC are indicated in Figure 7.

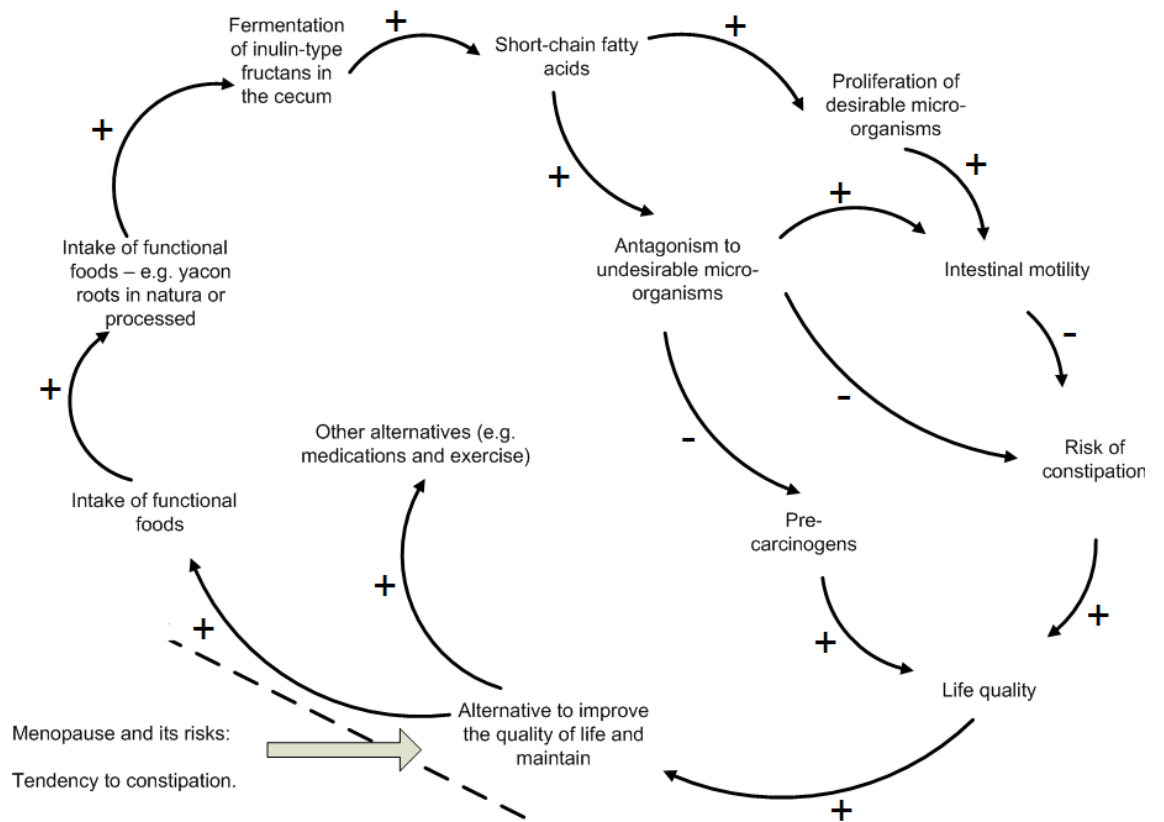


Figure 7 Influence diagram for increased quality of life by increasing the intake of FOS/inulin from yacon roots or processed and its effects on the reduction of risk of constipation in menopause. (+) increase / (-) decrease

10. Integrated circle of causality

Figure 8 shows the influence diagram involving the role of FOS/inulin from yacon on common comorbidities in menopause and post-menopause: T2DM, obesity, intestinal constipation, and cardiometabolic and osteometabolic diseases.

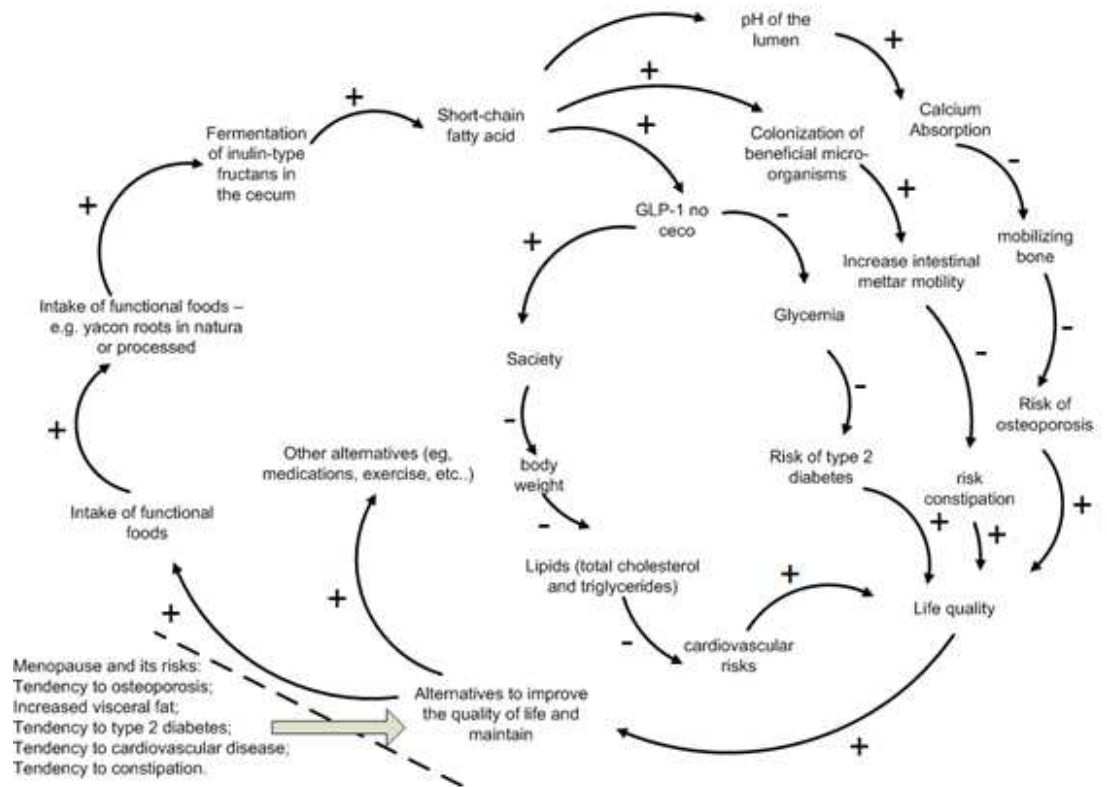


Figure 8: Influence diagram for improving the quality of life by ingestion of FOS/inulin from yacon root with its effects on reducing the risk of comorbidities (diabetes mellitus type 2, obesity, cardiometabolic diseases, osteometabolic diseases and intestinal constipation) in menopause. (+) increase / (-) decrease; GLP-1 – Glucagon-like peptide.

Based on data already accumulated, it is established that with the intake of FOS/inulin from yacon roots, in its various forms, there occurs the stimulation of FOS/inulin fermentation in the large intestine and hence, an increase in the concentration of SCFA (Rodrigues et al., 2012; Paula et al., 2012). The increase in SCFA stimulates the release of GLP-1 in the intestine, promoting satiety, reduction in body weight and reducing the risk of dyslipidemia and cardiovascular diseases, as well as decreased risk of T2DM due to reduced blood glucose. Moreover, SCFA lead to decreased osteometabolic diseases and IC. These benefits establish the conditions to an increase in the quality of life. The increase of GLP-1 in the intestine also results in reduced glycemia and decreased risk of T2DM, which additionally culminates in enhancing the quality of life. The increase in quality of life provides increased beneficial insight regarding functional foods and

increased search for alternatives for maintaining this life quality, which is the driving force to start the cycle again (Figure 8).

Therefore, considering the various already proven benefits of yacon roots and/or its derived products, it was sought to produce the circles of causality in order to visualize the mechanisms of action. This visual technique might favoring the introduction and increasing consumption of this food into the diet of the populations.

11.CONCLUSIONS

Given the importance of inulin-type fructans as modulators of common comorbidities in menopause, such as diabetes, obesity, dyslipidemia, osteoporosis and constipation, and because the yacon root and its products present high concentrations of inulin-type fructans, their consumption may be promising for the modulation of these diseases and comorbidities. In this context, the circles of causality might be considered essential tools for the integration of mechanisms and for a better visualizing the causes and risk decreasing routes of the disease\ comorbidity. As dealing with a functional food, this understanding is necessary both for the health professional and consumer in order to accelerate the practice of use and to guarantee the benefits, alleviating the symptoms and increasing the quality of life for the target populations.

12. HIPÓTESES EXPERIMENTAIS

A problemática exposta anteriormente permitiu a construção das seguintes hipóteses experimentais testadas no presente estudo:

I) A administração do Produto à Base de Yacon (PBY) modula benéficamente a microbiota intestinal e aumenta os níveis de ácidos orgânicos circulantes, melhorando o perfil lipídico em ratas *Wistar* ovariectomizadas.

Para teste da hipótese acima, perseguiram-se os seguintes objetivos:

- Determinar as contagens microbianas de *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Clostridium*, Coliformes totais e Anaeróbios totais nas fezes de ratas *Wistar* ovariectomizadas;
- Determinar as concentrações de ácidos orgânicos circulantes nas fezes de ratas *Wistar* ovariectomizadas;
- Dosar Colesterol total, frações e triglicerídeos nos animais experimentais.

II) A administração do PBY não provoca alterações morfométricas indesejáveis no fígado, ceco, íleo e intestino grosso; nem alterações desfavorecedoras nos parâmetros sanguíneos relacionados à segurança, bem como no índice de peso dos órgãos.

A hipótese acima foi testada segundo os seguintes objetivos:

- Determinar o índice de peso dos órgãos (ceco, fígado, baço, rins e coração) dos animais experimentais;
- Analisar qualitativamente a estrutura histológica do fígado para verificar se há ou não formação de focos de inflamação e fibrose;
- Mensurar as criptas do ceco e intestino grosso por meio de medida da profundidade e diâmetro basal;
- Mensurar as alturas das vilosidades do íleo,
- Determinar as concentrações séricas dos marcadores sanguíneos relacionados à segurança: Fosfatase Alcalina (FA), Gama glutamil-transferase (Gama-GT); Alanina Aminotransferase (ALT) e Aspartato Aminotransferase (AST).

III) A dieta teste fornece os nutrientes necessários para o crescimento das ratas *Wistar*, estimula *Glucagon Like Peptide-1* (GLP-1) e promove a saciedade, resultando em diminuição do peso corpóreo e da circunferência da cintura, principalmente, em ratas ovariectomizadas.

Para teste da hipótese acima, perseguiram-se os seguintes objetivos:

- Monitorar o peso das ratas *Wistar* ovariectomizadas;
- Determinar o Coeficiente de Eficiência Alimentar (CEA);
- Determinar a concentração de fruto-oligossacarídeos (FOS) e inulina presentes na raiz de yacon e no PBY;
- Determinar a composição química e valor calórico das dietas e do PBY;
- Realizar imunomarcagem de *GLP-1* no Ceco;
- Avaliar o Índice de Massa Corpórea (IMC), o Percentual de Gordura Corporal e a Circunferência da Cintura.

13. REFERENCES

Aarsland, A., Chinkes, D., & Wolfe, R.R. (1996). Contributions of de novo synthesis of fatty acids to total VLDL-triglyceride secretion during prolonged hyperglycemia/insulinemia in normal man. *Journal of Clinical Investigation*, 98, 2008-2017.

ADA – American Dietetic Association. (1999). Functional Foods – Position of ADA. *Journal of the American Dietetic Association*, 99, 1278-1285.

Anderson, J.W., Baird, P., Davis, R.H.Jr, Ferreri, S., Knudtson, M., Koraym, A. et al. (2009). Health benefits of dietary fiber. *Nutrition Reviews*, 67, 188-205.

Aroda, M.A., & Henry, R.R. (2006). Incretin Hormones in Diabetes and Metabolism. *Medscape*, 1-7.

Batista, M.C.R., Priore, S.E., Rosado, L.E.F.P.L., Tinôco, A.L.A., & Franceschini, S.C.C. (2005). Avaliação dos resultados da atenção multiprofissional sobre o controle glicêmico, perfil lipídico e estado nutricional de diabéticos atendidos em nível primário. *Revista de Nutrição*, 18, 219-228.

Beylot, M. (2005). Effects of inulin-type fructans on lipid metabolism in man and in animal models. *British Journal of Nutrition*, 93, 163-168.

Bekkering, P., Jafri, I., Van Overveld, F.J., & Rijkers, G.T (2013). The intricate association between gut microbiota and development of type 1, type 2 and type 3 diabetes. *Expert Review of Clinical Immunology*, 9, 1031-41.

Brasil. Ministério da Saúde. (2008). Manual de Atenção à Mulher no Climatério /Menopausa Série A. Normas e Manuais Técnicos. Série Direitos Sexuais e Direitos Reprodutivos – Caderno, n.9.

Brownlee, M. (2001). Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Insight review articles, Nature*, 414, 813-820.

Campos, D., Pallardel-Betalleluz, I., Chirinos, R., Aguilar-galvez, A., Noratto, G., & Gedreschi, R. (2012). Prebiotic effects of yacon (*Smallanthus sonchifolius* Poepp. & Endl), a source of fructooligosaccharides and phenolic compounds with antioxidant activity. *Food Chemistry*, 13, 1592-1599.

Cani, P.D., Joly, E., Horsmans, Y., & Delzenne, N.M. (2006). Oligofructose promotes satiety in healthy human: a pilot study. *European Journal of Clinical Nutrition*, 60, 567-72.

Cani, P.D., Possemiers, S., Van de Wiele, T., Guiot, Y., Everard, A., Rottier, O., et al. (2009). Changes in gut microbiota control inflammation in obese mice through a mechanism involving GLP-2-driven improvement of gut permeability. *Gut*, 58, 1091-1103a.

Cani, P.D., Lecourt, E., Dewulf, E.M., Sohet, F.M., Pachikian, B.D., Naslain, D., et al. (2009). Gut microbiota fermentation of prebiotics increases satietogenic and incretin gut peptide production with consequences for appetite sensation and glucose response after a meal. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 90, 1236-1243b.

Carlos, P.R., Palha, P.F., Veiga, E.V., & Beccaria, L.M. (2008). Perfil de hipertensos em um núcleo de saúde da família. *Arquivos de Ciências da Saúde*, 15, 176-181.

Carvalho, G.Q., & Alfenas, R.C.G. (2008). Índice Glicêmico: uma abordagem crítica acerca de sua utilização na prevenção e no tratamento de fatores de risco cardiovasculares. *Revista de Nutrição*, 21, 577-587.

Chen, H.L., Lu, Y.H., Lin, J.Jr., & Ko, L.Y. (2000). Effects of fructooligosaccharide on bowel function and indicators of nutritional status in constipated elderly men. *Nutrition Research*, 20, 1725-1733.

Costa, N.B., Rosa, C.O.B. (2010). Alimentos funcionais: componentes bioativos e efeitos fisiológicos. *Rubio*. 536.

Costa, R.P., Silva, C.C., & Magnoni, C.D. (1997). Importância das fibras nas doenças cardiovasculares. *Revista Brasileira de Nutrição Clínica*, 12, 151-154.

Coxam V. (2005). Inulin-type fructans and bone health: state of the art and perspectives in the management of osteoporosis. *British Journal of Nutrition*, 93, 111-123.

Delzenne, N., & Kok, N. (2001). Effects of fructans-type prebiotics on lipid metabolism. *American Journal of Clinical Nutrition*, 73, 456–458.

Delzenne, N.M., Neyrinck, A.M., & Cani, P.D. (2011). Modulation of the gut microbiota by nutrients with prebiotic properties: consequences for host health in the context of obesity and metabolic syndrome. *Microbial Cell Factories*, 10-11.

Drossman, D. A. (2006). Rome III: the new criteria. *Chinese Journal of Digestive Diseases*, 7, 181-185.

Drucker, D.J. (2001). Minireview: the glucagon-like peptides. *Endocrinology*, 142, 521-527.

Drucker, D.J. (2011). Incretin-based therapy and the quest for sustained improvements in beta cell health. *Diabetes Care*, 34, 2133-2135.

FAO (2007). Technical Meeting on Prebiotics. Food Quality and Standards Service (AGNS), Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), September 15-16. Available at: http://www.fao.org/ag/agn/agns/files/Prebiotics_Tech_Meeting_Report.pdf. Accessed 26.01.14.

Ferreira, C. L. L. F., Teshima, E., & Costa, N. M. B. (2008). Effect of probiotic, prebiotic and synbiotic on colon and cecum microbiota of rats. *International Journal of Probiotics & Prebiotics*, 3, 71-76.

Ganguli, D., Das, N., Saha, I., Sanapala, K. R., Chaudhuri, D., & Ghosh, S. (2011). Associação entre Marcadores Inflamatórios e Fatores de Risco Cardiovascular em Mulheres de Kolkata, W.B, Índia. *Arquivo Brasileiro de Cardiologia*, 96, 38-46.

Genta, S., Cabrera, W., Habiba, N., Ponsb, J., Carilloc, I.M., Graud, A., et al. (2009). Yacon syrup: Beneficial effects on obesity and insulin resistance in humans. *Clinical Nutrition*, 28, 182-187.

Genta, S., Cabrera, W. M., Grau, A., & Sánchez, S. S. (2005). Subchronic 4-month oral toxicity study of dried *Smallanthus sonchifolius* (yacon) roots as a diet supplement in rats. *Food and Chemical Toxicology*, 43, 1657-1665.

Gerritsen, J., Smidt, H., Rijkers, G.T., & De Vos, W.M. (2011). Intestinal microbiota in human health and disease: the impact of probiotics. *Genes & Nutrition*, 6, 209-240.

Geyer, M., Manrique, I., Degen, L., & Beglinger, C. (2008). Effect of Yacon (*Smallanthus sonchifolius*) on Colonic Transit Time in Healthy Volunteers. *Digestion*, 78, 30-33.

Gibson, G.R., & Roberfroid, M.B. (1995). Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *Journal of Nutrition*, 125, 1401-1412.

Gibson, G.R. (2008). Prebiotics as Gut Microflora Management Tools. *Journal of Clinical Gastroenterology*, 42, 75-79.

Grau, A., & Rea, J. (1997). Genetic Resources of yacon *Smallanthus sonchifolius* Poepp. & Endl. p.198-242. In: Heller, J., Hermman, M., Engels, J. Andean roots and tuber genetic resources. IPGRI - Rome.

Griffith, J. J. (2008). A disciplina do pensamento sistêmico. Available at:
<http://www.def.ufv.br/documentos/material/A%20Disciplina%20do%20Pensamento%20Sistemico.pdf> Accessed 25.12.13.

Haber, G.B., Heaton, K.W., Murphy, D., & Burroughs, L.F. (1977). Depletion and disruption of dietary fibre. Effects on satiety, plasma-glucose, and serum-insulin. *Lancet*, 2, 679-682.

Halbe, H. W. (1994). *Tratado de Ginecologia*. 2ed. São Paulo: Rocca.

Health Canada. (2002). Policy Paper-Nutraceuticals/Functional Foods and health Claims on Foods. Available at: http://www.hc.sc.gc.ca/fn-an/label-etiquet/clims-reclaim/nutra-fuct_foods-nutra-fonc_aliment-eng.php. Accessed 22.11.13.

Hondo, M., Okumura, Y., & Yamaki, T. (2000). A preparation of Yacon vinegar containing natural fructooligosaccharides. *Journal of Japan Society of Nutrition and Food Science*, 47, 803–807.

Kalu, D.N. (1991). The ovariectomized rat model of postmenopausal bone loss. *Bone and Mineral*, 15, 175-91.

Legette, L.L., Lee, W., Martin, B.R., Story, J.A., Campbell, J.K. & Weaver, C.M. (2012). Prebiotics enhance magnesium absorption and inulin-based fibers exert chronic effects on calcium utilization in a postmenopausal rodent model. *Journal of Food Science*, 77, 88-94.

Lima Junior, D.M., Monteiro, P.B.S., Rangel, A.H.N., Oliveira, S.E.O. & Maciel, M.V. (2011). Alimentos funcionais de origem animal. *Revista Verde*,6, 10-20.

Lobo, A.R., Colli, C., Alvares, E. P., & Filisetti, T.M. (2007). Effects of fructans-containing yacon (*Smallanthus sonchifolius* Poepp & Endl.) flour on caecum mucosal morphometry, calcium and magnesium balance, and bone calcium retention in growing rats. *British Journal of Nutrition*, 97, 776–785.

Mafetano, L.R., Souza, D.M., Perozini, C., & Pallos, D. (2007). Influência dos níveis de densitometria mineral óssea na perda óssea alveolar e parâmetros clínicos periodontais em mulheres na pós-menopausa. *Revista da AMRIGS*,51, 280-284.

Magalhães, M.S., Salminen, S., Ferreira, C.L.L.F., & Tommola, J. (2010). Terminology: Funcional foods, probiotics, prebiotics, synbiotics, health claims, sensory evaluation foods and molecular gastronomy. Turku: Finland.

Maham, L.K., & Escott-Stump, S. *Alimentos Nutrição e Dietoterapia*. 11 ed. São Paulo, Roca, 2005. 1242 p.

Manrique, I., Párraga, A., & Hermann, M. (2005). Conservación y uso de la biodiversidad de raíces y tubérculos andinos: Una década de investigación para el desarrollo (1993-2003). *Yacon syrup: Principles and Processing*; Lima: Centro Internacional de La Papa.

Marangoni, A.L. (2007). Potencialidade de aplicação de farinha de yacon (*Polymnia sonchifolia*) em produtos à base de cereais. Tese de mestrado. UNICAMP, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas, SP, Brasil. 125f.

Martins, M.L.R., Delmaschio, K.L., & Cordeiro, A. A. (2011). Efeitos da utilização de *Smallanthus Sonchifolius* (yacon) no tratamento de indivíduos com Diabetes mellitus / Effects of the use of *Smallanthus Sonchifolius* (yacon) in the treatment of individuals with Diabetes mellitus. *Revista Ceres*, 6, 35-43.

Meier, J.J. (2009). The contribution of incretin hormones to the pathogenesis of type 2 diabetes. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*, 23, 433-441.

MHLW – Ministry of health, labour and welfare, japan. (1993). Foods for Specified Health Use. Available at: <http://www.mhlw.go.jp/english/topics/fhc/02.html>. Accessed 22.11.13.

Microsoft, Visio 2007 free. Available <http://www.microsoft.com/pt-br/download/details.aspx?id=10435>.

Mielczarski, R.G., Costa, J.S.D., & Olinto, M.T.A. (2012). Epidemiologia e organização de serviços de saúde: diabetes mellitus numa comunidade de Porto Alegre. *Ciência e Saúde Coletiva*, 17, 71-78.

Moraes, C.S., Pastore, G.M., Sato, & H.H., Park, Y.K. (2009). Isoflavonas de soja e suas atividades biológicas. São Paulo: Livraria Varela.

Moreira, A.P.B., Teixeira, T.F.S., Peluzio, M.C.G., & Alfenas, R. C. G. (2012). Gut microbiota and development of obesity. *Nutrición Hospitalaria*, 27, 1408-1414.

Murador, D.C., & Rosso, V.V. (2013). Efeito do preparo da couve (*Brassica oleracea* L.) Na composição quali e quantitativa dos compostos bioativos. *Nutrire*, 38, 197-197.

Nascimento, J.S., Gomes, B., & Sardinha, A.H.L. (2011). Fatores de risco modificáveis para as doenças cardiometabólicas em mulheres com

hipertensão arterial. Revista da Rede de enfermagem do Nordeste, 12, 709-15.

Neto, A. M. P., Soares, A., Urbanetz, A. A., Souza, A.C.A., Ferrari, A.E.M., & Amaral, B. (2002). Consenso brasileiro de osteoporose. Revista Brasileira de Reumatologia, 42, 343-354.

Novo, J.L.V.G., Piassi, G. S., Albano, M. C. O., & Novo, N. F. (2011). Aspectos gerais da mortalidade de mulheres após a idade reprodutiva no conjunto hospitalar de Sorocaba. Revista da Faculdade de Ciências Médicas de Sorocaba, 13, 10-15.

Ojansivu, I., Ferreira C.L, & Salminen, S. (2011). Yacon, a new source of prebiotic oligosaccharides with a history of safe use. Trends in Food Science & Technology, 22, 40-46.

Oliveira, S.C.M., Pinto-Neto, A.M., Góes, J. R. N., Conde, D.M., Santos-Sá, D., & Costa-Paiva, L. (2005). Prevalência e fatores associados à constipação intestinal em mulheres na pós-menopausa. Arquivos de Gastroenterologia, 42, 24-29.

Park, J., Lertdumrongluk, P., Molnar, M. Z., Kovesdy, C. P., & Kalantar-Zadeh, K. (2012). Glycemic control in diabetic dialysis patients and the burnt-out diabetes phenomenon. Current Diabetes Reports, 12, 432-439.

Paula, H.A.A. (2013). Efeito de um produto à base de yacon (*Smallanthus sonchifolius*) na modulação de indicadores da saúde óssea em ratas wistar. Tese Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade de Federal de Viçosa, Viçosa-MG.

Paula, H.A.A., Abranches, M.V., Ferreira, C.L.L.F. (2014). Yacon (*Smallanthus sonchifolius*): a food with multiple functions. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, in press.

Paula, H.A.A., Martins, J.F.L.; Sartori, S.S.R., Castro, A.S.B., Abranches, M.V., Rafael, V.C., et al C.L.L.F. (2012). The yacon product PBY: which is the best dose to evaluate the functionality of this new source of prebiotic fructans? In: Functional Foods Forum Probiotics, Turku. Finland.

Perucha, V.R. (2005). Propriedades funcionais da banana verde. *Nutrição, Saúde e Performance – Anuário de alimentos funcionais*. Edição n.26. São Paulo.

Pinheiro, M.M., Ciconelli, R.M., Martini, L.A., & Ferraz, M.B. (2009). Clinical risk factors for osteoporotic fractures in Brazilian women and men: the Brazilian Osteoporosis Study (BRAZOS). *Osteoporosis International*, 3, 399-408.

Prati, P., Berbari, S.A.G., Pacheco, M.T.B., Silva, M.G., & Nacazume, N. (2009). Estabilidade dos componentes funcionais de geléia de yacon, goiaba e acerola, sem adição de açúcares. *Brazilian Journal of Food Technology*, 12, 285-294.

Quigley, E.M.M. (2011). The enteric microbiota in the pathogenesis and management of constipation. *Practice & Research Clinical Gastroenterology*, 25, 119–126.

Roberfroid, M.B. (2000). Prebiotics and probiotics: are they functional foods? *American Journal of Clinical Nutrition*, 71, 1682-1687.

Roberfroid, M.B. (2005). Introducing inulin-type fructans. *British Journal of Nutrition*, 93, 13–25.

Rodrigues, F. C., Castro, A. S. B., Martino, H. S. D., & Ferreira, C. L. L. F. (2011). Farinha de yacon (*Smallanthus sonchifolius*): produção e caracterização química. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, 70, 290-295.

Rodrigues, F.C., Castro, A.S.B., Rodrigues, V.C., Fernandes, S.A., Fontes, E.A.F., Oliveira, T.T., et al. (2012). Yacon flour and *Bifidobacterium longum* modulate bone health in rats. *Journal of Medicinal Food*, 15, 664–670.

Rodrigues, V.C. (2011). Formulação, índice glicêmico e aplicação alimentar de um produto à base de yacon (*Smallanthus sonchifolius*). Dissertação de Mestrado. Ciência e Tecnologia de Alimentos. Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade de Federal de Viçosa, Viçosa-MG, Brasil (Patent pending).

Rolls, B.J. (2000). The role of energy density in the overconsumption of fat. *Journal of Nutrition*, 130, 268-271.

Sakakibara, S., Yamauchi, T., Oshima, Y., Tsukamoto, Y. & Kadowaki, T. (2006). Acetic acid activates hepatic AMPK and reduces hyperglycemia in diabetic KK-A(y) mice. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 344, 597-604.

Sales, R.L., Rodrigues, F.C., Costa, N.M.B., & Ferreira, C.L.L.F. (2010). In: Yacon: aspectos nutricionais, tecnológicos e funcionais. Alimentos Funcionais: componentes bioativos e efeitos fisiológicos. Rio de Janeiro: Editora Rubio, 1ª ed: 229-242.

Samaranayaka, A.G.P., & Li-Chan, E.C.Y. (2011). Food-derived peptidic antioxidants: A review of their production, assessment, and potential applications. *Journal of Functional Foods*, 3, 229-254.

Sant'anna, M.S.L., Ybarra, L. M., Paula, H. A. A., Costa, N.M.B., & Ferreira, C.L.L.F. (2012). Probióticos e Prebióticos na Absorção de Minerais (2012). In: Célia Lúcia de Lucas Fortes Ferreira. (Org.). Probióticos e Prebióticos; atualização e prospecção. Rio de Janeiro: Rubio, 1: 57-71.

Sant' Anna, M.S.L., & Ferreira, C.L.L.F. (2014). Can intestinal constipation be modulated by prebiotics, probiotics and symbiotics? Food and Nutrition Sciences in press.

Sant'Anna, M.S.L; & Ferreira, C.L.L.F. (2013). Yacon (*Smallanthus sonchifolius*) no controle das doenças crônicas não-transmissíveis. Nutrição Brasil, 12, 310-314.

Santana, I., & Cardoso, M.H. (2008). Raiz tuberosa de yacon (*Smallanthus sonchifolius*): potencialidade de cultivo, aspectos tecnológicos e nutricionais. Ciência Rural, 38, 898-905.

Saulnier, D.M.A., Spinler, J.K., Gibson, G.R., & Versalovic, J. (2009). Mechanisms of probiosis and prebiosis: considerations for enhanced functional foods. Current Opinion in Biotechnology, 20, 135–141.

SBC - Sociedade brasileira de cardiologia. (2007). IV Diretriz Brasileira Sobre Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose. Disponível em: <http://publicacoes.cardiol.br/consenso/2007/diretriz-DA.pdf>. Acessado em: 23 de dezembro de 2013.

Seminario, J., Valderrama, M., & Manrique, I. (2003). El yacon: fundamentos para el aprovechamiento de un recurso promisorio. Lima: Centro Internacional de la Papa; Universidad Nacional de Cajamarca; Agencia Suiza para el Desarrollo y la Cooperación. 60f.

Senge, P.M. (1990). A quinta disciplina: arte, teoria e prática da organização de aprendizagem. 12. ed. São Paulo, SP.

