

MÔNICA DE SOUZA LIMA SANT'ANNA

EFEITO DE UM PRODUTO A BASE DE YACON (*Smallanthus sonchifolius*) NA MODULAÇÃO DA CONSTIPAÇÃO INTESTINAL

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
2013**

Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV

T

S232e
2013

Sant'Anna, Mônica de Souza Lima, 1978-
Efeito de um produto a base de yacon (*Smallanthus
sonchifolius*) na modulação da constipação intestinal / Mônica
de Souza Lima Sant'Anna. – Viçosa, MG, 2013.
xiv, 100f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Inclui anexos.

Orientador: Célia Lúcia de Luces Fortes Ferreira.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.

Inclui bibliografia.

1. Prebióticos. 2. Yacon. 3. Constipação intestinal.
4. Alimentos funcionais. I. Universidade Federal de Viçosa.
Departamento de Tecnologia de Alimentos. Programa de
Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos.
II. Título.

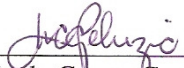
CDD 22 ed. 664.024

MÔNICA DE SOUZA LIMA SANT'ANNA


EFEITO DE UM PRODUTO A BASE DE YACON (*Smallanthus sonchifolius*) NA MODULAÇÃO DA CONSTIPAÇÃO INTESTINAL

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: 21 de agosto de 2013




Profa. Maria do Carmo Gouveia Pelúzio
(Coorientadora)




Profa. Mirelle Lomar Viana



Profa. Carla de Oliveira Barbosa Rosa



Profa. Mônica Ribeiro Pirozi



Profa. Célia Lúcia de Luces Fortes Ferreira
(Orientadora)

“Por vezes sentimos que aquilo que fazemos não é senão
uma gota de água no mar. Mas o mar seria menor se lhe
faltasse uma gota”.

(Madre Teresa de Calcutá)

DEDICATÓRIA

Aos meus pais Eudes e Cleuza,

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus que sempre iluminou meus caminhos, guiou cada passo e, principalmente, me levantou nos momentos de dificuldade.

Aos meus pais os meus mais profundos agradecimentos pelo esforço, dedicação, paciência, confiança e incentivo em todos os momentos dessa longa caminhada de dedicação aos estudos.

A minha irmã Lívia, obrigada pelo carinho, amizade, compreensão e incentivo constante.

Obrigada família pelas orações e torcida.

Profa. Célia agradeço pela orientação ao longo desses quatro anos, e por me dar a oportunidade de crescimento pessoal e profissional durante essa jornada.

Às minhas co-orientadoras Carminha e Tânia, pelas contribuições a esse trabalho. Carminha obrigada pela imensa ajuda com o estudo biológico.

Aos componentes da banca, Mirelle Viana, Carla Rosa e Mônica Pirozi que gentilmente aceitaram o convite e muito contribuíram para esse trabalho.

Vivian Carolina sua dedicação e companheirismo foram essenciais para a realização desse projeto. O mérito desse trabalho eu partilho com você. Muito obrigada!

Tatiane agradeço por ter sido praticamente a terceira co-orientadora desse trabalho. Valeu pela colaboração, questionamentos e por discutir os resultados comigo. Obrigada também pela amizade, conversas e pelos memoráveis aniversários na sua casa.

Agradeço aos queridos colegas do laboratório de culturas lácticas, Erika, Viviane, Joice, Michele, Juliana e Eder pelo convívio, amizade e pela ajuda e colaboração nesses anos de estudo.

Aos meus queridos amigos Larissa, Kika, Lalá, Ritinha, Amanda, Carol, Marcelinha, Johnson e Marcinho, pela amizade verdadeira, momentos de descontração e constante apoio. Adoro vocês.

Às amigas PAMS companheiras de sempre e para sempre.

Agradeço ao Saulo, que mesmo à distância sempre me ajudou naquilo que eu precisasse e por nunca ter me deixado desistir desse sonho.

Aos voluntários que participaram dessa pesquisa. Sem vocês não teria concluído esse trabalho.

Aos funcionários do DTA que sempre estiveram dispostos a ajudar.

À FAPEMIG pela concessão da bolsa de estudos.

À Universidade Federal de Viçosa pela oportunidade de formação profissional em uma instituição de excelência em ensino, pesquisa e extensão. Orgulho de ser UFV!!

À todos que direta ou indiretamente, contribuíram para a realização desse trabalho, o meu muito obrigada!

APRESENTAÇÃO

Esta tese está apresentada e organizada da seguinte forma:

Resumo e Abstract

1. Introdução Geral

Artigo 1 – Artigo de revisão submetido para publicação na Revista Food and Nutrition Sciences com o seguinte título “A constipação intestinal pode ser modulada por prebióticos, probióticos e simbióticos?”.

Artigo 2 - Artigo submetido para publicação na Revista Nutrição Brasil com o seguinte título “Prevalência de constipação intestinal no município de Viçosa-MG”.

2. Hipóteses

3. Metodologia

4. Resultados:

Artigo 3 – Artigo original submetido ao Journal of Functional Foods com título “Efeito de produto a base de yacon (PBY) na modulação da microbiota intestinal e na morfologia de células intestinais de ratos constipados”.

Artigo 4 – Artigo original que será submetido ao Journal of Medicinal Food com título “Produto a base de yacon (PBY) na modulação da constipação intestinal”.

5. Considerações Finais

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AGCC – Ácidos Graxos de Cadeia Curta

AOAC - Association of Official Analytical Chemists

C – Grupo Controle

CC – Controle Constipado

CCe- Conteúdo Cecal

CEA- Coeficiente de Eficiência Alimentar

CI – Constipação Intestinal

CLAE – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

CONCEA – Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal

FOS – Fructooligossacarídeos

IMC – Índice de Massa Corporal

IR – Índice de Refração

PBY – Produto a base de yacon

PBYC – Grupo Constipado com PBY

PMTI – Programa Municipal da Terceira Idade

SUMÁRIO

RESUMO	XI
ABSTRACT	XIII
1.INTRODUÇÃO GERAL	01
ARTIGO 1. A CONSTIPAÇÃO INTESTINAL PODE SER MODULADA POR PREBIÓTICOS, PROBIÓTICOS E SIMBIÓTICOS?	07
Resumo	08
Introdução	08
Microbiota intestinal e constipação	10
Gut Brain axis e constipação	11
A utilização de prebióticos, probióticos e simbióticos na constipação	14
Considerações Finais	17
Referências bibliográficas	17
ARTIGO 2. PREVALÊNCIA DE CONSTIPAÇÃO INTESTINAL NO MINICÍPIO DE VIÇOSA-MG	
Resumo	24
Introdução	25
Material e Métodos	26
Resultados	27
Discussão	28
Conclusão	30
Referências bibliográficas	31
2. HIPÓTESES	34
2.1 Hipótese 1	34
2.1.1 Objetivos	34
2.2 Hipótese 2	35
2.2.2 Objetivos	35
3. METODOLOGIA	36
3.1 Produto a base de yacon	36
3.2 Estudo Biológico	37
3.2.1 Escore fecal	38
3.2.2 Análise microbiológica e de pH	39
3.2.3 Análise histológica	39
3.2.4 Análise de ácidos graxos de cadeia curta	40
3.2.5 Comitê de ética	40
3.2.6 Análises estatísticas	41

3.3 Estudo Clínico	41
3.3.1 Casuística e seleção dos voluntários	41
3.3.2 Intervenção clínica	42
3.3.3 Avaliação antropométrica	43
3.3.4 Categorização das evacuações	44
3.3.5 Sintomas abdominais	44
3.3.6 Quantificação da microbiota e pH	44
3.3.7 Quantificação de lactato e ácidos graxos de cadeia curta	45
3.3.8 Comitê de ética	46
3.3.9 Análises estatísticas	46
3.4 Referências Bibliográficas	47
4.RESULTADOS	48
ARTIGO 3. EFEITO DE PRODUTO A BASE DE YACON (PBY) NA MODULAÇÃO DA MICROBIOTA INTESTINAL E NA MORFOLOGIA DE CÉLULAS INTESTINAIS DE RATOS CONSTIPADOS	50
Resumo	50
1.Introdução	50
2. Material e Método	52
2.1 Composição química do PBY	52
2.2 Animais e tratamentos	53
2.3 Escore fecal	54
2.4 Análise microbiológica e de pH	54
2.5 Análise histológica	55
2.6 Análise de ácidos graxos de cadeia curta	55
2.7 Comitê de ética	56
2.8 Análises estatísticas	56
3. Resultados	57
4. Discussão	62
5. Conclusão	65
6. Referências bibliográficas	65
ARTIGO 4. PRODUTO A BASE DE YACON (PBY) NA MODULAÇÃO DA CONSTIPAÇÃO INTESTINAL	72
Resumo	73
1.Introdução	74
2.Métodos	75
2.1 Produto a base de yacon	75
2.2 Voluntários	75
2.3 Intervenção	76
2.4 Avaliação antropométrica	76
2.5 Categorização das evacuações	76
2.6 Sintomas abdominais	77
2.7 Quantificação da microbiota e pH	77
2.8 Quantificação de lactato e ácidos graxos de cadeia curta	78

2.9 Comitê de ética	79
2.10 Análises estatísticas	79
3. Resultados	79
4. Discussão	83
5. Conclusão	85
6. Referências Bibliográficas	86
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	90
ANEXOS	91
Anexo 1	92
Anexo 2	94
Anexo 3	95
Anexo 4	97
Anexo 5	99
Anexo 6	100

RESUMO

SANT'ANNA, Mônica de Souza Lima, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, agosto de 2013. **Efeito de um produto a base de yacon (*Smallanthus sonchifolius*) na modulação da constipação intestinal.** Orientadora: Célia Lúcia de Luces Fortes Ferreira. Coorientadores: Maria do Carmo Gouveia Peluzio e Tânia Toledo de Oliveira.

O yacon (*Smallanthus sonchifolius*) é uma planta originária da região dos Andes, composto principalmente por água (85 a 90 % do peso fresco) e carboidratos (90 % da matéria seca), sendo que a maioria são representados pelos fructooligossacarídeos (FOS) e inulina, sendo então considerado um alimento prebiótico. Os FOS e a inulina atuam melhorando a microbiota intestinal e os metabólitos benéficos produzidos por essa microbiota atuam positivamente na motilidade intestinal. A constipação intestinal é uma doença que afeta aproximadamente 16% da população mundial e muitas das terapias existentes para o aumento do número de evacuações não surtem efeito em pelo menos um terço dos pacientes. Nesse sentido esse estudo teve como objetivo avaliar um produto a base de yacon (PBY) na modulação da constipação intestinal. Foram realizados dois experimentos, um biológico e outro clínico. O estudo biológico avaliou o efeito do PBY em 32 ratos divididos em diferentes grupos de tratamentos: controle, controle constipado, PBY e PBY constipado. A constipação foi induzida por Loperamida (1,5 mg/kg) durante 5 dias antes do início do experimento. Os animais receberam o PBY diluído em água deionizada por gavagem durante 28 dias. A dose administrada foi de 0,14g de FOS/ inulina/ Kg peso. Foram avaliados escore fecal, peso, ganho de peso, consumo alimentar, coeficiente de eficiência alimentar, peso do ceco, peso relativo do ceco, pH e diferentes grupos microbianos do conteúdo cecal e das fezes, histologia cecal e concentração de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) do conteúdo cecal. No estudo clínico 48 indivíduos (adultos e idosos) com diagnóstico de constipação intestinal pelo Roma III foram divididos em dois grupos de intervenção. O grupo teste recebeu 52g de PBY diluído em 448 mL de suco de laranja, fornecendo uma dose diária de 10g FOS/inulina. O grupo controle recebeu 25g de maltodextrina diluído em 475 mL de suco de laranja. Os voluntários recebiam semanalmente o suco de laranja e foram orientados a consumirem o suco em casa duas vezes ao dia. A intervenção clínica foi feita por 30 dias. Foram avaliadas as seguintes variáveis: peso, estatura, índice de massa corporal (IMC), escala de Bristol, escore de Agachan, número de evacuações antes e após a intervenção, sintomas abdominais, quantificação de diferentes grupos microbianos, pH das fezes, lactato e AGCC (acetato, butirato e propionato). No

estudo com animais observou-se que o escore fecal, após a indução da constipação, mostrou que o método foi adequado, onde a maioria dos animais constipados apresentaram fezes muito duras e ressecadas com *pellets* secos e pequenos. Após os 28 dias, o PBY foi eficaz em melhorar o escore fecal no grupo PBYC, que apresentou escore igual a 3 significando fezes macias, bem formadas, úmidas, com formato preservado. Em relação ao peso dos animais, ganho de peso, consumo alimentar, CEA e pH do conteúdo cecal, não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos estudados. Mas, ao se comparar os grupos de estudo com seus controles, o grupo PBYC apresentou um ganho de peso significativamente menor que o CC. O pH das fezes totais foi estatisticamente maior nos grupos CC e PBY comparados ao grupo C. O peso cecal foi menor ($p < 0,05$) no grupo PBY. O peso relativo do ceco foi estatisticamente menor no grupo PBYC em relação aos grupos PBY e C, porém em relação ao seu controle não houve diferença significativa. Houve diminuição significativa ($p < 0,05$) de bactérias do gênero *Bacteroides* nas fezes dos animais do grupo PBY, onde também encontrou-se maior concentração de butirato. A largura, altura e profundidade das criptas das vilosidades cecais do grupo PBYC foram maiores. Em relação ao estudo clínico constatou-se um aumento no número de evacuações após o consumo do PBY bem como melhora na consistência das fezes e diminuição no escore de constipação. O grupo teste apresentou maior contagem de *Bifidobacterium*, menor contagem de *Clostridium*, *Enterobacterium* e menor valor de pH fecal após os 30 dias de intervenção. Em relação aos AGCC, não foi encontrado diferença significativa antes e após a intervenção. Porém, a concentração de lactato foi maior no grupo teste em relação ao controle pós-tratamento. O yacon por ser fonte de compostos prebióticos é considerado um alimento funcional. Os alimentos funcionais devem ser consumidos com o objetivo de diminuir o risco de desenvolvimento de doenças crônicas não transmissíveis atuando assim de forma preventiva. Nesse estudo avaliou-se o efeito do PBY como forma terapêutica na constipação intestinal, no entanto esse alimento pode ser utilizado também para prevenir o aparecimento dessa enfermidade.

ABSTRACT

SANT'ANNA, Monica de Souza Lima, D.Sc., Federal University of Viçosa, August 2013. **Effect of a product based on yacon (*Smallanthus sonchifolius*) in the modulation of intestinal constipation.** Adviser: Celia Lucia de Luces Fortes Ferreira. Co-advisors: Maria do Carmo Gouveia Peluzio and Tania Toledo de Oliveira.