Silva, I.M.C. & Sá, E.Q.C. (2012). Alimentos funcionais: um enfoque gerontológico. Revista Brasileira de Clínica Médica, 10, 24-28.

SBD - Sociedade Brasileira de Diabetes. Available at: <http://www.diabetes.org.br/tipos-de-diabetes?format=pdf> Accessed 31.0113.

Talaulicar, M. (2008). Incretin and its use in the treatment of type 2 diabetes mellitus. *Sociedade Portuguesa de Medicina Interna*, 15, 207-213.

Teixeira, T.F.S., Grze'kowiak, U., Franceschini, S.C.C., Bressan, J., Ferreira, C.L.L.F., & Peluzio, M.C.G. (2013). Higher level of faecal SCFA in women correlates with metabolic syndrome risk factors. *British Journal of Nutrition*, 109, 914-919.

Todd, P.A., Benfield, P., & Goa, K.L. (1990). Guar gum: A review of its pharmacological properties, and use as a dietary adjunct in hypercholesterolaemia. *Drugs*, 39, 917-928.

Turek, S.L. (1991). *Ortopedia: princípios e sua aplicação*. 4.ed. São Paulo: Manole.

Valentova, K., Stejskal, D., Bartek, J., Dvorackova, S., Kren, V., & Ulrichova, J. (2008). "Maca [*Lepidium meyenii*] and yacon [*Smallanthus sonchifolius*] in combination with silymarin as food supplements: in vivo safety assessment", *Food and Chemical Toxicology*, 46, 1006–1013.

Van Loo, J., Coussement, P., Leenheer, L. De, Hoebregs, H., & Smits, G. (1995). On the presence of inulin and oligofructose as natural ingredients in the western diet. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 35, 525-552.

Verhoef, S.P., Meyer, D., & Westerterp, K.R (2011). Effects of oligofructose on appetite profile, glucagon-like peptide 1 and peptide YY3-36 concentrations and energy intake. *British Journal of Nutrition*, 106 , 1757-1762.

Vitolo, M. R. (2008). *Nutrição: da gestação ao envelhecimento*. Rio de Janeiro: Rubio, 628p.

Wactawski-Wende, J., Grossi, S.G., Trevisan, M., Genco, R.J., Tezal, M., Dunford, R. G., Ho, et al. (1996). The role of osteopenia in oral bone loss and periodontal disease. *Journal of Periodontology*, 67, 1076-1084.

Waitzberg, D.L., Pereira, C.C, Logullo, L.C., Jacintho, M.T., Almeida, D., Silva, M.L.T., et al. (2012). Microbiota benefits after inulin and partially hydrolyzed guar gum supplementation – a randomized clinical trial in constipated women. *Nutricion Hospitalaria*, 27, 123-129.

Wehr, E., Pilz, S., Boehm, B.O., März, W., & Obermayer-Pietsch, B. (2011). The lipid accumulation product is associated with increased mortality in normal weight postmenopausal women. *Obesity*, 19, 1873-1880.

Won, H. Y., Lee, J. A., Park, Z. S., Song, J. S., Kim, H, Y., & Jang, S. M. (2011). Prominent Bone Loss Mediated by RANKL and IL-17 Produced by CD4+ T Cells in TallyHo/JngJ Mice. *PLoS One*, 6, e18168.

Woodmansey, E.J. (2007). Intestinal bacteria and ageing. *Journal of Applied Microbiology*, 102, 1178–1186.

WHO - World Health Organization. (2010). Ageing and Life Course - Washington (DC): The Department of Ageing and Life Course (ALC). Available at: <http://www.who.int/fch/depts/alc/en/index.html>. Accessed 21.02.13.

CAPÍTULO 1

Ingestão de produto a base de yacon (PBY) promove modulação da microbiota intestinal do perfil de ácidos orgânicos e do perfil de lipídios em ratas *Wistar* ovariectomizadas?

Resumo

A contribuição dos alimentos funcionais como o yacon (*Smallanthus sonchifolius*) na modulação da microbiota e perfil de ácidos graxos e seus efeitos sistêmicos devem ser avaliados ao considerar a existência de um novo produto rico em FOS/Inulina. Acredita-se que os frutanos tipo inulina presentes no PBY podem atuar na modulação da microbiota, perfil de ácidos graxos e desempenhar diversas funções benéficas, como a modulação do perfil lipídico que é destaque no presente trabalho. Nessa perspectiva, esse trabalho tem como objetivo, avaliar a modulação da microbiota gastrointestinal, o perfil de ácidos orgânicos e a modulação de lipídios, em ratas *wistar* ovariectomizadas (OVX) que receberam dieta suplementada ou não de 6 % de Frutooligossacarídeos (FOS) e Inulina do produto a base de yacon (PBY). Para tanto, analisou-se o peso do ceco, pH e ácidos orgânicos, microbiota do conteúdo cecal, colesterol total e frações. No grupo que recebeu 6% de FOS/inulina na dieta, durante todo o período experimental,

ocorreu modulação benéfica da microbiota intestinal em função da fermentação do FOS/Inulina. Aumento do perfil de lactato ($p=0,0091$), tendência a aumento dos níveis de butirato ($p=0,0654$), acetato ($p=0,0616$) e propionato ($p=0,0144$), em especial, no grupo que recebeu PBY durante todo o experimento comparado a grupo controle. Também para esse grupo, ocorreu tendência a aumento dos níveis de colesterol total ($p=0,4539$) e aumento dos níveis de HDL ($p=0,0308$), sugerindo-se que o hábito de consumo contínuo do yacon tem potencial para modulação da microbiota e do perfil de ácidos orgânicos. Esses ácidos desempenham efeitos sistêmicos para diminuir os riscos de estabelecimento de dislipidemias que é uma comorbidade comum na menopausa.

Palavra chave: Produto a base de yacon, colesterol total e frações, modulação da microbiota e do perfil de ácidos orgânicos.

1. Introdução

Atualmente tem-se destacado o papel da alimentação saudável para promoção da saúde e do bem estar (WHO, 2003). Nesse contexto, estão presentes os alimentos funcionais como os prebióticos que segundo a FAO (Food and Agriculture Organization – Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação), “ingredientes não digeríveis que afetam benéficamente o hospedeiro pelo estímulo seletivo do crescimento e, ou atividade de uma ou de um número limitado de bactérias no cólon” (FAO, 2007). Por outro lado, os alimentos funcionais apresentam substâncias com distintas funções biológicas, denominadas compostos bioativos, que são capazes de modular a fisiologia do organismo, favorecendo a manutenção da saúde. Com isso, a demanda por compostos bioativos vem aumentando nas últimas décadas e pesquisadores têm mostrado interesse para desvendar os mecanismos de ação e suas propriedades funcionais.

Dentre os alimentos bioativos encontram-se os frutooligosacarídeos (FOS) e inulina, que constituem oligo e polissacarídeo prebióticos,

respectivamente, em que predominam ligações glicosídicas do tipo frutossil-frutose $\beta(2-1)$, as quais conferem a estes compostos suas exclusivas propriedades estruturais e fisiológicas (Yıldız, 2011). Esses compostos estão presentes no yacon (*Smallanthus sonchifolius*) (Lobo et al. 2007), planta pertence à família Asteraceae e originária da região dos Andes e forma raízes tuberosas subterrâneas (Ojansivu et al., 2011).

O homem não possui enzimas capazes de quebrar essas ligações (Roberfroid, 2005), com isso o yacon é seletivamente degradado no cólon por bactérias probióticas, resultando em modulação da microbiota (FAO, 2007) e geração de metabólitos bioativos ou ácidos graxos de cadeia curta (Geyer et al., 2008) que desempenham diversas funções como melhoria do trânsito intestinal (Sant'Anna e Ferreira, 2013), modulação da saúde óssea (Rodrigues et al., 2012), controle da obesidade (Genta et al., 2009), modulação da concentração sérica de colesterol (Rodrigues et al., 2012), modulação dos níveis séricos de triglicérides (Valentova et al., 2008) e controle glicêmico (Campos et al., 2012). Essas comorbidades são tendenciadas pela menopausa em função da hipoestrogenia comum nesse período (Silva e Sá, 2012). Essas afecções tem gerado perda da qualidade de vida de mulheres na menopausa e elevados gastos governamentais com medicamentos e internações.

Mediante essa problemática, no presente estudo avaliou-se o papel do produto elaborado a partir da raiz do yacon processada (PBY), fonte de FOS/inulina, na modulação da microbiota e no controle lipídico.

2. TESTE DA PRIMEIRA HIPÓTESE EXPERIMENTAL (I)¹

A problemática exposta anteriormente permitiu a construção das seguintes hipóteses experimentais testadas no presente estudo:

- I) A administração do Produto à Base de Yacon (PBY) modula beneficentemente a microbiota intestinal e aumenta os níveis de ácidos orgânicos circulantes, melhorando o perfil lipídico em ratas *Wistar* ovariectomizadas.**

Para teste da hipótese acima, perseguiram-se os seguintes objetivos:

- Determinar as contagens microbianas de *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Clostridium*, Coliformes totais e Anaeróbios totais nas fezes de ratas *Wistar* ovariectomizadas;
- Determinar as concentrações de ácidos orgânicos circulantes nas fezes de ratas *Wistar* ovariectomizadas;
- Dosar Colesterol total, frações e triglicerídeos nos animais experimentais.

¹ Para maiores informações, vide Introdução, item 12, página 28.

3. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado nos Laboratórios de Nutrição Experimental do Departamento de Nutrição e Saúde, Culturas Láticas do Departamento de Tecnologia de Alimentos, no de Frutas e Hortaliças do Departamento de Tecnologia de Alimentos e do Laboratório de Biofármacos no Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular da Universidade Federal de Viçosa (UFV), em Viçosa, Minas Gerais, Brasil.

3.1. Produto a base de Yacon (PBY)

O produto a base de yacon testado foi desenvolvido no Departamento de Tecnologia de Alimentos – DTA/UFV. No entanto, a descrição do seu desenvolvimento deve ser resguardada devido às exigências da solicitação de patente (INPI: 014110002964). O PBY foi processado a partir da raiz de yacon e é composto de FOS/Inulina, sacarose, frutose, glicose, proteína, água e cinzas.



Figura 1. Produto à base de Yacon – PBY

3.2. Composição química do produto à base de yacon (PBY)

As análises de composição centesimal do PBY foram conduzidas conforme protocolos oficiais umidade, determinada em estufa a 105°C até peso constante; para o teor de proteínas, utilizou-se o método de Kjeldahl (AOAC, 1998), lipídeo, pelo método de Soxhlet (AOAC, 1998); e cinzas, por processo gravimétrico, utilizando-se a carbonização das amostras, seguida de incineração em mufla a 550 °C até peso constante.

O teor de fibra alimentar solúvel (FAS) e fibra alimentar insolúvel (FAI) foram quantificados conforme o método enzimático-gravimétrico utilizando-se o kit enzimático específico (AOAC, 1997).

Oligofrutanos (FOS e inulina) foram determinados por meio de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) conforme descrição de Kaneko et al. (1990), utilizando coluna BIO-RAD HPX 87P (fase estacionária de chumbo), e água purificada como fase móvel. As amostras foram diluídas (1 g em 100 mL de água destilada), centrifugadas a 11.269 x g, e, em seguida, filtradas através de uma membrana de decafluoreto (PVDF) da polivinil Millipore com 0,22 um de porosidade e 13 mm de diâmetro. As amostras foram injetadas em cromatógrafo de alta eficiência (CLAE) (Varian, ProStar 410 HPLC Auto Sampler; Varian Inc, USA) com detector de índice de refração e injetor automático, com as seguintes condições de operação: taxa de fluxo de 0,6 mL.min⁻¹ e temperatura de coluna 85 ° C.

3.3. Medição de Calorimetria (Poder Calorífico) da dieta

Amostras das dietas foram submetidas à secagem para retirada da umidade a 70 °C em estufa (Fanem[®], modelo 315SE, São Paulo) por 24 horas, seguindo-se a maceração e peneiradas. A fração para análise foi a que ultrapassou a peneira de MESH/TYLER 40, e a fração (resíduo) que ficou retida na peneira de MESH/TYLER 60 foi descartada. Após esse procedimento, a amostra foi submetida ao Calorímetro Adiabático C-5000 (IKA[®], São Paulo) para leitura do poder calorífico.

3.4. Delineamento experimental

Foram utilizadas ratas (*Rattus norvegicus*, variedade albinus, classe Rodentia), recém-desmamadas (28 dias), da raça *Wistar*, provenientes do Biotério Central do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal de Viçosa. Os animais foram mantidos no Laboratório de Nutrição experimental em gaiolas individuais de aço inoxidável à 22±2°C e luz controlada (fotoperíodo de 12 horas), e receberam água *ad libitum* (Figura 2). Os procedimentos experimentais foram aprovados pelo Comitê de Ética para pesquisas com animais da Universidade Federal de Viçosa, parecer nº 55/2011.



Figura 2. Imagem dos animais experimentais nas gaiolas.

Os animais foram dispostos em diferentes grupos experimentais e receberam dietas purificadas e manipuladas, acrescidas ou não de quantidades de PBY suficientes para fornecer uma dose de 6 % de FOS/inulina. A escolha da concentração de FOS/Inulina do PBY foi definida em pré-experimento realizado por Paula et al. (2012). Na primeira fase do estudo os animais recém-desmamados receberam dieta de crescimento purificada manipulada (AIN-93G- Tabela 1) por 12 semanas e na segunda fase foi administrada dieta de manutenção purificada manipulada (AIN-93 M – Tabela 2) Reeves et al. (1993) por 8 semanas.

Tabela 1. Composição das dietas administradas na fase de crescimento (12 semanas).

Ingredientes	Dieta Controle (%)	Dieta Teste (Suplementada com 6% de FOS) (%)
Caseína	20,00	20,00
Amido Dextrinizado	13,20	-
Sacarose	10,00	-
Óleo de Soja	7,00	7,00
Fibra (Celulose microfina)	5,00	3,02
Mistura de Minerais (AIN 93G)	3,50	3,50
Mistura de Vitaminas	1,00	1,00
L-Cistina	0,3	0,30
Bitartarato de Colina	0,25	0,25
Amido de Milho	39,75	-
Produto à base de yacon (PBY)	-	64,93
Total	100,00	100,00

Fonte: adaptado de Reeves et al., 1993. Composição da raiz do yacon processada (PBY) (g/100g) de FOS/inulina: 9,24%; sacarose: 10,08%; frutose: 12,60%; glicose: 9,40%; proteína: 0,32%; umidade: 60,66%; cinzas: 0,51%; lipídios: 0% os teores de açúcares livres presentes no PBY adicionado à formulação foram descontados da sacarose, maltodextrina e amido de milho, para manutenção da proporção preconizada pela AIN-93G. Densidade Calórica dieta controle: 385,28 kcal. Densidade Calórica dieta teste: 367,29 Kcal.

Tabela 2. Composição das dietas administradas na fase de manutenção (8 semanas)

Ingredientes	Dieta Controle (%)	Dieta Teste (Suplementada com 6% de FOS) (%)
Caseína	14,00	14,00
Amido Dextrinizado	15,50	-
Sacarose	10,00	-
Óleo de Soja	4,00	4,00
Fibra (Celulose microfina)	5,00	5,00
Mistura de Minerais (AIN 93G)	3,50	3,50
Mistura de Vitaminas	1,00	1,00
L-Cistina	0,18	0,18
Bitartarato de Colina	0,25	0,25
Amido de Milho	46,57	39,68
Produto à base de yacon (PBY)	-	32,39
Total	100,00	100,00

Fonte: adaptado de Reeves et al., 1993. Composição da raiz do yacon processada (PBY) (g/100g) de FOS/inulina: 18,52%; sacarose: 13,19%; glicose: 6,09%; proteína: 1,51%; umidade: 55,11%; cinzas: 4,72%; lipídios: 0%. Os teores de açúcares livres presentes no PBY adicionado à formulação foram descontados da sacarose, maltodextrina e amido de milho, para manutenção da proporção preconizada pela AIN-93M. Densidade Calórica dieta controle: 385,28 kcal. Densidade Calórica dieta teste: 367,29 Kcal

As ratas foram divididas em dois grupos por delineamento inteiramente casualizado (DIC), sendo um grupo teste (n=20) e um grupo controle (n=20), e foram acompanhadas até completarem 24 semanas de vida.

Após o desmame, durante 12 semanas, foi administrada aos animais a dieta de crescimento AIN-93G com e sem PBY. Após esse período, os animais foram submetidos ao procedimento cirúrgico para retirada de ovário (ovariectomia - OVX) ou submetidos à simulação de retirada do órgão (celiotomia - SHAM), e na sequência houve um "Wash out" de quatro semanas para recuperação. Esse procedimento de OVX foi realizado para simulação da menopausa para avaliação da saúde óssea, em um experimento paralelo, avaliação da tendência ao ganho de peso, da dislipidemia e do risco de doença cardiovascular após menopausa. Após a recuperação da cirurgia, os animais foram alocados em oito grupos (n=5), totalizando 40 unidades experimentais, conforme a Figura 1. Ao final do experimento, os animais foram eutanasiados por uma overdose de dióxido de carbono (Mezadri et al., 2004) para realização das análises subsequentes.

O estudo foi realizado de acordo com o delineamento experimental indicado na Figura 3.

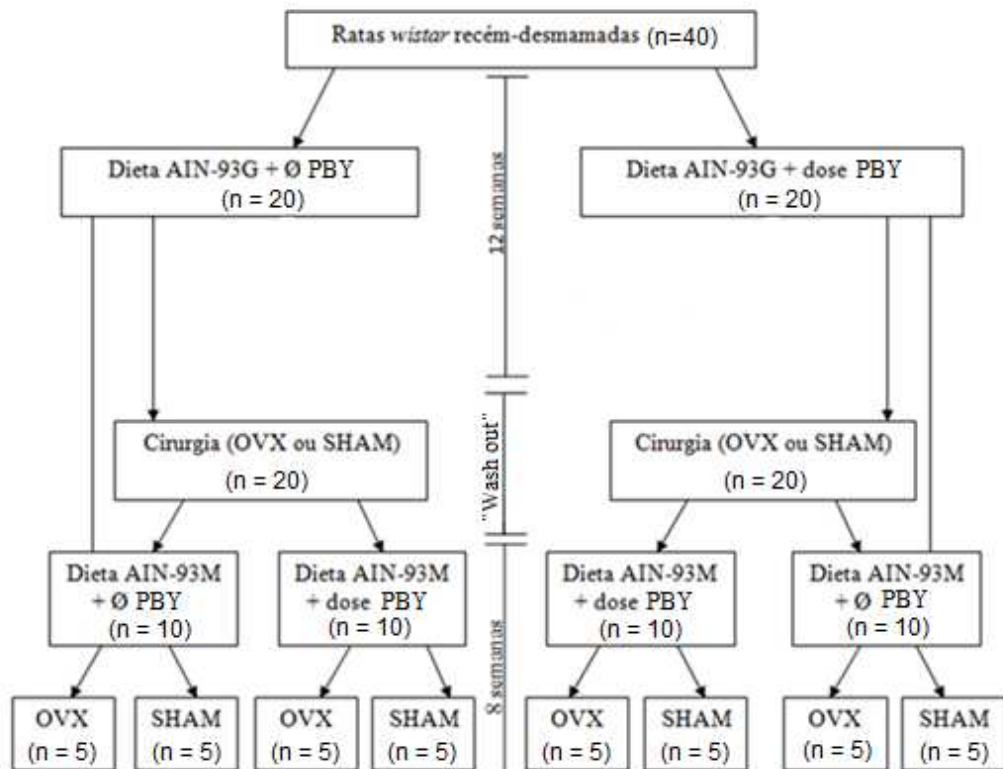


Figura 3 – Organograma do experimento com ratas SHAM e OVX.
 PBV – Produto a base de yacon

Os resultados de ratas celiotomizadas (SHAM) foram utilizados somente para controle da cirurgia, todos os dados foram expostos em anexo. Para efeito de discussão, utilizou-se somente os grupos OVX, totalizando 20 unidades experimentais alocados em quatro grupos (n=5), conforme delineamento da Figura 4.

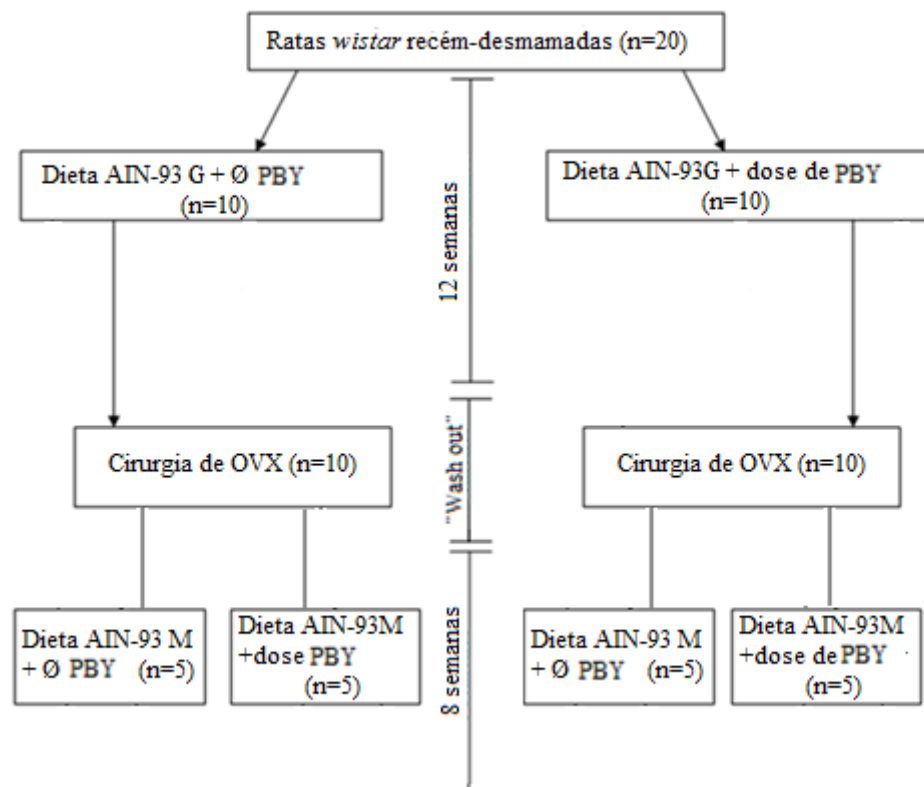


Figura 4 – Organograma do experimento com ratas OVX.

PBY – Produto a base de yacon

3.4 Cirurgia de Ovariectomia ou Celiotomia

Ao atingir a fase adulta (12 semanas), metade dos animais foi submetida à ovariectomia bilateral (OVX), com incisão abdominal para retirada dos ovários, e a outra metade à cirurgia de celiotomia (SHAM) ou falsa ovariectomia, com incisão cirúrgica para simular o efeito do estresse cirúrgico. Trinta minutos prévios ao início da cirurgia, os animais receberam o anti-inflamatório flunixin meglumina (0,68 mg/kg) e o antibiótico enrofloxocina (10 mg/kg), ambos por via subcutânea. Os animais foram tranquilizados com a associação de diazepam (2,5 mg/kg) e fentanil (0,03 mg/kg), por via intraperitoneal. A indução e manutenção da anestesia foram realizadas com a administração de isoflurano diluído em 100% de oxigênio, por via inalatória, por meio de vaporizador calibrado. A concentração do isoflurano foi ajustada de forma a manter o plano anestésico adequado. Após a indução e estabilização anestésicas, os

animais foram posicionados em decúbito dorsal sobre colchão com aquecimento ativo e o campo operatório foi preparado com iodopovidona 2 a 10%.

Após esse procedimento as ratas foram submetidas à depilação da região abdominal lateral e à assepsia local, realizada com álcool iodado (Figura 5). Em seguida a pele e a musculatura foram incisadas longitudinalmente na linha medial próxima ao nível dos rins, abaixo da última costela, onde o ovário foi identificado e exposto. Nas ratas do grupo OVX, foi realizada a hemostasia através da ligação da parte superior da trompa com um fio, e então foi realizada a excisão ovariana com posterior sutura da musculatura e da pele. Para o grupo SHAM, após a exposição dos ovários, os órgãos foram recolocados na cavidade abdominal com posterior sutura da musculatura e da pele (Jaime et al., 2005).

Nas primeiras cinco horas após as cirurgias, os animais permaneceram em câmara aquecida, a fim de manter a temperatura corporal (Figura 6). Foi utilizado o analgésico morfina na dose de 5 mg/kg por via subcutânea. Sequencialmente, procedeu-se a um “Wash out” para recuperação, com suspensão dos tratamentos por quatro semanas (Recebendo nesse período dieta comercial). Seguiu-se administração da dieta AIN-93M (Reeves et al., 1993), acrescida ou não de 6% de FOS/inulina (de PBY) durante 8 semanas conforme organograma indicado na figura 1.



² Benadine Schering – Plough Veterinária. São Paulo, Brasil

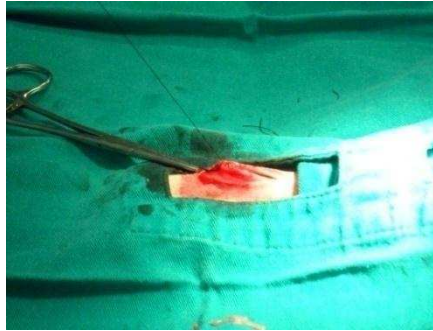


Figura 5. Fotos do procedimento cirúrgico a que foi submetido as ratas.



Figura 6. Foto ilustrativa da câmara aquecida onde as ratas foram imediatamente colocadas após as cirurgias.

Os procedimentos anestésicos-cirúrgicos foram realizados no Hospital Veterinário do Departamento de Veterinária da UFV sob a responsabilidade da Médica Veterinária Lukiya Silva Campos Favarato (CRMV-MG nº 8981).

3.5 Análises bioquímicas do soro

Logo após eutanásia, o sangue foi coletado por punção cardíaca com auxílio de seringas descartáveis. As amostras foram centrifugadas a 2,865 x g por 15 minutos (Fanem-204, São Paulo, Brasil) para obtenção do soro requerido na análise para avaliação do perfil de lipídeos (colesterol total, HDL-colesterol (HDL-C), colesterol-LDL (LDL-C) e triglicerídeos). Os índices de colesterol total /HDL e LDL-c/HDL-c também foram determinados.

3.6 Análises microbiológicas

Após eutanásia, foi retirado o conteúdo cecal de forma asséptica e cada amostra sofreu diluições seriadas para respectivas análises que compreenderam determinações de micro-organismos do gênero *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Clostridium*, anaeróbios totais e Coliformes. Após a diluição 10^{-1} com BHI, para congelamento, as diluições subsequentes foram realizadas com solução tampão fosfato e as inoculações foram realizadas pelo método de *pour plate*.

Para análise de micro-organismos do gênero *Bifidobacterium* as amostras foram inoculadas em ágar MRS (De Mann, Rogosa e Sharpe, Difco/Beckton Dickinson) modificado adicionado assepticamente de cisteína 0,05 % (w/v) que anteriormente foi esterilizada separadamente utilizando-se membrana Millipore 0,22 μ m (Millipore Corporation, Medford, MA, EUA). As placas foram incubadas a 37 °C/48 h em jarras de anaerobiose (GasPak, BBL, Cockeysville, Maryland, EUA) contendo geradores de CO₂ e H₂ (Anaerobac, Probac, São Paulo, Brasil).

Para micro-organismos do gênero *Lactobacillus* as amostras foram inoculadas em ágar MRS e incubadas a 37 °C/48 h em jarras de anaerobiose (GasPak, BBL, Cockeysville, Maryland, EUA) contendo geradores de CO₂ e H₂ (Anaerobac, Probac, São Paulo, Brasil).

Nas análises de anaeróbios totais as amostras foram inoculadas em ágar Wilkin Chalgren (Difco™ Interlab, São Paulo) e incubadas a 35 °C/24 h em anaerobiose (GasPak, BBL, Cockeysville, Maryland, EUA) contendo geradores de CO₂ e H₂ (Anaerobac, Probac, São Paulo, Brasil).

Para determinação de micro-organismos do gênero *Clostridium* as amostras foram inoculadas em ágar Reinforced Clostridial Medium (Difco™ Interlab, São Paulo). As placas foram incubadas a 37 °C/48 h em jarras de anaerobiose (GasPak, BBL, Cockeysville, Maryland, EUA) contendo geradores de CO₂ e H₂ (Anaerobac, Probac, São Paulo, Brasil).

Para enumeração de Coliformes foi realizada inoculação em ágar Violet Red Bile (Difco™ Interlab, São Paulo) pelo método pour plate com sobrecamada do mesmo ágar (APHA, 2004 com adaptações).

Após o período de incubação, foram feitas contagens das unidades formadoras de colônias (UFC), em contador de colônias, estabelecendo a contagem de micro-organismos por meio do seu número em UFC/g, multiplicando-se o número de colônias típicas pelo inverso da diluição (UFC/g = N° de colônias/diluição). Os dados foram expressos em log de UFC por g.

3.7 Determinação dos ácidos orgânicos

Para determinação dos ácidos orgânicos (ácido acético, propiônico, lático e butírico) foi utilizado o método descrito por Smiricky-Tjardes et al. (2003). As amostras do conteúdo cecal foram adicionadas de 0,5 mL de ácido meta-fosfórico a 25%, em tubo tipo *ependorf* com posterior agitação em vortex (VELP Scientifica®), e mantidas em repouso por 30 minutos a temperatura ambiente. Após esse período, foram centrifugadas em micro centrífuga refrigerada (Eppendorf®, modelo 5804 R, Eppendorf do Brasil, São Paulo-SP) a 14263 x g por 30 minutos. O sobrenadante foi transferido para outro tubo *ependorf* sendo centrifugado por 20 minutos, nas mesmas condições descritas anteriormente. Posteriormente, o sobrenadante correspondente a cada amostra foi separado em *vials* individuais, onde foi adicionado mais 400 mL de ácido meta-fosfórico a 25% seguindo-se congelamento a -20°C. Após esta etapa as amostras foram analisadas por meio de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC), em cromatógrafo SHIMADZU, modelo SPD-10AVP (SHIMADZU do Brasil, São Paulo-SP), acoplado ao Detector Ultra Violeta (UV) utilizando-se comprimento de onda de 210 nm; coluna C18 (fase reversa) da marca BIORAD® (Bio-Rad Laboratórios Brasil, Rio de Janeiro-RJ), com 30 cm x 4.5 mm de diâmetro,

fluxo na coluna de 0,8 mL/minuto, pressão na coluna de 160 Kgf fase móvel: água em 1% de Ácido Orto-Fosfórico e volume injetado de 20 mL.