The yacon (*Smallanthus sonchifolius*) is a root from the region of the Andes, mainly composed of water (85-90% of the fresh weight) and carbohydrate (90% of dry matter), most of which are represented by fructooligosaccharides (FOS) and inulin is then considered a prebiotic food. FOS and inulin act improving the intestinal microbiota and metabolites produced by this beneficial microbiota positively act on intestinal motility. Intestinal constipation is a condition that affects approximately 16% of the world population and many of the existing therapies for the increased number of bowel movements have no effect on at least one third of patients. Accordingly this study was to evaluate a product based on yacon (PBY) on modulating of intestinal constipation. Two experiments were conducted, one biological and one clinical. The biological study evaluated the effect of the PBY in 32 rats divided into different treatment groups: control, control constipated, PBY and PBY constipated. Constipation was induced by loperamide 5 days before the experiment. The animals received the PBY diluted in deionized water by gavage for 28 days. The dose was 0.14 g FOS / inulin / kg body weight. We assessed fecal score, weight, weight gain, feed intake, feed efficiency ratio, weight of the cecum, the cecum relative weight, pH and different microbial groups in cecal contents and feces, cecal histology and concentration of short chain fatty acids (SCFA) in the cecal contents. In the clinical study 48 individuals (adults and seniors) with a diagnosis of constipation by Rome III were divided into two intervention groups. The test group received 52g of PBY diluted in 448 ml of orange juice, providing a daily dose of 10g Fos / inulin. The control group received 25g of maltodextrin diluted in 475 mL of orange juice. The volunteers received weekly orange juice and were instructed to consume the juice at home twice a day. Clinical intervention was performed for 30 days. We evaluated the following variables: weight, height, body mass index (BMI) scale Bristol, Agachan score, number of bowel movements before and after the intervention, abdominal symptoms, quantification of different microbial groups, fecal pH, lactate and SCFA (acetate, propionate and butyrate). In animal studies it was found that faecal score after induction of constipation, showed that this method was suitable where constipated most animals had stool very hard and dried with dried pellets and small.

After 28 days the PBY was effective in improving fecal score in the group that presented PBYC score of 3 means that stools soft, well-formed, damp, with format preserved. In relation to animal weight, weight gain, feed intake, CEA and the cecal pH content there was no statistically significant difference between groups. But when comparing the groups with their controls the PBYC group presented a significantly lower weight gain than the CC. The total faecal pH was statistically higher in CC and PBY compared to group C. The cecal weight was lower ($p < 0.05$) in group PBY. The relative weight of the cecum was statistically lower in group PBYC than in groups C and PBY, but compared to their control there was no significant difference. There was a significant reduction ($p < 0.05$) of *Bacteroides* in feces the animals of group PBY. A higher concentration of butyrate was found in the group PBY. The width and height of the villi cecal the PBYC group were higher. Regarding the clinical study found an increase in the number of evacuations after consumption of PBY as well as improvement in stool consistency score and decrease in constipation. The test group showed higher counts of *Bifidobacterium*, lower count *Clostridium*, *Enterobacterium* and lower fecal pH after 30 days of intervention. Regarding SCFA was not found important reductions before and after intervention. However, concentration lactate was higher in the test group compared to control post-treatment. The yacon like a source of prebiotic compounds is considered a functional food. Functional foods should be consumed in order to decrease the risk of developing chronic diseases not transmissible thus acting preventively. This study evaluated the effect of the PBY therapy on the form as of intestinal constipation, however this food can also be used to prevent the onset of this disease.

1-INTRODUÇÃO GERAL

Vários fatores têm sido relacionados ao aparecimento de doenças no organismo humano, dentre eles a herança familiar, o fumo, o sedentarismo e o estresse, mas pode-se dizer que a alimentação talvez seja um dos fatores mais importantes. O aumento significativo do consumo de refeições rápidas e de lanches tem sido observado nos últimos anos e revela uma tendência de mudança no estilo de vida da população (VIEIRA, 2001; FIATES et al., 2008). Isso se deve às facilidades encontradas para a aquisição de alimentos pré-preparados, prontos e congelados no mercado (MATTOS e MARTINS, 2000; CARVALHO, 2008). Maus hábitos alimentares, como o excessivo consumo de alimentos gordurosos, com alta densidade energética, aliados à redução da prática de exercícios físicos e ao baixo consumo de água e de fibras alimentares, podem causar à população problemas de sobrepeso, obesidade, diabetes, hipertensão arterial, hipercolesterolemia, câncer, e constipação intestinal (HILL e TREBRIDGE, 1998; SILVA, 2007).

A constipação intestinal (CI) é uma doença polissintomática, caracterizada por manifestações que podem interferir de maneira variada sobre as funções colônicas e anorretais. Com base em diferentes estudos epidemiológicos, estima-se que a doença acometa entre 15% e 20% da população adulta na América do Norte (podendo alcançar taxas como 27%), o que corresponde a mais de 60 milhões de indivíduos (HIGGINS e JOHANSON, 2004). Do ponto de vista do impacto populacional, a CI é mais prevalente que uma série de outras afecções crônicas comuns, como a hipertensão, obesidade e diabetes mellitus (PLEIS e LETHBRIDGE-CEJKU, 2006). Ocorre de maneira predominante no sexo feminino (2:1) e acomete todas as faixas etárias, embora seja mais comum em indivíduos com idade superior a 65 anos (HIGGINS e JOHANSON, 2004; PLEIS e LETHBRIDGE-CEJKU, 2006). Considerando-se o impacto médico e socioeconômico, a CI é motivo de mais de 2,5 milhões de consultas médicas anualmente nos EUA, gastos anuais superiores a 2700 dólares por paciente, aumento dos índices de absenteísmo, declínio da produtividade individual e diminuição da qualidade de vida (MARTIN et al., 2006; CHANG et al., 2006; TRISÓGLIO et al., 2010).

No município de Viçosa-MG a prevalência encontrada foi de 31,4%. As mulheres apresentaram maior prevalência do que os homens com valores de 32,6 % e 25,6%, respectivamente (SANT'ANNA, et al., 2012).

A fisiopatologia da doença é complexa e multifatorial, resultando da combinação direta ou indireta de fatores estruturais e anatômicos, mecânicos, metabólicos e funcionais sobre o cólon, reto e ânus (TRISÓGLIO et al., 2010).

O tratamento é comumente baseado em dieta rica em fibras podendo ser suplementado pelo uso de substâncias laxativas (RAMKUMAR e RAO, 2005; MACHADO e CAPELARI, 2010).

Os prebióticos são componentes alimentares não digeríveis que afetam benéficamente o hospedeiro, por estimularem seletivamente a proliferação ou atividade de populações de bactérias desejáveis no cólon (ROBERFROID, 2007).

Os prebióticos atuam mais frequentemente no intestino grosso, embora possam também ter algum impacto sobre os microrganismos do intestino delgado (ROBERFROID, 2007). Os prebióticos identificados atualmente são carboidratos não-digeríveis, incluindo a lactulose, a inulina e diversos oligossacarídeos que fornecem carboidratos que as bactérias benéficas do cólon são capazes de fermentar. A maioria dos dados da literatura científica sobre efeitos prebióticos relaciona-se aos frutooligossacarídeos (FOS) e à inulina e diversos produtos comerciais estão disponíveis no mercado há vários anos (PUUPPONEN-PIMIÄ et al., 2002). A inulina e os FOS pertencem a uma classe de carboidratos denominados frutanos e são considerados ingredientes funcionais, uma vez que exercem influência sobre processos fisiológicos e bioquímicos no organismo, resultando em melhoria da saúde e em redução no risco de aparecimento de diversas doenças como diabetes, câncer de colón, constipação intestinal (SAAD,2006). As principais fontes alimentares de FOS e inulina encontradas na natureza são chicória, alcachofra, cebola e a batata yacon (FORTES E MUNIZ, 2009)

O yacon (*Smallanthus sonchifolius*) é um tubérculo pertencente à família da *Asteraceae*, originalmente cultivado nos Andes (Colômbia) e no norte-ocidental da Argentina. No Brasil, seu cultivo teve início na década de 1990 (VILHENA et al., 2000). É uma planta cuja raiz armazena a energia na forma de oligofrutanos (inulina e FOS), de baixo valor calórico, razão pela qual é muito utilizada por diabéticos, pelo efeito hipoglicêmico (AYBAR et al. 2001). O yacon fornece poucas calorias (aproximadamente 54 kcal/100g) ao ser ingerido, o que o torna um produto atrativo para o consumo por pessoas em dietas de emagrecimento ou relacionadas a doenças que necessitem de algum controle alimentar (SILVA, 2007).

O yacon é utilizado na produção de adoçantes naturais e xaropes (AYBAR et al., 2001) e embora existam poucos relatos na literatura, algumas propriedades medicinais têm sido atribuídas ao yacon, tais controle da glicemia (GENTA et al., 2009; RODRIGUES, 2011a), redução dos níveis de triacilgliceróis (VALENTOVA, 2008), aumento na absorção de cálcio e magnésio (LOBO et al., 2007; RODRIGUES, 2011b) e melhora da constipação intestinal (GEYER, et al., 2008; GENTA et al., 2009).

Por ser uma raiz altamente perecível devido ao seu alto teor de umidade, e ainda, por ser sazonal e não estar disponível durante todo o ano, o desenvolvimento de produtos a base de yacon, como farinhas e xaropes é de suma importância para permitir que a população consuma esses produtos para obter os seus efeitos benéficos.

1.1-REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AYBAR, M.J.; SANCHEZ RIERA, A.N.; GRAU, A.; SANCHEZ, S. S. Hypoglycemic effect of the water extract of *Smallanthus sanchifolius* (yacon) leaves in normal and diabetic rats. **Journal of Ethnopharmacology**, 74, 125-132, 2001.

CHANG, L.; TONER, B.B.; FUKUDO, S.; GUTHRIE, E.; LOCKE, G.R.; NORTON, N.J.; et al. Gender, age, society, culture, and the patient's perspective in the functional gastrointestinal disorders. **Gastroenterology**, v.130, p.1435-46, 2006.

FIATES, G. M. R.; AMBONI, R. D. M. C.; TEIXEIRA, E.. Comportamento consumidor, hábitos alimentares e consumo de televisão por escolares de Florianópolis. **Revista de Nutrição**, v. 21, n. 1, 2008.

FORTES, R.C.; MUNIZ, L.B. Efeitos da suplementação dietética com frutooligossacarídeos e inulina no organismo humano: estudo baseado em evidências. **Comunicação em Ciências da Saúde**, v.20, p. 241-252, 2009.

GENTA, S.; CABRERA, W.; HABIB, N.; PONS, J.; CARILLO, I.M.; GRAU, A.; SÁNCHEZ, S. Yacon syrup: beneficial effects on obesity and insulin resistance in humans, **Clinical Nutrition** , v.28, n.2, p. 182-187, 2009.

GEYER, M.; MANRIQUE, I.; DEGEN, L.; BEGLINGER, C. Effect of yacon (*Smallanthus sonchifolius*) on colonic transit time in healthy volunteers. **Digestion**, v. 78, p. 30-33, 2008.

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

HILL, J.O.; TREBRIDGE, F.L. Childhood obesity: future directions and research priorities. **Pediatrics**, v.101, n.3, p. 570-574, 1998

HIGGINS, P.D.; JOHANSON, J.F. Epidemiology of constipation in North America: a systematic review. **American Journal of Gastroenterology**; v. 99, p.750-9, 2004.

LOBO, A.; COLLI, C.; ELIANA, P.; TULLIA, M. 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**, v.97, p.776-785, 2007.

MACHADO, W. M.; CAPELARI, S. M. Avaliação da eficácia e do grau de adesão ao uso prolongado de fibra dietética no tratamento da constipação intestinal funcional. **Revista de Nutrição**, v. 23, n. 2, abr. 2010 .

MARTIN, B.C.; BARGHOUT, V.; CERULLI, A. Direct medical costs of constipation in the United States. **Manag Care Interface**; v. 19, p.43–9, 2006.

MATTOS, L.L.; MARTINS, I.S. Consumo de fibras alimentares em população adulta. **Revista de Saúde Pública**, v.34, n.1, p. 50-54, 2000

PLEIS, J.R.; LETHBRIDGE-CEJKU, M. Summary health statistics for U.S. adults: National Health Interview Survey, 2005. **Vital Health Stat 10**; v. 232, p.1–153, 2006.

PUUPPONEN-PIMIÄ, R.; AURA, A.M.; OKSMANCALENTEY, K.M.; MYLLÄRINEN, P.; SAARELA, M.; MATTILA-SANHOLM, T.; POUTANEN, K. Development of functional ingredients for gut health. **Trends Food Science and Technology**, v.13, p.3-11, 2002.

RAMKUMAR, D.; RAO, S.S.C. Efficacy and safety of traditional medical therapies for chronic constipation: a systematic review. **American Journal of Gastroenterology**, v. 100, n.4, p.936-71, 2005.

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

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

RODRIGUES, F.C. Avaliação da farinha de yacon (*Smallanthus sonchifolius*) na modulação das propriedades biomecânicas e na retenção de minerais nos ossos de ratos wistar. **Tese** (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade de Federal de Viçosa, Viçosa-MG, 2011b.

SANT'ANNA, M.S.L., COELHO, C.G., FERREIRA, C.L.L.F. Prevalência de constipação intestinal no município de Viçosa-MG. In: 10º Congresso Brasileiro de Saúde Coletiva, 2012, Porto Alegre. In: **Anais** 10º Congresso Brasileiro de Saúde Coletiva, 2012.

SILVA, A. S. S. A raiz da yacon (*Smallanthus sonchifolius* Poepping & Endlicher) como fonte de fibras alimentares, sua caracterização físico-química, uso na panificação e sua influência na glicemia pós-prandial. **Tese** (Doutorado em Ciências dos Alimentos) – Universidade Federal de Santa Catarina, Santa Catarina, 2007.

TRISÓGLIO, C.; MARCHI, C.M.G; TORRES, U.S.; NATINHO, J.G. Prevalência de constipação intestinal entre estudantes de medicina de uma instituição no noroeste paulista. **Revista Brasileira de Coloproctologia**, v. 30, n.2, p.203-209, 2010.

VIEIRA, V.C.R. Hábitos alimentares e Consumo de Lanches. **Nutrição em Pauta**, v.46, p. 14-20, jan 2001.

VILHENA, S. M. C.; CAMARA, F.L.A., KAKIHARA S.T. O cultivo de yacon no Brasil. **Horticultura Brasileira**, v.18, n.1, p. 5-8, 2000.

ARTIGO 1
A CONSTIPAÇÃO INTESTINAL PODE SER MODULADA POR
PREBIÓTICOS, PROBIÓTICOS E SIMBIÓTICOS?

A constipação intestinal pode ser modulada por prebióticos, probióticos e simbióticos?

SANT'ANNA, M.S.L.¹; MARTINO, H.S.D.²; RIBEIRO, S.M.R.²; FERREIRA, C.L.L.F.¹

¹Departamento de Tecnologia de Alimentos. ²Departamento de Nutrição e Saúde; Universidade Federal de Viçosa, Av, PH Rolfs, s/n, Cep: 36570-000, Viçosa-Brasil. [*monicaslsantana@gmail.com](mailto:monicaslsantana@gmail.com)

Resumo:

Cada vez mais tem-se elucidado a importância da manutenção de uma microbiota intestinal saudável na saúde do hospedeiro. Essa microbiota pode apresentar-se desequilibrada em enfermidades como colites, diarreias, síndrome do intestino irritável e constipação. Para o reequilíbrio da microbiota e melhora dos sintomas da constipação recomenda-se a ingestão de prebióticos, probióticos e simbióticos que atuam na modulação da microbiota intestinal saudável favorecendo a produção de ácidos graxos de cadeia curta que possuem efeito positivo no trânsito intestinal. Além disso, alguns estudos apontam a relação entre o cérebro e o intestino. Relação essa que influencia no comportamento de indivíduos com disbiose intestinal. Assim, o reestabelecimento da eubiose em pacientes constipados por meio dos compostos funcionais [prebióticos, probióticos e simbióticos] tem sido promissores na modulação da constipação e melhora no quadro clínico da doença. Nessa revisão será dada ênfase à relação dos prebióticos, probióticos e simbióticos na modulação da constipação intestinal. Novas fontes alimentares desses compostos devem ser avaliados quanto a sua eficácia, dose e efeito para estabelecer um manejo adequado.

Palavras- chaves: microbiota intestinal, fructooligossacarídeos, inulina, constipação.

Introdução

A constipação intestinal é uma doença crônica que afeta cerca de 16% da população mundial, apresentando maior prevalência no sexo feminino e após os 65 anos de idade. Um dos grandes problemas da constipação é que as terapias disponíveis tais

como dieta rica em fibras alimentares, uso de medicamentos, maior ingestão de água não são satisfatórias em pelo menos um terço dos pacientes [1].

A constipação é caracterizada pelos seguintes sintomas: menos que 3 evacuações por semana, sensação de esvaziamento incompleto, esforço ao evacuar e presença de fezes endurecidas e fragmentadas [2].

Uma das consequências da constipação é a disbiose intestinal, que é caracterizada pelo aumento de bactérias indesejáveis no intestino e declínio de bactérias benéficas. Esse desequilíbrio pode afetar a motilidade do intestino grosso por modificar o ambiente metabólico do colón devido à elevação do pH gerado pelas bactérias indesejáveis que produzem substâncias tóxicas como fenóis, amônias e substâncias pró-carcinogênicas [3], ocorrendo consequente redução da produção de compostos benéficos fisiologicamente ativos [4]. Os produtos da fermentação colônica equilibrada, como os ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) modulam a motilidade, por exercer efeito trófico nas células epiteliais, aumentando o fluxo sanguíneo nessa região [5].

Para o reestabelecimento de uma microbiota saudável recomenda-se a ingestão de probióticos e/ou fibras solúveis com efeitos prebióticos, como a inulina e os fructooligosacarídeos (FOS) que estimulam o crescimento das bactérias a partir do íleo e principalmente no colón, onde atuam preferencialmente os lactobacilos e bifidobactérias, respectivamente. Como produtos dessa fermentação benéfica são produzidos os AGCC, principalmente o butirato, que tem seu efeito comprovado na modulação desejável da motilidade intestinal [4,6].

Nesta revisão será dada ênfase às variáveis relacionadas ao controle da constipação quais sejam: importância da microbiota equilibrada, relação da constipação com o “gut brain axis” e os compostos funcionais que modulam a microbiota diminuindo o risco de constipação.

Foi realizada uma busca nas principais bases científicas (Science Direct, Pubmed, Google Acadêmico) com a utilização dos seguintes descritores: “constipação intestinal”, “microbiota”, “gut-brain-axis”, “prebióticos”, “probióticos”, “simbióticos” com seus respectivos vocábulos em inglês. As expressões de pesquisa foram construídas combinando-se esses termos ou utilizando-os de forma isolada.

Microbiota intestinal e constipação

A colonização do intestino começa imediatamente após o nascimento, sendo que a composição da microbiota intestinal nas crianças é relativamente simples, com um número restrito de grupos microbianos como *Bacteroides* e *Bifidobacterium* [7] tornando-se mais complexa com o avançar da idade [8]. Alterações na microbiota podem ser observadas como consequência das variações na dieta [9], condições patológicas (constipação intestinal, colite) [10], antibioticoterapia e imunossupressão [11].

As superfícies cutâneas e das mucosas do corpo humano são colonizadas por micro-organismos provenientes do ambiente, constituindo assim, ecossistemas altamente complexos. Em particular, o trato gastrointestinal (TGI) abriga o maior número desses micro-organismos [12]. A distribuição da microbiota varia de acordo com as seções do TGI apresentando baixas concentrações de bactérias no estômago e duodeno (até 10^3 UFC / ml), aumentando as concentrações no jejuno e íleo (10^4 - 10^8 UFC / ml) chegando às concentrações mais elevadas no cólon (até 10^{14} UFC / ml), superando em número o total de células eucarióticas presentes no corpo humano [13]. A microbiota intestinal inclui cerca de 1000 espécies de bactérias com mais de 7000 estirpes [14,15]. Os gêneros mais comuns são as bactérias anaeróbias incluindo *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Clostridium*, *Bacteroides* e *Eubacterium*. São também encontradas estirpes aeróbicas facultativas como *Escherichia*, *Enterococcus*, *Streptococcus* e *Klebsiella* [15].

Está bem documentado que a microbiota intestinal é essencial para o desenvolvimento intestinal, promovendo a homeostase e protegendo o hospedeiro contra micro-organismos patogênicos [16]. Em particular, a microbiota está envolvida na fermentação da fibra alimentar funcional (lactulose, amido resistente, oligossacarídeos) [17]. Os carboidratos não digeríveis ao serem fermentados pela microbiota formam ácidos absorvíveis pela mucosa. Este processo é denominado salvamento energético e forma os AGCC, que constituem a principal fonte de energia dos colonócitos atuando no efeito trófico do epitélio intestinal [7]. O metabolismo anaeróbico de peptídeos e proteínas pela microbiota também produz AGCC, mas, ao mesmo tempo, gera uma série de substâncias potencialmente tóxicas, incluindo amônia, aminas, fenóis, tióis, e indols [18]. Portanto, a produção de AGCC via fermentação dos

carboidratos não digeríveis é mais interessante por não formar produtos tóxicos que podem causar danos ao epitélio intestinal.

Os AGCC exercem outras importantes funções na fisiologia do hospedeiro. Como já citado, o butirato é quase completamente consumido pelo epitélio do cólon, e é uma importante fonte de energia para os colonócitos [19]. Além do butirato, acetato e propionato, são encontrados na corrente sanguínea e dentre seus benefícios, são metabolizados pelo fígado (propionato) ou nos tecidos periféricos, particularmente o tecido muscular (acetato) [20]. Estes ácidos podem atuar como moduladores do metabolismo da glicose melhorando a sensibilidade à insulina [21]. Estudos [20,22] mostram que a proporção ideal de acetato, propionato e butirato no colón é de 2:1:1, respectivamente.

Em situações de disbiose ocorre a diminuição na proporção dos AGCC e consequente aumento na produção de ácidos graxos de cadeia ramificada, amônia e fenóis que indicam uma mudança na atividade da microbiota, passando de uma condição de fermentação sacarolítica para um metabolismo microbiano putrefativo [23]. Esta modificação metabólica é comum em situações de constipação [24].

“Gut Brain Axis” e Constipação

A sinalização bidirecional entre o cérebro e o intestino é vital para o controle da homeostase e é regulada pelo sistema nervoso central. Um desequilíbrio nesse eixo resulta em alterações na resposta ao estresse e geralmente no comportamento [25]. Algumas co-morbidades psiquiátricas, entre elas o estresse, estão relacionadas com distúrbios gastrointestinais como síndrome do Intestino Irritável e desordem inflamatória do intestino [26]. Os mecanismos exatos que regulam esse eixo ainda não estão completamente elucidados e a maioria dos estudos focam na alteração da sinalização do cérebro para o intestino [27]. Porém estudos recentes tem investigado o impacto da microbiota intestinal no cérebro e no comportamento [28].

Está bem documentado que a microbiota pode influenciar diretamente na homeostase intestinal pela regulação da sua motilidade [29]. Por exemplo, bactérias do gênero *Bifidobacterium* e *Lactobacillus* são capazes de promover a motilidade por fermentarem os carboidratos não digeríveis produzindo os AGCC, enquanto que espécies de *Escherichia* podem inibi-la [30] por não produzirem esses compostos. A

perturbação do equilíbrio da microbiota pode, portanto, predispor o hospedeiro a sofrer alterações na motilidade resultando em diarreia, comum na síndrome do intestino irritável ou constipação [25].

Pacientes com constipação intestinal crônica podem apresentar desequilíbrio na microbiota, caracterizado por diminuição relativa das bactérias benéficas e aumento das bactérias potencialmente patogênicas e fungos [31]. Estas alterações podem modificar as concentrações de substâncias fisiologicamente ativas, como os AGCC, que podem influenciar na função motora do intestino [31].

Estudos tem mostrado um desequilíbrio da microbiota em indivíduos constipados. Khalif et al (2005)[31] encontraram um aumento significativo na contagem de *E. Coli*, *S. aureus* e enterobactérias em indivíduos com constipação crônica. Esses autores relatam que quanto mais tempo de instalação da doença maiores as contagens de micro-organismos indesejáveis e menores dos desejáveis. Em um estudo com crianças com diagnóstico de constipação crônica [32] encontrou-se nas fezes um quadro típico de disbiose intestinal com aumento significativo na contagem de bactérias dos gêneros *Clostridium*, *Bacteroides* e *E. coli*.

No estudo realizado por Chassard et al (2012)[33], os resultados das análises microbiológicas das fezes mostraram uma diminuição significativa na contagem de bifidobactérias e lactobacilos em indivíduos constipados, sendo que essa diminuição foi até 10 vezes menor para o gênero *Bifidobacterium*.

Nos últimos anos, estudiosos têm observado uma associação entre componentes emocionais e a constipação intestinal, como presença de estresse, anorexia, depressão, ansiedade e hipocondria [34,35]. Seria interessante a investigação da relação desses sintomas emocionais com o desequilíbrio da microbiota nos pacientes constipados.

No intuito de ilustrar melhor essa relação de acordo com os resultados de estudos realizados uma figura foi adaptada com o intuito de representar o “Gut-Brain axis” na constipação (Figura 1).

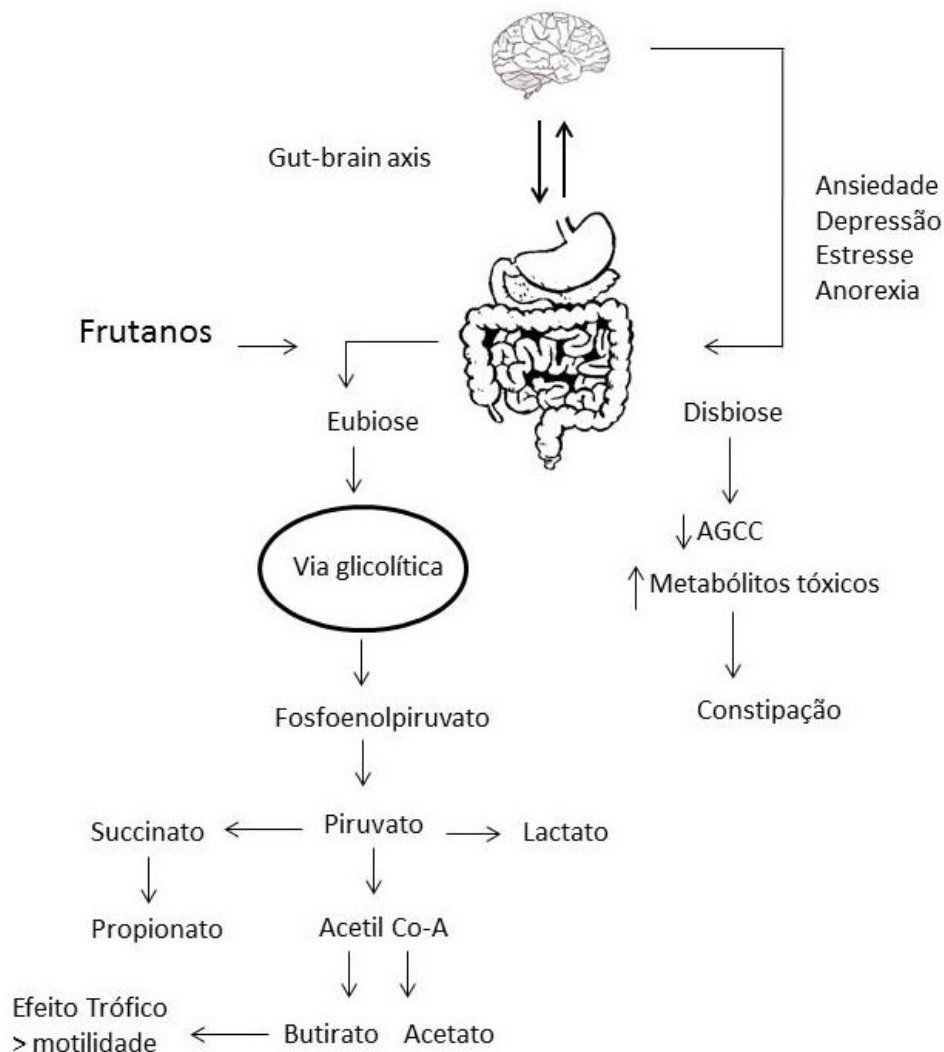


Figura 1: Relação entre o equilíbrio da microbiota (eubiose e disbiose) na constipação. Adaptado de Collins e Bercik (2009) e Hijova e Chmelorova (2007)

A figura 1 demonstra os principais fatores relacionados à motilidade intestinal. Como já citado, a motilidade é diminuída quando ocorre um desequilíbrio nas bactérias intestinais pela produção insuficiente das substâncias que atuam modulando o trânsito intestinal, como o butirato. O questionamento que pode ser levantado por meio da análise da figura é se essa disbiose intestinal presente na constipação está relacionada ao aparecimento de problemas psicossomáticos relatados por pacientes com constipação influenciando, inclusive, na qualidade de vida [36].

A utilização de prebióticos, probióticos e simbióticos na constipação

Os prebióticos são definidos como ingredientes alimentares não digeríveis que beneficiam o hospedeiro por estimular seletivamente o crescimento e/ou atividade de um número limitado de espécies bacterianas no colón, melhorando a saúde do hospedeiro [37]. Para ser considerado prebiótico, é necessária a demonstração científica de que o componente, alimento ou ingrediente resista aos processos de digestão, absorção e adsorção do hospedeiro, seja fermentado pela microbiota que coloniza o trato gastrointestinal e estimule seletivamente o crescimento e/ou atividade das bactérias benéficas [38]. Geralmente uma alteração benéfica significa a diminuição de grupos microbianos tidos como indesejáveis (*Clostridium*, *Bacteroides*) e aumento dos desejáveis (*Bifidobacterium*, *Lactobacillus*).

Os probióticos são definidos como organismos vivos que quando ingeridos em quantidades adequadas exercem efeitos benéficos à saúde do hospedeiro [24]. Os simbióticos são caracterizados pela combinação de um prebiótico e um probiótico visando aumentar a sobrevivência e atividade de estirpes probióticas comprovadas em estudos “in vivo” e ainda estimular o crescimento das bactérias endógenas, principalmente as bifidobactérias e os lactobacilos [24]. A ingestão de simbiótico modifica a composição da microbiota, restaurando o equilíbrio, o que pode ter efeitos positivos sobre as funções gastrointestinais [39].

As consequências do estado de desequilíbrio da microbiota intestinal e da perda de sua homeostasia demonstram a importância da manutenção da sua normalidade e equilíbrio [40]. Uma das abordagens terapêuticas para melhorar e manter um equilíbrio da microbiota saudável envolve a manipulação das fontes energéticas dessas bactérias, como por exemplo, a administração de prebióticos que estimulam as bactérias probióticas já presentes no colón (endógenas). Outra estratégia, seria a administração dos simbióticos que, além do prebiótico, carrega uma bactéria benéfica, geralmente do gênero *Bifidobacterium*, adaptada a esse nicho ecológico que mesmo de forma transiente altera o pH para níveis inadequados para a proliferação de micro-organismo putrefativos.

Praticamente, qualquer carboidrato que chega ao intestino grosso irá fornecer substrato para a microbiota comensal, afetando seu crescimento e atividade metabólica. Esse efeito tem sido demonstrado principalmente pelas fibras solúveis, amidos resistentes, oligossacarídeos e dissacarídeos como a lactulose [17]. As propriedades

seletivas dos prebióticos se relacionam principalmente ao crescimento de bifidobactérias e lactobacilos em detrimento de outros grupos bacterianos como bacteroides e clostridia [41].

A maioria dos benefícios dos prebióticos, probióticos e simbióticos na saúde intestinal provem de estudos com animais ou estudos clínicos com um número limitado de indivíduos [24].