Os dados foram expressos em porcentagem de ácidos orgânicos, para os cálculos foi considerado o peso do conteúdo cecal e a concentração dos ácidos orgânicos avaliados por cromatografia.

3.8 Determinação de pH do conteúdo cecal

Após a retirada do conteúdo cecal para análise dos ácidos graxos e análise microbiológica, o mesmo foi utilizado para determinação do pH em pHmetro digital da marca Bell engineer – nod w3d[®] devidamente calibrado.

3.9 Análise estatística

Para análise dos dados foi utilizado o programa *Statistical Analysis Systems* (SAS) versão 9.2, licenciado pela Universidade Federal de Viçosa. Para rejeição da hipótese de nulidade foi adotado como nível de significância estatística $p < 0,05$.

Os dados foram agrupados em Delineamento inteiramente casualizado (DIC). Foi aplicada a análise de variância (ANOVA) e para comparações *post hoc* foi adotado o teste de Duncan em análises paramétricas (Callegari-Jacques, 2006; Pagano e Gauvreau, 2008).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na tabela 3 encontram-se dispostos os dados das dosagens de ácidos orgânicos (lático, butírico, propiônico e acético) e do pH do conteúdo cecal de ratas ovariectomizadas (OVX) que receberam ou não dieta com 6% de FOS/Inulina do produto a base de yacon (PBY).

Tabela 3- Valores médios (n=5) de dosagens de ácidos orgânicos (mg/g) e pH, após Ovariectomia (OVX), em conteúdo cecal de ratas alimentadas com dieta controle e dieta teste durante 24 semanas.

Ácidos Orgânicos/ Ph	Grupos				P valor
	G1	G2	G3	G4	
	Média/DP	Média/DP	Média/DP	Média/DP	
Lático	0,103±0,019 ^a	0,114±0,083 ^a	0,038±0,006 ^b	0,256±0,036 ^c	0.0091
Butírico	1,779±0,238 ^{a,b}	1,357±0,987 ^{a,b}	1,053±0,222 ^b	1,944±0,191 ^a	0.0654
Propiônico	0,757±0,412 ^{a,b}	0,955±0,289 ^a	0,440±0,154 ^b	1,112±0,272 ^a	0.0144
Acético	1,857±1,225 ^{a,b}	2,040±0,441 ^a	1,075±0,200 ^b	2,268±0,229 ^a	0.0616
pH	6,88±0,13 ^a	6,79±0,27 ^a	6,79±0,29 ^a	6,77±0,25 ^a	0.8912

Médias seguidas de letras iguais, para ácido orgânico ou pH, na linha, não diferem entre si ao nível de 5% pelo teste de Duncan. G1: Recebeu dieta controle – OVX – continuou recebendo dieta controle. G2: Recebeu dieta controle – OVX – passou a receber PBY. G3: Recebeu dieta com PBY – OVX – passou a receber dieta controle. G4: Recebeu dieta com PBY – OVX - continuou recebendo dieta com PBY.

Observou-se aumento do ácido acético (p=0,0616) e do ácido butírico (p=0,0654), propiônico (p=0,0144) e ácido lático (p=0,0091), principalmente no grupo que recebeu PBY continuamente. Esses resultados foram benéficos, pois a presença de micro-organismos no lúmen

intestinal sobre oligo e polissacarídeos (especialmente os não digeríveis), bem como as proteínas que não são completamente digeridas são fermentados resultando em produtos como ácidos orgânicos (acético, propiônico e butírico), gases (H₂ e CO₂) e biomassa bacteriana. Esses ácidos ao serem absorvidos pelo organismo fornecem energia para o hospedeiro e agem regulando vias metabólicas (Roberfroid, 2005), modulam a absorção de cálcio (Bongers, Van Heuval, 2003; Weaver et al., 2010), estimulam os hormônios da saciedade (Genta et al., 2005; Genta et al., 2009) e controla a constipação intestinal (Sant'anna et al., 2014 in press).

Ocorreu tendência a diminuição do pH ($p=0,8912$) no grupo que recebeu PBY, durante todo experimento. Esse fenômeno é interessante, pois a acidificação do ceco pode facilitar a absorção do cálcio e, assim, favorecer a saúde óssea, o que é de suma importância para mulheres na menopausa. Em estudos realizados por Paula et al. (2012), Rodrigues et al. (2012), Sant'anna et al. (2013) e Lobo et al. (2007) ao avaliarem a ação do FOS/Inulina na diminuição do pH observaram a diminuição desse índice o que corrobora ao resultado do presente estudo.

Na figura 2, são apresentados os resultados dos pesos relativos do ceco (PRC).

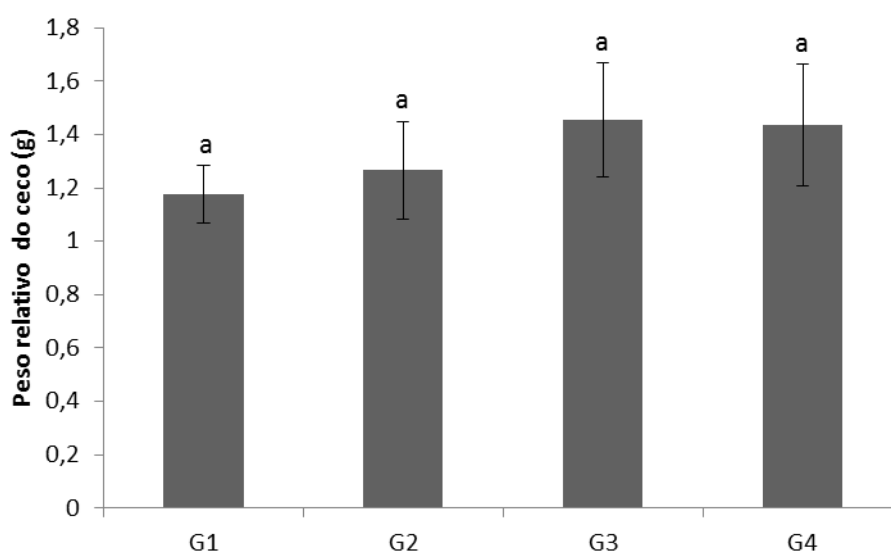


Figura 2 – Peso relativo do ceco de ratas OVX (ovarioectomizadas) que receberam dieta controle/dieta yacon (6 % FOS/Inulina), durante 24 semanas, e estão delineadas em diferentes condições experimentais durante, conforme o grupo abaixo: G1: dieta controle – OVX – dieta controle. G2: dieta controle – OVX –dieta cm PBY. G3: dieta com PBY – OVX –dieta controle. G4: dieta com PBY – OVX - dieta com PBY.

Nesse estudo o peso relativo do ceco (Figura 2) tendeu a ser maior ($p=0,1308$) nos grupos que receberam dieta contendo PBY. Esse resultado corrobora os de Lobo et al. (2007), que constataram aumento do peso do ceco dos ratos que consumiram 5% e 7,5% de FOS da farinha de yacon. Rodrigues et al. (2012), ao administrar farinha de yacon à dieta de ratos *wistar* também observaram alteração no peso do ceco. Segundo Roberfroid (2005), o maior peso desse órgão pode estar relacionado ao efeito osmótico que o FOS/Inulina promove. Esse fenômeno também foi relatado por Weaver et al. (2010), que utilizaram FOS/Inulina sob a forma purificada. Tal fenômeno está ligado à produção de AGCC que promove hipertrofia da mucosa (Havenaar 2011), pois favorecem a atividade metabólica no ceco. Entretanto, altas doses de FOS/Inulina, assim como todo substrato fermentável no intestino grosso, podem promover desconforto, por meio da produção de gases, ou mesmo agir como laxante e causar diarreia (Roberfroid, 2005; Genta et al., 2009).

Como exposto na tabela 4, não foi observada diferença estatística entre os grupos para a contagem de *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, Anaeróbios, Coliformes e *Clostridium*.

Tabela 4- Valores médios (n=5) da contagem microbiológica (log10), após ovariectomia, em conteúdo cecal de ratas alimentadas com dieta controle e/ou dieta teste durante 24 semanas.

Gênero	Grupos				P valor
	G1	G2	G3	G4	
	Média/DP				
<i>Bifidobacterium</i>	4,70±0,36 ^a	5,46±1,69 ^a	5,61±0,8 ^a	6,34±0,72 ^a	0.3314
<i>Lactobacillus</i>	5,11±0,50 ^a	5,48±1,58 ^a	5,61±0,7 ^a	6,07±0,83 ^a	0.3887
Anaeróbios	6,27±1,04 ^a	6,52±1,10 ^a	6,42±0,6 ^a	6,92±0,28 ^a	0.7307
Coliformes	6,87±0,13 ^a	6,60±0,29 ^a	6,40±0,4 ^a	6,64±0,56 ^a	0.4665
<i>Clostridium</i>	5,61±0,60 ^a	6,06±0,88 ^a	6,00±0,8 ^a	6,28±0,42 ^a	0.6159

Médias seguidas de letras iguais, para cada micro-organismo, na linha, não diferem entre si ao nível de 5% pelo teste duncan. G1: dieta controle – OVX – dieta controle. G2: dieta controle – OVX –dieta com PBY. G3: dieta com PBY – OVX –dieta controle. G4: dieta com PBY – OVX - dieta com PBY.

Ao avaliar os dados de análise microbiológica, observa-se uma tendência aumento de *Bifidobacterium* ($p=0,3314$) no grupo que recebeu PBY durante todo o experimento (Tabela 4). Esses resultados são reforçados pelo aumento dos níveis de ácido lático, no presente estudo, no

grupo que recebeu a dieta com PBY, durante todo experimento, o que sugere maior atividade de bactérias bífidas em consequência do estímulo advindo da dieta contendo PBY. Dentre os ácidos graxos de cadeia curta, a concentração de acetato foi 22,13 % (Tabela 3) maior no grupo que recebeu PBY continuamente, o que também indica a atuação de bactérias bífidas. Esse resultado é positivo, pois a fermentação de bactérias bífidas mantém o meio acidificado, o que facilita a absorção de alguns minerais e pode ajudar na modulação da saúde óssea, o que é de suma importância na menopausa. Além disso, o meio ácido inibe o crescimento de patógenos e diminui o risco de infecção (Rodriguez-Cabezas et al., 2010).

No presente estudo, os grupos que receberam PBY (G2 e G3) em algum momento do experimento, e, mais especificamente, o que recebeu PBY durante todo experimento (G4), tenderam a uma contagem maior de anaeróbios totais que os demais grupos, sugerindo uma mudança na composição da microbiota intestinal, embora esses resultados não tenham sido significativos estatisticamente (Tabela 4). Essa mudança é benéfica, pois com a fermentação bacteriana há um aumento também da água no lúmen intestinal, resultando em diluição do conteúdo e manutenção da pressão osmótica, o que melhora a constipação intestinal (Sant' Anna e Ferreira, 2014 in press), que é uma das afecções relatadas na menopausa.

No presente experimento detectou-se aumento ($p=0,0654$) dos níveis de butirato, no grupo que recebeu PBY durante todo experimento. Esse resultado corrobora aos dados de microbiologia, tendo sido encontrada uma tendência a aumento ($p=0,6159$) na quantidade de microorganismos do grupo dos *Clostridium* sp., sendo esse grupo, segundo (Gibson, 1995), diretamente relacionado à produção de butirato. Nos estudos realizados por Sant'Anna (2013) avaliando os efeitos de PBY na modulação da constipação intestinal, observou-se também uma tendência ao aumento na quantidade de *Clostridium* sp. e maior produção de butirato. Estudos realizados por Rodrigues et al. (2012) e Paturi et al. (2012) com suplementação com farinha de yacon obtiveram resultados semelhantes ao do presente estudo. Vale salientar que o presente estudo e os estudos de Rodrigues et al. (2012), Paula (2013) e Sant'anna (2013) avaliaram o efeito de um produto alimentício (PBY ou farinha de yacon) fonte de FOS e

inulina, ao passo que os demais estudos avaliaram esses compostos na forma purificada. A matriz alimentar do PBY apresenta múltiplas funções, pois além de FOS e inulina que agem como prebióticos, possui também compostos fenólicos com grande capacidade antioxidante (Yun et al., 2010), que agem na eliminação de pré-carcinógenos e protegem as membranas celulares contra danos pelos radicais livres, tendo efeito anticarcinogênico, além de terem efeito anti-inflamatório, anticolesterolêmico e na modulação glicêmica (Rodrigues, 2011).

Na tabela 5 encontram-se os dados de perfil lipídico das ratas ovariectomizadas que receberam ou não dieta suplementada com 6 % de FOS/Inulina de PBY durante 24 semanas.

Tabela 5 – Perfil de lipídios (mg/dL) no soro de ratos *wistar* ovariectomizadas que receberam dieta suplementada ou não com 6% de FOS/inulina de PBY durante 24 semanas.

Variáveis	Grupos				P valor
	G1	G2	G3	G4	
	Média/DP				
Colesterol total	180,52±11,98 ^a	162,27±19,64 ^a	170,48±35,15 ^a	157,65±29,91 ^a	0.4539
HDL-c	50,32±7,14 ^{a,b}	49,47±4,11 ^{a,b}	47,67±13,26 ^b	61,63±4,73 ^a	0.0308
Colesterol total/HDL	3,12±0,26 ^a	3,28±0,31 ^a	4,01±2,17 ^a	2,94±0,30 ^a	0.3855
LDL-c	108,24±1,28 ^b	94,00±13,88 ^b	104,93±18,16 ^b	79,26±18,04 ^a	0.0137
LDL-c/HDL-c	1,75±0,30 ^a	1,93±0,33 ^a	2,59±1,94 ^a	1,59±0,33 ^a	0.3537
Triacilgliceróis	109,80±17,81 ^a	94,00±8,26 ^a	89,40±18,65 ^a	83,80±18,65 ^a	0.2473

Valores em média ± desvio padrão. n=5. Significância (P<0,05): médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha para cada variável não diferem entre si pelo teste de Duncan. G1: dieta controle – OVX – dieta controle. G2: controle – OVX –dieta com PBY. G3: dieta com PBY – OVX –dieta controle. G4: dieta com PBY – OVX - dieta com PBY.

No presente experimento observou-se diminuição expressiva do LDL-c (p=0,0137) no grupo que recebeu dieta com 6% de FOS/Inulina durante todo experimento. Esse resultado é promissor, pois o risco de doenças cardiovasculares estão intimamente relacionadas a desordens lipídicas, sendo uma das comorbidades tendenciadas pela menopausa e que compromete a qualidade de vida e gera gastos governamentais.

Níveis elevados de colesterol total, LDL-c e triglicerídeos na corrente sanguínea podem ocasionar diversas complicações cardiovasculares como aterosclerose (Charland, 2008). Entretanto, quanto maior o HDL-c, menor o risco de doenças cardiovasculares, uma vez que esta lipoproteína atua no transporte reverso de colesterol, ou seja, está envolvida no transporte de

colesterol dos tecidos para o fígado. No presente estudo observou-se aumento de HDL colesterol no grupo que recebeu PBY durante todo o experimento. Após obtenção do perfil de lipídios é possível calcular as razões colesterol total/HDL-c e LDL-c/HDL-c e há uma forte associação epidemiológica entre esses índices e a prevalência de doenças cardiovasculares (Castelli, 1984). Nesse estudo observou-se uma tendência a diminuição desses índices.

Passos e Park (2003) ao administrarem 10 % de FOS em ratos observaram reduções de 15% das taxas de colesterol total, 15% nos fosfolipídios e 25% nos triglicerídios. Em estudos realizados por Fiodarlisio (1995), em humanos levemente dislipidêmicos, constataram que após administração de 18 g/dia de inulina foram observadas diminuições de 8,5% na concentração de colesterol total e de 14,4% na concentração de LDL-colesterol. Yamomoto et al. (1999) observaram uma redução de 83% e 59% de colesterol sérico em ratos alimentados com 1 e 5% de FOS, respectivamente.

Já Kim e Shim (1998) utilizaram as doses de 1% e 5% de extrato aquoso de chicória e 5% de inulina em modelo animal e não encontraram diferença significativa nas concentrações séricas de colesterol e triacilgliceróis entre os tratamentos. As concentrações de HDL-c foram significativamente maiores nos grupos tratados com extrato de chicória e inulina, e para LDL-c as concentrações obtidas foram menores que o controle.

Rodrigues et al. (2012) ao administrarem prebiótico farinha de yacon (FY) com 4% de FOS, probiótico na dose de 0,1 mL de *B. longum* e Simbiótico (FY com 4% de FOS + probiótico) em ratos durante 28 dias, observaram diminuição do colesterol ($P < 0,05$), nos ratos que receberam prebiótico quando comparado aos demais grupos experimentais. No entanto, no grupo do probiótico a concentração de colesterol total foi superior a do controle. Os animais que receberam o simbiótico não diferiram do controle em relação a essa variável.

A ingestão de prebióticos resulta no aumento da excreção de sais biliares, e, portanto, em maior mobilização de colesterol para a síntese

desses sais, o que resulta em diminuição dos níveis de colesterol, e conseqüentemente, no controle da dislipidemia (Perucha, 2005).

Em estudos realizados por Roberfroid (2000) e Aarsland et al. (1996) ao administrarem inulina a ratos, observaram diminuição das concentrações séricas de triglicérides (TG) em jejum e no estado pós-prandial. Acredita-se que essa diminuição de TG é resultante da lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL) no plasma, o que resulta em decréscimo da síntese hepática de TG e catabolismo das lipoproteínas ricas em TG. Beylot (2005) e Delzenne et al. (2001) sugerem que a hipotrigliceridemia ocorre em função da redução da reesterificação hepática dos ácidos graxos, ou seja, da redução da atividade lipogênica no fígado, resultando em menor quantidade de TG liberados na circulação.

Como observado o resultados encontrados com PBY corroboram aos resultados benéficos encontrados em diversos estudos supracitados, o que demonstra o efeito desse produto na modulação da microbiota intestinal, na estimulação de ácidos orgânicos e modulação lipídica o que sugere incorporação dessas análises em estudos clínicos para que haja estímulo ao consumo da raiz de yacon.

5. CONCLUSÃO

A modulação da microbiota do ceco, do perfil de ácidos orgânicos e do perfil lipídico, sugere a importância do uso contínuo do PBY mediante resultados encontrados no modelo apresentado.

Embora existam alguns estudos com o yacon, estudos com o foco aqui descrito são escassos, sendo necessário incentivo a novas pesquisas para que haja estímulo ao consumo da raiz de yacon ou de produtos à base de yacon visto que, o mesmo promove comprovado cientificamente uma série de efeitos benéficos.

6. REFERÊNCIA

Aarsland A, Chinkes D, Wolfe RR. Contributions of de novo synthesis of fatty acids to total VLDL-triglyceride secretion during prolonged hyperglycemia/insulinemia in normal man. *J Clin Invest.* 1996, 98 (9), 2008-2017.

American Public Health Association Standard methods for the examination of dairy products, 17th ed. APHA, 2004.

Beylot, M. Effects of inulin-type fructans on lipid metabolism in man and in animal models. *Br J Nutr.* 2005, 93 (Suppl 1), S163-S168.

Bongers A, Van Den Heuvel EGHM. Prebiotics and the bioavailability of minerals and trace elements. *Food Rev. Int.* 2003; 19: 397–422. Brashears MM, Gilliland E, Buck LM. Bile salt deconjugation and cholesterol removal from media by *Lactobacillus casei*. *J Dair Sci*, 1998; 81: 2103-10.

Callegari-Jacques, S. Bioestatística: princípios e aplicações. Porto Alegre: Artmed, 1ª ed. 255p, 2006.

Castelli WP. Epidemiology of coronary heart disease: the Framingham study. *Am J Med* 1984, 27: 4-12.

Charland SL, Cziraky MJ, Quimbo R. Achieving optimal lipid values in patients with dyslipidemia is associated with reduced risk of cardiovascular events. *J Clin Lipidol* 2008, 2(5): 343–353.

Delzenne, N., & Kok, N. Effects of fructans-type prebiotics on lipid metabolism. *American Journal of Clinical Nutrition* 2001, 73 (2 Suppl), 456S–458S.

Drucker, D.J. Minireview: the glucagon-like peptides. *Endocrinology* 2001, 142, 521-527.

Fiodarliso M, Kok N, Desager JP, Goethal SF, Roberfroid M, Delzenne N. Dietary oligofructose lower triglycerides, phospholipids and cholesterol in serum and very low density lipoproteins of rats. *Lipids* 1995, 30(2):163-167.

Genta S, Cabrera W, Habiba N, Ponsb J, Carillo IM, Graud A, Sánchez S. Yacon syrup: Beneficial effects on obesity and insulin resistance in humans. *Clin Nutr.* 2009; 182:187-28.

Genta S, Cabrera WM, Grau A, Sánchez SS. Subchronic 4-month oral toxicity study of dried *Smallanthus sonchifolius* (yacon) roots as a diet supplement in rats. *Food Chem. Toxicol.* 2005; 1657:1665-43.

Gibson GR, Beatty ER, Wang X, Cummings JH..Selective stimulation of bifidobacteria in the human colon by oligofructose and inulin.*Gastroenterology* 1995; 108:975-982.

Greany KA, Bonorden MJL, Hamilton-Reeves JM, McMullen MH, Wangen KE. Probiotic capsules do not lower plasma lipids in young women and men. *Eur. J. Clin. Nutr.* 2008, 62:232-7.

Haber, G.B., Heaton, K.W., Murphy, D., & Burroughs, L.F. Depletion and disruption of dietary fibre. Effects on satiety, plasma-glucose, and serum-insulin. *Lancet* 1977, 2, 679-682.

Havenaar R. Intestinal health functions of colonic microbial metabolites: a review. *Beneficial Microbes* 2011; p.103:114-2.

Jaime APG, Anbinder AL, Lima AP, Prado FA, Balducci I, Rocha RF. Influência da administração local de alendronato sódico no reparo ósseo em calvária de ratas ovariectomizadas. *Cienc Odontol Bras* 2005, 8 (2): 70-79.

Lobo A, Colli C, Alvares EP, Filisetti TMCC: Effects of fructans-containing yacon (*Smallanthus sonchifolius* Poepp&Endl.) flour on caecum mucosal morphometry, calcium and magnesium balance, and bone calcium retention in growing rats. *Br J Nutr* 2007; 776:785-97.

Manzoni MS, Rossi EA, Carlo IZ, Vendramini RC, Duarte ACGO, Tenório NM et al. Fermented soy product supplemented with isoflavones affects adipose tissue in a regional-specific manner and improves HDL cholesterol in rats fed on a cholesterol-enriched diet. *Eur. Food Res. Technol.* 2008, 227:1591-1597.

Meier J.J. The contribution of incretin hormones to the pathogenesis of type 2 diabetes. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism* 2009, 23, 433-441.

Pagano M, Gauvreau K. *Princípios de Bioestatística*. Pioneira, 1ª ed. 522p, 2008.

Passos LML, Park YK. Frutoligossacarídeos: implicações na saúde humana e utilização em alimentos. *Cienc. Rural* 2003, 33(2):385-90.

Paturi G, Butts CA, Stoklosinski H, Ansell J. Effects of early dietary intervention with a fermentable fibre on colonic microbiota activity and mucin gene expression in newly weaned rats. *J Funct Foods* 2012; 520:530-4.

Paula HAA, Abranches MV, Ferreira CLLF. Yacon (*Smallanthus sonchifolius*): a food with multiple functions. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2014, in press.

Paula, H.A.A. (2013). Efeito de um produto à base de yacon (*Smallanthus sonchifolius*) na modulação de indicadores da saúde óssea em ratas wistar. Tese Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade de Federal de Viçosa, Viçosa-MG.

Paula, H.A.A., Martins, J.F.L.; Sartori, S.S.R., Castro, A.S.B., Abranches, M.V., Rafael, V.C., Ferreira, C.L.L.F. (2012). The yacon product PBY: which is the best dose to evaluate the functionality of this new source of prebiotic fructans? In: *Functional Foods Forum Probiotics*, Turku. Finland.

Pereira DIA, Gibson GR. Effects of consumption of probiotics and prebiotics on serum lipid levels in humans. *Crit Rev Biochem Mol Biol* 2002, 37(4), 259-281.

Perucha VR. Propriedades funcionais da banana verde. *Nutrição, Saúde e Performance – Anuário de alimentos funcionais*. Edição n.26. São Paulo, 2005.

Roberfroid MB. Prebiotics and probiotics: are they functional foods? *Am. J. Clin. Nutr.* 2000, 71, 1682-1687.

Roberfroid MB. Introducing inulin-type fructans. *Br J Nutr* 2005;13:25-56.

Rodrigues FCR, Castro ASB, Rodrigues VC, Fernandes SA, Fontes EAF, Oliveira TT, Martino HSD, Ferreira CLLF. Yacon Flour and *Bifidobacterium longum* Modulate Bone Health in Rats. *J Med Food* 2012, 1-7.

Rodrigues, V.C. (2011). Formulação, índice glicêmico e aplicação alimentar de um produto à base de yacon (*Smallanthus sonchifolius*). Dissertação de Mestrado. Ciência e Tecnologia de Alimentos. Departamento de Tecnologia

de Alimentos, Universidade de Federal de Viçosa, Viçosa-MG, Brasil (Patentpending).

Rodriguez-Cabezas ME, Camuesco D, Arribas B, Garrido-Mesa N, Comalada M, Bailón E, Cueto-Sola M, Utrilla P, Guerra-Hernández E, Pérez-Rocha C, Gálvez J, Zarzuelo A. The combination of fructooligosaccharides and resistant starch shows prebiotic additive effects in rats. *Clin. Nutr.* 2010; 832:839-29.

Sant'Anna MSL; Ferreira CLLF. Yacon (*Smallanthus sonchifolius*) no controle das doenças crônicas não-transmissíveis. *NutriçãoBrasil* 2013;310:314-12.

Smiricky-Tjardes MR, Grieshop CM, Flickinger EA, Bauer LL, Fahey GC. Dietary galactooligosaccharides galactooligosaccharides affect ileal and total-tract nutrient digestibility, ileal and fecal bacterial concentrations, and ileal fermentative characteristics of growing pigs. *J Anim Sci.* 2003;81:2535–2545.

Weaver CM, Martin R, Story JA, Hutchinson I, Sanders L. Novel Fibers Increase Bone Calcium Content and Strength beyond Efficiency of Large Intestine Fermentation. *J Agric Food Chem* 2010; 8952:8957-58.

Yamamoto Y, Takahashi Y, Kawano M, Lizuka M, Matsumoto T, Shigeru S, Yamaguchi, H. In vitro digestibility and fermentability of levan and its hypocholesterolemic effects in rats. *J Nutr Biochem.* 1999; 10 (1):13-18.

Yun EY, Kim HS, Kim YE, Kang MK, Ma JE, Lee GD et al. A Case of Anaphylaxis After the Ingestion of Yacon. *Allergy Asthma Immunol Res.* 2010; 2(2):149-152.

WHO - World Health Organization. 2003. Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases. World Health Organization, Geneva. Disponível em <http://whqlibdoc.who.int/trs/who_trs_916.pdf>. Acesso em: 15 de junho de 2014.

FAO. FAO Technical Meeting on Prebiotics. Food Quality and Standards Service (AGNS) – FAO.Roma. Setembro 15-16, 2007. http://www.fao.org/ag/agn/agns/files/Prebiotics_Tech_Meeting_Report.pdf
Acessado em 5 de julho, 2014.

Yıldız S. The Metabolism of Fructooligosaccharides and Fructooligosaccharide-Related Compounds in Plants. *Food Reviews International* 2011; 27(1):16-50.

Geyer M, Manrique I, Degen L, Beglinger C. Effect of Yacon (*Smallanthus sonchifolius*) on Colonic Transit Time in Healthy Volunteers. *Digestion* 2008, 78 (1): 30-33.

Valentova, K., Stejskal, D., Bartek, J., Dvorackova, S., Kren, V., & Ulrichova, J. “Maca [*Lepidium meyenii*] and yacon [*Smallanthus sonchifolius*] in combination with silymarin as food supplements: in vivo safety assessment”, *Food and Chemical Toxicology* 2008, 46, 1006–1013.

Campos, D., Pallardel-Betalleluz, I., Chirinos, R., Aguilar-galvez, A., Noratto, G., & Gedreschi, R. Prebiotic effects of yacon (*Smallanthus sonchifolius* Poepp. & Endl), a source of fructooligosaccharides and phenolic compounds with antioxidant activity. *Food Chemistry* 2012, 13, 1592-1599.

Silva, I.M.C. & Sá, E.Q.C. Alimentos funcionais: um enfoque gerontológico. *Revista Brasileira de Clínica Médica* 2012, 10, 24-8.

CAPÍTULO 2

AVALIAÇÃO DA SUPLEMENTAÇÃO DE 6 % DE FOS/INULINA DE UM PRODUTO À BASE DE YACON (PBY) SOBRE PARÂMETROS INTESTINAIS E HEPÁTICOS DE RATAS *WISTAR* OVARIECTOMIZADAS

Resumo

O Yacon (*Smallanthus sonchifolius*) é considerado um alimento funcional e recentemente sua atividade prebiótica tem sido enfatizada, considerando as concentrações elevadas de frutooligossacarídeos (FOS) e inulina. Assim, a raiz de yacon vem sendo utilizada para modulação de várias doenças crônicas não transmissíveis (DCNT), comuns na terceira idade, particularmente em mulheres na menopausa. O objetivo do estudo foi avaliar a segurança de um produto à base de Yacon, em relação aos danos fisiológicos no sistema digestório e circulatório com dose de 6 % de FOS/Inulina, administrado a ratas *wistar* ovariectomizadas (OVX), analisando se o produto não proporcionaria, além das ações prebióticas benéficas, alguma alteração indesejável, especialmente sobre parâmetros intestinais e hepáticos. Para tanto, analisou-se o peso dos rins, do fígado, coração e baço; realizou-se a histomorfometria do ceco e do fígado,

avaliou-se as concentrações séricas dos marcadores hepáticos de toxicidade: aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT), Fosfatase Alcalina (FA) e gama glutamiltransferase (GGT). No grupo que recebeu 6% de FOS/inulina na dieta, durante todo o período experimental, foi observado aumento na profundidade e nos diâmetros basal e apical das criptas do ceco. Não houve diferença significativa nas concentrações séricas dos marcadores de toxicidade hepática entre os tratamentos. Logo, conclui-se que o PBY, contendo 6% de FOS/inulina, não provocou alterações que pudessem comprometer a saúde do consumidor e, ainda, podendo desempenhar seus benefícios sem comprometer a saúde e qualidade de vida do consumidor.