Bouhnik et al (2004)[10] avaliaram o efeito da lactulose na microbiota intestinal em indivíduos com constipação crônica. Os voluntários receberam a dose de 20g de lactulose por dia durante 30 dias. Os autores encontraram uma contagem maior de bifidobactérias, maiores concentrações de butirato e acetato e maior massa fecal, no grupo que recebeu a lactulose em relação ao placebo.

Em um estudo realizado na Alemanha [42] idosos constipados receberam 20g de inulina por dia, durante 19 dias. Houve aumento na contagem de bifidobactérias e diminuição na contagem de enterobactérias e enterococos, além do aumento do número de evacuações durante a semana. Os autores não encontraram diferenças no pH fecal e na concentração de ácidos graxos de cadeia curta entre o grupo de estudo e placebo.

Benefícios clínicos foram observados em idosos institucionalizados com diagnóstico de constipação ao se administrar 10g FOS/dia durante 4 semanas [43]. Os autores encontraram um aumento significativo na contagem de bifidobactérias nas amostras de fezes no grupo FOS em relação ao controle. Os autores avaliaram também o efeito bifidogênico após retirada do FOS e constataram a manutenção desse efeito por até 4 semanas. Esse achado é de suma importância, pois a maioria dos trabalhos indica que o efeito bifidogênico do FOS é mantido apenas durante o seu consumo regular, cessando esse efeito após a retirada do prebiótico. É importante conhecer o período de atuação desses diferentes prebióticos para contribuir no gerenciamento da indicação e uso dos mesmos.

Um estudo realizado no Brasil Waitzberg et al. [4], avaliaram a mistura de inulina e goma guar parcialmente hidrolisada em 60 mulheres constipadas que consumiram 15g dessa mistura durante 3 semanas. Os autores encontraram melhora na frequência de evacuações e também diminuição significativa na contagem fecal de bactérias do gênero *Clostridium* comparadas ao placebo. Não foi encontrada diferença significativa na concentração de AGCC.

Estudo randomizado, duplo cego [44] avaliaram-se o efeito de um produto fermentado acrescentado de probiótico (*Bifidobacterium lactis*) em 34 pacientes com

diagnóstico de síndrome do intestino irritável com constipação. Os autores encontraram aceleração do tempo de trânsito intestinal no grupo que recebeu o probiótico em relação ao placebo. Também em estudo com 70 indivíduos com diagnóstico de constipação crônica uma bebida fonte de probiótico (*Lactobacillus casei* Shirota) foi eficaz em aumentar o número de evacuações naqueles que receberam a bebida adicionada do micro-organismo [45].

Um estudo finlandês [46], com idosos constipados adicionou-se duas estirpes das espécies *Lactobacillus rhamnosus* e *Propionibacterium freudenreichii* em suco de laranja que foi fornecido aos voluntários por 3 semanas. Foi encontrado efeito positivo na frequência de evacuações sendo 3 vezes maior do que o grupo controle.

Em relação ao efeito dos simbióticos na constipação, Amenta et al (2006)[47] avaliaram o efeito de um suplemento simbiótico composto de FOS e *Bifidobacterium longum* em 297 pacientes por 60 dias, encontrando aumento no número de evacuações.

Outro estudo realizado no Brasil [48] encontraram efeito positivo no consumo de um produto contendo FOS (6g) e bactérias das estirpes *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium lactis* em 49 mulheres com diagnóstico de constipação. Houve aumento no número de evacuações sem efeitos colaterais (flatulência, distensão abdominal e dor) nas pacientes que consumiram o produto.

Avaliando os estudos descritos pode-se perceber que os prebióticos, probióticos e simbióticos são eficazes em melhorar o trânsito intestinal de indivíduos constipados. Porém as fontes de prebiótico utilizadas são compostos purificados como os FOS, inulina e lactulose e não um alimento fonte desses ingredientes, benéficos para a saúde intestinal.

Por ser uma fonte de FOS e inulina, as raízes ou seus subprodutos podem potencialmente ser utilizados como fonte de prebióticos na dieta. O yacon *in natura* destaca-se pelo seu alto conteúdo de água que pode exceder mais de 90% do seu peso fresco [50]. Essa característica torna a raiz altamente perecível. Assim, é de suma importância o desenvolvimento de produtos que possam diminuir essa perecibilidade e ainda disponibilizar o produto durante todo o ano uma vez que a raiz é sazonal.

Nesse contexto a identificação de novos alimentos e ingredientes funcionais que sejam fonte de prebióticos é importante para avaliar seu potencial efeito na prevenção de doenças específicas. Um desses alimentos é o yacon (*Smallanthus sonchifolius*), uma fonte particularmente abundante de FOS e inulina [49].

O consumo de quantidades moderadas de produtos feitos com as raízes de yacon está relacionado à redução dos níveis de glicemia plasmáticos [51; 52], redução dos níveis de triacilgliceróis [53], aumento na absorção de cálcio e magnésio [54, 55] e melhora da constipação intestinal [51, 56].

Considerações finais

Tem-se reconhecido que a manutenção de uma microbiota intestinal saudável tem influencia positiva na saúde. Assim uma alimentação com alimentos fontes de prebióticos, probióticos e simbióticos pode ser considerada como uma ferramenta importante na manutenção da microbiota de tal forma que as estirpes bacterianas nocivas sejam suprimidas e as benéficas estimuladas. Essa modulação da população microbiana pode ser feita por meio do consumo de alimentos que contem compostos prebióticos, probióticos e/ou simbióticos. Alguns resultados preliminares de investigações dos efeitos desses compostos funcionais na saúde tem sido promissores, porém algumas alegações devem ser verificadas por testes em humanos, principalmente em relação a dose a ser consumida, frequência de consumo e a manutenção dos efeitos pós consumo.

Referências Bibliográficas

1. M. Camilleri, A.E., Bharucha, “Behavioural and new pharmacological treatments for constipation: getting the balance right”, *Gut*, Vol.59, 2010, pp. 1288-1296.
2. D.A., Drossman, “Rome III: the new criteria”, *Chinese Journal of Digestive Diseases*, Vol. 7, 2006, pp.181-185.5.
3. J. Gerritsen, H. Smidt, G.T. Rijkers, W.M. de Vos, “Intestinal microbiota in human health and disease: the impact of probiotics”, *Genes & Nutrition*, Vol.6, 2011, p.209-240.
4. D.L. Waitzberg, C.C Pereira, L.C. Logullo, M.T. Jacintho, D. Almeida, M.L.T. Silva, R.S Torrinhas, “Microbiota benefits after inulin and partially hydrolyzed guar gum supplementation – a randomized clinical trial in constipated women”, *Nutricion Hospitalaria*, Vol. 27, No.1, 2012, pp. 123-129.

- 5.P. Ducrotté, “Microbiota and irritable bowel syndrome”, *Gastroentérologie Clinique et Biologique*, Vol. 34, No1, 2010, S52—S56.
6. S. Macfarlane, G.T. Macfarlane, J.H. Cummings, “ Review article: prebiotics in the gastrointestinal tract”, *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, Vol.24, 2006, pp.701-714.
7. K.G. Brandt, M.C. Sampaio, C.J. Miuki, “Importância da microflora intestinal”, *Pediatria*, Vol.28, No.2, 2006, pp.117-127.
- 8.M. Blaut, “Relationship of prebiotics and food to intestinal microflora”, *European Journal of Nutrition*, Vol.41, 2002, p.11-16.
9. E.J. Schiffrin, S. Blum, “Interactions between the microbiota and the intestinal mucosa”, *European Journal of Clinical Nutrition*, Vol.56, 2002, pp.60–64.
10. Y. Bouhnik, L. Raskine, G. Simoneau, E. Vicaut, C. Neut, B. Flourie, F. Brouns, F.R. Bornet, “The capacity of nondigestible carbohydrates to stimulate fecal bifidobacteria in healthy humans, a double-blind, randomized, placebo-controlled, parallel-group, dose–response relation study”, *American Journal of Clinical Nutrition* Vol.80, 2004, pp.1658–1664.
11. N. Manhart, A. Spittler, H.Bergmeister, M. Mittlbock, E. Roth, “Influence of fructooligosaccharides on Peyer’s patch lymphocyte numbers in healthy and endotoxemic mice”, *Nutrition*, Vol. 19, No.7, 2003, pp.657-660.
12. L.V. Hooper, T. Midtvedt, J.I. Gordon, “ How host-microbial interactions shape the nutrient environment of the mammalian intestine”, *Annuals Reviews of Nutrition*, Vol. 22, 2002, pp.283–307.
13. M. Montalto, F..D. Onofrio, A. Gallo, A. Cazzato, G. Gasbarrini, “Intestinal microbiota and its functions”, *Digestive and Liver Disease Supplements*, Vol. 3,2009, pp.30-34.
14. R.E. Ley, D.A. Peterson, J.I. Gordon, “Ecological and evolutionary forces shaping microbial diversity in the human intestine”. *Cell*, Vol. 124, 2006, pp.837–48.
15. M. Hattori, T.D. Taylor, “The human intestinal microbiome: a new frontier of human biology”, *DNA Research*, Vol.16, 2009, pp.1–12.
16. A.M. O’Hara, F. Shanahan, “The gut flora as a forgotten organ”, *EMBO Reports*, Vol.7, 2006, pp.688–93.
- 17.M.S.Magalhães, S. Salminen, J.Tommola, M.C. Collado, C.L. Ferreira, P. Anna, R. Marchelli, “Prebiotic”, In: M.S. Magalhães, S. Salminen, P.Anna, R. Marchelli, C.L. Ferreira, J. Tommola, Ed.,*Terminology*, Turku, Finland, 2011, pp. 50-65.

- 18.G.T. Macfarlane, J.H. Cummings, C. Allison, "Protein degradation by human intestinal bacteria", *Journal of General Microbiology*, Vol.132,1986, pp. 1647–1656.
- 19.H.M. Hamer, D. Jonkers, K. Venema, S. Vanhoutvin, F. J. Troost, R.J. Brummer, "Review article: the role of butyrate on colonic function", *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, Vol.27, 2008, pp.104–119.
- 20.J.H. Cummings, H.N. Englyst, "Fermentation in the human large intestine and the available substrates", *American Journal of Clinical Nutrition*, Vol.45, 1987, pp. 1243–1255.
21. F. Guarner, J.R. Malagelada, "Gut flora in health and disease", *Lancet* Vol.361, 2003, pp.512–519.
22. G.R. Gibson, E.R. Beatty, X. Wang, J. H. Cummings, "Selective stimulation of bifidobacteria in the human colon by oligofructose and inulin", *Gastroenterology*, Vol.108, 1995,pp.975-982.
23. E.J. Woodmansey, "Intestinal bacteria and ageing", *Journal of Applied Microbiology*, Vol.102, No.5, 2007, pp. 1178–1186.
24. E.M.M. Quigley, "The enteric microbiota in the pathogenesis and management of constipation", *Practice & Research Clinical Gastroenterology*, Vol. 25, 2011, pp. 119–126.
25. S.H. Rhee, C. Pothoulakis, E.A. Mayer, "Principles and clinical implications of the brain-gut-enteric microbiota axis", *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, Vol. 6, 2009, pp. 306–14.
26. R.J. Camara, R. Ziegler, S. Begre, A.M. Schoepfer, R.V. Kanel, "The role of psychological stress in inflammatory bowel disease: quality assessment of methods of 18 prospective studies and suggestions for future research", *Digestion*, Vol.80, 2009, pp. 129–39.
27. B. Bonaz, J.M. Sabate, "Brain-gut axis dysfunction", *Gastroentérologie Clinique et Biologique*, Vol.33, 2009, pp.48–58.
28. E. Denou, P. Bercik S.M. Collins, "Perturbation of the intestinal microbiota alters behavior in mice", *Gastroenterology*, Vol. 136, 2010, pp.776-787.
29. E. Husebye, P. M. Hellstrom, F. Sundler, J. Chen, T. Midtvedt, "Influence of microbial species on small intestinal myoelectric activity and transit in germ-free rats", *American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology*, Vol 280, 2001, pp.G368–G380.

30. S.K. Mazmanian, J.L. Round, D.L. Kasper, “A microbial symbiosis factor prevents intestinal inflammatory disease”, *Nature*, Vol. 453, 2008, pp.620–625.
31. I.L. Khalif, E.M.M. Quigley, E.A. Konovitch, I.D. Maximova, “Alterations in the colonic flora and intestinal permeability and evidence of immune activation in chronic constipation”, *Digestive and Liver Disease*, Vol. 37, 2005, pp.838–849.
32. G. Zoppi, M. Cinquetti, A. Luciano, A. Benini, A. Miner, M.E. Bertazzoni, “The intestinal ecosystem in chronic functional constipation”, *Acta Paediatrica*, Vol.87, 1998, pp.836–841.
33. C. Chassard, M. Dapoigny, K. P. Scott, L. Crouzet, C. Del'homme, P. Marquet, J. C. Martin, G. Pickering, D. Ardid, A. Eschalier, C. Dubray, H. J. Flint, A. Bernalier-Donadille, “Functional dysbiosis within the gut microbiota of patients with constipated-irritable bowel syndrome”, *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, Vol. 35, 2012, pp. 828–838.
34. G.S. Nogueira, C.R. Zanin, J. Gomes, “Intervenção Cognitivo-Comportamental em Paciente com Constipação Intestinal: Relato de Caso”. *Revista Brasileira de Terapias Cognitivas*, Vol. 6, No.1, 2010, pp.138-154.
35. G. Devroede, G. Girard, M. Bouchoucha, T. Roy, R. Black, M. Camerlain, “Idiopathic constipation by colonic dysfunction. Relationship with personality and anxiety”, *Digestive Diseases and Sciences*, Vol. 34, No. 9, 1989, pp. 1428-1433.
36. E.J. Irvine, S. Ferrazzi, P. Pare, W.G. Thompson, L. Rance, “Health-related quality of life in functional gi disorders: focus on constipation and resource utilization”, *The American Journal of Gastroenterology*, Vol.97, No.8, 2002, pp.1986-1993.
37. M. Roberfroid, “Prebiotics: the concept revisited”, *Journal of Nutrition*, Vol.137, 2007, pp. 830S–837S.
38. J.M. Laparra, Y. Sanz, “Interactions of gut microbiota with functional food components and nutraceuticals”, *Pharmacological Research*, Vol. 61, 2010, pp.219–225.
39. L. Morelli, D. Zonenschain, M.L. Callegari E. Grossi, F. Maisano, M. Fusillo, “Assessment of a new synbiotic preparation in healthy volunteers: survival, persistence of probiotic strains and its effect on the indigenous flora”, *Nutrition Journal*, 2003, pp.2-11.
40. L.B Almeida, C.B. Marinho, C.S. Souza, V.B.P. Cheib, “Disbiose Intestinal”, *Revista Brasileira de Nutrição Clínica*, Vol.24, No.1, 2009, pp.58-65.
41. J.H. Cummings, G.T. Macfarlane, “Gastrointestinal effects of prebiotics”, *British Journal of Nutrition*, Vol.87, 2002, pp.S145-S151.