Palavras-chave: yacon, frutanos tipo inulina (FOS/Inulina), ceco, toxicidade, microbiota intestinal.

1.Introdução

O yacon (*Smallanthus sonchifolius*) pertence à família *Asteraceae* originária da região dos Andes e forma raízes tuberosas subterrâneas. É cultivado principalmente na Colômbia, Equador, Peru, Bolívia e noroeste da Argentina desde a antiga civilização Inca (Ojansivu et al., 2011).

A raiz do yacon é rica em Frutooligosacarídeos e Inulina (FOS/Inulina), prebióticos em que predominam ligações glicosídicas do tipo frutossil-frutose $\beta(2-1)$ (Roberfroid, 2005; Yıldız, 2011), que não são hidrolisadas pelas enzimas digestivas do ser humano. Por esse motivo, essa raiz é fermentada no cólon por um grupo de bactérias benéficas, especialmente as dos gêneros *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*, que atuam melhorando a função gastrointestinal ao gerar ácidos orgânicos como o ácido láctico e ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) como o acetato, propionato e butirato (Gibson et al., 1995; Geyer et al., 2008; Hemarajata e Versalovic, 2013).

As fontes usuais de prebióticos são dispendiosas, pois necessitam de purificação e extração da raiz, já no yacon o FOS e a Inulina estão em

grandes concentrações na raiz, que pode ser consumida até mesmo *in natura*, e apresenta várias características multifuncionais (Paula et al., 2014 in press). A raiz de yacon *in natura* ou processada pode ser utilizada como alternativa para modulação de vários tipos de doenças crônicas não transmissíveis (DCNT), comuns na terceira idade, particularmente em mulheres na menopausa (Sant'Anna e Ferreira, 2013). Estudos têm demonstrado os efeitos prebióticos dessa raiz, rica em FOS e Inulina, principalmente na modulação da microbiota colônica (FAO, 2014), resultando em produção de ácidos orgânicos, e consequente efeito benéfico, principalmente na dislipidemia e no diabetes *mellitus* tipo 2 (DM2) (Wehr et al., 2011; Nascimento et al., 2011), na osteoporose (Nascimento et al., 2011); na obesidade (Genta et al., 2009; Moreira et al., 2012); em doenças cardiovasculares (Wehr et al., 2011) e na constipação intestinal (Sant' Anna e Ferreira, 2014 in press). O processamento do yacon é de fundamental relevância em virtude de sua alta perecibilidade, resultante do seu elevado conteúdo de água, e pela sazonalidade da planta (Yun et al., 2010), de modo que a produção de um produto a base de yacon (PBY) asseguraria a disponibilidade de yacon durante todo o ano.

Em estudos prévios observou-se que a adição do PBY em sucos de frutas promoveu redução do índice glicêmico em comparação com o suco de frutas sem adição de PBY (Rodrigues, 2011); além de ter gerado efeitos benéficos na modulação da saúde óssea (Paula, 2013) e da constipação intestinal (Paula, 2014 in press). Entretanto, outros aspectos da funcionalidade do yacon processado (PBY) precisam ser testados, além de sua segurança como produto alimentício.

Neste sentido, esse estudo propõe avaliar os efeitos do PBY, quanto aos danos fisiológicos no sistema digestório e circulatório, com dose de FOS/Inulina de 6% sugerido por Paula et al. (2012), para que o consumo dos prebióticos FOS /inulina na dose estabelecida possa desempenhar seus benefícios, sem proporcionar alterações que possam indiciar toxicidade que prejudique a saúde do consumidor.

2. TESTE DA SEGUNDA HIPÓTESE EXPERIMENTAL³

- II) **A administração do PBY não provoca alterações morfométricas indesejáveis no fígado, ceco, íleo e intestino grosso; nem alterações desfavorecedoras nos parâmetros sanguíneos relacionados à segurança, bem como no índice de peso dos órgãos.**

A hipótese acima foi testada segundo os seguintes objetivos:

- Determinar o índice de peso dos órgãos (ceco, fígado, baço, rins e coração) dos animais experimentais;
- Analisar qualitativamente a estrutura histológica do fígado para verificar se há ou não formação de focos de inflamação e fibrose;
- Mensurar as criptas do ceco e intestino grosso por meio de medida da profundidade e diâmetro basal;
- Mensurar as alturas das vilosidades do íleo,
- Determinar as concentrações séricas dos marcadores sanguíneos relacionados à segurança: Fosfatase Alcalina (FA), Gama glutamil-transferase (Gama-GT); Alanina Aminotransferase (ALT) e Aspartato Aminotransferase (AST).

³ Para maiores informações, vide Introdução, item 12, página 28.

3. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado nos Laboratórios de Nutrição Experimental do Departamento de Nutrição e Saúde, Morfofisiologia do Departamento de Biologia Animal, Associações Micorrízicas do Departamento de Bioquímica Agrícola, Sistemática Molecular no Departamento de Biologia Animal, Biofármacos do Departamento de Bioquímica Agrícola, Frutas e Hortaliças do Departamento de Tecnologia de Alimentos e Departamento de Medicina Veterinária, todos situados na Universidade Federal de Viçosa (UFV), em Viçosa, Minas Gerais, Brasil.

3.1. Origem e manutenção dos animais

Foram utilizadas ratas (*Rattus norvegicus*, variedade albinus, classe Rodentia), recém-desmamadas (28 dias), da raça *Wistar*, provenientes do Biotério Central do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal de Viçosa. Os animais foram mantidos no Laboratório de Nutrição experimental em gaiolas individuais de aço inoxidável à $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ e luz controladas (fotoperíodo de 12 horas) e receberam água *ad libitum*. Os procedimentos experimentais foram aprovados pelo Comitê de Ética para pesquisas com animais da Universidade Federal de Viçosa, parecer nº 55/2011.

3.2 Delineamento Experimental

Os animais foram dispostos em diferentes grupos experimentais, e receberam as dietas purificadas e manipuladas, acrescidas ou não de quantidades de PBY suficientes para fornecer uma dose de 6 % de FOS/inulina. A escolha da concentração de FOS/Inulina do PBY foi definida em pré-experimento realizado por Paula et al. (2012). Na primeira fase do estudo os animais recém-desmamados receberam dieta de crescimento purificada manipulada (AIN-93G- Tabela 1) por 12 semanas e na segunda fase foi administrada dieta de manutenção purificada manipulada (AIN-93 M – Tabela 2), conforme Reeves et al. (1993), por 8 semanas.

Tabela 1. Composição das dietas administradas na fase de crescimento (12 semanas).

Ingredientes	Dieta Controle (%)	Dieta Teste (Suplementada com 6% de FOS) (%)
Caseína	20,00	20,00
Amido Dextrinizado	13,20	-
Sacarose	10,00	-
Óleo de Soja	7,00	7,00
Fibra (Celulose microfina)	5,00	3,02
Mistura de Minerais (AIN 93G)	3,50	3,50
Mistura de Vitaminas	1,00	1,00
L-Cistina	0,3	0,30
Bitartarato de Colina	0,25	0,25
Amido de Milho	39,75	-
Produto à base de yacon (PBY)	-	64,93
Total	100,00	100,00

Fonte: adaptado de Reeves et al., 1993. Composição da raiz do yacon processada (PBY) (g/100g) de FOS/inulina: 9,24%; sacarose: 10,08%; frutose: 12,60%; glicose: 9,40%; proteína: 0,32%; umidade: 60,66%; cinzas: 0,51%; lipídios: 0% os teores de açúcares livres presentes no PBY adicionado à formulação foram descontados da sacarose, maltodextrina e amido de milho, para manutenção da proporção preconizada pela AIN-93G. Densidade Calórica dieta controle: 385,28 kcal. Densidade Calórica dieta teste: 367,29 Kcal.

Tabela 2. Composição das dietas administradas na fase de manutenção (8 semanas)

Ingredientes	Dieta Controle (%)	Dieta Teste (Suplementada com 6% de FOS) (%)
Caseína	14,00	14,00
Amido Dextrinizado	15,50	-
Sacarose	10,00	-
Óleo de Soja	4,00	4,00
Fibra (Celulose microfina)	5,00	5,00
Mistura de Minerais (AIN 93G)	3,50	3,50
Mistura de Vitaminas	1,00	1,00
L-Cistina	0,18	0,18
Bitartarato de Colina	0,25	0,25
Amido de Milho	46,57	39,68
Produto à base de yacon (PBY)	-	32,39
Total	100,00	100,00

Fonte: adaptado de Reeves et al., 1993. Composição da raiz do yacon processada (PBY) (g/100g) de FOS/inulina: 18,52%; sacarose: 13,19%; glicose: 6,09%; proteína: 1,51%; umidade: 55,11%; cinzas: 4,72%; lipídios: 0%. Os teores de açúcares livres presentes no PBY adicionado à formulação foram descontados da sacarose, maltodextrina e amido de milho, para manutenção da proporção preconizada pela AIN-93M. Densidade Calórica dieta controle: 385,28 kcal. Densidade Calórica dieta teste: 367,29 Kcal

3.3. Delineamento Experimental

O estudo foi realizado de acordo com o delineamento experimental indicado na Figura 1.

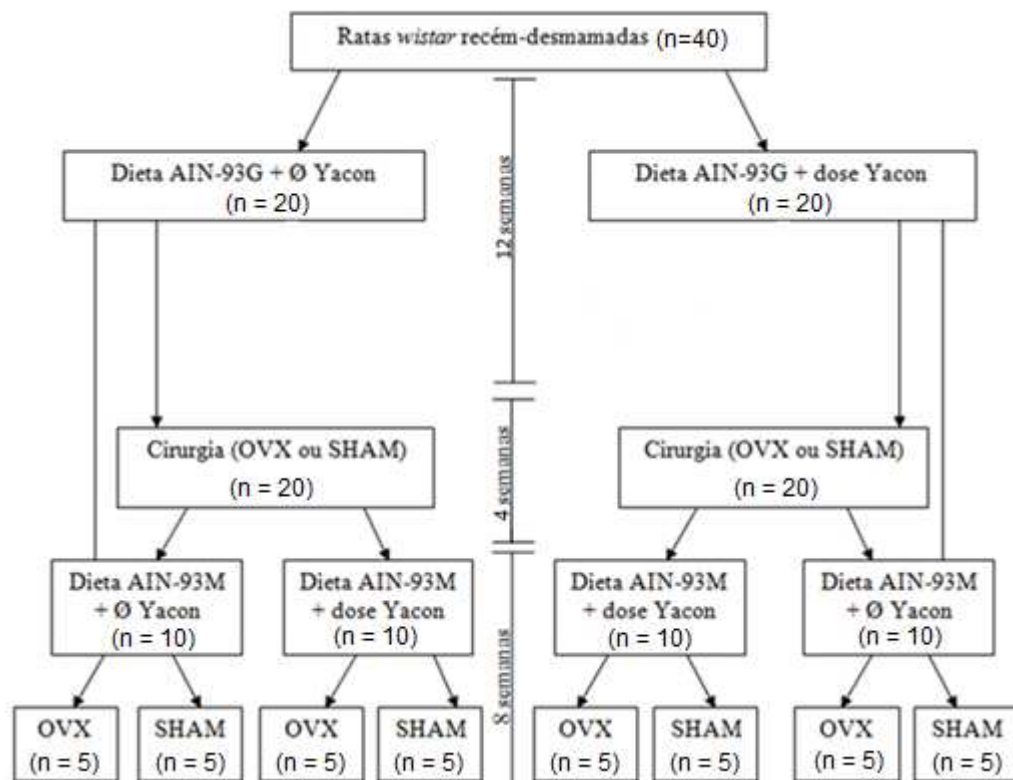


Figura 1 – Organograma do experimento com ratas ovariectomizadas (OVX) e celiotomizadas (SHAM)

As ratas foram divididas em dois grupos por delineamento inteiramente casualizado (DIC), sendo um grupo teste (n=20) e um grupo controle (n=20), e foram acompanhadas até completarem 24 semanas de vida.

Durante 12 semanas, foi administrada aos animais a dieta de crescimento AIN-93G com e sem PBY. Após esse período, os animais foram submetidos ao procedimento cirúrgico para retirada de ovário (ovariectomia - OVX) ou submetidos à simulação de retirada do órgão

(celiotomia - SHAM), e na sequência houve um “Wash out” de quatro semanas para recuperação. Esse procedimento de OVX foi realizado para simulação da menopausa para avaliação da saúde óssea, da tendência ao ganho de peso, da tendência ao aumento da glicemia, da dislipidemia e do risco de doença cardiovascular após menopausa. Após a recuperação da cirurgia, os animais foram alocados em oito grupos (n=5), totalizando 40 unidades experimentais, conforme a Figura 1. Ao final do experimento, os animais foram eutanasiados por uma overdose de dióxido de carbono (Mezadri et al., 2004) para realização das análises subsequentes. Os possíveis efeitos tóxicos do uso do PBY foram analisados nos animais que receberam o produto durante todo o período experimental e comparados aos grupos controle.

Os resultados de ratas celiotomizadas (SHAM) foram utilizados somente para controle da cirurgia. Todos os dados foram expostos em anexo, porém, para efeito de discussão, utilizou-se somente os grupos OVX, totalizando 20 unidades experimentais alocados em quatro grupos (n=5), conforme delineamento da Figura 2.

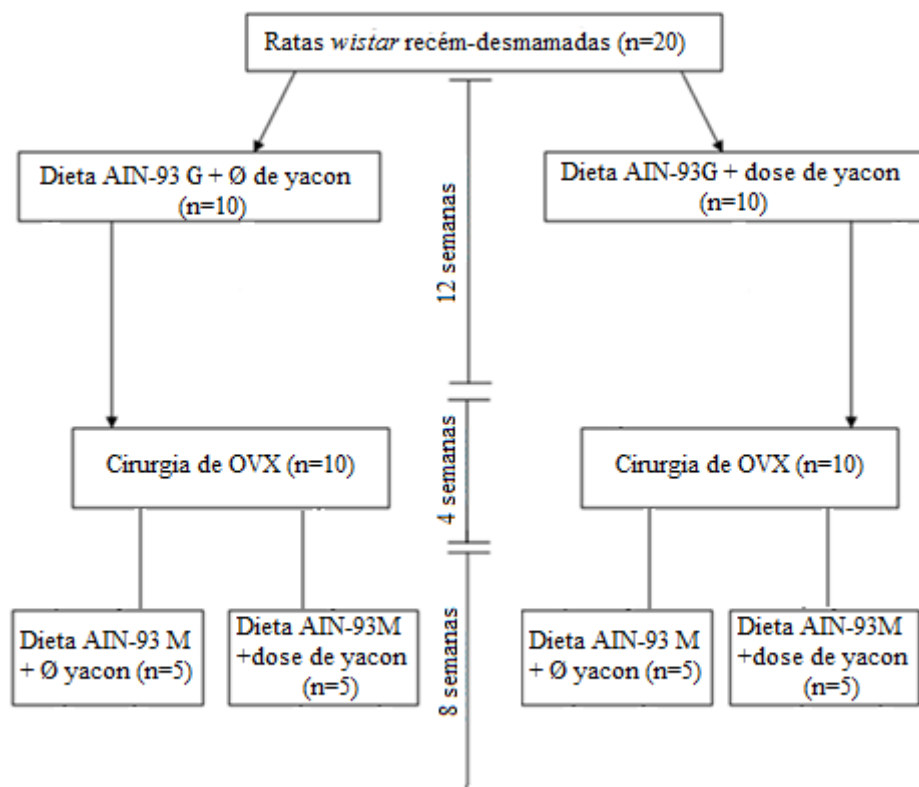


Figura 2 – Organograma do experimento com ratas ovariectomizadas (OVX).

3.4 Cirurgia de Ovariectomia (OVX) ou Celiotomia (SHAM).

Ao atingir a fase adulta (12 semanas) metade dos animais foram submetidas à ovariectomia bilateral (OVX), e a outra metade à cirurgia de celiotomia (SHAM) ou falsa ovariectomia, para simular o efeito do estresse cirúrgico conforme descrição capítulo 1, item 3.4.

3.5 Análises bioquímicas do soro

Logo após a eutanásia do animal, a coleta do sangue foi realizada por punção cardíaca com auxílio de seringas descartáveis e as amostras foram centrifugadas a 2865 x g por 15 minutos Fanem® São Paulo modelo 204. O soro foi mantido sob congelamento a -80 °C em ultrafreezer da marca Thermo Scientific® até o momento das análises.

Foram realizadas as seguintes análises bioquímicas: aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT), Fosfatase

Alcalina (FA) e gama glutamiltransferase (GGT). Todos os procedimentos foram realizados de acordo com protocolos dos fabricantes (Bioclin®, Belo Horizonte, Brasil) dos “kits” colorimétricos e enzimáticos.

3.6 Pesagem dos órgãos

Após a eutanásia dos animais, o fígado, baço, rins e coração foram coletados e pesados em balança analítica da marca BEL® para obtenção do peso dos órgãos e posterior cálculo do índice de peso dos órgãos, por meio da seguinte fórmula: $IPO = \text{Peso dos órgãos(g)} \times 100 / \text{peso da rata(g)}$.

3.7. Análise Histológica

Logo após a eutanásia, fragmentos do fígado, íleo e o ceco inicial, medial e final, inteiros foram coletados, lavados em solução salina e fixados em solução de formaldeído tamponado a 10 %, onde permaneceram até o momento da inclusão. O processamento dos fragmentos para inclusão/emblocamento em parafina foi realizado conforme metodologia sugerida por Ramos (2006) e descrita na Figura 3.

Após a obtenção dos blocos de parafina, eles foram presos em blocos de madeira para a realização da Microtomia, utilizando-se micrótomo rotativo manual (Leica RM 2045). Foram realizados cortes transversais semi-seriados com espessura de 5 µm e com intervalo entre os cortes de 50 µm. Foram obtidos três cortes para cada lâmina e as mesmas foram reservadas até o momento da coloração.

Após o preparo das lâminas, as seções histológicas do fígado, ceco, íleo e colón foram submetidas à coloração com Hematoxilina e Eosina (Bancroft; Stevens, 1996) para posterior análise histológica e morfométrica dos fragmentos. As etapas de coloração seguiram conforme o fluxograma encontrado na Figura 4.

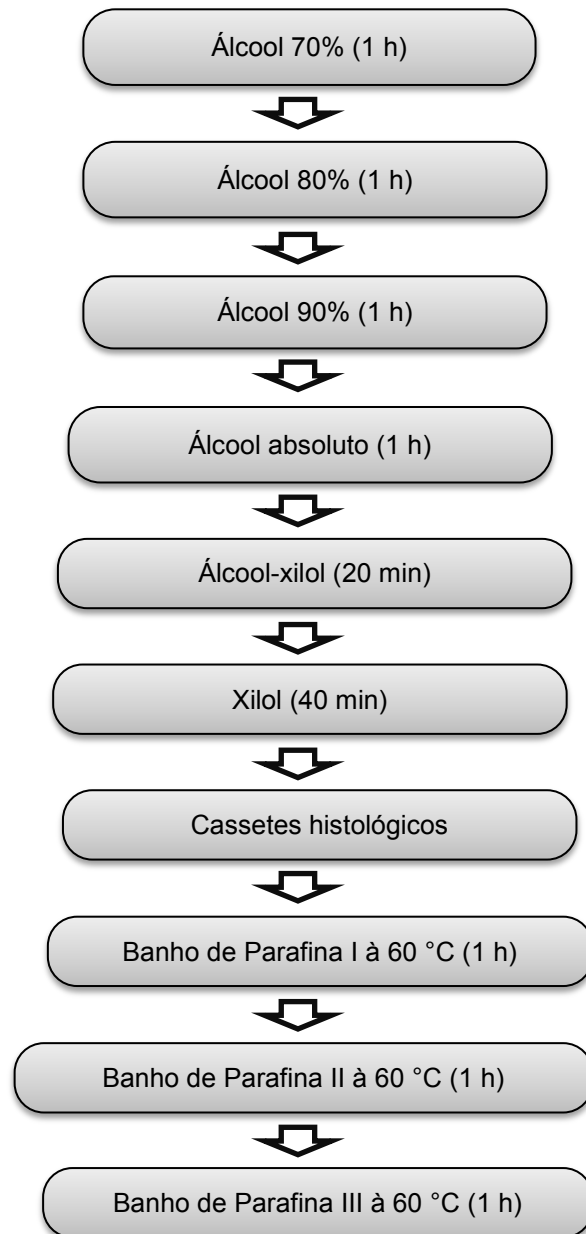


Figura 3 – Fluxograma de inclusão em parafina

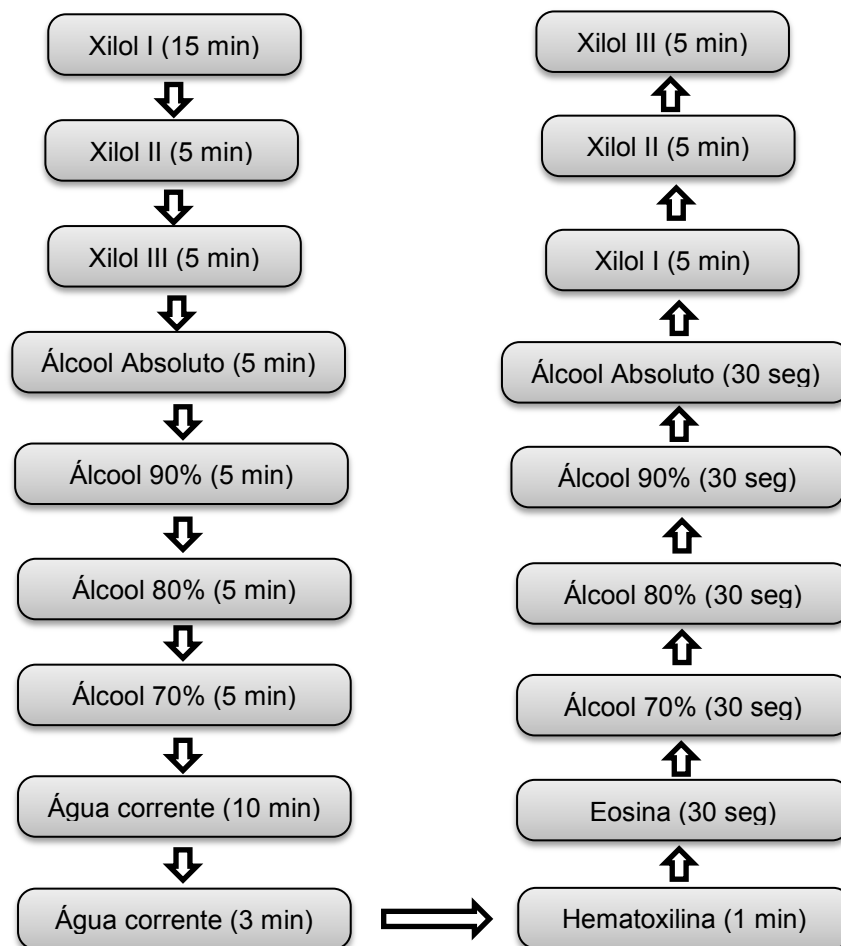


Figura 4 – Fluxograma de coloração em Hematoxilina- Eosina

3.9 Fotomicroscopia

As imagens histológicas foram obtidas por meio de microscópio de luz Olympus AX 70, equipado com acessório fotográfico U-PHOTO (Olympus), acoplado a um sistema computadorizado (programa SPOT, versão 3.5.9 para Windows). Foram obtidas um total de 1728 imagens (dimensões 1596x1196pxls) para medições de profundidade e diâmetros basal e apical das criptas do cedo inicial, medial e final; 576 imagens (1596x1196pxls) para as medições de profundidade das criptas e altura das vilosidades do íleo, e o posterior cálculo da relação cripta/vilosidade. Para visão geral do fígado, capturou-se 360 imagens (1596x1196pxls), visando averiguar a ocorrência de possíveis alterações patológicas, por meio de avaliação qualitativa dos focos de inflamação, esteatose e fibrose. As medições foram feitas usando o programa Image Pro-Plus 4.0 – Media Cybernetics®.

A Figura 7 contém imagens de fígado com alterações que sinalizam toxicologia hepática.

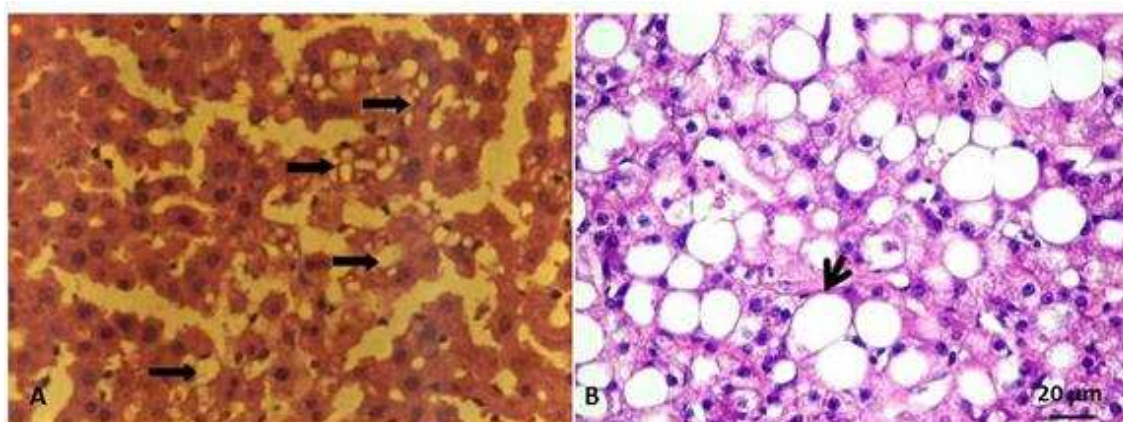


Figura 7 – Cortes histológicos do fígado de ratos submetidos a coloração com hematoxilina – Eosina (HE). Em A é indicado a perda de conteúdo citoplasmático e esteatose. Em B é evidenciado a ocorrência de esteatose. Aumento de 400 X. Fonte: Neves, 2003.

3.10. Análise Estatística

Para análise dos dados será utilizado o programa *Statistical Analysis Systems* (SAS) versão 9.2, licenciado pela Universidade Federal de Viçosa. Para rejeição da hipótese de nulidade foi adotado como nível de significância estatística $p < 0,05$ para todas as comparações entre os tratamentos.

Os dados foram agrupados em delineamento inteiramente casualizado (DIC). Foi aplicada a análise de variância (ANOVA) e para comparações *post hoc* foi adotado o teste de Duncan em análises paramétricas (Callegari-Jacques, 2006; Pagano e Gauvreau, 2008).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na figura 3, é possível visualizar a mucosa do ceco medial, sendo indicados a profundidade, o diâmetro apical e o diâmetro basal de uma cripta.

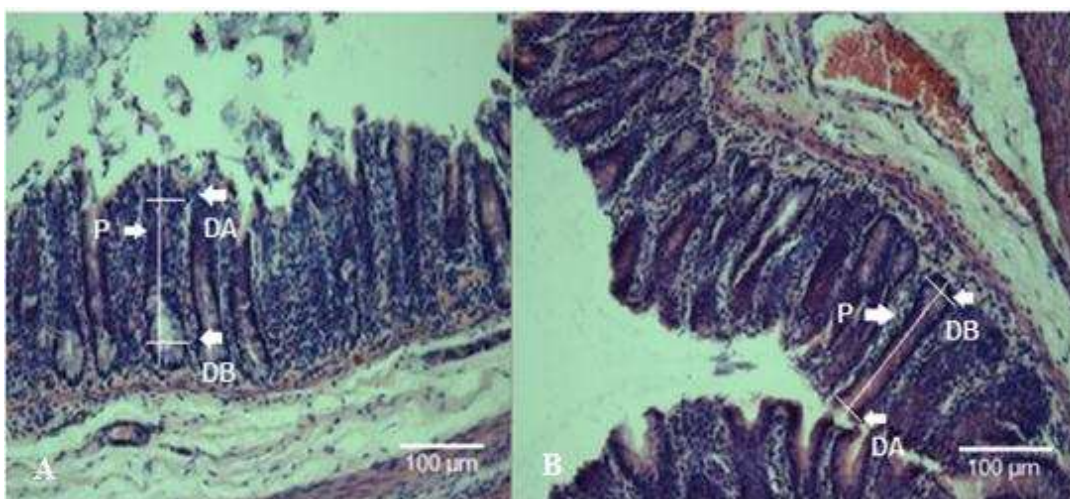


Figura 3 – Corte histológico, corado com HE, da região medial do ceco de ratas Wistar alimentadas com (A) dieta teste (PBY com 6 % de FOS/Inulina) e com (B) dieta controle, durante 24 semanas, evidenciando-se uma cripta com seu diâmetro apical (DA), diâmetro basal (DB) e sua profundidade (P).

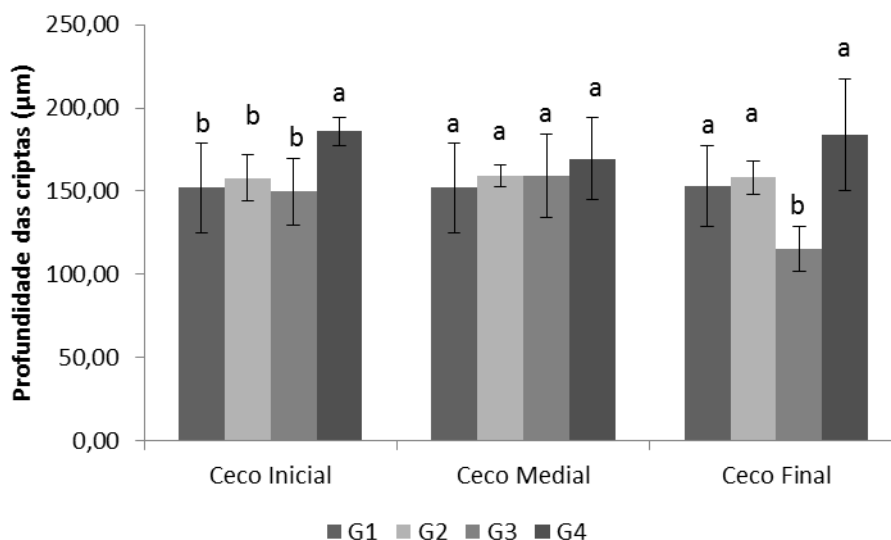


Figura 4 – Profundidade de criptas do ceco inicial, medial e final de diferentes grupos de ratas *Wistar* ovariectomizadas (n=5/grupo). G1: dieta controle – OVX – dieta controle. G2: controle – OVX –dieta yacon. G3: dieta yacon – OVX –dieta controle. G4: dieta yacon – OVX - dieta yacon

A profundidade das criptas do ceco inicial foi maior no G4 comparado aos demais grupos, e a das criptas do ceco final, maior no G4 em relação ao G3 (Figura 4). Acredita-se que esse aumento das criptas ocorre em função da fermentação do FOS/Inulina, promovendo um incremento da área da superfície absorptiva. Esse fenômeno é proveniente da proliferação celular colônica advinda da ação dos AGCC produzidos durante a fermentação (Weaver et al., 2010). O processo fermentativo, com produção de AGCC, foi comprovado no capítulo 1 em que estes mesmos grupos experimentais foram utilizados para avaliação da massa corporal e do perfil lipídico. No capítulo 1, tendo sido detectada maior concentração de AGCC e lactato no grupo que recebeu PBY durante todo experimento.

O incremento das criptas observado no presente estudo é um fenômeno benéfico, pois aumenta a capacidade absorptiva acarretando múltiplos efeitos (Roberfroid, 2005) como, por exemplo, aumento da absorção de cálcio (Lobo et al., 2007) e melhoria da constipação intestinal (Sant'anna e Ferreira, 2013). Assim sendo, pode-se dizer que o uso do PBY é promissor, resultando em hipertrofia cecal com aumento no tamanho das criptas, principalmente quando usado continuamente. Outros estudos tem evidenciado alterações significativas na profundidade e densidade das criptas do ceco, após o uso de diferentes doses de FOS/inulina (Rémésy et

al., 1993; Genta et al., 2005; Lobo et al., 2007), o que reforça a importância do consumo do PBY.

No presente estudo, além da profundidade das criptas do ceco, foram avaliados os diâmetros apical e basal das mesmas, que variaram de 37,38 a 43,90 μm no grupo que recebeu dieta teste durante todo experimento, e 33,96 a 40,72 μm no grupo que recebeu dieta controle durante todo experimento, conforme mostrado na tabela 3.

Tabela 3- Valores médios de diâmetro apical e basal e apical das criptas do ceco inicial (CI), medial (CM) e final (CF) após Ovariectomia (OVX), em ratas alimentadas com dieta controle e dieta teste durante 24 semanas.

Ceco	Região	Grupos				P valor
		G1	G2	G3	G4	
		Média/DP				
CI	DA	40,72 \pm 2,08 ^{a,b}	44,87 \pm 2,54 ^a	37,70 \pm 4,06 ^b	43,90 \pm 3,36 ^a	0.0255
	DB	39,24 \pm 2,97 ^{a,b,c,d}	44,20 \pm 2,81 ^a	34,13 \pm 2,35 ^d	40,16 \pm 2,65 ^{a,b,c}	0.0010
CM	DA	40,72 \pm 2,08 ^{a,b,c}	40,68 \pm 2,30 ^{b,c}	37,73 \pm 3,64 ^c	41,55 \pm 2,63 ^{a,b,c}	0.2512
	DB	39,24 \pm 2,97 ^b	38,20 \pm 2,50 ^{b,c}	34,27 \pm 3,09 ^c	39,03 \pm 3,09 ^b	0.0943
CF	DA	37,73 \pm 3,26 ^b	39,56 \pm 2,33 ^{a,b}	37,54 \pm 3,15 ^b	40,88 \pm 1,11 ^{a,b}	0.2558
	DB	33,96 \pm 2,51 ^{b,c}	37,13 \pm 3,12 ^{a,b}	33,99 \pm 2,47 ^{b,c}	37,38 \pm 1,64 ^{a,b}	0.1139

Médias seguidas de letras iguais na linha, não diferem entre si ao nível de 5% pelo teste de Ducan. G1: dieta controle – OVX – dieta controle. G2: controle – OVX –dieta yacon. G3: dieta yacon – OVX –dieta controle. G4: dieta yacon – OVX - dieta yacon

A análise dessa variável morfométrica é de suma importância, pois criptas com diâmetros basal e apical superiores a 115 μm são consideradas aberrantes, sendo capazes de estimular alterações das células para formações de tumores (Tsukamoto et al., 2001). Sendo assim, a presença de FOS/inulina do PBY promoveu a hipertrofia das criptas, com consequentes efeitos sistêmicos benéficos, sem interferir adversamente na morfologia das mesmas.

Outro parâmetro avaliado foi a profundidade das criptas colônicas, que na figura 5. Foi possível observar que a profundidade das criptas do cólon apresentou-se maior no grupo 4, que recebeu PBY durante 24 semanas de experimento, porém com diferença estatística somente em relação ao grupo 2, que recebeu PBY apenas depois da OVX.

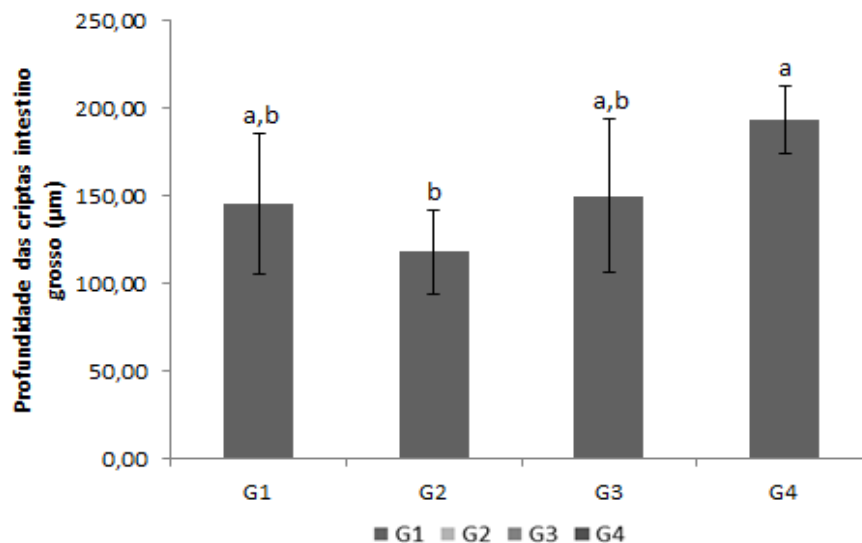


Figura 5 – Profundidade das criptas do cólon de diferentes grupos de ratas *Wistar* ovariectomizadas. G1: dieta controle – OVX – dieta controle. G2: dieta controle – OVX – dieta yacon. G3: dieta yacon – OVX – dieta controle. G4: dieta yacon – OVX – dieta yacon

Uma das funções primordiais do cólon é fermentar, pela ação de micro-organismos no seu lúmen, oligo e polissacarídeos (especialmente os não digeríveis), bem como as proteínas que não são completamente digeridas no intestino delgado. Após a fermentação de carboidratos não digeríveis tem-se como produto AGCC (acético, propiônico e butírico), gases (H_2 e CO_2) e biomassa bacteriana. Os AGCC ao serem absorvidos fornecem energia para o hospedeiro e agem regulando vias metabólicas (Roberfroid, 2005). Dentre essas vias cita-se a modulação na absorção de cálcio (Bongers, Van Heuval, 2003; Weaver et al., 2010), as estimuladoras de hormônios da saciedade (Genta et al., 2005; Genta et al., 2009) e as de controle da constipação intestinal (Sant’anna et al., 2014 in press).

Os AGCC resultantes da fermentação de frutanos tipo inulina no ceco possivelmente influenciam as atividades do cólon, dada a proximidade destes segmentos intestinais. A maior fermentação e produção de ácidos graxos é benéfica, uma vez que os mesmos agem na manutenção da saúde do cólon, podendo aumentar a capacidade absorptiva via fornecimento de energia para as células e estímulo para a diferenciação celular e proliferação do epitélio (Hijova e Chmelarova, 2007).

Na tabela 4 encontram-se dispostos os valores da Profundidade das criptas e altura das vilosidades do íleo.

Tabela 4- Valores médios da Profundidade das criptas e altura das vilosidades do íleo de ratas ovariectomizadas alimentadas com dieta controle e dieta teste durante 24 semanas.

Região do íleo	Grupos				P valor
	G1	G2	G3	G4	
	Média/DP				
Profundidade das criptas (μm)	117,05 \pm 13,92 ^a	74,31 \pm 11,27 ^b	70,79 \pm 16,17 ^b	73,88 \pm 6,65 ^b	0.0002
Altura das vilosidades (μm)	262,03 \pm 19,05 ^b	278,15 \pm 23,99 ^b	296,24 \pm 44,43 ^{a,b}	331,76 \pm 32,77 ^a	0.0369

Médias seguidas de letras iguais, Profundidade das criptas e altura das vilosidades do íleo, em ratas alimentadas com dieta controle e dieta teste durante 24 semanas, na linha, não diferem entre si ao nível de 5% pelo teste de Duncan. G1: dieta controle – OVX – dieta controle. G2: dieta controle – OVX –dieta yacon. G3: dieta yacon – OVX –dieta controle. G4: dieta yacon – OVX - dieta yacon

No íleo, a profundidade das criptas do grupo 4, tratado com dieta yacon durante todo experimento, foram menores ($p=0,0002$) que as do grupo controle (G1), do que não recebeu dieta yacon em nenhum momento. No íleo, diferentemente do ceco ou cólon, não há fermentação microbiana, o que possivelmente esteja relacionado a não hipertrofia das suas criptas. Nesse órgão a fermentação microbiana é dificultada mediante a proteção pelas células de Paneth, cuja função envolve a defesa contra micro-organismos no lúmen intestinal (Ziegler et al., 2003). O intestino grosso, em especial o ceco, possui maior capacidade fermentativa dos frutanos tipo inulina, com grande produção de AGCC que estimulam a proliferação celular. Sendo assim, no ceco dos ratos, mais desenvolvido que o dos humanos, ocorre o incremento de 7 a 11 células por cripta por hora ao passo que no cólon de humanos estima-se que o tempo de rotação celular varia entre 3 e 8 dias.

A renovação celular ocorre naturalmente em indivíduos saudáveis, mas alguns fatores estimulam este processo, os chamados agentes tróficos. Pré e probióticos possuem ação trófica na mucosa intestinal, ou seja, estimulam o processo mitótico nas criptas, e, conseqüentemente, aumentam o número de células e a proteção do epitélio intestinal. Como o processo fermentativo ocorre no cólon e, no caso dos ratos, principalmente no ceco, é

comum verificar aumento das criptas nas regiões do intestino grosso mediante o uso de prébióticos como o PBY.

Para o consumo seguro de qualquer alimento, sem comprometer a saúde, são necessários estudos que comprovem sua eficácia e segurança como produto alimentício, mas juntamente com a sua eficácia, alguns compostos presentes nas plantas podem afetar diferentes órgãos, sendo os rins e o fígado os principais alvos (Oliveira et al., 2011).

Durante o processo de fermentação do PBY, produto com alta concentração de frutanos tipo inulina, ocorre a produção de metabólitos, mais especificamente, AGCC, que são absorvidos e direcionados para diversas funções benéficas (Paula et al., 2012; Bernalier-Donadille, 2010). No entanto, em alguns casos, o uso prolongado de algumas substâncias pode proporcionar alterações tóxicas aos órgãos, sendo imprescindíveis avaliações de eventual toxicidade proporcionada, principalmente, ao fígado, por se um órgão que pode ser sobrecarregado com medicamentos ou produtos naturais, podendo sofrer sérios danos (Merrick, 2006). Os distúrbios podem ser verificados por meio de análise histológica, analisando-se a presença de esteatose, fibrose e focos de inflamação, que indicam lesões hepáticas causadas pela exposição a compostos tóxicos (Moslen, 1996). Além disso, tem-se avaliações de marcadores séricos de toxicidade e a avaliação subjetiva por meio do peso relativo dos órgãos.

Na tabela 5 encontram-se dispostos os pesos relativos dos órgãos, rim, fígado, baço e coração.

Tabela 5- Valores médios (n=5) de Peso Relativo do Rim (PRR), Peso Relativo do Fígado (PRF), Peso Relativo do Baço (PRB) e Peso Relativo do Coração (PRCo), de ratas ovariectomizadas alimentadas com dieta controle e dieta teste durante 24 semanas.

PRO	Grupos				P valor
	G1	G2	G3	G4	
	Média/DP				
PRR (%)	0,0080±0,0005 ^b	0,0096±0,0010 ^b	0,0089±0,0006 ^b	0,0125±0,0013 ^a	<.0001
PRF(%)	0,0382±0,0061 ^b	0,0393±0,0042 ^b	0,0404±0,0047 ^b	0,0494±0,0051 ^a	0.0117
PRB(%)	0,0038±0,0008 ^b	0,0038±0,0006 ^b	0,0035±0,0007 ^b	0,0049±0,0005 ^a	0.0155
PRCo(%)	0,0091±0,0004 ^b	0,0050±0,0007 ^b	0,0049±0,0002 ^b	0,0062±0,0009 ^a	0.0067

Médias seguidas de letras iguais, na linha, não diferem entre si ao nível de 5% pelo teste de Ducan. G1: dieta controle – OVX – dieta controle. G2: controle – OVX –dieta yacon. G3: dieta yacon – OVX –dieta controle. G4: dieta yacon – OVX - dieta yacon

A avaliação do peso dos órgãos é de extrema importância, pois os prebióticos tem a função de estimulação seletiva da microbiota intestinal, promovendo crescimento e atividade de um número limitado de bactérias. Essa estimulação gera metabólitos que promovem aumento da concentração de propionato e diminuição da relação acetato:propionato, gerando maior disponibilidade de energia, o que pode desencadear o aumento de órgãos (Kozloski, 2002), em especial do fígado, como captação de cerca de 80 % de propionato que passa pelo sistema portal para a conversão em glicose (Van soest, 1994). Segundo Rao e Mccracken (1992), também o peso dos órgãos podem variar de acordo com o consumo de proteína ou energia. Assim, o maior consumo de energia pelas ratas que se alimentaram da dieta teste, especialmente, as do grupo 4 ($p=0,0064$) (ver capítulo 3), pode ter influenciado no aumento de peso dos órgãos.

Como mencionado anteriormente, avaliações de toxicidade podem ser feitas de forma indireta por meio do peso relativo dos órgãos, particularmente o fígado. Com a ocorrência de hepatomegalia (Zhou et al., 2000) ou aumento de outros órgãos, devendo-se proceder avaliações menos subjetivas, como por exemplo, a histologia do órgão e dosagem sérica de marcadores de toxicidade. No presente estudo foi observado aumento significativo do peso do rim, do fígado e do baço ao comparar o grupo teste (G4) com o grupo controle (G1), resultado que deve ser levado em consideração, pois sendo esses órgãos de suma importância e alteração, a alteração no tamanho dos mesmos pode indicar algum foco de infecção ou toxicidade (Guarner e Malagelada, 2003) (Tabela 5). Entretanto, ao avaliar qualitativamente a morfologia do fígado, não foram verificadas alterações nos grupos que receberam PBY, seja durante uma parte do experimento ou durante todo ele (Figura 5). Também não foram verificados focos de inflamação e esteatose hepática, e mais, como será relatado adiante, não houve alterações significativas dos marcados de toxicidade, ALT, AST, GamaGT e fosfatase alcalina, o que leva a inferir que o PBY não ocasiona toxicidade. Assim, o aumento do peso relativo dos órgãos (fígado, rins e baço) pode ter sido em decorrência da maior ingestão energética pelos

grupos tratados, particularmente o grupo que recebeu dieta teste durante todo experimento.

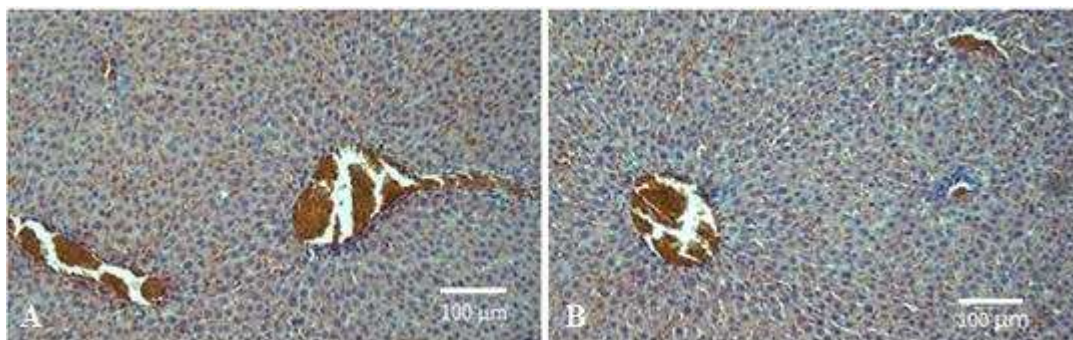


Figura 5 – Visão geral do fígado de ratas *wistar* ovariectomizadas alimentadas com (A) dieta teste (PBYP com 6 % de FOS/Inulina) e (B) dieta controle durante 24 semanas.

Outra avaliação de suma importância é a verificação da alteração das enzimas hepáticas. Podemos citar, dentre essas, alanina aminotransferase (ALT), aspartatoaminotransferase (AST), fosfatase alcalina (FA) e gama glutamiltransferase (GGT), que apesar de não serem enzimas órgão-específicas, se elevam mais frequentemente em caso de doenças hepáticas (Mincis e Mincis, 2007).

Não foi observado, como exposto na Tabela 6, aumento significativo nos níveis das enzimas que indicam toxicidade hepática, nem nos grupos que receberam dieta contendo PBYP durante um período do experimento (G2 e G3), nem no grupo que recebeu dieta com PBYP durante todo o experimento (G4), o que indica que o consumo de PBYP durante 24 semanas de experimentação não promoveu prejuízos ao fígado.

Tabela 6- Valores médios (n=5) de parâmetros sanguíneos de toxicidade: alanina aminotransferase (ALT), aspartatoaminotransferase (AST), fosfatase alcalina (FA) e gama glutamiltransferase (GGT), em ratas ovariectomizadas alimentadas com dieta controle e dieta teste durante 24 semanas.

Marcadores Sanguíneos	Grupos				P valor
	G1	G2	G3	G4	
	Média/DP				
ALT (U/L)	136,17±42,8 ^a	148,33±50,50 ^a	118,67±24,84 ^a	141,00±27,73 ^a	0.5852
AST (U/L)	22,17±1,83 ^a	26,67±4,72 ^a	31,50±10,09 ^a	29,83±11,58 ^a	0.2336
FA(U/L)	56,17±26,64 ^a	67,50±15,87 ^a	68,00±14,51 ^a	62,33±27,51 ^a	0.7691
GGT (U/L)	2,50±0,51 ^a	1,67±0,37 ^{a,b}	1,00±0,26 ^{a,b}	0,17±0,07 ^b	0.1009

Médias seguidas de letras iguais na linha, não diferem entre si ao nível de 5% pelo teste de Duncan. G1: dieta controle – OVX – dieta controle. G2: controle – OVX –dieta yacon. G3: dieta yacon – OVX –dieta controle. G4: dieta yacon – OVX - dieta yacon

Pesquisas realizadas por Borges et al. (2012) utilizando yacon demonstraram que a concentração de frutanos tipo inulina presentes na raiz, mesmo em altas doses, não proporcionam mortalidade ou toxicidade em órgão alvo, toxicidade reprodutiva, potenciais mutagênicos e genotóxicos. Em modelo animal (Genta et al., 2005) e em humanos (Valentová et al., 2008; Genta et al., 2009) não foram evidenciados qualquer efeito genotóxico, toxicidade subcrônica ou efeito nutricional indesejável pelo yacon. Entretanto, Genta et al. (2005) e Genta et al. (2009) alertam que o uso de FOS/Inulina em doses altas pode proporcionar desconforto gastrointestinal, o que limita a dose de 20 gramas de frutanos tipo inulina para indivíduos saudáveis. Todavia, nesses estudos não foram observadas lesões histológicas no fígado e rins, e não houve diferença significativa nas concentrações de proteínas totais, albumina, AST, ALT e fosfatase alcalina, indicando que não houve efeitos tóxicos mediante o consumo de PBY quanto aos parâmetros analisados. Rodrigues et al. (2012) avaliaram a hepatotoxicidade mediante consumo de farinha de yacon seca e o probiótico *Bifidobacterium longum* durante 28 dias. Os resultados demonstraram que não houve diferença significativa nas concentrações de AST, ALT e fosfatase alcalina nos grupos testados em comparação com o grupo controle, indicando que o consumo das dietas experimentais não prejudicou o desempenho do fígado. Resultado semelhante foi encontrado no presente estudo, utilizando 6 % de FOS/Inulina no PBY durante 24 semanas, o que sinaliza a segurança do seu uso, mesmo por longo período.

4.CONCLUSÕES

Não foram observadas alterações indesejáveis no perfil histológico do fígado, nos marcadores hepáticos de toxicidade e nem na morfometria do ceco, cólon e íleo. No entanto, houve hipertrofia da mucosa colônica-cecal, o que pode ser o que é um indicativo de aumento da superfície absorptiva. Tal aumento, que poderá resultar em maior captação de cálcio é relevante, sobretudo para mulheres na menopausa pela propensão à osteoporose.

Considerando que nenhum efeito adverso foi verificado quanto aos parâmetros avaliados, mesmo com o uso prolongado (24 semanas), os resultados proporcionaram maior segurança para indicação de PBY como alimento funcional. Esse estudo é promissor, visto que o yacon, como já relatado em vários trabalhos, foi eficaz na prevenção e tratamento de diversas comorbidades, sendo necessário, em alguns casos, longos períodos de ingestão do produto.

Embora se tenha alguns estudos sobre yacon, estudos desse cunho ainda são escassos, sendo necessário incentivo a novas pesquisas para que haja maior segurança no consumo da raiz de yacon ou de produtos à base de yacon, de modo que possam ser indicados por profissionais de saúde e consumidos com segurança pela população.

5 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Bancroft JD, Stevens A. Theory and Practice of Histological techniques. Nova York: Churchill livingstone. 766p, 1996.

Bernalier-Donadille A. Fermentative metabolism by the human gut microbiota. *Gastroen.Clin.Biol.* 2010; 16:22-34.

Bongers A, Van Den Heuvel EGHM. Prebiotics and the bioavailability of minerals and trace elements. *Food Rev. Int.* 2003; 19: 397–422.

Borges JTS, Pirozi M R, Paula CD, Vidigal JGSNAS, Caliman FRB. Yacon na alimentação humana: Aspectos nutricionais, funcionais, utilização e toxicidade. *SciAmaz*, 2012, 3:3-17.

Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) – FAO Technical Meeting on Prebiotics. (2007). Food Quality and Standards Service (AGNS), Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), September 15-16. <http://www.fao.org/ag/agn/agns/files/Prebiotics_Tech_Meeting_Report.pdf. > 6.19.2014.

Genta S, Cabrera W, Habiba N, Ponsb J, Carillo IM, Graud A, Sánchez S. Yacon syrup: Beneficial effects on obesity and insulin resistance in humans. *Clin Nutr.* 2009; 182:187-28.

Genta S, Cabrera WM, Grau A, Sánchez SS. Subchronic 4-month oral toxicity study of dried *Smallanthus sonchifolius* (yacon) roots as a diet supplement in rats. Food Chem. Toxicol. 2005; 1657:1665-43.

Geyer M, Manrique I, Degen L, Beglinger C. Effect of Yacon (*Smallanthus sonchifolius*) on Colonic Transit Time in Healthy Volunteers. Digestion 2008;30:33-78.

Gibson GR, Beatty ER, Wang X, Cummings JH. Selective stimulation of bifidobacteria in the human colon by oligofructose and inulin. Gastroenterology 1995; 108:975-982.

Guarner F, Malagelada JR. Gut flora in health and disease. Lancet 2003, 361, 512-519.

Hemarajata P, Versalovic J. Effects of probiotics on gut microbiota: mechanisms of intestinal immunomodulation and neuromodulation. Ther Adv Gastroenterol 2013; 39:51-6.

Hijova E, Chmelarova A: Short chain fatty acids and colonic health. Bratisl Lek Listy. 2007;108:354-8.

Kozloski, G. V. Bioquímica dos ruminantes. Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria, 2002. 140 p.

Lobo A, Colli C, Alvares EP, Filisetti TMCC: Effects of fructans-containing yacon (*Smallanthus sonchifolius* Poepp&Endl.) flour on caecum mucosal morphometry, calcium and magnesium balance, and bone calcium retention in growing rats. Br J Nutr 2007;776:785-97.

Merrick BA. Toxicoproteomics in Liver Injury and Inflammation. Annals of the New York Academy of Sciences, 2006; 1076:707-17.

Mezadri TJ, Tomás VA, Amaral VLL. Animais de laboratório – cuidados na iniciação experimental. Florianópolis: Ed. UFSC 2004.

Mincis M, Mincis R. Enzimas Hepáticas: Por que são importantes para o estudo de doenças do fígado. *Prática Hospitalar* 2007; 44:48-51.

Monteiro CMR, Souza NTM, Carvalho RG, Souza WM. Análise histológica do trato gastrointestinal de avestruzes jovens. *Biotermas*. 2009; 22: 149-155.

Moreira APB, Teixeira TFS, Peluzio MCG, Alfenas RCG.(2012). Gut microbiota and development of obesity. *Nutr. Hosp.* 2012; 1408:1414-27.

Moslen MT. Toxic Responses of the Liver. In: Casarett&Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons, 5th ed., Klaassen, C. D. (ed.), McGraw-Hill, New York: 403-415. 1996.

Nascimento JS, Gomes B, Sardinha AHL. Fatores de risco modificáveis para as doenças cardiometabólicas em mulheres com hipertensão arterial. *Rev. Rene* 2011; 709:15-12.

Neves TG. Caracterização da Hepatotoxicidade produzida pelo veneno da cascavel da região do Vale do Paraíba em fígado de ratos Wistar. 2003, 74f. Dissertação de Mestrado. Universidade Vale do Paraíba, 2003.

Ojansivu I, Ferreira CL, Salminen S: Yacon, a new source of prebiotic oligosaccharides with a history of safe use. *Trends Food SciTechnol* 2011;22:40–46.

Oliveira RB, Paula DAC, Rocha BA, Franco JJ, Gobbo-Neto L, Uyemura AS, Santos WF, Costa FB. Renal toxicity caused by oral use of medicinal plants: The yacon example. *J. Ethnopharmacol.* 2011; 434:441-133.

Paula HAA, Abranches MV, Ferreira CLLF. Yacon (*Smallanthus sonchifolius*): a food with multiple functions. *Crit Rev Food SciNutr* 2014, in press.

Paula, H.A.A. (2013). Efeito de um produto à base de yacon (*Smallanthus sonchifolius*) na modulação de indicadores da saúde óssea em ratas wistar. Tese Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG.

Paula, H.A.A., Martins, J.F.L.; Sartori, S.S.R., Castro, A.S.B., Abranches, M.V., Rafael, V.C., Ferreira, C.L.L.F. (2012). The yacon product PBY: which is the best dose to evaluate the functionality of this new source of prebiotic fructans? In: Functional Foods Forum Probiotics, Turku. Finland.

Ramos MPP. Influência da ingestão de *Bifidobacterium breve* carreado no leite humano na modulação da microbiota intestinal, na histomorfometria do cólon, na produção de citocinas e de espécies reativas do oxigênio e do nitrogênio em modelo murino. 2006. 112 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Viçosa. 2006.

Rao DS, Mccracken KJ. Energy:protein interactions in growing boars of high genetic potential for lean growth. 1. Effects on growth, carcass characteristics and organ weights. Anim. Prod., 54:75-82, 1992.

Reeves P, Nielsen F, Fahey G. AIN-93 Purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Committee on the Reformulation of the AIN - 76 A Rodent Diet. JN 1993; 1939–1951-123.

Rémésy, C, Levrat MA, Gamet L, Demigné C. Cecal fermentations in rats fed oligosaccharides (inulin) are modulated by dietary calcium level. Am J Physiol. 1993, 855:862-264.

Roberfroid MB. Introducing inulin-type fructans. Br J Nutr 2005;13:25-56.

Rodrigues FCR, Castro ASB, Rodrigues VC, Fernandes SA, Fontes EAF, Oliveira TT, Martino HSD, Ferreira CLLF. Yacon Flour and *Bifidobacterium longum* modulate bone. Health in Rats. J Med Food 2012, 1-7.

Rodrigues, V.C. (2011). Formulação, índice glicêmico e aplicação alimentar de um produto à base de yacon (*Smallanthus sonchifolius*). Dissertação de Mestrado. Ciência e Tecnologia de Alimentos. Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade de Federal de Viçosa, Viçosa-MG, Brasil (Patentpending).

Sant' Anna MSL, Ferreira CLLF. Can intestinal constipation be modulated by prebiotics, probiotics and symbiotics? JFNS 2014; in press.

Sant'Anna MSL; Ferreira CLLF. Yacon (*Smallanthus sonchifolius*) no controle das doenças crônicas não-transmissíveis. NutriçãoBrasil 2013;310:314-12.

Tsukamoto T, Fukami H, Yamanaka S, Yamaguchi A, Nakanishi H, Sakai H, Aoki I, Tatematsu M. Hexosaminidase-altered aberrant crypts, carrying decreased hexosaminidase α and β subunit mRNAs, in colon of 1,2-dimethylhydrazine-treated rats. Jpn J Canc Res. 2001; 109:118-92.

Valentová K, Stejskal D, Bartek J, Dvorácková S, Kren V, Ulrichová J, Simánek V. Maca (*Lepidium meyenii*) and yacon (*Smallanthus sonchifolius*) in combination with silymarin as food supplements: in vivo safety assessment. Food Chem. Toxicol., 2008, 46:1006-1013.

Van Soest PJ. Nutritional ecology of the ruminant. 2. ed. Ithaca: Comstock Publishing Associates, 1994. 476 p.

Weaver CM, Martin R, Story JA, Hutchinson I, Sanders L. Novel Fibers Increase Bone Calcium Content and Strength beyond Efficiency of Large Intestine Fermentation. J Agric Food Chem 2010; 8952:8957-58.

Wehr E, Pilz S, Boehm BO, März W, Obermayer-Pietsch B. The lipid accumulation product is associated with increased mortality in normal weight postmenopausal women. Obesity 2011;1873-1880-19.

Yıldız, S. The Metabolism of Fructooligosaccharides and Fructooligosaccharide-Related Compounds in Plants. *Food Rev Int* 2011;16:50-27.