42. B. Kleessen, B. Svckura, H.J. Zunft, M. Blaut, "Effects of inulin and lactose on fecal microflora, microbial activity, and bowel habit in elderly constipated persons", *American Journal of Clinical Nutrition*, Vol.65, 1997, pp.1397-1402.
43. C.H. Yen, Y.W. Kuo, Y.H. Tseng, M.C. Lee, H.L. Chen, "Beneficial effects of fructooligosaccharides supplementation on fecal bifidobacteria and index of peroxidation status in constipated nursing-home residents placebo-controlled, diet-controlled trial", *Nutrition*, Vol.27, 2011, pp.323-328.
44. A. Agrawal, L.A. Houghton, J. Morris, B. Reilly, D. Guyonnet, N. Goupil Feuillerat, A. Schlumberger, S. Jakob, P.J. Whorwell, "Clinical trial: the effects of a fermented milk product containing *Bifidobacterium lactis* DN-173 010 on abdominal distension and gastrointestinal transit in irritable bowel syndrome with constipation", *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, Vol. 29, 2009, pp.104–114.
45. C. Koebnick, I. Wagner, P. Leitzmann, U. Stern, F. Zunft, "Probiotic beverage containing *Lactobacillus casei* Shirota improves gastrointestinal symptoms in patients with chronic constipation", *Canadian Journal of Gastroenterology*, Vol.17, 2003.
46. A.C. Ouwehand, H. Langstrom, T. Suomalainen, S. Salminen, "Effect of probiotics on constipation, fecal azoreductase activity and fecal mucin content in the elderly", *Annals Nutrition and Metabolism*, Vol.46, 2002, pp.159–162.
47. M. Amenta, M.T. Cascio, P. Di Fiore, I. Venurini, "Diet and chronic constipation. Benefits of oral supplementation with symbiotic *Bifidobacterium longum* W11 + FOS Actilight]", *Acta Biomedica*, Vol.77, 2006, pp.157-162.
48. D.L. Waitzberg, L.C. Logullo, A.F. Bittencourt, R.S. Torrinhas, G.M. Shiromab, N.P. Paulino, M.L. Teixeira-da-Silva, "Effect of synbiotic in constipated adult women e A randomized, double-blind, placebo-controlled study of clinical response", *Clinical Nutrition*, 2012, pp.1-7.
49. I. Ojansivu, C.L. Ferreira, S. Salminen, "Yacon, new source of prebiotic oligosaccharides with a history of safe use", *Trends of Food Science and Technology*, Vol.22, 2011, pp.40-46.
50. J. Lachman, E. C. Fernandez, M. Orsak, "Yacon (*Smallanthus sonchifolia* (Poepp. et Endl.) H. Robinson] chemical composition and use e a review", *Plant, Soil and Environment*, Vol.49, No.6, 2003, pp.283-290.
51. S. Genta, W. Cabrera, N. Habib, J. Pons, I.M. Carillo, A. Grau, S. Sánchez, "Yacon syrup: beneficial effects on obesity and insulin resistance in humans", *Clinical Nutrition*, Vol. 28, 2009, pp.182–187.

52. V.C. Rodrigues, “Formulação, índice glicêmico e aplicação alimentar de um produto à base de yacon (*Smallanthus sonchifolius*)”, Tesis, 2011, 89p.
53. K. Valentova, D. Stejskal, J. Bartek, S. Dvorackova, V. Kren, J. Ulrichova, “Maca [*Lepidium meyenii*] and yacon [*Smallanthus sonchifolius*] in combination with silymarin as food supplements: in vivo safety assessment”, *Food and Chemical Toxicology*, Vol.46, No.3, 2008, pp.1006–1013.
54. F.C. Rodrigues, “Avaliação da farinha de yacon (*Smallanthus sonchifolius*) na modulação das propriedades biomecânicas e na retenção de minerais nos ossos de ratos wistar”, Tesis, 2011, 180p.
55. A. Lobo, C. Colli, P. Eliana, M. Tullia, “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*, Vol.97, 2007, pp.776-785.
56. M. Geyer, I. Manrique, L. Degen, C. Beglinger, “Effect of yacon [*Smallanthus sonchifolius*] on colonic transit time in healthy volunteers”, *Digestion*, Vol.78, 2008, pp. 30–33.

ARTIGO 2
PREVALÊNCIA DE CONSTIPAÇÃO INTESTINAL NO MUNICÍPIO DE
VIÇOSA-MG

Prevalência de constipação intestinal no município de Viçosa-MG

Mônica de Souza Lima Sant'Anna – Estudante de Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos – Universidade Federal de Viçosa

Célia Lúcia de Luces Fortes Ferreira – Professora Titular do Departamento de Tecnologia de Alimentos – Universidade Federal de Viçosa

Local de trabalho: Universidade Federal de Viçosa-MG

Resumo:

O presente estudo teve como objetivo avaliar a prevalência de constipação intestinal (CI) do município de Viçosa-MG. Realizou-se um estudo transversal com aplicação de questionários individuais à população. O questionário continha questões acerca da CI, com os critérios diagnósticos do Roma III. Responderam ao questionário 140 indivíduos de ambos os sexos. Os participantes apresentaram média etária de $31,9 \pm 12,5$ anos. A prevalência total de CI foi de 31,4%. As mulheres apresentaram maior prevalência do que os homens com valores de 32,6 % e 25,6%, respectivamente. A queixa mais relatada pelo sexo feminino foi a presença de fezes endurecidas ou fragmentadas (73,1%) seguido de sensação de evacuação incompleta (71,1%) e esforço ao evacuar (44,3%). Entre os homens as queixas foram as mesmas com 76,3%, 63,1% e 34,2% respectivamente. A prevalência encontrada foi alta. Devem ser realizadas atividades educativas para informar à população formas de prevenção e tratamento dessa doença.

Palavras – chaves: prevalência, constipação intestinal, motilidade gastrointestinal, saúde do adulto.

Introdução:

Vários fatores têm sido relacionados ao aparecimento de doenças no organismo humano, entre eles a herança familiar, o fumo, o sedentarismo e o estresse, mas pode-se dizer que a alimentação talvez seja um dos fatores mais importantes. O aumento significativo do consumo de refeições rápidas e de lanches tem sido verificado nos últimos anos e revela uma tendência de mudança no estilo de vida da população (1). Isso se deve às facilidades encontradas para a aquisição de alimentos pré-preparados, prontos e congelados no mercado (2). Maus hábitos alimentares, como o excessivo consumo de alimentos gordurosos, com alta densidade energética, aliados à redução da prática de exercícios físicos e ao baixo consumo de água e de fibras alimentares, causam à população problemas nutricionais como sobrepeso e obesidade (3). A importância das fibras alimentares foi reconhecida há mais de duas décadas, após estudos sobre sua química e fisiologia que associavam o consumo de fibras com a prevenção de diversas doenças como constipação, hemorróidas, câncer de cólon, arteriosclerose, entre outras doenças comuns a uma população acostumada com alimentos refinados e pobres em fibras (4). Nas últimas décadas houve um aumento considerável no consumo de alimentos integrais em populações ocidentais, principalmente de grãos (5).

A constipação intestinal (CI) é uma doença polissintomática caracterizada por manifestações que podem interferir de maneira variada sobre as funções colônicas e anorretais. Com base em diferentes estudos epidemiológicos, estima-se que a doença acometa entre 15% e 20% da população adulta na América do Norte (podendo alcançar taxas como 27%), o que corresponde a mais de 60 milhões de indivíduos (6;7). Porém sua prevalência pode ser subestimada, pois uma minoria dos indivíduos que sofrem com a doença procuram cuidados médicos (8). Do ponto de vista do impacto populacional, a doença é mais prevalente que uma série de outras afecções crônicas comuns, como a hipertensão, obesidade e diabetes mellitus (9). Ocorre de maneira predominante no sexo feminino (2:1) e acomete todas as faixas etárias, embora seja mais comum em indivíduos com idade superior a 65 anos (7;9). Considerando-se o impacto médico e socioeconômico, a CI é motivo de mais de 2,5 milhões de consultas médicas anualmente nos EUA, gastos anuais superiores a 2700 dólares por paciente, aumento dos índices de absenteísmo, declínio da produtividade individual e diminuição da qualidade de vida (10;11;12).

A fisiopatologia da doença é complexa e multifatorial, resultando da combinação direta ou indireta de fatores estruturais e anatômicos, mecânicos, metabólicos e funcionais sobre o cólon, reto e ânus (12).

Embora a definição da doença com base na apresentação dos sintomas muitas vezes seja divergente entre médicos e pacientes (13), há critérios consensuais que auxiliam na padronização do diagnóstico. Os critérios diagnósticos para a CI, recentemente atualizados como Critérios de Roma III (14), estabelecem a necessidade de apresentação, por parte do paciente, de dois ou mais dos seguintes sintomas no período dos últimos 3 meses, com início das manifestações em no mínimo 6 meses antes do diagnóstico, em pelo menos 25% das defecações: evacuações inferior a 3 vezes por semana, esforço evacuatório, fezes duras ou em cíbalos, sensação de evacuação incompleta, sensação de bloqueio anorretal e necessidade de manobras manuais facilitadoras.

Por causa da alta prevalência e significativa comorbidade, a CI acarreta grandes custos relacionados a sua prevenção, diagnóstico e tratamento (15). Além disso, a CI tem um impacto negativo na qualidade de vida, afetando os indivíduos fisicamente e emocionalmente (8;16). No Brasil poucos estudos levantaram a prevalência da CI em diferentes faixas etárias. Devido aos fatores acima mencionados a constipação deve ser considerada uma questão de saúde pública e o conhecimento de sua prevalência é de suma importância para os prestadores de cuidados a saúde. Assim, o objetivo desse trabalho foi quantificar a prevalência de CI na população adulta (≥ 20 anos) e idosa (≥ 60 anos) do município de Viçosa-MG.

Material e Métodos

Realizou-se um estudo transversal por meio de aplicação de questionários individuais à população adulta e idosa de Viçosa.

O tamanho amostral foi calculado por meio do comando Statcalc (Sample Size & Power) no programa Epi Info, versão 6.04. Para tal cálculo, foram considerados os seguintes dados: número total de adultos e idosos e a prevalência de constipação intestinal na mesma faixa etária do estudo. Foi adotado um intervalo de 5% de variação aceitável na estimativa de frequência esperada e um intervalo de confiança de 99%.

O município de Viçosa-MG possuía no ano de 2000, segundo dados do censo do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), 40.711 adultos e idosos. A

prevalência de CI utilizada para cálculo foi obtida por dois estudos realizados em Campinas e São José do Rio Preto, estado de São Paulo, com mesma faixa etária e que encontraram prevalência de 37% e 35% respectivamente (12;15). Assim utilizou-se a prevalência de 35% para o cálculo perfazendo um total de 68 indivíduos.

O questionário aplicado continha questões acerca da constipação intestinal, com o objetivo de se avaliar os critérios diagnósticos do Roma III: menos de três evacuações por semana, esforço ao evacuar, sensação de evacuação incompleta, fezes endurecidas ou fragmentadas, sensação de obstrução à evacuação e manobras digitais para facilitar a mesma. Foram considerados constipados aqueles que apresentem aos menos dois desses critérios, referidos em pelo menos 25% das evacuações nos últimos três meses (12).

Resultados

Responderam ao questionário 140 indivíduos de ambos os sexos. Os participantes apresentaram média etária de $31,9 \pm 12,5$ anos. A prevalência total de CI foi de 31,4%. O sexo feminino apresentou uma prevalência estatisticamente maior do que o masculino com valores de 32,6 % e 25,6%, respectivamente. Na Tabela I estão os dados da população estudada segundo sexo e faixa etária.

Tabela I: Distribuição por sexo e faixa etária da população estudada, Viçosa- MG, 2011.

Faixa etária/Sexo	Masculino		Feminino	
	n	%	n	%
20-29 anos	24	61,5	70	68,7
30-39 anos	8	20,5	12	11,8
40-49 anos	3	7,7	6	5,8
50-59 anos	1	2,6	8	7,9
60 +	3	7,7	6	5,8
Total	39	100	102	100

Na Tabela II estão os dados de prevalência de constipação intestinal por sexo e faixa etária

Tabela II. Prevalência de constipação intestinal por sexo e faixa etária, Viçosa-MG, 2011.

Sexo/Faixa etária	Masculino (%)	Feminino(%)
20-29 anos	33,3	34,2
30-39 anos	14,2	25,0
40-49 anos	0	0
50-59 anos	2,0	12,5
60 +	33,3	100,0

A queixa mais relatada pelo sexo feminino foi a presença de fezes endurecidas ou fragmentadas (73,1%) seguido de sensação de evacuação incompleta (71,1%) e esforço ao evacuar (44,3%). Entre os homens as queixas foram as mesmas com 76,3%, 63,1% e 34,2% respectivamente.

Discussão:

No Brasil a prevalência de constipação intestinal foi estudada em várias faixas etárias, tanto em crianças, quanto em adultos e idosos. O critério utilizado, nesse estudo, para o levantamento da prevalência de constipação intestinal foi escolhido por ser recomendado pelas diretrizes da Associação Americana de Gastroenterologia. O consenso de Roma para constipação foi desenvolvido para padronizar a definição de constipação em estudos epidemiológicos, bem como para realizar o diagnóstico na prática clínica (16).

A prevalência de 31,4% de constipação intestinal estimada pelo presente estudo está de acordo com aquelas encontradas em outras pesquisas de mesmo delineamento, realizadas em diferentes países (6; 7; 17;18;19). Porém deve-se ter cuidado ao se comparar as prevalências encontradas baseando-se no uso dos critérios de Roma III com os anteriores (Roma I e II) tendo em vista as diferenças relativas ao número de sintomas e ao período recordatório da informação (17;20).

Em um estudo realizado com estudantes (12) a prevalência de CI foi de 35% com predominância da doença entre o sexo feminino (55%; $p < 0,0001$). As estudantes também apresentaram menor frequência de evacuações diárias e maior frequência de uso de laxativos ($p < 0,05$). No presente estudo a prevalência encontrada também foi maior no sexo feminino. Alguns autores tem investigado a causa dessa maior

prevalência, mas os achados ainda são inconclusivos. As principais teorias são: i) o trânsito intestinal nas mulheres é maior do que nos homens (21); ii) o papel dos hormônios sexuais femininos, já que a maioria das mulheres relatam alterações nas funções intestinais durante o ciclo menstrual. Levanta-se a hipótese de que o aumento de estrogênio na fase lútea do ciclo menstrual está associado a um tempo de trânsito intestinal mais prolongado (17;22;23). No entanto, os dados são conflitantes (8); iii) outra discussão foca aos possíveis danos causados aos músculos pélvicos durante o parto ou cirurgias ginecológicas que também podem contribuir para a constipação nas mulheres (22).

Um estudo australiano (22) comparou taxas de prevalências segundo grupos etários (18 a 23, 45 a 50 e 70 a 75 anos), revelando taxas de prevalência de 14,1%, 26,6% e 27%, respectivamente. Em um estudo realizado em Pelotas- RS, com adultos, encontrou-se uma prevalência de CI de 26,9%. As mulheres apresentaram 2,5 vezes mais constipação que os homens (36,8% vs. 13,9%). Entre os homens, mostraram-se como fatores de risco idade maior que 60 anos, cor da pele preta/parda e menor nível econômico. Entre as mulheres, a idade teve relação inversa com o desfecho, apresentando efeito protetor entre as idosas (17).

Em levantamento realizado com mulheres na pós menopausa foi encontrada uma prevalência de CI de 37% sendo que as queixas mais relatadas foram: esforço ao evacuar (91,9%), seguido da sensação de evacuação incompleta (83,8%), fezes endurecidas ou fragmentadas (81,1%), menos que três evacuações por semana (62,2%), sensação de obstrução à evacuação (62,2%) e manobras digitais para facilitar a evacuação (45,9%) (15). Na presente casuística a presença de fezes endurecidas ou fragmentadas e a sensação de evacuação incompleta foram relatadas mais frequentemente do que o esforço ao evacuar.

No presente estudo a prevalência de CI foi maior entre as idosas do que nas outras faixas etárias, não acontecendo o mesmo para o sexo masculino. Alguns estudos demonstram que o trânsito do colón diminui com o envelhecimento, mas isto é bem variável (8;24). O aumento da prevalência de taxas de CI em idosos pode refletir a presença de causas secundárias como utilização de múltiplos medicamentos e também a ocorrência de outras doenças como diabetes mellitus (25); artrite reumatóide e fibromialgia (26) e condições neurológicas como doença de Parkinson (27), acidente vascular cerebral (28) e esclerose múltipla (29).

O tratamento da CI é comumente baseado em dieta rica em fibras podendo ser suplementado pelo uso de substâncias laxativas (30). Os prebióticos são componentes alimentares não digeríveis que afetam benéficamente o hospedeiro, por estimularem seletivamente a proliferação ou atividade de populações de bactérias desejáveis no cólon (31). Além disso, por ter características bifidogênicas inibe patógenos, garantindo benefícios adicionais à saúde do hospedeiro. Eles atuam mais frequentemente no intestino grosso, embora possam também ter algum impacto sobre os microrganismos do intestino delgado (32). Os prebióticos identificados atualmente são carboidratos não-digeríveis, incluindo a lactulose, a inulina e diversos oligossacarídeos que fornecem carboidratos que as bactérias benéficas do cólon são capazes de fermentar. A maioria dos dados da literatura científica sobre efeitos prebióticos relaciona-se aos frutooligossacarídeos (FOS) e à inulina (33). Uma das fontes mais ricas em FOS e inulina encontradas na natureza é o yacon (*Smallanthus sonchifolius*), um tubérculo originalmente cultivado nos Andes (Colômbia) e no norte-ocidental da Argentina (34).

O yacon é utilizado na produção de adoçantes naturais e xaropes e embora existam poucos relatos na literatura, algumas propriedades medicinais têm sido atribuídas a este vegetal, tais como controle da glicemia, diminuição dos níveis sanguíneos de colesterol, promoção da digestão da lactose em indivíduos intolerantes à lactose, estimulação do sistema imune, alívio da constipação intestinal e aumento da absorção de minerais (34;35).

Embora usualmente não represente risco à vida, a constipação funcional pode provocar grande desconforto nos portadores e repercutir negativamente na sua qualidade de vida e no seu desempenho pessoal (30).

Conclusão

A prevalência encontrada no município foi alta, sendo que no sexo feminino essa taxa foi significativamente maior. Devem ser realizadas atividades educativas com o intuito de informar à população formas de se prevenir e tratar essa doença que é pouco divulgada nos centros de saúde. Além disso, estudos que objetivem levantar a magnitude da doença e seus fatores de risco são de suma importância para adotar estratégias de combate à doença.

Referências Bibliográficas

- 1-Vieira VCR. Hábitos alimentares e Consumo de Lanches. *Nut Pauta* 2001;46: 14-20.
- 2- Mattos LL; Martins IS. Consumo de fibras alimentares em população adulta. *Rev Saúde Pública* 2000; 34 (1): 50-54.
- 3-Hill JO, Trebridge FL. Childhood obesity: future directions and research priorities. *Pediatrics* 1998; 101(3):570-574.
- 4-Fagundes RLM, Costa YR. Uso de alimentos funcionais na alimentação. *Higiene alimentar* 2003;17(47).
- 5-Lobo AR, Silva GML. Implicações nutricionais no consumo de fibras e amido resistente. *Nut Pauta* 2001;46:28.
- 6-Pare P, Ferrazzi S, Thompson WG, Irvine EJ, Rance L. An epidemiological survey of constipation in Canada: definitions, rates, demographics, and predictors of health care seeking. *Am J Gastroenterol* 2001; 96:3130-7.
- 7-Higgins PD, Johanson JF. Epidemiology of constipation in North America: a systematic review. *Am J Gastroenterol* 2004; 99: 750–9.
- 8-Mugie SM, Beninga MA, Di Lorenzo C. Epidemiology of constipation in children and adults: A systematic review. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2011; 25:3-18.
- 9-Pleis JR, Lethbridge-Cejku M. Summary health statistics for U.S. adults: National Health Interview Survey. *Vital Health Stat* 10 2006; 232:1–153.
- 10-Martin BC, Barghout V, Cerulli A. Direct medical costs of constipation in the United States. *Manag Care Interface* 2006;19:43–9.
- 11- Chang L, Toner BB, Fukudo S, Guthrie E, Locke GR, Norton NJ; et al. Gender, age, society, culture, and the patient's perspective in the functional gastrointestinal disorders. *Gastroenterol* 2006;130:1435–46.
- 12-Trisóglia C, Marchi CMG, Torres US, Natinho JG. Prevalência de constipação intestinal entre estudantes de medicina de uma instituição no noroeste paulista. *Rev Bras Coloproct* 2010;30(2):203-209.
- 13-Lembo A, Camilleri M. Chronic Constipation. *N Engl J Med* 2003; 349:1360-8.
- 14-Haug TT, Mykletun A, Dahl AA. Are anxiety and depression related to gastrointestinal symptoms in the general population? *Scand J Gastroenterol* 2002; 37:294-8.

- 15-Oliveira SCM, Pinto-Neto AM, Góes JRN, Conde DM, Santos-Sá D, Costa-Paiva L. Prevalência e fatores associados à constipação intestinal em mulheres na pós menopausa. *Arq Gastroenterol* 2005;42(1): 24-29.
- 16-Wald A, Scarpignato C, Kamm MA, et al. The burden of constipation on quality of life: results of a multinational survey. *Aliment Pharmacol Ther* 2007;26:227–36.
- 17-Collete VL, Araujo CL, Madruga SW. Prevalência e fatores associados à constipação intestinal: um estudo de base populacional em Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil, 2007. *Cad Saúde Pública* 2010; 26:1391-1402.
- 18- Harris LA. Prevalence and ramifications of chronic constipation. *Manag Care Interface* 2005; 18:23-30.
- 19- Adibi P, Behzad E, Pirzadeh S, Mohseni M. Bowel habit reference values and abnormalities in young Iranian healthy adults. *Dig Dis Sci* 2007; 52:1810-3.
- 20-Longstreth GF, Thompson WG, Chey WD, Houghton LA, Mearin F, Spiller RC. Functional bowel disorders. *Gastroenterol* 2006; 130:1480-91.
- 21-Southwell BR, Clarke MC, Sutcliffe J, et al. Colonic transit studies: normal values for adults and children with comparison of radiological and scintigraphic methods. *Pediatr Surg Int* 2009; 25:559–72.
- 22-Chiarelli P, Brown W, Mcelduff P. Constipation in Australian women: prevalence and associated factors. *Int Urogynecol J Pelvic Floor Dysfunct* 2000; 11:71-8.
- 23-Jung HK, Kim DY, Moon IH. Effects of gender and menstrual cycle on colonic transit time in healthy subjects. *Korean J Intern Med* 2003;18:181–6.
- 24- J.L. Madsen Effects of gender, age, and body mass index on gastrointestinal transit times *Dig Dis Sci* 1992; 37:1548–1553.
- 25-Oh JH, Choi MG, Kang MI, et al. The prevalence of gastrointestinal symptoms in patients with non-insulin dependent diabetes mellitus. *Korean J Intern Med* 2009; 24:309–17.
- 26-Pamuk ON, Umit H, Harmandar O. Increased frequency of gastrointestinal symptoms in patients with fibromyalgia and associated factors: a comparative study. *J Rheumatol* 2009; 36:1720–4.
- 27- A.L. Ramjit, L. Sedig, J. Leibner et al. The relationship between anosmia, constipation, and orthostasis and Parkinson's disease duration: results of a pilot study *Int J Neurosci* 2010; 120:67–70.
- 28-Su Y, Zhang X, Zeng J, et al. New-onset constipation at acute stage after first stroke: incidence, risk factors, and impact on the stroke outcome. *Stroke* 2009;40:1304–9.

- 29-Norton C, Chelvanayagam S. Bowel problems and coping strategies in people with multiple sclerosis. *Br J Nurs* 2010;19:220–6.
- 30-Machado WM, Capelari SM. Avaliação da eficácia e do grau de adesão ao uso prolongado de fibra dietética no tratamento da constipação intestinal funcional. *Rev. Nutr* 2010; 23:231-238.
- 31- Gibson G, Roberfroid M. Dietary modulation of the human colonic microbiota introducing the concept of prebiotics. *J Nutri* 1995;125:1401-1412.
- 32- Mattila-Sandholm T, Myllärinen P, Crittenden R, Mogensen G, Fondén R, Saarela M. Technological challenges for future probiotic foods. *Int. Dairy J* 2002;12:173-182.
- 33- Puupponen-Pimiä R, Aura AM, Oksmancaldentey KM, Myllärinen P, Saarela M, Mattila-Sanholm T, Poutanen K. Development of functional ingredients for gut health. *Trends Food Sci Technol* 2002;13:3-11.
- 34- Aybar MJ, Sanchez Riera AN, Grau A, Sanchez SS. Hypoglycemic effect of the water extract of *Smallantus sanchifolius* (yacon) leaves in normal and diabetic rats. *J Ethnopharmacol* 2001;74:125-132.
- 35-Saad SML. Probióticos e prebióticos: O estado da arte. *Rev Bras Cienc Farm* 2006; 42 (1):1-16.

2.HIPÓTESES

2.1. HIPÓTESE 1

O produto a base de yacon (PBY) contribui na diminuição de risco do estabelecimento da constipação intestinal induzida por Loperamida em ratos Wistar

21. 1. OBJETIVOS

- Avaliar o escore fecal dos animais após a indução da constipação e durante o tratamento com PBY
- Determinar o efeito do consumo de PBY na microbiota intestinal dos animais
- Avaliar o peso do ceco e sua histologia após consumo de PBY
- Determinar a concentração de ácidos graxos de cadeia curta do conteúdo cecal dos animais após consumo de PBY
- Determinar o pH do conteúdo cecal e das fezes dos animais após o consumo do PBY

2.2. HIPÓTESE 2

O produto a base de yacon (PBY) contribui na diminuição de risco do estabelecimento da constipação intestinal de adultos e idosos.

2.2.1 OBJETIVOS

- Comparar por meio de dois métodos (escore de Agachan e escala de Bristol) a melhora dos sintomas da constipação antes e após o consumo de PBY entre o grupo teste e grupo controle
- Verificar a influência do consumo do PBY em diferentes grupos microbianos intestinais de humanos antes e após a intervenção clínica
- Verificar a influência do consumo do PBY na concentração de lactato e ácidos graxos de cadeia curta das fezes
- Determinar o pH das fezes antes e após o consumo do PBY

3. METODOLOGIA

3.1 Produto a base de yacon (PBY)

O produto foi processado de acordo com metodologia proposta por Rodrigues (2011a), estando em processo de pedido de patente PI 1106621-0.

A composição centesimal e dos conteúdos de FOS e inulina do PBY foram quantificados pelo Centro de Raízes e Amidos Tropicais (CERAT), localizado no município de Botucatu- SP.

As análises químicas foram realizadas conforme metodologias indicadas pela AOAC (1997). A umidade foi determinada pelo método de secagem em estufa a 105°C até peso constante, a proteína pelo método de Kjeldahl, utilizando-se o fator 5,70; os lipídios totais foram analisados pelo método de extração com éter etílico em equipamento Soxhlet e o teor de cinzas (resíduo mineral fixo) pelo método de incineração em mufla a 550°C. Os carboidratos totais foram calculados por diferença e o valor calórico pela soma das calorias fornecidas pelas proteínas, carboidratos e lipídios, utilizando-se os fatores de conversão 4 Kcal g⁻¹, 4 Kcal g⁻¹ e 9 Kcal g⁻¹, respectivamente (BRASIL, 2003).

Os oligofrutanos (FOS e inulina) foram determinados por meio de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) em cromatógrafo (Varian, Pro-Star 410), com duas bombas binárias e injetor automático (auto sampler 410), detector IR (índice de refração) e água deionizada ultrapura Milli-Q na fase móvel, seguindo-se metodologia descrita por Kaneko, Kudo e Horikoshi (1990). Utilizou-se coluna HPX 87P (BIO-RAD), fase estacionária de chumbo, com temperatura da coluna a 85°C e fluxo de 0,6 mL/min-1. Para o preparo da amostra pesou-se 1g e diluiu-se em 100 ml de água destilada. Realizou-se a centrifugação a 12000 rpm por 10 minutos e filtração em membrana de decafluoreto de polivinil (PVDF) da Milli Pore com 0,22 µm de porosidade e 13 mm de diâmetro, e em seguida, a amostra foi injetada no cromatógrafo. A identificação de cada oligofrutano foi realizada comparando-se os tempos de retenção obtidos para os padrões e para a amostra, analisados sob as mesmas condições cromatográficas. Para a quantificação dos compostos utilizou-se curvas analíticas construídas a partir de concentrações crescentes de soluções padrão para cada composto. Desse modo, foi feita uma correlação linear entre as áreas dos picos e as concentrações

injetadas de cada composto. A equação de regressão linear obtida para cada padrão foi utilizada para quantificar o conteúdo de FOS e inulina na amostra.

3.2. Estudo Biológico

Foram utilizados 32 ratos da linhagem Wistar machos com 45 dias de idade, provenientes do Biotério Central do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal de Viçosa. Os animais receberam ração comercial Purina® durante todo o experimento. Os animais foram separados em 4 grupos como demonstrado na Figura 2.

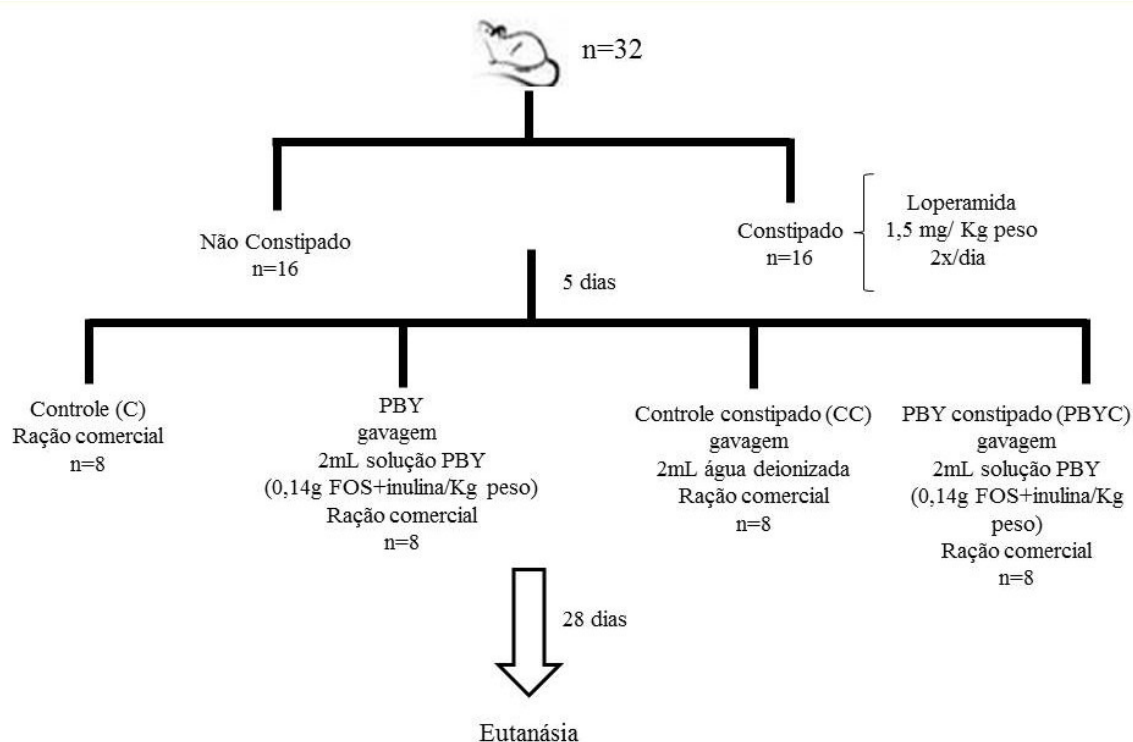


Figura 2 – Organograma do experimento

Os animais foram mantidos em gaiolas individuais apropriadas com ventilação adequada, ciclos de luminosidade (claro/escuro) de 12 horas e uma temperatura média de 22°C. A constipação intestinal foi induzida por Loperamida ressuspendida em 0,9% de cloreto de sódio e administrada via gavagem em dois períodos do dia (08:00h e 16:00h) durante 5 dias (SHIMOTOYODOME et al., 2000). O cloridrato de loperamida atua diminuindo a motilidade intestinal propulsiva por ação direta sobre as camadas

musculares circular e longitudinal da parede intestinal, inibindo a liberação de acetilcolina e prostaglandinas a nível de plexos mioentéricos. Nos seres humanos, ele prolonga o tempo de trânsito intestinal, reduz o volume fecal diário e diminui a perda de água e eletrólitos. Também aumenta o tônus do esfíncter anal, reduzindo a sensação de urgência e incontinência fecal.