Yun EY, Kim HS, Kim YE, Kang MK, Ma JE, Lee GD, Hwang YS, Jeong YY. A Case of Anaphylaxis After the Ingestion of Yacon. *Allergy Asthma Immunol Res* 2010; 149:152-2.

Zhou JS, Shu Q, Rutherford KJ, Prasad J, Gopal PK, Gill HS. Safety assessment of potential probiotic lactic acid bacterial strains *Lactobacillus rhamnosus* HN001, *Lb. acidophilus* HN017, and *Bifidobacterium lactis* HN019 in BALB/c mice. *Int J Food Microbiol* 2000; 87:96-56.

Ziegler, T.R., Evans, M.E., Estívariz, C.F. & Jones, D.P. Trophic and cytoprotective nutrition for intestinal adaptation, mucosal repair, and barrier function. *Annual Review of Nutrition* 2003, 23, 229-261.

CAPITULO 3

O CONSUMO DE PRODUTO À BASE DE YACON (*SMALLANTHUS SONCHIFOLIUS*) AUMENTA GLUKAGON LIKE PEPTIDE-1 E DIMINUI O PESO CORPORAL DE RATAS *WISTAR* OVARIECTOMIZADAS

Resumo

A obesidade faz parte de uma série de comorbidades relacionadas à dieta, sendo também tendenciada pela menopausa. A raiz do yacon (*Smallanthus sonchifolius*) em função da rica concentração de fruto-oligossacarídeos tornou-se promissora na diminuição de riscos de várias dessas comorbidades, incluindo a obesidade. Os fruto-oligossacarídeo e a inulina têm sido classificados como prebióticos e estudos têm indicado a relação desses prebióticos na dieta com o aumento da saciedade e diminuição do risco de obesidade. O objetivo desse estudo foi avaliar o papel de um produto à base de yacon (PBY) no consumo alimentar e na modulação de medidas antropométricas e do mediador da saciedade *Glucagon Like Peptide-1*(GLP-1) em ratas *wistar* ovariectomizadas (OVX). Analisou-se o consumo alimentar pela pesagem diária de sobra de dieta, determinou-se a porcentagem de gordura corporal pelo índice de LEE (Novelli; Diniz et al., 2007), e obteve-se o peso, o índice de massa corporal (IMC) e a circunferência abdominal. Fragmentos do ceco foram utilizados

para imunomarcção de GLP-1, das ratas OVX, após serem alimentadas por 24 semanas com dieta padrão adicionadas ou não de 6 % de FOS/inulina originados do PBY. Observou-se diminuição da circunferência abdominal ($p=0,2173$), de IMC ($p=0,3822$) e de percentual de gordura corporal ($p=0,3528$) em animais que receberam PBY durante as 24 semanas. Nesse grupo, a quantidade de células imunomarcadas à *GLP-1* aumentou ($p<0,0001$), os animais aumentaram o consumo alimentar ($p=0,0064$) e, paradoxalmente, tiveram menor ganho de peso ($p< 0,0001$), o que pode estar associado ao fato de que as fibras diminuem a eficiência de absorção de lipídeos aos longo do intestino delgado, diminuindo a assimilação calórica de nutrientes. Esse fenômeno demonstra que o PBY possui potencial para modulação da obesidade e, portanto, para melhoria da qualidade de vida de mulheres na menopausa.

Palavra chave: yacon, avaliação antropométrica, consumo alimentar, *Glukagon Like Peptide-1*.

1. Introdução

A crescente preocupação da população com a saúde tem resultado numa maior demanda por alimentos funcionais, assim como no aumento de pesquisas com o intuito de elucidar os benefícios proporcionados pelas substâncias bioativas presentes nesses alimentos (Antunes et al., 2007; Murador e Rosso, 2013). Tais alimentos tem sido usados como parte de uma dieta normal que, além de suas funções nutritivas básicas, proporcionam benefícios fisiológicos e/ou reduz o risco de doenças crônicas não transmissíveis (FAO, 2007; Ferreira, 2012).

Dentre os alimentos funcionais tem-se destacado a raiz do Yacon (*Smallanthus sonchifolius*) pelo seu alto teor de frutanos, nomeadamente fruto-oligossacarídeos (FOS) e inulina, o que lhe confere propriedades funcionais diversas (Geyer et al., 2008; Ojansivu et al., 2011; Sant'Anna; Ferreira, 2013), incluindo a modulação da obesidade (Genta et al.; 2009).

Considerada um grande problema de saúde pública, a obesidade apresenta-se como sendo uma doença de origem multifatorial, que afeta e

traz implicações para uma significativa parcela da população mundial. Além disso, representa um dos maiores fatores de risco para doenças cardiovasculares e diabetes (Alves et al., 2007; Pitanga et al., 2011).

Obesidade é uma doença crônica caracterizada pelo excesso de tecido adiposo no organismo (Kopelman, 2000), sendo uma comorbidade comum em mulheres no período da menopausa, em função do hipoestrogenismo (Silva; Sá, 2012). Além do característico acúmulo progressivo da gordura abdominal, o estabelecimento da obesidade está relacionado ao surgimento de outras comorbidades (Marques, 2010; Freitas e Xavier, 2011), como diabetes mellitus tipo 2 (DM2), apneia do sono, dislipidemia, hipertensão arterial sistêmica (HAS), osteoartrite e câncer (ABESO, 2010).

A raiz do yacon é um alimento altamente perecível e para contornar essa característica vislumbrou-se a elaboração de um produto que garantisse acesso a essa rica fonte de FOS/Inulina durante todo o ano. Assim, a raiz foi processada gerando um produto à base de yacon (PBY) com maior vida de prateleira e elevado teor de FOS/Inulina (19 g/100 gramas do produto) (Sant' Anna, 2013). O PBY mostrou-se efetivo na saúde óssea (Rodrigues et al.; 2012), combate à constipação intestinal (CI) (Sant'Anna; Ferreira, 2014) e modulação no índice glicêmico (Rodrigues et al.; 2011a). No presente estudo avaliou-se o papel do produto elaborado a partir da raiz do yacon processada (PBY), fonte de FOS/inulina, na modulação de alterações antropométricas decorrentes da menopausa, bem como sua ação no consumo alimentar, e nos níveis de *GLP-1*, mediador da saciedade.

2. TESTE DA TERCEIRA HIPÓTESE EXPERIMENTAL (III)⁴

IV) A dieta teste fornece os nutrientes necessários para o crescimento das ratas *Wistar*, estimula *Glucagon Like Peptide-1* (GLP-1) e promove a saciedade, resultando em diminuição do peso corpóreo e da circunferência da cintura, principalmente, em ratas ovariectomizadas.

Para teste da hipótese acima, perseguiram-se os seguintes objetivos:

- Monitorar o peso das ratas *Wistar* ovariectomizadas;
- Determinar o Coeficiente de Eficiência Alimentar (CEA);
- Determinar a concentração de fruto-oligossacarídeos (FOS) e inulina presentes na raiz de yacon e no PBY;
- Determinar a composição química e valor calórico das dietas e do PBY;
- Realizar imunomarcagem de *GLP-1* no Ceco;
- Avaliar o Índice de Massa Corpórea (IMC), o Percentual de Gordura Corporal e a Circunferência da Cintura.

⁴ Para maiores informações, vide Introdução, item 12, página 28.

3. MATERIAL E MÉTODOS

A experimentação foi desenvolvida nos Laboratórios de Frutas e Hortaliças do Departamento de Tecnologia de Alimentos, de Nutrição Experimental do Departamento de Nutrição e Saúde, de Tecnologia e Propriedade da Madeira do Departamento de Engenharia Florestal, de Morfofisiologia do Departamento de Biologia Animal e no laboratório de histologia do Departamento de Biologia Geral da Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Animais, da UFV – MG (Parecer nº55/2011).

3.1. Composição química do produto à base de yacon (PBY)

As análises de composição centesimal do PBY foram conduzidas conforme protocolos oficiais para umidade, determinada em estufa a 105°C até peso constante; para teor de proteínas, utilizando-se o método de Kjeldahl (AOAC, 1998); para o teor de lipídeos, pelo método de Soxhlet (AOAC, 1998); e de cinzas, por processo gravimétrico, utilizando-se a carbonização das amostras, seguida de incineração em mufla a 550 °C até peso constante. O teor de fibra alimentar solúvel (FAS) e fibra alimentar insolúvel (FAI) foram quantificados conforme o método enzimático-gravimétrico utilizando-se o kit enzimático específico (AOAC, 1997).

Oligofrutanos (FOS e inulina) foram determinados por meio de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) conforme descrição de Kaneko et al. (1990), utilizando coluna BIO-RAD HPX 87P (fase estacionária

de chumbo), e água purificada como fase móvel. As amostras foram diluídas (1 g em 100 mL de água destilada), centrifugadas a $11.269 \times g$, e, em seguida, filtradas através de uma membrana de decafluoreto (PVDF) da polivinil Millipore com 0,22 μm de porosidade e 13 mm de diâmetro. As amostras foram injetadas em cromatógrafo de alta eficiência (CLAE) (Varian, ProStar 410 HPLC Auto Sampler; Varian Inc, USA) com detector de índice de refração e injetor automático, com as seguintes condições de operação: taxa de fluxo de $0,6 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ e temperatura de coluna 85°C .

3.2. Medição de Calorimetria (Poder Calorífico) da dieta

Amostras das dietas foram submetidas à secagem para retirada da umidade a 70°C em estufa (Fanem[®], modelo 315SE, São Paulo) por 24 horas, seguindo-se a maceração e peneiramento. A fração para análise foi a que ultrapassou a peneira de MESH/TYLER 40, e a fração (resíduo) que ficou retida na peneira de MESH/TYLER 60 foi descartada. Após esse procedimento, a amostra foi submetida ao Calorímetro Adiabático C-5000 (IKA[®], São Paulo) para leitura do poder calorífico.

3.3. Origem e manutenção dos animais

Foram utilizadas 40 ratas (*Rattus norvegicus*, variedade *albinus*, classe *Rodentia*), recém-desmamadas (28 dias), da raça *Wistar*, provenientes do Biotério Central do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal de Viçosa. Foram mantidas no Laboratório de Nutrição experimental em gaiolas individuais de aço inoxidável à $22\pm 2^\circ \text{C}$ e luz controladas (fotoperíodo de 12 horas), e recebendo água *ad libitum*. Os animais foram dispostos em diferentes grupos experimentais, e receberam dietas purificadas e manipuladas, acrescidas de quantidades de PBY suficientes para fornecer uma dose de 6 % de FOS/inulina. Na primeira fase do estudo (duração de 12 semanas) os animais receberam dieta de crescimento purificada manipulada (AIN-93G- Tabela 1) e na segunda fase (duração de 8 semanas) foi administrada a dieta de manutenção purificada manipulada (AIN-93 M – Tabela 2) (REEVES et al., 1993).

Tabela 1. Composição das dietas administradas na fase de crescimento (12 semanas).

Ingredientes	Dieta Controle (%)	Dieta Teste (Suplementada com 6% de FOS) (%)
Caseína	20,00	20,00
Amido Dextrinizado	13,20	-
Sacarose	10,00	-
Óleo de Soja	7,00	7,00
Fibra (Celulose microfina)	5,00	3,02
Mistura de Minerais (AIN 93G)	3,50	3,50
Mistura de Vitaminas	1,00	1,00
L-Cistina	0,3	0,30
Bitartarato de Colina	0,25	0,25
Amido de Milho	39,75	-
Produto à base de yacon (PBY)	-	64,93
Total	100,00	100,00

Fonte: adaptado de Reeves et al., 1993. Composição da raiz do yacon processada (PBY) (g/100g) de FOS/inulina: 9,24%; sacarose: 10,08%; frutose: 12,60%; glicose: 9,40%; proteína: 0,32%; umidade: 60,66%; cinzas: 0,51%; lipídios: 0% os teores de açúcares livres presentes no PBY adicionado à formulação foram descontados da sacarose, maltodextrina e amido de milho, para manutenção da proporção preconizada pela AIN-93G. Densidade Calórica dieta controle: 385,28 kcal. Densidade Calórica dieta teste: 367,29 Kcal.

Tabela 2. Composição das dietas administradas na fase de manutenção (8 semanas)

Ingredientes	Dieta Controle (%)	Dieta Teste (Suplementada com 6% de FOS) (%)
Caseína	14,00	14,00
Amido Dextrinizado	15,50	-
Sacarose	10,00	-
Óleo de Soja	4,00	4,00
Fibra (Celulose microfina)	5,00	5,00
Mistura de Minerais (AIN 93G)	3,50	3,50
Mistura de Vitaminas	1,00	1,00
L-Cistina	0,18	0,18
Bitartarato de Colina	0,25	0,25
Amido de Milho	46,57	39,68
Produto à base de yacon (PBY)	-	32,39
Total	100,00	100,00

Fonte: adaptado de Reeves et al., 1993. Composição da raiz do yacon processada (PBY) (g/100g) de FOS/inulina: 18,52%; sacarose: 13,19%; glicose: 6,09%; proteína: 1,51%; umidade: 55,11%; cinzas: 4,72%; lipídios: 0%. Os teores de açúcares livres presentes no PBY adicionado à formulação foram descontados da sacarose, maltodextrina e amido de milho, para manutenção da proporção preconizada pela AIN-93M. Densidade Calórica dieta controle: 385,28 kcal. Densidade Calórica dieta teste: 367,29 Kcal

2.4. Delineamento Experimental

O estudo foi realizado de acordo com o delineamento experimental indicado na Figura 1.

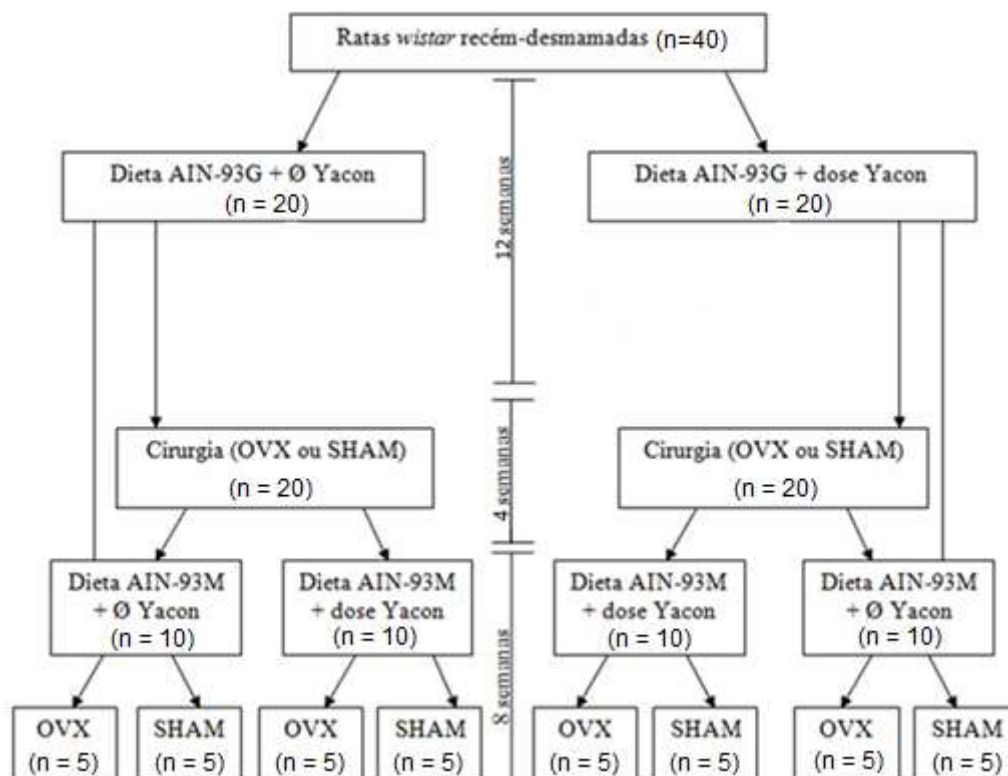


Figura 1 – Organograma do experimento com todos os animais

A princípio, as ratas foram divididas em dois grupos por delineamento inteiramente casualizado (DIC), sendo um grupo teste (n=20) e um grupo controle (n=20), e foram acompanhadas durante 24 semanas de experimento.

Durante 12 semanas, foi administrada aos animais a dieta de crescimento AIN-93G com ou sem PBY. Após esse período, os animais foram submetidos ao procedimento cirúrgico para retirada de ovário (ovariectomia - OVX) ou submetidos à simulação de retirada do órgão (celiotomia - SHAM), e na sequência houve um “Wash out” de quatro semanas para recuperação. Esse procedimento de OVX foi realizado para simulação da menopausa, visando a avaliação da tendência ao ganho de peso, à dislipidemia e do risco de doença cardiovascular após menopausa. Após a recuperação da cirurgia, os animais

foram alocados em oito grupos (n=5), totalizando 40 unidades experimentais, conforme a Figura 1. Ao final do experimento, os animais foram eutanasiados por uma overdose de dióxido de carbono (Mezadri et al., 2004) para realização das análises subsequentes. Os possíveis efeitos tóxicos do uso do PBY foram analisados nos animais que receberam o produto durante todo o período experimental.

Os resultados de ratas celiotomizadas (SHAM) foram utilizados somente para controle da cirurgia, sendo os dados expostos em anexo. Para efeito de discussão, utilizou-se somente os grupos OVX, totalizando 20 unidades experimentais alocados em quatro grupos (n=5), conforme delineamento da Figura 2.

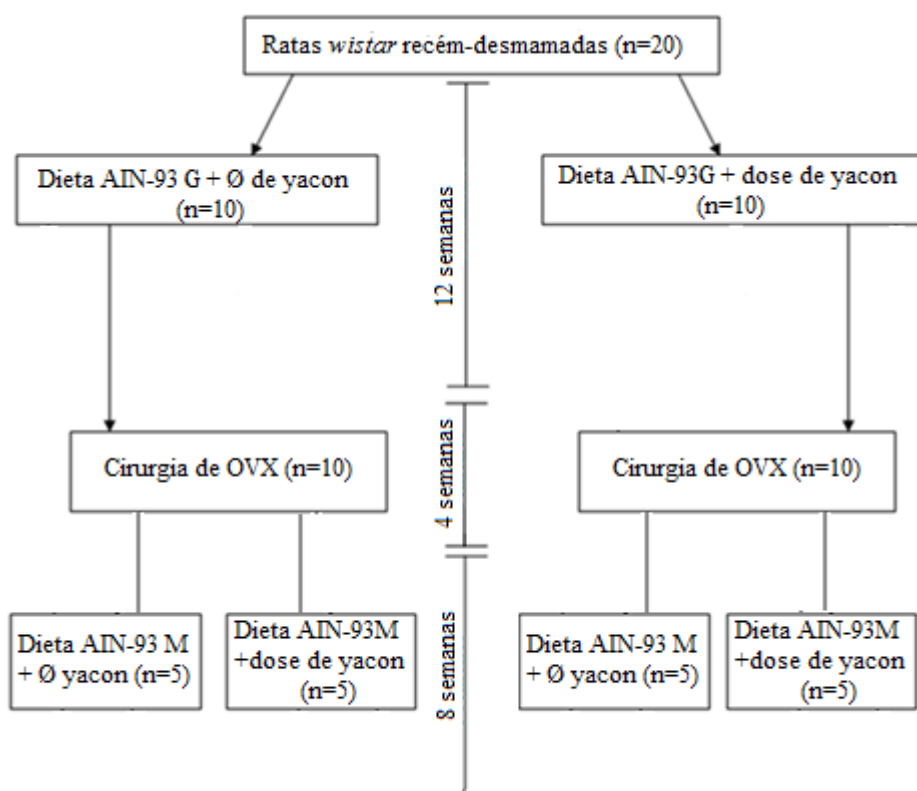


Figura 2 – Organograma do experimento com as ratas ovariectomizadas (OVX).

3.4 Cirurgia de Ovariectomia ou Celiotomia

Ao atingir a fase adulta, metade dos animais foi submetido à ovariectomia bilateral (OVX), e a outra metade à cirurgia de celiotomia (SHAM), ou falsa

ovariectomia, para simular o efeito do estresse cirúrgico, conforme descrição no capítulo 1, item 3.4.

3.5. Avaliação do Tecido Adiposo Visceral (TAV) e avaliações murinométricas

Os pesos dos animais e o consumo alimentar foram monitorados diariamente. O ganho de peso corporal foi determinado pela diferença entre os pesos do dia da eutanásia e do primeiro dia do experimento. Foi calculado o coeficiente de eficiência alimentar (CEA) por porcentagem, de acordo com a fórmula: $CEA\% = \text{ganho de peso (g)} / \text{consumo alimentar (g)} \times 100$. O índice de massa corporal (IMC) foi determinado de acordo com Novelli et al. (2007), sendo calculado segundo a fórmula: $IMC = \text{peso (g)} / \text{comprimento (cm)}^2$, em que o comprimento é a medida nasoanal. Para avaliação da gordura corporal utilizou-se o índice de LEE (Bernardis; Patterson, 1968), segundo a fórmula: $[\text{peso corporal (g)}]^{1/3} / \text{comprimento nasoanal (cm)}$. Também foi realizada a avaliação da circunferência da cintura (Novelli et al., 2007).

3.6 Imunomarcção de *Glukagon Like peptide 1* (GLP-1)

As lâminas, contendo cortes do ceco inicial, medial e final em parafina, com 5 µm de espessura, foram submetidas à técnica de imunohistoquímica da Peroxidase-anti-peroxidase (PAP) (Sternberger et al.; 1970), utilizando-se soro monoclonal de coelho anti-GLP-1, para marcação desse mediador no tecido. A imunomarcção do *GLP-1* foi realizada de acordo com protocolos em uso no laboratório de Histologia do Departamento de Biologia da UFV, pela técnica de imunohistoquímica da Peroxidase-anti-peroxidase (PAP), utilizando soro monoclonal de coelho anti *GLP-1*.

Para revelação da marcação, os cortes foram cobertos com solução de cromógeno 3,3'diaminobenzidina (DAB líquido), e para contracoloração os cortes foram imersos em hematoxilina de Harris diluída por 20 segundos. Posteriormente, as lâminas foram lavadas, desidratadas e montadas em resina Entellan® (Merck, Alemanha) (Bancroft e Stevens, 1996).

As imagens histológicas foram obtidas por meio de microscópio de luz Olympus AX 70, equipado com acessório fotográfico U-PHOTO (Olympus), acoplado a um sistema computadorizado (programa SPOT, versão 3.5.9 para

Windows). Foram obtidas um total de 1200 imagens (dimensões 1596x1196pxls) para contagem de células imunomarcadas à *GLP-1*.

3.7. Análise estatística

Para análise dos dados foi utilizado o programa *Statistical Analysis Systems* (SAS) versão 9.2, licenciado pela Universidade Federal de Viçosa. Para rejeição da hipótese de nulidade foi adotado como nível de significância estatística $p < 0,05$ para todas as comparações entre os tratamentos.

Os dados foram agrupados em Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC). Foi aplicada a análise de variância (ANOVA) e para comparações *post hoc* foi adotado o teste de Duncan em análises paramétricas (Callegari-Jacques, 2006; Pagano e Gauvreau, 2008).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

No presente estudo, o PBY foi produzido em duas bateladas, na primeira foi encontrado um teor de 9,24 g 100g⁻¹ de FOS/Inulina, e na segunda 18,52 g 100g⁻¹ de FOS/Inulina. Tal resultado foi inferior ao encontrado por Rodrigues et al. (2012) e Genta et al. (2005) que obtiveram 25,7 g 100g⁻¹ e 44,2 g 100 g⁻¹, respectivamente. No presente estudo, um dos valores encontrados foi superior ao valor encontrado por Sant' Anna (2013), que encontrou um teor de 14,54 g 100g⁻¹, e próximo ao teor encontrado por Vasconcelos et al. (2010), que encontraram 19,4 g 100g⁻¹. Estas variações de oligofrutos podem ser decorrentes do período de cultivo e da colheita, do tempo de armazenamento e das condições de estocagem. Essas variações devem ser levadas em consideração para elaboração do produto, em relação ao período de colheita e armazenamento e evitando a degradação do FOS/Inulina e garantindo a elaboração de um produto com teores elevados desses componentes.

Os resultados de ganho de peso total, contagem de células imunomarcadas à *Glukagon Like Peptide-1* (GLP-1), consumo alimentar total e coeficiente de eficiência alimentar estão dispostos na tabela 3.

Tabela 3- Valores médios (n=5) de Ganho de peso (GP), contagem de células imunorreativa à *Glukagon Like Peptide-1* (GLP-1), consumo alimentar (CA) e Coeficiente de Eficiência Alimentar (CEA), em ratas ovariectomizadas alimentadas com dieta controle e ou dieta teste durante 24 semanas.

Variáveis	Grupos				P valor
	G1	G2	G3	G4	
	Média/DP				
GP (gramas)	238,60±18,73 ^a	230,60±10,61 ^a	244,40±15,16 ^a	181,20±14,84 ^b	<.0001
GLP-1(média/campo)	0,87±0,24 ^a	2,94±0,31 ^b	1,14±0,63 ^a	3,53±0,06 ^c	<.0001
CA (gramas)	387,22±24,63 ^b	414,40±16,93 ^{a,b}	451,76±27,70 ^a	444,72±26,76 ^a	0.0064
CEA (%)	0,62±0,03 ^a	0,56±0,01 ^b	0,54±0,04 ^b	0,41±0,05 ^c	<.0001

Médias seguidas de letras iguais, em linha, não diferem entre si ao nível de 5% pelo teste de Duncan. G1: Recebeu dieta controle – OVX – continuou recebendo dieta controle. G2: Recebeu dieta controle – OVX – passou a receber dieta yacon. G3: Recebeu dieta yacon – OVX – passou a receber dieta controle. G4: Recebeu dieta yacon – OVX - continuou recebendo dieta yacon

Os animais que receberam dieta suplementada com PBY, durante todo o experimento (G4), apresentaram o menor ganho de peso ($p < 0,0001$) mesmo consumindo mais dieta ($p = 0,0064$), o que sugere que tal produto apresenta potencial de diminuir risco da obesidade. Pode-se, portanto, sugerir que a inclusão do produto a base de yacon na dieta antes da menopausa, e a manutenção desse hábito alimentar durante essa fase, diminui o risco do estabelecimento da obesidade, tendenciada pela hipoestrogenia resultante da menopausa.

E mais, mesmo a dieta teste (suplementada com PBY) tendo sido mais consumida ($p = 0,0064$) que a dieta controle, o ganho de peso do grupo de maior consumo foi significativamente menor ($p < 0,0001$) (Tabela 3). Nesse contexto, um grupo que merece destaque é o grupo G4, que correspondeu ao grupo de menor peso mesmo tendo consumido mais dieta comparado ao grupo G1 (Tabela 3). Paula (2013) sugere que a grande presença de fibras na dieta contendo PBY, pode ter diminuído seu valor calórico, o que pode ter induzido ao maior consumo. Ainda assim, esse resultado é promissor uma vez que um maior consumo não resultou em aumento proporcional no ganho de peso.

Seguindo as recomendações de Roberfroid; Gibson e Delzenne (1993) para cálculo do teor calórico das dietas, a dieta teste, do presente estudo, foi computada com 367,29 Kcal/100g, apresentando menor teor calórico que a dieta controle com 385,28 Kcal/100 g. Esses valores calculados são menores, porém, proporcionais àqueles encontrados na análise de calorimetria, no qual

demonstrou que essa mesma dieta teste também apresentou menor caloria (407,5 Kcal/100g) comparada à dieta controle (442,9 kcal/100g). Em um primeiro instante, pode-se remeter a desaceleração no ganho de peso ao alto teor de fibras, como citado por Paula (2013), a qual, conseqüentemente, pode diminuir a densidade energética. Esse fato reforçaria a situação dos ratos ingerirem mais dieta teste e ganharem menos peso, resultado esse de grande relevância, pois determinaria a perda de peso, e, conseqüentemente, a diminuição das comorbidades relacionadas.

Ademais, mesmo a dieta teste apresentando menor valor calórico, a quantidade ingerida resulta em ingestão de mais calorias, ou seja, ingerindo-se 18,4 g de dieta controle (G1) resulta em uma ingestão de aproximadamente 71 kcal, ao passo que ingerindo 21,2 g de dieta teste (G4) resulta na ingestão de aproximadamente 78 kcal. Com esses dados, sugere-se que a relação estabelecida entre a maior ingestão de calorias e maior consumo da dieta, tendo como resultado um menor ganho de peso, pode estar ligado ao fato das fibras diminuírem a eficiência de absorção de lipídeos ao longo do intestino delgado, o que, conseqüentemente, diminui a assimilação calórica dos nutrientes (Rolls; 2000). Acredita-se também que os ácidos orgânicos, em especial o butirato, age na modulação do metabolismo de macronutrientes, mais especificamente de carboidrato e lipídeos, levando à redução do ganho de peso. Entretanto, este mecanismo não está totalmente elucidado (Mahan & Escott-Stump, 2005).

Ocorreu um aumento na contagem de células imunorreativas à *GLP-1* nos grupos que receberam PBY, em especial no grupo que recebeu PBY durante todo experimento (G4) (Tabela 1). De acordo com Drucker (2001), o aumento dos níveis de *GLP-1* pode promover a saciedade, entretanto, paradoxalmente, ocorreu maior consumo alimentar alimentos nos grupos que apresentaram maior contagem de *GLP-1*, embora com diminuição de ganho de peso ($p < 0,0001$). Acredita-se que esse fenômeno possa reforçar a hipótese de Rolls (2000), de que a desaceleração no ganho de peso pode ser em decorrência da menor assimilação calórica de nutriente proporcionada por alimentos com alta ingestão de fibras.

Ainda em relação ao consumo alimentar apresentado, acredita-se que a melhor palatabilidade do PBY pode ter influenciado no aumento do consumo,

que segundo Bion et al. (1997), a palatabilidade é um fator de grande influência na ingestão de dietas pelos animais de laboratório.

Observa-se também na Tabela 1 que os grupos que receberam dieta suplementada com PBY, continuamente, apresentaram menor coeficiente de eficiência alimentar (CEA), e demonstrando que a capacidade de ganho de peso foi menor em função da ingestão da dieta contendo PBY. O CEA analisa a capacidade dos animais perderem ou ganharem peso quando submetidos a diferentes dietas (análise global ou específica de nutrientes). Sendo assim, levando em consideração em mulheres na menopausa, ou em ratas OVX, há tendência ao aumento da gordura corporal e ganho de peso localizado na região abdominal, essa diminuição de ganho de peso nos animais tratados com PBY pode ser considerada benéfica.