O peso e o consumo alimentar dos animais foram monitorados semanalmente. O ganho de peso dos animais foi determinado pela diferença entre peso final e inicial e o coeficiente de eficiência alimentar (CEA) foi calculado segundo a fórmula: $CEA = (\text{ganho de peso}/\text{consumo de dieta total}) \times 100$. O estudo teve a duração de 28 dias.

O valor de FOS/inulina ingerido foi baseado no estudo de Genta et al. (2009). A solução administrada continha PBY, calculado a partir do peso médio semanal de cada grupo, diluído em água deionizada. Os animais recebiam essa solução por gavagem diariamente às 8:00h. Ao final do experimento, após 12 horas de jejum, os animais foram eutanasiados por inalação de CO₂ para remoção do ceco. O conteúdo cecal e as fezes totais foram retirados e armazenados em saco plástico estéril sob uma temperatura de -80°C. Após a retirada do conteúdo cecal, o órgão foi pesado e em seguida lavado em tampão fosfato (PBS) e fixado pela imersão em paraformaldeído 10% em PBS 0,1 M em temperatura ambiente por 24 horas. Após esse período, o órgão foi transferido para uma solução de etanol absoluto na concentração de 70% para conservação até o momento do processamento para a análise histológica. O peso relativo do ceco foi calculado pela relação entre o peso cecal e o peso do animal.

3.2.1-Escore fecal

A determinação do escore fecal foi feita por meio de observação visual das fezes e suas características e graduação em uma escala de 1 a 5: escore 1 – fezes muito duras e ressecadas com *pellets* secos e pequenos; escore 2 – fezes duras, secas, firmes, macias e bem formadas; escore 3 – fezes macias, bem formadas, úmidas, com formato preservado; escore 4 – fezes macias, sem forma definida; escore 5 – fezes líquidas, segundo o proposto por Veronesi (2003). A mensuração do escore foi realizada após a indução da constipação intestinal e durante a administração do PBY.

3.2.2 - Análise microbiológica e de pH

As contagens microbiológicas foram realizadas em meios seletivos: meio ágar Rogosa (Difco) para *Lactobacillus* (ROGOSA, 1951), ágar MRS modificado (Difco) (HARTEMINK et al., 1997) para *Bifidobacterium*, ágar RCM (Difco) para *Clostridium* (SANTOS, et al., 2003); ágar Wilkins Chalgrens (Difco) + solução de garamicina (40 mg/400 ml de meio) para *Bacteroides*, ágar Wilkins Chalgrens (Difco) para anaeróbios totais. Todas as amostras foram incubadas a 37°C/72 horas, em jarras de anaerobiose (Gas Pak jar, Franklin Lakes, USA) contendo geradores de CO₂ e H₂ (Anaerobac, Probac). A contagem microbiológica foi expressa em Log₁₀UFC g⁻¹.

A avaliação do pH e da microbiota cecal e fecal foi realizada no Laboratório de Culturas Láticas do Bioagro/UFV. As amostras foram submetidas a diluições decimais, em água peptonada estéril. A primeira diluição foi utilizada para determinação do pH de forma direta, por meio de pHmetro (Bel Engineering-W3B, Monza, Itália).

3.2.3- Análise histológica

Fragmentos do ceco foram removidos e fixados em formalina. Após desidratação em um gradiente crescente de etanol, o material foi diafanizado em xilol e incluído em parafina. Foram obtidos cortes histológicos de 7µm de espessura, utilizando-se um micrótomo rotativo (Olympus America Inc. CUT4055) e corados com hematoxilina e eosina (ROSA et al., 2010).

As imagens dos cortes histológicos foram capturadas com uma objetiva de 10x. As seguintes medidas foram tomadas com o uso da imagem do sistema de software Pro-Plus ®, versão 4.5 (Media Cybernetics):

- Altura de vilosidades: dez campos aleatórios foram selecionados por animal. Pelo menos 30 vilosidades por grupo experimental foram medidos. Apenas as vilosidades, com o epitélio definido e conjuntivas visíveis foram utilizados;
- Largura das vilosidades: nas mesmas vilosidades utilizadas na análise de altura, foi realizada a medida da largura no ponto médio da vilosidade.
- Profundidade das criptas: nas mesmas vilosidades foi realizada a medida de profundidade considerando que a base e o ápice das criptas estivessem visíveis.

3.2.4 - Análise de ácidos graxos de cadeia curta

As análises de ácidos graxos de cadeia curta foram realizadas em duplicata, segundo proposto por Smiric-ktjardes et al. (2003). Para a extração, foi adicionado às amostras 500µL de ácido meta-fosfórico 25%, agitado em vórtex e mantido em repouso por 30 minutos à temperatura ambiente. Após essa etapa os tubos foram centrifugados a 13.500g por 30 minutos a 4°C, o sobrenadante foi novamente centrifugado a 13.500g por 20 minutos e congelado a -20°C. As análises dos ácidos acético, propiônico e butírico foram realizadas em cromatógrafo a gás modelo (CGMS – QP 5000/Shimadzu/Tokyo, Japan). Os respectivos ácidos foram separados e identificados em coluna capilar Nukol (30 m x 0,25 mm x 0,01 mm). Para a separação cromatográfica, 1 mL de amostra foi injetada com auxílio de seringa de 10 mL (Hamilton®) em sistema Splitless no modo SIM (Sistema de Monitoramento de Íons). O gás hélio foi utilizado como carreador com velocidade linear programada para 38,5 cm/s. As temperaturas do injetor e do detector são respectivamente de 200°C e 220°C. A programação da coluna com temperatura inicial a 80°C (mantida por 5 minutos), aumentando em 12°C por minuto até atingir 180°C e finalizando a 25 °C por minuto até atingir 220°C (mantida por 20 minutos) totalizando 34,13 minutos de análise. A massa foi scaneada de 40 a 400 m/z. O Fluxo da fase móvel na coluna foi de 1,1 mL/minuto.

A partir de soluções estoque de ácido acético, butírico e propiônico foram feitas diluições para obtenção das soluções padrões. Cada solução foi injetada no cromatógrafo para obtenção das curvas, correlacionando a área do pico com a concentração de ácido na solução. O volume de 1 µL de cada amostra foi injetado com auxílio de seringa de 10 µL em sistema Splitless, e cada ácido presente foi identificado e quantificado por comparação com os tempos de retenção e concentrações dos ácidos graxos nas soluções padrões. Os cálculos foram feitos pelo microcomputador acoplado ao sistema de cromatografia gasosa equipado com o programa GC Solution.

3.2.5 - Comitê de ética

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Animais da Universidade Federal de Viçosa (Anexo 1). O experimento foi realizado de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal, adotado pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA).

3.2.6 - Análises Estatísticas

Para avaliar a distribuição das variáveis foi utilizado o teste de Kolmogorov-Smirnov. A partir dos resultados do teste foram utilizados testes paramétricos ou não paramétricos.

A análise de variância (ANOVA) foi utilizada para comparação entre três ou mais grupos independentes que apresentaram distribuição normal. Em situações em que houve diferença estatística significativa, empregou-se o teste post-hoc de Tukey de modo a identificar quais grupos diferem entre si. Para os grupos que não apresentaram distribuição normal, empregou-se o teste de Kruskal-Wallis e o teste post-hoc de Dunn's. O nível de rejeição da hipótese de nulidade foi de 5%. O teste t de Student foi utilizado para comparar os grupos de tratamento com seus respectivos controles.

Para as análises utilizou-se o programa SAS (Statistical Analysis System – SAS Institute Inc., Cary, NC, USA), versão 9.20, licenciado para UFV.

3.3. Estudo Clínico

3.3.1-Casuística e seleção dos voluntários

O presente estudo se caracteriza como um ensaio clínico randomizado, cego. O tamanho amostral foi determinado segundo recomendação de Pearson (1954) no qual devem ser realizadas no mínimo 20 observações para que os desvios-padrão das amostras se aproximem cada vez mais da população original do estudo tornando fidedignas as análises estatísticas (PEARSON e HARTLEY, 1954).

Assim, para a avaliação clínica foram selecionados 50 adultos e idosos, entre 20 e 75 anos de idade, de ambos os sexos, com diagnóstico de constipação intestinal e foram randomizados aleatoriamente em 2 grupos de 25 indivíduos cada.

A divulgação do estudo foi realizada por meio de panfletos em murais, email, e texto em site. Os idosos cadastrados no Programa Municipal da Terceira Idade (PMTI) da Prefeitura Municipal de Viçosa-MG foram convidados a participar do estudo. Os voluntários que aceitaram o convite de participação responderam ao questionário de diagnóstico de constipação intestinal, Roma III (anexo 2). O questionário contém questões objetivas acerca da constipação intestinal, com a finalidade de avaliar os critérios diagnósticos do Roma III: menos de três evacuações por semana, esforço ao

evacuar, sensação de evacuação incompleta, fezes endurecidas ou fragmentadas, sensação de obstrução à evacuação e manobras manuais para facilitar a mesma. Foram considerados constipados aqueles que apresentaram aos menos dois desses critérios, referidos em pelo menos 25% das evacuações nos últimos três meses (TRISÓGLIO et al, 2010). Os candidatos com diagnóstico positivo de constipação intestinal foram informados e esclarecidos sobre os objetivos, bem como a forma de execução deste trabalho, sendo o termo de consentimento apresentado a estes, e solicitada, então, a sua concordância em participar deste estudo.

Os critérios de exclusão utilizados foram: constipação intestinal induzida por fármacos, presença de doenças que afetam o trânsito intestinal como doença celíaca e intolerância à lactose, dependência de laxantes, uso de álcool e drogas, uso de alimentos que contenham prebióticos e probióticos (iogurtes, bebidas, suplementos) e uso de antibióticos nos últimos 3 meses.

3.3.2- Intervenção clínica

Os voluntários (40 adultos e 10 idosos) foram divididos em dois grupos iguais de intervenção. O grupo teste recebeu 52g de PBY misturado à 448 ml de suco de laranja caseira (Del Valle)® fornecendo uma dose de 10g FOS/inulina. O grupo controle recebeu 25g de maltodextrina misturado em 475 ml de suco de laranja (Dell Valle). A quantidade de maltodextrina foi determinada com o intuito de fornecer a mesma quantidade de calorias do PBY. Os voluntários recebiam as amostras de suco duas vezes por semana totalizando 7 garrafas com 500mL cada. Estes foram orientados a consumirem o suco em duas porções diárias, uma pela manhã e outra ao fim da tarde (1 garrafa por dia). O suco com PBY forneceu um total de 247,12 Kcal/500 mL e o suco com maltodextrina forneceu um total de 242,5 Kcal/ 500mL. O estudo teve a duração de 30 dias. Durante a intervenção clínica dois voluntários (um de cada grupo) deixaram de participar do estudo. Um por motivo de viagem e outro por motivo de doença.

A figura 3 ilustra as garrafas de suco de laranja com PBY (A) e com maltodextrina (B) que foram entregues aos voluntários.



Figura 3- Amostras de sucos consumidas pelos voluntários durante a intervenção. A = suco com PBY. B= suco com maltodextrina.

3.3.3- Avaliação antropométrica

Para caracterização da amostra foi realizada a avaliação antropométrica dos indivíduos. Eles foram pesados utilizando-se balança eletrônica digital (Plenna), capacidade de 150 kg e precisão de 100 g, vestindo roupas leves. A altura foi determinada utilizando-se antropômetro vertical milimetrado, com capacidade de 2,0 m, com escala de 0,5 cm. O índice de massa corporal (IMC) foi calculado pela relação do peso (kg) e a altura (metros) ao quadrado (BRAY e GRAY, 1988). Essa avaliação foi realizada antes e após o período de intervenção.

3.3.4- Categorização das evacuações

Para categorização das evacuações foram utilizados dois sistemas de avaliação. A escala de Bristol (LEWIS e HEATON, 1997) que avalia a consistência e forma das fezes e o escore de Agachan (AGACHAN et al., 1996) que tem como objetivo avaliar a intensidade da constipação.

A Escala de Bristol (anexo 3) é uma escala médica destinada a classificar a forma das fezes humanas em sete categorias: 1- caroços duros e separados, como nozes; 2- forma de salsicha, mas granuloso; 3- como uma salsicha, mas com fissuras; 4- como uma salsicha, mas sem fissuras; 5- bolhas suaves com bordas nítidas; 6- peças fofas com

bordas em pedaços; 7- aquoso. A categoria 4 é a considerada ideal. Os voluntários responderam a escala antes e após o período de intervenção.

O escore de Agachan (anexo4) também foi aferido antes e após a intervenção. Esse escore considera o seguinte conjunto de sintomas: frequência de evacuações, dor ao evacuar, dificuldade e/ou esforço ao evacuar, sensação de evacuação incompleta, dor abdominal, tempo necessário para iniciar a evacuação, tipo de assistência (sem assistência, manobras manuais, uso de laxantes), tentativas de evacuação por dia e duração da constipação. Quanto menor a pontuação menor é a intensidade da constipação. Valores de 0 a 10, 11 a 20 e 21 a 30 foram classificados como constipação leve, moderada e grave, respectivamente (WAITZBERG et al., 2012).

Os voluntários registraram também o número de evacuações por semana antes e ao final do tratamento.

3.3.5 – Sintomas abdominais

Ao final do estudo os pacientes registraram sua percepção quanto a dor abdominal, distensão abdominal, flatulência de acordo com quatro classificações: 0 – nenhum sintoma; 1 – sintomas toleráveis; 2- sintomas incômodos e 3 – sintomas que prejudicaram as atividades diárias (WAITZBERG et al., 2012) (anexo 5).

3.3.6- Quantificação da microbiota e análise de pH

Para a coleta de fezes os indivíduos foram orientados a evacuar em recipiente limpo e seco e transferir uma porção das fezes recém emitidas para o frasco coletor de polipropileno com tampa de rosca com capacidade de 80 ml. Esta coleta foi realizada antes e depois da intervenção clínica. As amostras foram armazenadas a -80°C até o momento das análises.