Sant'anna (2013), ao avaliar a adição de PBY na dieta e na modulação da constipação intestinal, e Rodrigues et al. (2012), ao avaliarem a modulação na absorção de cálcio por meio da suplementação da dieta com farinha de Yacon, nas concentrações de 4 % e 8 %, não encontraram diferença significativa no peso, consumo alimentar e no coeficiente de eficiência alimentar. Entretanto, ambos os estudos foram realizados por 28 dias, ao passo que o presente estudo computou 24 semanas de experimento. Esse fato pode ter influenciado nos resultados, pois na presente pesquisa, a suplementação da dieta com PBY foi realizada por um período longo, que representou 14 % de toda a vida do animal, considerando que os ratos de laboratório vivem em média 3 anos. Extrapolando esse tempo para os humanos, representaria o consumo do PBY por um período de 15 anos, ao passo que nos trabalhos citados anteriormente, representou apenas 2,6 % da vida do animal, e apenas 2 anos e 3 meses de vida do ser humano (Andreollo et al., 2012).

Esses resultados são de extrema importância como indicador para estudos clínicos, uma vez que um alimento funcional agindo na prevenção, ou até mesmo, na modulação da tendência à obesidade é fundamental, principalmente, pela possibilidade de atuação como adjunto aos tratamentos já existentes, como reeducação alimentar e prática de exercícios físicos. A modulação da obesidade pode diminuir o risco de DM2 (WHO, 2003, ABESO, 2009; ADA, 2010), HAS (Chobanian et al.; 2003; ABESO 2009; ADA, 2010), e dislipidemias (ABESO, 2009; ADA, 2010) distúrbios comuns na menopausa. A

dislipidemia, por sua vez, é um importante fator de risco para o desenvolvimento de doenças coronarianas, com conseqüente redução na qualidade de vida (Lima, 2009).

Na figura 2 encontram-se dispostos os IMC (índice de massa corporal).

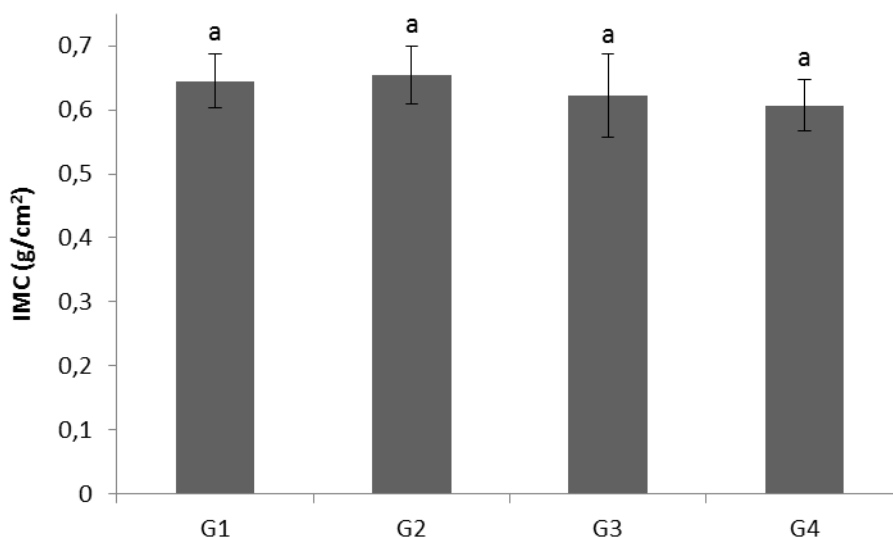


Figura 2 – Índice de massa corporal (IMC) de ratas ovariectomizadas (OVX) de ratas que receberam dieta controle/dieta yacon (6 % FOS/Inulina), durante 24 semanas, e estão delineadas em diferentes grupos experimentais. G1: dieta controle – OVX – dieta controle. G2: controle – OVX –dieta yacon. G3: dieta yacon – OVX –dieta controle. G4: dieta yacon – OVX -dieta yacon.

A tendência à diminuição do IMC no grupo G4 ($p=0,3822$) demonstra, em termos desse índice, a importância do uso do PBY (Figura 2). Nesse grupo, após OVX (simulação da menopausa), ao invés do acúmulo de gordura corporal e aumento do peso, houve tendência a queda do IMC. Esse resultado reforça a importância do uso do PBY na modulação da obesidade, em especial na menopausa em virtude da sua tendência ao acúmulo de gordura.

Segundo Duarte; Reis (2012), em idosos, o IMC tende a ter um acréscimo em torno de $1,5 \text{ kg/m}^2$ em homens e $2,5 \text{ kg/m}^2$ em mulheres. Em estudos realizados em países desenvolvidos, com indivíduos adultos, de ambos os sexos, foram verificadas correlações entre IMC e indicadores murinométricos de gordura não visceral e de gordura abdominal, bem como relação direta entre IMC com a massa de gordura corporal total (Navarro; Marchini, 2000). Segundo Calle et al. (1997); Flegal et al. (2005), o índice de massa corporal (IMC) está

associado com doenças cardiovasculares, tanto em homens quanto em mulheres. De forma similar, Novelli et al. (2007) defendem que o IMC também pode ser usado como um instrumento de avaliação da gordura corporal em ratos, bem como um indicador de alterações lipídêmicas. Então, alternativas que resultem em uma diminuição desse parâmetro, são de grande valia, pois pode prevenir consequências graves a longo prazo.

Na figura 3 encontram-se dispostas as circunferências de cintura dos animais.

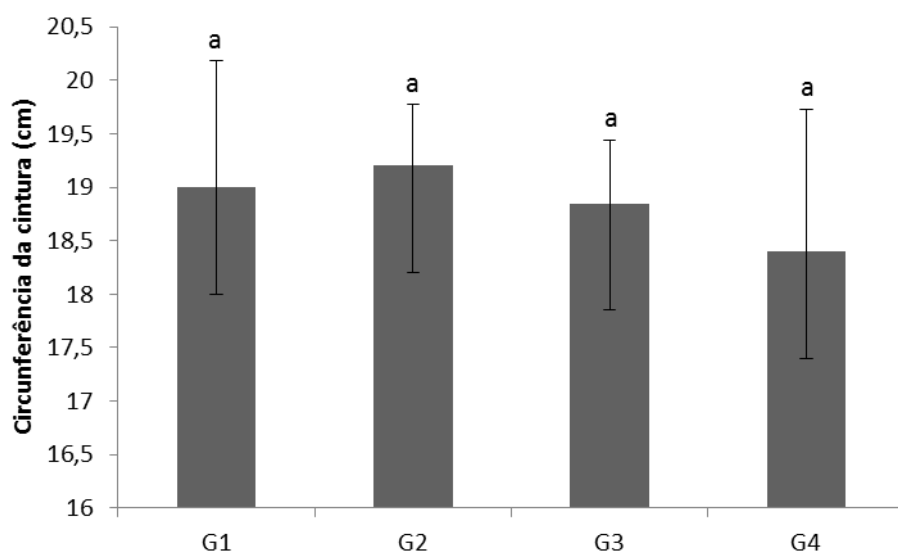


Figura 3 – Circunferência de ratas OVX (ovarioectomizados) que receberam dieta controle/dieta yacon (6 % FOS/Inulina), durante 24 semanas, e estão delineadas em diferentes grupos experimentais. G1: dieta controle – OVX – dieta controle. G2: controle – OVX –dieta yacon. G3: dieta yacon – OVX –dieta controle. G4: dieta yacon – OVX - dieta yacon.

No presente estudo, ocorre tendência ao aumento da gordura abdominal pós-cirurgia de ovariectomia (OVX), isso é possível ser verificado ao comparar com os dados de ratas celiotomizadas (Anexo 2). Esses resultados corroboram aos de Franco (2009) o qual ao avaliar o efeito da cafeína e exercício físico em ratas ovariectomizadas observou que após a retirada do ovário ocorre um aumento significativo da circunferência abdominal.

Na figura 3, observa-se uma tendência a menor circunferência no grupo G4 quando comparado aos demais grupos ($p=0,2173$), em função do uso da dieta suplementada com PBY, durante todo o experimento. Vale lembrar que a OVX simula o que ocorre com mulheres na menopausa, do qual, muitas vezes,

determina a deposição de gordura abdominal (Franco, 2009). Por isso, uma redução nesse parâmetro evidencia a importância da ingestão de PBY, e mais especificamente, do uso de forma contínua para potencializar seus resultados.

Vale ressaltar que, conforme o estudo *International Day for the Evaluation of Abdominal Obesity* – IDEA (Balkau; Deanfield; Haffner, 2007) o tecido adiposo na região abdominal é um excelente indicativo para risco de doenças crônicas, entre elas, a hipertensão arterial sistêmica (HAS) e a diabetes mellitus tipo 2 (DM2), o que resulta na menor qualidade de vida e maior gasto governamental. O presente estudo, promovendo essa diminuição torna-se de grande relevância, pois diminui o risco dessas enfermidades.

Na figura 4 encontram-se dispostas as porcentagens de gordura corporal.

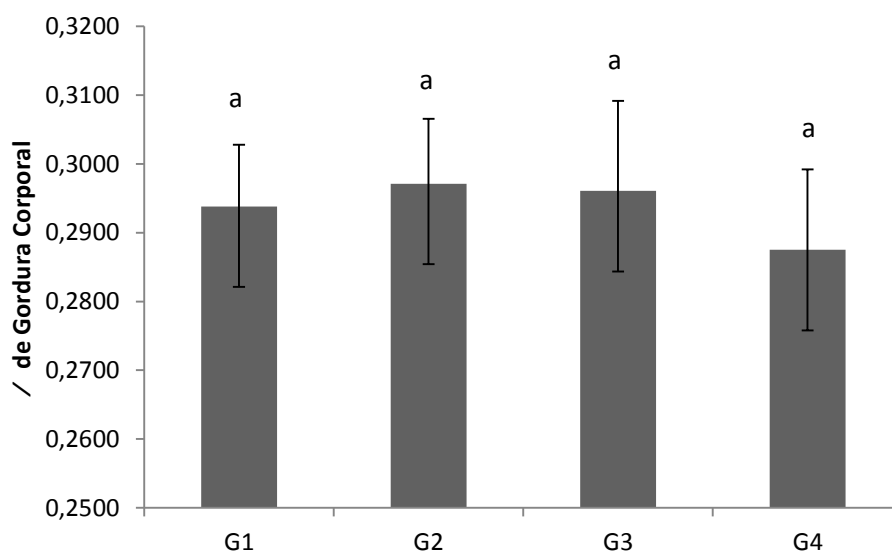


Figura 4 – Percentual de Gordura Corporal de ratas OVX (ovarioectomizados) que receberam dieta controle/dieta yacon (6 % FOS/Inulina), durante 24 semanas, e estão delineadas em diferentes grupos experimentais: G1: dieta controle – OVX – dieta controle. G2: controle – OVX – dieta yacon. G3: dieta yacon – OVX –dieta controle. G4: dieta yacon – OVX - dieta yacon.

O percentual de gordura corporal apresentado na Figura 4 demonstrou tendência a uma queda no grupo que recebeu dieta suplementada com PBY durante todo período experimental ($p=0,3528$), demonstrando novamente a importância do efeito do uso do PBY em uso contínuo. Esse resultado de modulação da gordura corporal é relevante, pois com a menopausa, ocorre a maior deposição de gordura, resultando em maior ganho de peso, e essa

deposição de gordura na região abdominal resulta no maior risco de doença cardiovascular, menor qualidade de vida e maior gasto governamental.

Segundo Bernardis e Patterson 1968, o índice de Lee sendo maior que 0,3 pode ser usado como indicador do excesso de gordura corporal. Assim, ao observar a Figura 4, verifica-se que o percentual de gordura corporal de todos os grupos estão dentro do recomendado, sendo no grupo G4 ligeiramente menor, o que é um fator benéfico.

4.CONCLUSÕES

Observou-se diminuição do ganho de peso e tendência à diminuição de circunferência abdominal, de IMC e de percentual de gordura corporal em animais que receberam PBY continuamente, ou seja, antes e após o procedimento cirúrgico, demonstrando o potencial desse alimento na modulação da obesidade, sugerindo-se que o hábito de consumo do yacon continuamente tem potencial para diminuir os riscos de estabelecimento de obesidade e, portanto, melhoria da qualidade de vida.

Observou-se aumento de *GLP-1*, principalmente no grupo que recebeu PBY durante todo experimento esse resultado é relevante, pois o *GLP-1* está intimamente ligado ao controle de peso e à modulação da diabetes mellitus tipo 2 (DM2).

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A ingestão de 6 % de FOS/Inulina de produto a base de yacon durante 24 semanas, não afetou negativamente os marcadores hepáticos e as variáveis histomorfométricas e nem na morfometria do ceco, cólon e íleo, portanto, não prejudicou o fígado no desempenho de suas funções, sendo esses indicativos de grande importância considerando o longo período de estudo.

A ingestão contínua da dose de 6% de FOS/Inulina do PBY afetou positivamente as variáveis antropométricas, ou seja, após OVX, observou-se diminuição do ganho de peso, de circunferência abdominal, de IMC e de percentual de gordura corporal em animais que receberam PBY continuamente, demonstrando o potencial desse alimento na modulação da obesidade, sugerindo-se que o hábito de consumo do yacon continuamente tem potencial para diminuir os riscos de estabelecimento de obesidade após menopausa e, portanto, melhoria da qualidade de vida. Também a ingestão contínua de PBY aumentou os níveis de *GLP-1*, sendo esse resultado relevante, pois o *GLP-1* está intimamente ligado ao controle de peso e à modulação da diabetes mellitus tipo 2 (DM2), ambas comorbidades comuns da menopausa.

A modulação da microbiota do ceco, do perfil de ácidos graxos, do perfil glicêmico sugere a importância do uso contínuo do PBY, sobretudo em mulheres na menopausa em função da tendência ao diabetes mellitus 2 e a dislipidemias. Assim é possível aumentar a qualidade de vida na longevidade.

Embora se tenha alguns estudos sobre yacon, estudos desse cunho ainda são escassos, sendo necessário incentivo a novas pesquisas para que

haja incentivo ao consumo da raiz de yacon ou de produtos à base de yacon visto que o mesmo promove comprovado cientificamente uma série de efeitos benéficos.

Os resultados apresentados são promissores, uma vez que a diminuição de parâmetros tão importantes e associados a risco de DCNT pode diminuir gastos governamentais, bem como melhorar a qualidade de vida das mulheres na menopausa.

6. REFERÊNCIA

Aarsland A, Chinkes D, Wolfe RR. Contributions of de novo synthesis of fatty acids to total VLDL-triglyceride secretion during prolonged hyperglycemia/insulinemia in normal man. *J Clin Invest*. 1996, 98 (9), 2008-2017.

ADA - American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes. *Diabetes Care* 2010, 33(Suppl 1):S11-S61.

Alves C, Andion J, Brandão M, Menezes R. Mecanismos patogênicos da doença periodontal associada ao diabetes melito. *Arq Bras End & Met* 2007, 51 (7): 1050-1057.

Andreollo NA, Santos EF, Araújo MR, Lopes LR. Idade dos ratos versus idade humana: qual é a relação? *Arq Bras Cir Dig*, 2012 25: (1): 49-51.

Antunes AEC, Marasca ETG, Moreno I, Dourado FM, Rodrigues LG, Lerayer ALS. Desenvolvimento de *buttermilk* probiótico RVCTA 2007, 27(1): 83-90.

Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica (ABESO). Diretrizes Brasileiras de Obesidade da Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica. São Paulo: Mazza; 2009.

Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica ABESO/SBEM. Atualização das diretrizes oficiais para tratamento farmacológico da obesidade e sobrepeso. Posicionamento Oficial da ABESO/SBEM, 2010.

Association Official Analytical Chemists - AOAC. Official Methods of Analysis, Washington, DC; 18th ed., 1998.

Association Official Analytical Chemists – AOAC. Official Methods of Analysis. Gaithersburg; 16th ed., 1997.

Balkau B, Deanfiels JE, Després JP, Bassand JP, Fox KAA, Smith Jr SC, Barter P, Tan CE, Gaal LV, Wittchen HU, Massien C, Haffner SM. International Day for the Evaluation of Abdominal Obesity (IDEA): a study of waist circumference, cardiovascular disease, and diabetes mellitus in 168,000 primary care patients in 63 countries. *Circulation* 2007, 116 (1): 1942–1951.

Bancroft JD, Stevens A. Theory and Practice of Histological techniques. Nova York: Churchill livingstone. 766p, 1996.

Bernardis, L. L.; Patterson, B. D. Correlation between "Lee index" and carcass fat content in weanling and adult female rats with hypothalamic lesions. *J. Endocrinol* 1968, 40:527-528.

Beylot, M. Effects of inulin-type fructans on lipid metabolism in man and in animal models. *Br J Nutr.* 2005, 93 (Suppl 1), S163-S168.

Bion FM, Pessoa DCNP, Lapa MAG, Carvalho MJ. Uso de uma multimistura como suplementação alimentar: estudo em ratos. *Arq Lat. Amer. Nutr.*, 1997 47 (3), 242-247.

Brashears MM, Gilliland E, Buck LM. Bile salt deconjugation and cholesterol removal from media by *Lactobacillus casei*. *J Dair Sci*, 1998; 81: 2103-10.

Calle EE, Thun MJ, Petrelli JM, Rodriguez C, Heath CWJr. Body-mass index and mortality in a prospective cohort of U.S. adults. *N Engl J Med.* 1999, 341(15):1097-1105.

Carvalho GQ, Alfenas RCG. Índice Glicêmico: uma abordagem crítica acerca de sua utilização na prevenção e no tratamento de fatores de risco cardiovasculares. *Rev Nutr* 2008, 21 (5), 577-587.

Castelli WP. Epidemiology of coronary heart disease: the Framingham study. *Am J Med* 1984, 27: 4-12.

Charland SL, Cziraky MJ, Quimbo R. Achieving optimal lipid values in patients with dyslipidemia is associated with reduced risk of cardiovascular events. *J Clin Lipidol* 2008, 2(5): 343–353.

Chobanian AV, Bakris GL, Black HR, Cushman WC, Green LA, Izzo JL Jr, Jones DW, Materson BJ, Oparil S, Wright JT Jr, Roccella EJ. The Seventh Report of the Joint Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure *JAMA*, 2003 289 (19):2560-2572.

De Luca, R. R., Alexandre, S. R., Marques, T (1996). Manual para técnicos em bioterismo. São Paulo: Winner Graph, 259.

Drucker, D.J. Minireview: the glucagon-like peptides. *Endocrinology* 2001, 142, 521-527.

Duarte SFP, Reis LAR. Obesidade: uma visão multidisciplinar. 1. ed. Curitiba: CRV, 2012.

FAO/WHO. Food and Agriculture Organization of the United Nations; World Health Organization. Technical Meeting on Prebiotics. Food Quality and Standards Service (AGNS): a Joint FAO/WHO Expert Consultation. Bethesda, MD World Health Organization. 2007.

Ferreira, CLLF. Prebióticos e probióticos: atualização e prospecção. Viçosa: UFV. Editora *Rubio*, 2012.

Fiodarliso M, Kok N, Desager JP, Goethal SF, Roberfroid M, Delzenne N. Dietary oligofructose lower triglycerides, phospholipids and cholesterol in serum and very low density lipoproteins of rats. *Lipids* 1995, 30(2):163-167.

Flegal KM, Graubard BI, Williamson DF, Gail H. Excess deaths associated with underweight, overweight, and obesity. *JAMA* 2005, 293(15):1861-1867.

Franco FSC (2009). Efeitos da ovariectomia, ingestão de cafeína e exercício aeróbio associados à adequação ou não de cálcio alimentar na composição corporal, no tecido ósseo e no balanço de cálcio em ratas. Tese [Doutorado]. Universidade Federal de Viçosa, 206p.

Freitas EV, Xavier FL. Tratado de Geriatria e Gerontologia. 3. ed. [S.l.]: Guanabara Koogan, 2011.

Genta S, Cabrera W, Habiba N, Ponsb J, Carillo IM, Graud A, Sánchez S. Yacon syrup: Beneficial effects on obesity and insulin resistance in humans. *Clin Nutr* 2009, 28 (2): 182-187.

Geyer M, Manrique I, Degen L, Beglinger C. Effect of Yacon (*Smallanthus sonchifolius*) on Colonic Transit Time in Healthy Volunteers. *Digestion* 2008, 78 (1): 30-33.

Greany KA, Bonorden MJL, Hamilton-Reeves JM, McMullen MH, Wangen KE. Probiotic capsules do not lower plasma lipids in young women and men. *Eur. J. Clin. Nutr.* 2008, 62:232-7.

Kaneko T, Kudo T, Horikoshi K. Comparasion of CD composition produced by chimeric CGTases. *Agric Biol Chem.* 1990, 54 (1):197-201.

Kopelman PG. Obesity as a medical problem. *Nature* 2000, 404:635-646.

Lima NA (2009). Fatores Associados ao Excesso de Peso entre os Usuários do Serviço de Promoção à Saúde: Academia da Cidade do Distrito Sanitário Leste de Belo Horizonte - Minas Gerais. Dissertação de Mestrado da Universidade Federal de Minas Gerais.

Maham LK, Escott-Stump S. Alimentos Nutrição e Dietoterapia, 2005 11 ed. São Paulo, Roca, 1242 p.

Manzoni MS, Rossi EA, Carlo IZ, Vendramini RC, Duarte ACGO, Tenório NM et al. Fermented soy product supplemented with isoflavones affects adipose tissue in a regional-specific manner and improves HDL cholesterol in rats fed on a cholesterol-enriched diet. *Eur. Food Res. Technol.* 2008, 227:1591-1597.

Marques MD Relação de gordura visceral abdominal e doença coronária avaliada pela tomografia computadorizada de múltiplos detectores. *Rad Bras* 2010, 43 (3): 154.

Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* 1985, 28(7): 412-419.

Mezadri TJ, Tomáz VA, Amaral VLL. Animais de laboratório – cuidados na iniciação experimental. Florianópolis: Ed. UFSC, 2004.

Murador DC, Rosso VV. Efeito do preparo da couve (*Brassica oleracea L.*) na composição quali e quantitativa dos compostos bioativos. *Nutrire* 2013. 38 (supl.n): 197.

Navarro AM, Marchini JS. Uso de medidas antropométricas para estimar gordura corporal em adultos. *Nutrire*, 2000 19 (1):31-47.

Novelli EL, Diniz YS, Galhardi CM, Ebaid GM, Rodrigues HG, Mani F, Fernandes AA, Cicogna AC, Novelli-Filho JL. Anthropometrical parameter and markers of obesity in rats. *Lab Anim* 2007, 41(1):111-119.

Ojansivu I, Ferreira CL, Salminen S. “Yacon, new source of prebiotic oligosaccharides with a history of safe use”. *Trends Food Sci Technol* 2011, 22 (1): 40-46.

Passos LML, Park YK. Frutoligosacarídeos: implicações na saúde humana e utilização em alimentos. *Cienc. Rural* 2003, 33(2):385-90.

Paula HAA (2013). Efeito de um produto à base de yacon (*smallanthus sonchifolius*) na modulação de indicadores da saúde óssea em ratas *wistar*. Tese de Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade de Federal de Viçosa.

Pereira DIA, Gibson GR. Effects of consumption of probiotics and prebiotics on serum lipid levels in humans. *Crit Rev Biochem Mol Biol* 2002, 37(4), 259-281.

Perucha VR. Propriedades funcionais da banana verde. *Nutrição, Saúde e Performance – Anuário de alimentos funcionais*. Edição n.26. São Paulo, 2005.

Pitanga FJG, Lessa I, Pitanga CPS, Costa MC. Atividade física na prevenção das comorbidades cardiovasculares em mulheres obesas: quanto é suficiente? *Rev. bras. ativ. fís. saúde* 2011, 16 (4): 334-338.

Reeves P, Nielsen F, Fahey G. AIN-93 Purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Committee on the Reformulation of the AIN - 76 A Rodent Diet. *J Nutr.* 1993, 123 (11):1939–1951.

Roberfroid M, Gibson GR, Delzenne N. The biochemistry of oligofructose, a nondigestible fiber: an approach to calculate its caloric value. *Nutr Rev.* 1993, 51(5): 137-146.

Roberfroid MB. Prebiotics and probiotics: are they functional foods? *Am. J. Clin. Nutr.* 2000, 71, 1682-1687.

Rodrigues FC, Castro ASB, Rodrigues VC, Fernandes SA, Fontes EAF, Oliveira TT, Martino HSD, Ferreira CLLF. Yacon Flour and *Bifidobacterium longum* Modulate Bone Health in Rats. *J Med Food* 2012, 15 (7): 664–670.

Rodrigues VC. Formulação, índice glicêmico e aplicação alimentar de um produto à base de yacon (*Smallanthus sonchifolius*). Dissertação de Mestrado. Ciência e Tecnologia de Alimentos. Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade de Federal de Viçosa, Viçosa-MG, Brasil, 2011.

Rolls BJ. The role of energy density in the overconsumption of fat. *J Nutr.* 2000, 130 (Suppl.2): 268S-271S.

Sant' Anna MSL, Ferreira CLLF. Can intestinal constipation be modulated by prebiotics, probiotics and symbiotics? *JFNS* 2014; in press.

Sant' Anna MSL, Ferreira CLLF. Yacon (*Smallanthus sonchifolius*) no controle das doenças crônicas não-transmissíveis. *Nutr Bras* 2013, 12 (5): 310-314.

Sant' anna MSL (2013). Efeito de um produto a base de yacon (*Smallanthus shonchifolius*) na modulação da constipação intestinal. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade de Federal de Viçosa.

Silva IMC, Sá EQC. Alimentos funcionais: um enfoque gerontológico. *RAMB* 2012, 10 (1): 24-28.

Sternberger LA, Hardy Jr PH, Cuculis JJ, MEYER, H. G. An unlabeled antibody method of immunocytochemistry. *J. Histochem. Cytochem.*, Seattle, v.23, p.311-324, 1970.

Todd PA, Benfield P, Goa KL. Guar gum: A review of its pharmacological properties, and use as a dietary adjunct in hypercholesterolaemia. *Drugs*, 1990 39 (6): 917-28.

World Health Organization - WHO/FAO. Expert Consultation. Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases. Geneva: World Health Organization/Food and Agriculture Organization, 2003.

Yamamoto Y, Takahashi Y, Kawano M, Lizuka M, Matsumoto T, Shigeru S, Yamaguchi, H. In vitro digestibility and fermentability of levan and its hypocholesterolemic effects in rats. *J Nutr Biochem*. 1999; 10 (1):13-18.

ANEXOS

ANEXO 1

Tabela 1- Valores médios (n=5) de Coeficiente de Eficiência Alimentar (CEA), Ganho de peso (GPE) e Consumo Alimentar (CA), após SHAM e Ovariectomia (OVX), em ratas alimentadas com dieta controle e dieta teste durante 24 semanas.

Grupos	CEA (%)	GPE (g)	CA(g)
	Média/DP	Média/DP	Média/DP
G1	0,62±0,03 ^a	238,60±18,73 ^a	387,22±24,63 ^c
G2	0,47±0,05 ^c	185,40±24,14 ^b	391,09±23,06 ^{b,c}
G3	0,56±0,01 ^{a,b}	230,60±10,61 ^a	414,40±16,93 ^{a,b,c}
G4	0,45±0,05 ^{c,d}	171,20±23,37 ^b	383,51±7,64 ^c
G5	0,54±0,04 ^b	244,40±15,16 ^a	451,76±27,70 ^a
G6	0,46±0,07 ^c	193,80±37,58 ^b	418,20±49,89 ^{a,b,c}
G7	0,41±0,05 ^{c,d}	181,20±14,84 ^b	444,72±26,76 ^a
G8	0,39±0,02 ^d	166,20±9,24 ^b	430,33±7,57 ^{a,b}

Médias seguidas de letras iguais, Coeficiente de Eficiência Alimentar (CEA), Ganho de Peso (GPE) e Consumo Alimentar (CA), na coluna, não diferem entre si ao nível de 5% pelo teste de Duncan.

- G1: Recebeu dieta controle – OVX – continuou recebendo dieta controle
- G2: Recebeu dieta controle – SHAM – continuou recebendo dieta controle
- G3: Recebeu dieta controle – OVX – passou a receber dieta yacon
- G4: Recebeu dieta controle – SHAM – passou a receber dieta yacon
- G5: Recebeu dieta yacon – OVX – passou a receber dieta controle
- G6: Recebeu dieta yacon – SHAM - passou a receber dieta controle
- G7: Recebeu dieta yacon – OVX - continuou recebendo dieta yacon
- G8: Recebeu dieta yacon – SHAM - continuou recebendo dieta yacon

ANEXO 2

Tabela 2- Valores médios (n=5) de Peso, Índice de Massa corporal (IMC), Circunferência Cintura (CC), Circunferência Torácica (CT) e porcentagem de gordura corporal (%GC), após SHAM e Ovariectomia (OVX), em ratas alimentadas com dieta controle e dieta teste durante 24 semanas.

Grupos	Peso (g)	IMC (g/cm ²)	CC(cm)	CT(cm)	% de GC
	Média/DP	Média/DP	Média/DP	Média/DP	Média/DP
G1	325,40±31,25 ^{a,b}	0,645±0,042 ^a	19,00±1,18 ^a	16,45±0,65 ^{a,b}	0,294±0,009 ^a
G2	285,10±21,99 ^{c,d}	0,613±0,029 ^{a,b}	17,15±0,80 ^c	16,00±0,48 ^{b,c}	0,304±0,006 ^a
G3	337,80±25,49 ^a	0,654±0,046 ^a	19,20±0,57 ^a	16,80±0,61 ^a	0,297±0,009 ^a
G4	276,70±13,99 ^{c,d}	0,604±0,033 ^{a,b}	17,30±0,52 ^c	15,95±0,65 ^{b,c}	0,297±0,011 ^{a,b}
G5	317,90±24,30 ^{a,b}	0,622±0,065 ^{a,b}	18,85±0,59 ^a	16,35±0,50 ^{a,b}	0,296±0,013 ^{a,b,c}
G6	284,40±37,51 ^{c,d}	0,573±0,056 ^{b,c}	17,50±1,25 ^{b,c}	15,90±0,80 ^{b,c}	0,289±0,009 ^{b,c}
G7	300,90±13,88 ^{b,c}	0,607±0,041 ^{a,b}	18,40±1,33 ^{a,b}	16,25±0,16 ^{a,b}	0,287±0,012 ^{a,b,c}
G8	264,00±15,96 ^d	0,553±0,037 ^c	16,95±0,81 ^c	15,50±0,39 ^c	0,285±0,012 ^c

Médias seguidas de letras iguais, Coeficiente de Eficiência Alimentar (CEA), Peso, Índice de Massa corporal (IMC), Circunferência Cintura (CC), Circunferência Torácica (CT) e porcentagem de gordura corporal (%GC), na coluna, não diferem entre si ao nível de 5% pelo teste de Ducan.

- G1: Recebeu dieta controle – OVX – continuou recebendo dieta controle
- G2: Recebeu dieta controle – SHAM – continuou recebendo dieta controle
- G3: Recebeu dieta controle – OVX – passou a receber dieta yacon
- G4: Recebeu dieta controle – SHAM – passou a receber dieta yacon
- G5: Recebeu dieta yacon – OVX – passou a receber dieta controle
- G6: Recebeu dieta yacon – SHAM - passou a receber dieta controle
- G7: Recebeu dieta yacon – OVX - continuou recebendo dieta yacon
- G8: Recebeu dieta yacon – SHAM - continuou recebendo dieta yacon

ANEXO 3

Tabela 3- Valores médios (n=5) de dosagens de ácidos orgânicos e pH, após SHAM e Ovariectomia (OVX), em conteúdo cecal de ratas alimentadas com dieta controle e dieta teste durante 24 semanas.

Grupos	Ácidos orgânicos				
	Lático	Butírico	Propiônico	Acético	pH
	Média/DP	Média/DP	Média/DP	Média/DP	Média/DP
G1	0,103±0,019 ^{a,b,c,d}	1,779±0,238 ^{a,b}	0,757±0,412 ^{a,b}	1,857±1,225 ^{a,b,c}	6,88±0,13 ^a
G2	0,072±0,008 ^{a,c}	1,267±0,184 ^b	0,579±0,144 ^{a,b}	1,484±0,195 ^{b,c}	6,68±0,26 ^a
G3	0,114±0,083 ^b	1,357±0,987 ^b	0,955±0,289 ^{a,b}	2,040±0,441 ^{a,b,c}	6,79±0,27 ^a
G4	0,146±0,005 ^{b,d}	2,560±0,291 ^a	1,199±0,122 ^a	2,737±0,413 ^a	6,66±0,22 ^a
G5	0,038±0,006 ^c	1,053±0,222 ^b	0,440±0,154 ^b	1,075±0,200 ^c	6,79±0,29 ^a
G6	0,085±0,037 ^{a,c,d}	1,183±0,809 ^b	0,567±0,463 ^{a,b}	1,411±0,976 ^{b,c}	6,38±0,77 ^a
G7	0,256±0,036 ^e	1,944±0,191 ^{a,b}	1,112±0,272 ^{a,b}	2,268±0,229 ^{a,b}	6,77±0,25 ^a
G8	0,171±0,095 ^b	1,895±1,328 ^{a,b}	1,082±1,082 ^{a,b}	2,208±1,430 ^{a,b,c}	6,81±0,27 ^a

Médias seguidas de letras iguais, para ácido orgânico ou pH, na coluna, não diferem entre si ao nível de 5% pelo teste de Ducan.

- G1: Recebeu dieta controle – OVX – continuou recebendo dieta controle
- G2: Recebeu dieta controle – SHAM – continuou recebendo dieta controle
- G3: Recebeu dieta controle – OVX – passou a receber dieta yacon
- G4: Recebeu dieta controle – SHAM – passou a receber dieta yacon
- G5: Recebeu dieta yacon – OVX – passou a receber dieta controle
- G6: Recebeu dieta yacon – SHAM - passou a receber dieta controle
- G7: Recebeu dieta yacon – OVX - continuou recebendo dieta yacon
- G8: Recebeu dieta yacon – SHAM - continuou recebendo dieta yacon

ANEXO 4

Tabela 4- Valores médios (n=5) da contagem microbiológica (log10), após SHAM e Ovariectomia (OVX), em conteúdo cecal de ratas alimentadas com dieta controle e dieta teste durante 24 semanas.

Grupos	Gêneros				
	<i>Bifidobacterium</i>	<i>Lactobacillus</i>	<i>Clostridium</i>	Coliformes	Anaeróbios Totais
	Média/DP	Média/DP	Média/DP	Média/DP	Média/DP
G1	4,70±0,36 ^a	5,11±0,50 ^a	5,61±0,60 ^a	6,87±0,13 ^a	6,27±1,04 ^{a,b}
G2	5,26±1,13 ^a	5,46±1,25 ^a	6,02±0,54 ^a	6,88±0,19 ^a	6,04±0,38 ^{a,b}
G3	5,46±1,69 ^a	5,48±1,58 ^a	6,06±0,88 ^a	6,60±0,29 ^a	6,52±1,10 ^a
G4	4,68±0,99 ^a	4,93±0,75 ^a	5,63±0,78 ^a	6,60±0,34 ^a	5,99±0,77 ^{a,b}
G5	5,61±0,80 ^a	5,61±0,70 ^a	6,00±0,80 ^a	6,40±0,40 ^a	6,42±0,60 ^{a,b}
G6	5,46±0,91 ^a	4,98±1,12 ^a	5,51±0,69 ^a	6,71±0,10 ^a	5,50±0,95 ^b
G7	6,34±0,72 ^a	6,07±0,83 ^a	6,28±0,42 ^a	6,64±0,56 ^a	6,43±0,28 ^{a,b}
G8	4,79±0,67 ^a	4,94±0,78 ^a	5,51±0,73 ^a	6,78±0,15 ^a	6,92±0,28 ^{a,b}

Médias seguidas de letras iguais, para cada micro-organismo, na coluna, não diferem entre si ao nível de 5% pelo teste de Ducan.

- G1: Recebeu dieta controle – OVX – continuou recebendo dieta controle
- G2: Recebeu dieta controle – SHAM – continuou recebendo dieta controle
- G3: Recebeu dieta controle – OVX – passou a receber dieta yacon
- G4: Recebeu dieta controle – SHAM – passou a receber dieta yacon
- G5: Recebeu dieta yacon – OVX – passou a receber dieta controle
- G6: Recebeu dieta yacon – SHAM - passou a receber dieta controle
- G7: Recebeu dieta yacon – OVX - continuou recebendo dieta yacon
- G8: Recebeu dieta yacon – SHAM - continuou recebendo dieta yacon

ANEXO 5

Tabela 5- Valores médios (n=5) de Peso Relativo do Ceco (PRC), Peso Relativo do Rim (PRR), Peso Reativo do Fígado (PRF), Peso relativo do Baço (PRB) e Peso Relativo do Coração (PRCo), após SHAM e Ovariectomia (OVX), em ratas alimentadas com dieta controle e dieta teste durante 24 semanas.

Grupos	PRC (%)	PRR (%)	PRF(%)	PRB(%)	PRCo(%)
	Média/DP	Média/DP	Média/DP	Média/DP	Média/DP
G1	0,0049±0,0005 ^b	0,0080±0,0005 ^b	0,0382±0,0061 ^b	0,0038±0,0008 ^{b,c}	0,0091±0,0004 ^d
G2	0,0065±0,0023 ^{a,b}	0,0141±0,0031 ^a	0,0570±0,0083 ^a	0,0050±0,0008 ^a	0,0068±0,0008 ^a
G3	0,0055±0,0006 ^b	0,0096±0,0010 ^b	0,0393±0,0042 ^b	0,0038±0,0006 ^{b,c}	0,0050±0,0007 ^{b,c,d}
G4	0,0060±0,0009 ^b	0,0130±0,0021 ^a	0,0531±0,0080 ^a	0,0044±0,0003 ^{a,b,c}	0,0060±0,0012 ^{a,b,c}
G5	0,0056±0,0014 ^b	0,0089±0,0006 ^b	0,0404±0,0047 ^b	0,0035±0,0007 ^c	0,0049±0,0002 ^{c,d}
G6	0,0058±0,0021 ^b	0,0130±0,0020 ^a	0,0523±0,0074 ^a	0,0048±0,0014 ^{a,b}	0,0061±0,0012 ^{a,b}
G7	0,0079±0,0013 ^a	0,0125±0,0013 ^a	0,0494±0,0051 ^a	0,0049±0,0005 ^a	0,0062±0,0009 ^{a,b}
G8	0,0062±0,0006 ^{a,b}	0,0133±0,0018 ^a	0,0519±0,0065 ^a	0,0041±0,0005 ^{a,b,c}	0,0133±0,0008 ^a

Médias seguidas de letras iguais Peso Relativo do Ceco (PRC), Peso Relativo do Rim (PRR), Peso Reativo do Fígado (PRF), Peso relativo do Baço (PRB) e Peso Relativo do Coração (PRCo), na coluna, não diferem entre si ao nível de 5% pelo teste de Ducan.

- G1: Recebeu dieta controle – OVX – continuou recebendo dieta controle
- G2: Recebeu dieta controle – SHAM – continuou recebendo dieta controle
- G3: Recebeu dieta controle – OVX – passou a receber dieta yacon
- G4: Recebeu dieta controle – SHAM – passou a receber dieta yacon
- G5: Recebeu dieta yacon – OVX – passou a receber dieta controle
- G6: Recebeu dieta yacon – SHAM - passou a receber dieta controle
- G7: Recebeu dieta yacon – OVX - continuou recebendo dieta yacon
- G8: Recebeu dieta yacon – SHAM - continuou recebendo dieta yacon

ANEXO 6

Tabela 6- Valores médios (n=5) de Colesterol Total (CT), Triglicerídeos, VLDL e LDL, após SHAM e Ovariectomia (OVX), em ratas alimentadas com dieta controle e dieta teste durante 24 semanas.

Grupos	CT (mg/dL)	Triglicerídeos (mg/dL)	VLDL (mg/dL)	LDL (mg/dL)
	Média/DP	Média/DP	Média/DP	Média/DP
G1	180,52±11,98 ^a	109,8±17,82 ^{a,b}	21,96±1,65 ^{a,b}	108,24±1,28 ^a
G2	117,03±25,37 ^c	110,4±28,08 ^a	22,08±5,62 ^a	50,67±27,34 ^c
G3	162,27±19,64 ^a	94,00±8,26 ^{a,b}	18,80±7,14 ^{a,b}	94,00±8,26 ^a
G4	112,93±19,67 ^c	108,6±19,39 ^{a,b}	21,72±3,88 ^{a,b}	48,96±21,34 ^c
G5	170,48±35,15 ^a	89,4±18,65 ^{a,b}	17,88±3,73 ^{a,b}	104,93±18,65 ^{a,b}
G6	116,38±7,200 ^c	81,6±11,12 ^b	16,32±2,22 ^b	57,35±6,81 ^c
G7	157,65±29,91 ^{a,b}	83,8±35,72 ^{a,b}	16,76±3,56 ^{a,b}	79,26±15,35 ^a
G8	132,02±17,7 ^{b,c}	85,2±17,19 ^{a,b}	17,04±3,44 ^{a,b}	68,51±35,72 ^{b,c}

Médias seguidas de letras iguais, Colesterol Total (CT), Triglicerídeos, VLDL e LDL, após SHAM e Ovariectomia (OVX), em ratas alimentadas com dieta controle e dieta teste durante 24 semanas, na coluna, não diferem entre si ao nível de 5% pelo teste de Ducan.

- G1: Recebeu dieta controle – OVX – continuou recebendo dieta controle
- G2: Recebeu dieta controle – SHAM – continuou recebendo dieta controle
- G3: Recebeu dieta controle – OVX – passou a receber dieta yacon
- G4: Recebeu dieta controle – SHAM – passou a receber dieta yacon
- G5: Recebeu dieta yacon – OVX – passou a receber dieta controle
- G6: Recebeu dieta yacon – SHAM - passou a receber dieta controle
- G7: Recebeu dieta yacon – OVX - continuou recebendo dieta yacon
- G8: Recebeu dieta yacon – SHAM - continuou recebendo dieta yacon

Tabela 7- Valores médios (n=5) de Glicose, Insulina e Índice HOMA, após SHAM e Ovariectomia (OVX), em ratas alimentadas com dieta controle e dieta teste durante 24 semanas.

Grupos	Glicose (mg/dL)	Insulina (μ U/ml)	Índice HOMA
	Média/DP	Média/DP	Média/DP
G1	216,38 \pm 27,57 ^a	0,11 \pm 0,01 ^c	0,06 \pm 0,02 ^{a,b}
G2	229,37 \pm 23,94 ^a	0,13 \pm 0,03 ^{b,c}	0,08 \pm 0,01 ^{a,b}
G3	235,48 \pm 41,05 ^a	0,11 \pm 0,02 ^c	0,07 \pm 0,03 ^{a,b,c}
G4	228,15 \pm 45,00 ^a	0,11 \pm 0,01 ^c	0,07 \pm 0,01 ^{a,b,c}
G5	237,47 \pm 31,44 ^a	0,15 \pm 0,06 ^{a,b,c}	0,08 \pm 0,01 ^{a,b}
G6	166,13 \pm 28,60 ^b	0,16 \pm 0,04 ^{a,b}	0,07 \pm 0,02 ^{a,b,c}
G7	199,97 \pm 12,33 ^{a,b}	0,17 \pm 0,02 ^a	0,09 \pm 0,02 ^a
G8	166,20 \pm 37,37 ^b	0,14 \pm 0,03 ^{a,b,c}	0,05 \pm 0,01 ^c

Médias seguidas de letras iguais, de Glicose, Insulina e Índice HOMA, na coluna, não diferem entre si ao nível de 5% pelo teste de Duncan.

- G1: Recebeu dieta controle – OVX – continuou recebendo dieta controle
 G2: Recebeu dieta controle – SHAM – continuou recebendo dieta controle
 G3: Recebeu dieta controle – OVX – passou a receber dieta yacon
 G4: Recebeu dieta controle – SHAM – passou a receber dieta yacon
 G5: Recebeu dieta yacon – OVX – passou a receber dieta controle
 G6: Recebeu dieta yacon – SHAM - passou a receber dieta controle
 G7: Recebeu dieta yacon – OVX - continuou recebendo dieta yacon
 G8: Recebeu dieta yacon – SHAM - continuou recebendo dieta yacon

Tabela 8- Valores médios (n=5) Ganho de peso (GP) e Consumo Alimentar (CA), após SHAM e Ovariectomia (OVX), em ratas alimentadas com dieta controle e dieta teste durante 24 semanas.

Grupos	HDL (mg/dL)	Colesterol Total/HDL	LDL/HDL
	Média/DP	Média/DP	Média/DP
G1	50,32±7,14 ^b	3,12±0,26 ^{a,b}	1,75±0,30 ^{a,b}
G2	44,28±2,69 ^b	2,63±0,49 ^b	1,13±0,59 ^b
G3	49,47±4,11 ^b	3,28±0,31 ^{a,b}	1,93±0,33 ^{a,b}
G4	42,25±4,55 ^b	2,73±0,73 ^b	1,21±0,63 ^b
G5	47,67±13,26 ^b	4,01±2,17 ^a	2,59±1,94 ^a
G6	42,72±2,53 ^b	2,73±0,18 ^b	1,34±0,16 ^b
G7	61,63±4,73 ^a	2,94±0,30 ^{a,b}	1,59±0,33 ^{a,b}
G8	46,47±9,78 ^b	2,94±0,70 ^{a,b}	1,57±0,67 ^{a,b}

Médias seguidas de letras iguais, Coeficiente de Eficiência Alimentar (CEA), Ganho de Peso (GP) e Consumo Alimentar (CA), na coluna, não diferem entre si ao nível de 5% pelo teste de Ducan.

- G1: Recebeu dieta controle – OVX – continuou recebendo dieta controle
 G2: Recebeu dieta controle – SHAM – continuou recebendo dieta controle
 G3: Recebeu dieta controle – OVX – passou a receber dieta yacon
 G4: Recebeu dieta controle – SHAM – passou a receber dieta yacon
 G5: Recebeu dieta yacon – OVX – passou a receber dieta controle
 G6: Recebeu dieta yacon – SHAM - passou a receber dieta controle
 G7: Recebeu dieta yacon – OVX - continuou recebendo dieta yacon
 G8: Recebeu dieta yacon – SHAM - continuou recebendo dieta yacon

Tabela 9- Valores médios (n=5) Aspartato Transferase (AST), Alanina Transferase (ALT), Fosfatase Alcalina (FA), Gama Glutamil Transferase (GGT), após SHAM e Ovariectomia (OVX), em ratas alimentadas com dieta controle e dieta teste durante 24 semanas.

Grupos	AST(U/L)	ALT(U/L)	FA(U/L)	GGT(U/L)
	Média/DP	Média/DP	Média/DP	Média/DP
G1	136,17±42,86 ^a	22,17±1,83 ^{a,b}	56,17±26,64 ^{a,b}	2,50±2,51 ^{a,b}
G2	109,33±19,31 ^a	20,50±2,35 ^b	55,50±9,50 ^{a,b}	3,00±1,10 ^a
G3	148,33±50,50 ^a	26,67±4,72 ^{a,b}	67,50±15,87 ^a	1,67±1,37 ^{a,b}
G4	130,17±17,69 ^a	24,17±10,44 ^{a,b}	45,83±8,66 ^{a,b}	2,17±1,94 ^{a,b}
G5	118,67±24,84 ^a	31,50±10,09 ^b	68,00±14,51 ^a	1,00±1,26 ^{b,c}
G6	127,17±27,85 ^a	21,17±5,23 ^b	35,50±15,45 ^b	1,67±1,63 ^{a,b,c}
G7	141,00±27,73 ^a	29,83±11,58 ^{a,b}	62,33±27,51 ^a	0,17±0,41 ^c
G8	132,50±14,10 ^a	23,17±5,38 ^{a,b}	46,50±13,05 ^{a,b}	0,17±0,41 ^c

Médias seguidas de letras iguais, Aspartato Transferase (AST), Alanina Transferase (ALT), Fosfatase Alcalina (FA), Gama Glutamil Transferase (GGT), na coluna, não diferem entre si ao nível de 5% pelo teste de Duncan.

- G1: Recebeu dieta controle – OVX – continuou recebendo dieta controle
 G2: Recebeu dieta controle – SHAM – continuou recebendo dieta controle
 G3: Recebeu dieta controle – OVX – passou a receber dieta yacon
 G4: Recebeu dieta controle – SHAM – passou a receber dieta yacon
 G5: Recebeu dieta yacon – OVX – passou a receber dieta controle
 G6: Recebeu dieta yacon – SHAM - passou a receber dieta controle
 G7: Recebeu dieta yacon – OVX - continuou recebendo dieta yacon
 G8: Recebeu dieta yacon – SHAM - continuou recebendo dieta yacon

Tabela 10- Valores médios (n=5) imunomarcção de Glukagon Like Peptide-1 (GLP-1), após SHAM e Ovariectomia (OVX), em ratas alimentadas com dieta controle e dieta teste durante 24 semanas.

Grupos	GLP-1 Média/DP
G1	0,87±0,24 ^c
G2	1,17±0,03 ^c
G3	2,94±0,31 ^b
G4	2,91±0,33 ^b
G5	1,14±0,06 ^c
G6	2,88±0,43 ^b
G7	3,53±0,63 ^a
G8	1,15±0,06 ^c

Médias seguidas de letras iguais, imunomarcção de Glukagon Like Peptide-1 (GLP-1), na coluna, não diferem entre si ao nível de 5% pelo teste de Duncan.

- G1: Recebeu dieta controle – OVX – continuou recebendo dieta controle
 G2: Recebeu dieta controle – SHAM – continuou recebendo dieta controle
 G3: Recebeu dieta controle – OVX – passou a receber dieta yacon
 G4: Recebeu dieta controle – SHAM – passou a receber dieta yacon
 G5: Recebeu dieta yacon – OVX – passou a receber dieta controle
 G6: Recebeu dieta yacon – SHAM - passou a receber dieta controle
 G7: Recebeu dieta yacon – OVX - continuou recebendo dieta yacon
 G8: Recebeu dieta yacon – SHAM - continuou recebendo dieta yacon

Tabela 11- Valores médios (n=5) profundidade, diâmetro basal e diâmetro do intestino grosso, após SHAM e Ovariectomia (OVX), em ratas alimentadas com dieta controle e dieta teste durante 24 semanas.

Grupos	Profundidade (µg/dL)	Diâmetro apical (µg/dL)	Diâmetro basal (µg/dL)
	Média/DP	Média/DP	Média/DP
G1	145,60±40,12 ^{a,b}	28,70±8,13 ^a	27,11±5,77 ^a
G2	115,30±40,88 ^b	29,64±7,08 ^a	28,74±6,33 ^a
G3	118,15±23,98 ^b	29,96±6,69 ^a	28,55±6,47 ^a
G4	153,18±25,35 ^{a,b}	31,86±1,11 ^a	30,72±1,12 ^a
G5	150,22±43,93 ^{a,b}	28,14±6,91 ^a	26,62±7,09 ^a
G6	153,86±26,94 ^{a,b}	29,50±6,82 ^a	31,60±2,92 ^a
G7	193,25±19,26 ^a	33,84±4,05 ^a	32,62±4,77 ^a
G8	149,17±36,78 ^{a,b}	30,80±7,44 ^a	30,63±7,17 ^a

Médias seguidas de letras iguais, diâmetro basal e diâmetro do intestino grosso, após SHAM e Ovariectomia (OVX), em ratas alimentadas com dieta controle e dieta teste durante 24 semanas, na coluna, não diferem entre si ao nível de 5% pelo teste de Duncan.

- G1: Recebeu dieta controle – OVX – continuou recebendo dieta controle
- G2: Recebeu dieta controle – SHAM – continuou recebendo dieta controle
- G3: Recebeu dieta controle – OVX – passou a receber dieta yacon
- G4: Recebeu dieta controle – SHAM – passou a receber dieta yacon
- G5: Recebeu dieta yacon – OVX – passou a receber dieta controle
- G6: Recebeu dieta yacon – SHAM - passou a receber dieta controle
- G7: Recebeu dieta yacon – OVX - continuou recebendo dieta yacon
- G8: Recebeu dieta yacon – SHAM - continuou recebendo dieta yacon

Tabela 12- Valores médios (n=5) da Profundidade das criptas e altura das vilosidades do íleo, após SHAM e Ovariectomia (OVX), em ratas alimentadas com dieta controle e dieta teste durante 24 semanas.

Grupos	Profundidade das criptas (µm)	Altura das vilosidades (µm)
	Média/DP	Média/DP
G1	117,05±13,92 ^a	262,03±19,05 ^b
G2	83,82±8,22 ^b	291,86±40,17 ^{a,b}
G3	74,31±11,27 ^{a,b}	278,15±23,99 ^b
G4	73,23±3,65 ^{a,b}	272,24±23,52 ^b
G5	70,79±16,17 ^{a,b}	296,24±44,43 ^{a,b}
G6	65,63±10,13 ^c	266,61±41,31 ^b
G7	73,88±6,65 ^{a,b}	331,76±32,77 ^a
G8	62,20±3,99 ^c	283,72±25,36 ^{a,b}

Médias seguidas de letras iguais, Colesterol Total (CT), Triglicerídeos, VLDL e LDL, após SHAM e Ovariectomia (OVX), em ratas alimentadas com dieta controle e dieta teste durante 24 semanas, na coluna, não diferem entre si ao nível de 5% pelo teste de Duncan.

- G1: Recebeu dieta controle – OVX – continuou recebendo dieta controle
 G2: Recebeu dieta controle – SHAM – continuou recebendo dieta controle
 G3: Recebeu dieta controle – OVX – passou a receber dieta yacon
 G4: Recebeu dieta controle – SHAM – passou a receber dieta yacon
 G5: Recebeu dieta yacon – OVX – passou a receber dieta controle
 G6: Recebeu dieta yacon – SHAM - passou a receber dieta controle
 G7: Recebeu dieta yacon – OVX - continuou recebendo dieta yacon
 G8: Recebeu dieta yacon – SHAM - continuou recebendo dieta yacon

Tabela 13- Valores médios (n=5) profundidade, diâmetro basal e diâmetro do ceco inicial, após SHAM e Ovariectomia (OVX), em ratas alimentadas com dieta controle e dieta teste durante 24 semanas.

Grupos	Profundidade (µg/dL)	Diâmetro apical (µg/dL)	Diâmetro basal (µg/dL)
	Média/DP	Média/DP	Média/DP
G1	151,90±26,67 ^a	40,72±2,08 ^{a,b}	39,24±2,97 ^{a,b,c,d}
G2	150,78±18,03 ^a	43,40±3,51 ^a	43,40±3,51 ^a
G3	185,84±8,63 ^a	44,87±2,54 ^a	44,20±2,81 ^a
G4	176,68±27,74 ^a	42,07±4,37 ^a	42,07±4,37 ^{a,b}
G5	149,79±20,13 ^a	37,70±4,06 ^b	34,13±2,35 ^d
G6	161,21±27,56 ^a	35,08±1,91 ^b	35,08±1,91 ^{c,d}
G7	157,98±13,65 ^a	43,90±3,36 ^a	40,16±2,65 ^{a,b,c}
G8	183,66±26,97 ^a	38,05±4,83 ^{a,b}	38,05±4,83 ^{b,c,d}

Médias seguidas de letras iguais, diâmetro basal e diâmetro do ceco inicial, após SHAM e Ovariectomia (OVX), em ratas alimentadas com dieta controle e dieta teste durante 24 semanas, na coluna, não diferem entre si ao nível de 5% pelo teste de Duncan.

- G1: Recebeu dieta controle – OVX – continuou recebendo dieta controle
 G2: Recebeu dieta controle – SHAM – continuou recebendo dieta controle
 G3: Recebeu dieta controle – OVX – passou a receber dieta yacon
 G4: Recebeu dieta controle – SHAM – passou a receber dieta yacon
 G5: Recebeu dieta yacon – OVX – passou a receber dieta controle
 G6: Recebeu dieta yacon – SHAM - passou a receber dieta controle
 G7: Recebeu dieta yacon – OVX - continuou recebendo dieta yacon
 G8: Recebeu dieta yacon – SHAM - continuou recebendo dieta yacon

Tabela 14- Valores médios (n=5) profundidade, diâmetro basal e diâmetro do ceco medial, após SHAM e Ovariectomia (OVX), em ratas alimentadas com dieta controle e dieta teste durante 24 semanas.

Grupos	Profundidade (µg/dL)	Diâmetro apical (µg/dL)	Diâmetro basal (µg/dL)
	Média/DP	Média/DP	Média/DP
G1	151,90±26,67 ^{a,b}	40,72±2,08 ^{a,b,c}	39,24±2,97 ^b
G2	152,27±16,28 ^{a,b}	43,04±5,55 ^{a,b}	39,51±4,10 ^b
G3	169,57±24,74 ^a	40,68±2,30 ^{a,b,c}	38,20±2,50 ^{b,c}
G4	161,49±12,18 ^{a,b}	45,58±2,23 ^a	43,94±2,01 ^a
G5	159,21±24,84 ^{a,b}	37,73±3,64 ^c	34,27±3,09 ^c
G6	132,57±10,89 ^b	39,61±2,99 ^{b,c}	35,91±2,82 ^{b,c}
G7	158,89±6,54 ^{a,b}	41,55±2,63 ^{a,b,c}	39,03±3,09 ^b
G8	160,26±15,71 ^{a,b}	40,29±1,79 ^{b,c}	39,14±1,79 ^b

Médias seguidas de letras iguais, diâmetro basal e diâmetro do ceco medial, após SHAM e Ovariectomia (OVX), em ratas alimentadas com dieta controle e dieta teste durante 24 semanas, na coluna, não diferem entre si ao nível de 5% pelo teste de Duncan.

- G1: Recebeu dieta controle – OVX – continuou recebendo dieta controle
 G2: Recebeu dieta controle – SHAM – continuou recebendo dieta controle
 G3: Recebeu dieta controle – OVX – passou a receber dieta yacon
 G4: Recebeu dieta controle – SHAM – passou a receber dieta yacon
 G5: Recebeu dieta yacon – OVX – passou a receber dieta controle
 G6: Recebeu dieta yacon – SHAM - passou a receber dieta controle
 G7: Recebeu dieta yacon – OVX - continuou recebendo dieta yacon
 G8: Recebeu dieta yacon – SHAM - continuou recebendo dieta yacon

Tabela 15- Valores médios (n=5) profundidade, diâmetro basal e diâmetro do ceco final, após SHAM e Ovariectomia (OVX), em ratas alimentadas com dieta controle e dieta teste durante 24 semanas.

Grupos	Profundidade (µg/dL)	Diâmetro apical (µg/dL)	Diâmetro basal (µg/dL)
	Média/DP	Média/DP	Média/DP
G1	152,88±24,31 ^{a,b,c}	37,73±3,26 ^b	33,96±2,51 ^{b,c}
G2	163,67±19,61 ^{a,b}	40,65±0,83 ^{a,b}	38,31±0,85 ^a
G3	183,89±33,82 ^a	39,56±2,33 ^{a,b}	37,13±3,12 ^{a,b}
G4	148,60±11,70 ^{b,c}	42,22±4,09 ^a	37,58±3,77 ^{a,b}
G5	115,19±13,30 ^d	37,54±3,15 ^b	33,99±2,47 ^{b,c}
G6	130,42±5,99 ^{c,d}	32,38±2,34 ^c	30,18±2,71 ^c
G7	158,30±10,05 ^{a,b,c}	40,88±1,11 ^{a,b}	37,38±1,64 ^{a,b}
G8	176,40±25,26 ^{a,b}	36,70±2,24 ^b	33,80±2,52 ^{a,b}

Médias seguidas de letras iguais, diâmetro basal e diâmetro do ceco final, após SHAM e Ovariectomia (OVX), em ratas alimentadas com dieta controle e dieta teste durante 24 semanas, na coluna, não diferem entre si ao nível de 5% pelo teste de Duncan.

- G1: Recebeu dieta controle – OVX – continuou recebendo dieta controle
 G2: Recebeu dieta controle – SHAM – continuou recebendo dieta controle
 G3: Recebeu dieta controle – OVX – passou a receber dieta yacon
 G4: Recebeu dieta controle – SHAM – passou a receber dieta yacon
 G5: Recebeu dieta yacon – OVX – passou a receber dieta controle
 G6: Recebeu dieta yacon – SHAM - passou a receber dieta controle
 G7: Recebeu dieta yacon – OVX - continuou recebendo dieta yacon
 G8: Recebeu dieta yacon – SHAM - continuou recebendo dieta yacon