As amostras das fezes foram pesadas em saco plástico estéril de polietileno. Após efetuar as diluições apropriadas, foi feito o plaqueamento em profundidade, em meios apropriados para cada grupo a ser analisado. Para avaliação dos diferentes grupos microbianos foram utilizados os seguintes meios de cultura: agar Rogosa (Difco, Detroit-USA) para *Lactobacillus* (ROGOSA, 1951), MRS modificado (Difco, Detroit-USA) (HARTEMINK et al, 1997) para *Bifidobacterium*; RCM (Difco, Detroit-USA) para *Clostridium* (SANTOS, et al, 2003), Agar Mac Conkey (Difco, Detroit-USA) para

Enterobactérias e meio Wilkins Chalgrens (Difco, Detroit-USA) para anaeróbios totais. Todas as amostras foram incubadas a 37°C/72 horas em Câmara de Anaerobiose (BUG BOX). A contagem microbiológica foi expressa em Log₁₀UFC g⁻¹.

A mensuração do pH foi realizada na primeira diluição para a análise da microbiota, utilizando-se pHmetro (Bel Engineering W3B, Monza, Itália).

3.3.7 – Quantificação de lactato e ácidos graxos de cadeia curta

As análises de lactato e ácidos graxos de cadeia curta das fezes foram realizadas em duplicata, segundo proposto por Smiric-ktjardes et al. (2003). Para a extração, foi adicionado às amostras 500µL de ácido meta-fosfórico 25%, agitado em vórtex e mantido em repouso por 30 minutos à temperatura ambiente. Após essa etapa os tubos foram centrifugados a 13.500g por 30 minutos a 4°C, o sobrenadante foi novamente centrifugado a 13.500g por 20 minutos e congelado a -20°C. As análises dos ácidos láctico, acético, propiônico e butírico foram realizadas em cromatógrafo a gás modelo (CGMS – QP 5000/Shimadzu/Tokyo, Japan). Os respectivos ácidos foram separados e identificados em coluna capilar Nukol (30 mm x 0,25 mm x 0,01 mm). Para a separação cromatográfica, 1 mL de amostra foi injetada com auxílio de seringa de 10 mL (Hamilton®) em sistema Splitless no modo SIM (Sistema de Monitoramento de Íons). O gás hélio foi utilizado como carreador com velocidade linear programada para 38,5 cm/s. As temperaturas do injetor e do detector são respectivamente de 200°C e 220°C. A programação da coluna com temperatura inicial a 80°C (mantida por 5 minutos), aumentando em 12°C por minuto até atingir 180°C e finalizando a 25 °C por minuto até atingir 220°C (mantida por 20 minutos) totalizando 34,13 minutos de análise. A massa foi scaneada de 40 a 400 m/z. O Fluxo da fase móvel na coluna foi de 1,1 mL/minuto. A partir de soluções estoque de ácido acético, láctico, butírico e propiônico foram feitas diluições para obtenção das soluções padrões. Cada solução foi injetada no cromatógrafo para obtenção das curvas, correlacionando a área do pico com a concentração de ácido na solução. O volume de 1 µL de cada amostra foi injetado com auxílio de seringa de 10 µL em sistema Splitless, e cada ácido presente foi identificado e quantificado por comparação com os tempos de retenção e concentrações dos ácidos graxos nas soluções padrões. Os cálculos foram feitos pelo microcomputador acoplado ao sistema de cromatografia gasosa equipado com o programa GC Solution.

3.3.8 - Comitê de ética

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de Viçosa (anexo 6).

3.3.9 - Análises Estatísticas

Para avaliar a distribuição das variáveis foi utilizado o teste de Kolmogorov-Smirnov. A partir dos resultados do teste foram utilizados testes paramétricos ou não paramétricos (CALEGGARI-JACQUES, 2003).

Para a comparação das variáveis dos dois grupos antes e após a intervenção foi feito o teste t pareado para as variáveis de distribuição normal. Para as que não apresentaram tal distribuição foi realizado o teste de Wilcoxon. Para a comparação dos grupos independentes foi utilizado o teste t de *Student* para variáveis de distribuição normal e teste de Mann-Whitney para variáveis que não apresentaram esta distribuição. O nível de rejeição da hipótese de nulidade foi menor que 0,05.

Para realização das análises utilizou-se o programa SAS (Statistical Analysis System – SAS Institute Inc., Cary, NC, USA), versão 9.20, licenciado para a Universidade Federal de Viçosa.

3.4- Referências Bibliográficas

AGACHAN, F.; CHEN, T.; PFEIFER, J.; REISSMAN, P.; WEXNER, S.D. A constipation scoring system to simplify evaluation and management of constipated patients. **Diseases of the Colon & Rectum**, v.39, p.681-5, 1996.

BRAY, G.A.; GRAY, D.S. Obesity. Part I-Pathogenesis. **Western Journal of Medicine**, v. 149, n.4, p.429-441, 1988.

GENTA, S.; CABRERA, W.; HABIB, N.; PONS, J.; CARILLO, I.M.; GRAU, A.; SÁNCHEZ, S. Yacon syrup: beneficial effects on obesity and insulin resistance in humans, **Clinical Nutrition** , v.28, n.2, p. 182–187, 2009.

LEWIS, S.J.; HEATON, K.W. Stool form scale as a useful guide to intestinal transit time. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, v. 32, p.920-4, 1997.

PEARSON, E.S.; HARTLEY, H.O. Biometrics tables for statisticians. Cambridge, The University Press, 1954, v.1, 238p. In: GOTLIEB, M.J.;LEBRÃO, L. Estatísticas de saúde. São Paulo: EPU,1987.

RODRIGUES, V.C. Formulação, índice glicêmico e aplicação alimentar de um produto à base de yacon (*Smallanthus sonchifolius*). **Tese** (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade de Federal de Viçosa, Viçosa-MG.

ROGOSA, M.; MITCHELL, J.A.; WISEMAN, R.F. A selective medium for the isolation and enumeration of oral and fecal Lactobacilli. **Journal of Bacteriology**, v.62, p.132-133, 1951.

ROSA, D. D. ; SALES, R. L. ; MORAES, L.F.S. ; LOURENÇO, F.C. ; NEVES, C.A. ; SABARENSE, C. M. ; PELÚZIO,M.C.G. . Flaxseed, olive and fish oil influence plasmatic lipids, lymphocyte migration and morphometry of the intestinal of Wistar rats. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 25, p. 275-280, 2010.

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

SHIMOTOYODOME, A.; MEGURO, S.; HASE, T.; TOKIMITSU, I.; SAKATA, T. Decreased colonic mucus in rats with loperamide-induced constipation. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v.126, p. 203–21, 2000.

SMIRICK-TJARDES, M. R.; GRIEDSHOP, C. M.; FLICKINGER, E. A. Dietary galactooligosaccharides affect ileal and total-tract nutrient digestibility, ileal and fecal bacterial concentrations, and ileal fermentive characteristics of growing pigs. **American Society of Animal Science**. v. 81, p. 2535-45, 2003.

TRISÓGLIO C; MARCHI CMG; TORRES US; NATINHO JG. Prevalência de constipação intestinal entre estudantes de medicina de uma instituição no noroeste paulista. **Revista Brasileira de Coloproctologia**, v. 30, n.2, p.203-209, 2010.

VERONESI, C. Efeito de dois alimentos comerciais secos no consumo energético, peso vivo e peso metabólico, escore corporal, escore e peso fecal de cães adultos em manutenção e atividade. 2003. 93f. **Dissertação** (Mestrado) - Universidade de São Paulo, São Paulo.

WAITZBERG, D.L., LOGULLO, L.C., BITTENCOURT, A.F. , TORRINHAS, R.S., SHIROM, G.M., PAULINO, N.P., et al. Effect of synbiotic in constipated adult women- a randomized, double-blind, placebo-controlled study of clinical response. **Clinical Nutrition**, 2012 (in press).

4. RESULTADOS

ARTIGO 3

EFEITO DE PRODUTO A BASE DE YACON (PBY) NA MODULAÇÃO DA MICROBIOTA INTESTINAL E NA MORFOLOGIA DE CÉLULAS INTESTINAIS DE RATOS CONSTIPADOS

Efeito de produto a base de yacon (PBY) na modulação da microbiota intestinal e na morfologia de células intestinais de ratos constipados

SANT'ANNA, M.S.L.¹; RODRIGUES, V.C.¹; PELUZIO, M.C.G.²; OLIVEIRA, T.T.³; FERREIRA, C.L.L.F.¹

¹Departamento de Tecnologia de Alimentos. ²Departamento de Nutrição e Saúde; ³Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular; Universidade Federal de Viçosa, Av, PH Rolfs, s/n, Cep: 36570-000, Viçosa-Brasil. *monicassantana@gmail.com

Resumo:

Investigou-se o uso de um produto a base de yacon (PBY) nas características microbiológicas, físico-químicas e intestinais de ratos wistar constipados com loperamida. Utilizou-se 32 ratos divididos em quatro grupos: controle (C), controle constipado (CC), PBY e PBY constipado (PBYC). Testou-se a dosagem de 0,14g de FOS+ inulina/Kg peso. Avaliou-se a microbiota e pH das fezes e do conteúdo cecal, peso cecal, morfometria das vilosidades cecais e concentração de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC). A contagem de *Bacteroides* sp. nas fezes foi menor ($p < 0,05$) no grupo PBY. O pH das fezes foi maior nos grupos CC e PBY. Os animais PBYC apresentaram maior peso do ceco comparado ao grupo PBY. Encontrou-se maior concentração de butirato no grupo PBY. A largura e altura das vilosidades cecais do grupo PBYC foram maiores. A suplementação com PBY alterou positivamente o tecido epitelial do intestino dos animais constipados mantendo a integridade das criptas do ceco.

Palavras-chave: prebiótico, yacon, microbiota intestinal, constipação

1.Introdução

Prebióticos são componentes alimentares não digeríveis que afetam benéficamente o hospedeiro por estimularem seletivamente a proliferação e/ou atividade de populações de bactérias desejáveis no cólon (bifidobactérias), o que resultaria na inibição de crescimento de patógenos, garantindo assim benefícios à saúde do hospedeiro (Roberfroid, 2002). Esse efeito tem sido verificado com maior frequência nos micro-organismos do intestino grosso, embora possa ter algum impacto na microbiota presente no intestino delgado (Roberfroid, 2007). Essa microbiota desejável atua na produção de metabólitos de ação benéfica como os ácidos graxos de cadeia curta

(AGCC) (Waitzberg, et al., 2012) substâncias antimicrobianas e imunostimulantes (Louis et al., 2007), aumenta a viabilidade dos micro-organismos presentes no cólon (Fuchs et al., 2005), melhora o sistema imune (Manhart et al., 2003), aumenta a absorção mineral (Lobo et al., 2007), modulação da resposta inflamatória (Cherbut et al., 2003) e trânsito intestinal (Barbara et al., 2005).

Em animais com a microbiota intestinal alterada geneticamente, foram detectadas anomalias gastrointestinais como gastroparesia, atraso no trânsito intestinal e distensão cecal. A reconstituição da microbiota nesses animais foi associada a maior motilidade (Barbara et al., 2005).

Dentre os prebióticos, tem-se os frutooligosacarídeos (FOS) e a inulina, classificados como fibras alimentares solúveis devido a sua baixa digestibilidade pelas enzimas do trato gastrointestinal humano (Gibson & Roberfroid, 1995). Os FOS e a inulina são oligossacarídeos de ocorrência natural em produtos de origem vegetal (Hartemink et al., 1997). Quimicamente são formados por ligação específica (β 2 \rightarrow 1) entre uma molécula de glicose e duas a oito moléculas de frutose (Passos e Park, 2003). Esse tipo de ligação não é quebrada pelas enzimas digestivas do trato gastrointestinal, assim esses compostos chegam intactos ao cólon e são fermentados pela microbiota. A única diferença entre a inulina e os FOS é o grau de polimerização, ou seja, o número de unidades individuais de monossacarídeos que compõem a molécula (Carabin & Flamm, 1999).

Na natureza alguns alimentos possuem teores de FOS, porém em baixas quantidades como o trigo, a cebola, alho e banana (Fortes & Muniz, 2009). A alcachofra e a chicória são as fontes de FOS/inulina mais exploradas comercialmente onde esses compostos são isolados e acrescentados em produtos alimentícios.

O yacon (*Smallanthus sonchifolius*) é uma das fontes mais ricas em FOS e inulina na natureza nos quais juntos, esses nutrientes compõem cerca de 10 a 14 % da matéria seca (Aybar et al., 2001; Graefe et al., 2004). É uma raiz tuberosa pertencente à família da *Asteraceae* originalmente cultivado nos Andes. No Brasil seu cultivo teve início na década de 1990 (Vilhena et al., 2000). Por ser uma fonte de FOS e inulina, as raízes ou seus subprodutos podem potencialmente ser utilizados como fonte de prebióticos na dieta. O yacon destaca-se pelo seu alto conteúdo de água que pode exceder mais de 90% do seu peso fresco (Lachman et al., 2003). Essa característica torna a raiz altamente perecível. Assim, é de suma importância o desenvolvimento de

produtos que possam diminuir essa perecibilidade e ainda disponibilizar o produto durante todo o ano uma vez que a raiz é sazonal.

O consumo de quantidades moderadas de produtos feitos com as raízes de yacon está relacionado a redução dos níveis de glicemia plasmáticos (Genta et al., 2009; Rodrigues, 2011a), redução dos níveis de triacilgliceróis (Valentova, 2008), aumento na absorção de cálcio e magnésio (Rodrigues, 2011b, Lobo et al., 2007) e melhora da constipação intestinal (Genta et al., 2009; Geyer et al., 2008).

A constipação intestinal é uma doença polissintomática caracterizada por manifestações que podem interferir de maneira variada sobre as funções colônicas e anorretais. Sua prevalência varia entre 15% a 32% na população adulta, no entanto atinge todas as faixas etárias da população (Pare et al., 2001; Higgins & Johanson, 2004; Sant'Anna et al., 2012).

A constipação pode ser uma consequência da disbiose intestinal. Esse desequilíbrio ocasiona um deficit na produção dos AGCC, dentre eles o butirato que parece estar ligado à motilidade da mucosa intestinal. O butirato tem efeito trófico sobre as células intestinais. Assim uma produção adequada desse ácido orgânico estimula a hiperplasia da mucosa e aumenta a espessura da parede epitelial ocorrendo um aumento do fluxo sanguíneo nessa região, aumentando assim a motilidade intestinal (Kaur & Gupta, 2002). Além disso, pode ocorrer um aumento da umidade do bolo fecal devido a maior absorção de água e sais (Bielecka et al., 2002).

Assim, para entender os mecanismos envolvidos na melhora da constipação, modulada por um produto a base de yacon (PBY) fonte de FOS e inulina, o presente estudo avaliou o efeito desse alimento em ratos wistar constipados com Loperamida.

2. Material e Métodos

2.1 - Composição química do PBY

O produto foi processado de acordo com metodologia proposta por Rodrigues (2011a) que está em processo de pedido de patente PI 1106621-0.

A composição química do PBY foi determinada conforme metodologia da AOAC (1997). Os seguintes valores foram encontrados por 100g: 29,07g de carboidratos, 0,21g de lipídeos, 0,5g de proteína, 69,8g de umidade, 0,42g de cinzas, 14,54g de oligofrutos (FOS e inulina).

Para preparo da solução contendo PBY foi calculado a média de peso semanal dos animais dos grupos PBY e PBYC. A partir desse dado foi calculada a quantidade de FOS e inulina por quilo de peso e a quantidade necessária de PBY para fornecer a dose diária de prebiótico. O PBY foi diluído em água deionizada e fornecido aos animais diariamente.

2.2- Animais e tratamentos

Foram utilizados 32 ratos da linhagem Wistar machos com 45 dias de idade, provenientes do Biotério Central do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal de Viçosa. Os animais receberam ração comercial Purina® durante todo o experimento. Os animais foram separados em 4 grupos como demonstrado na Figura 1.

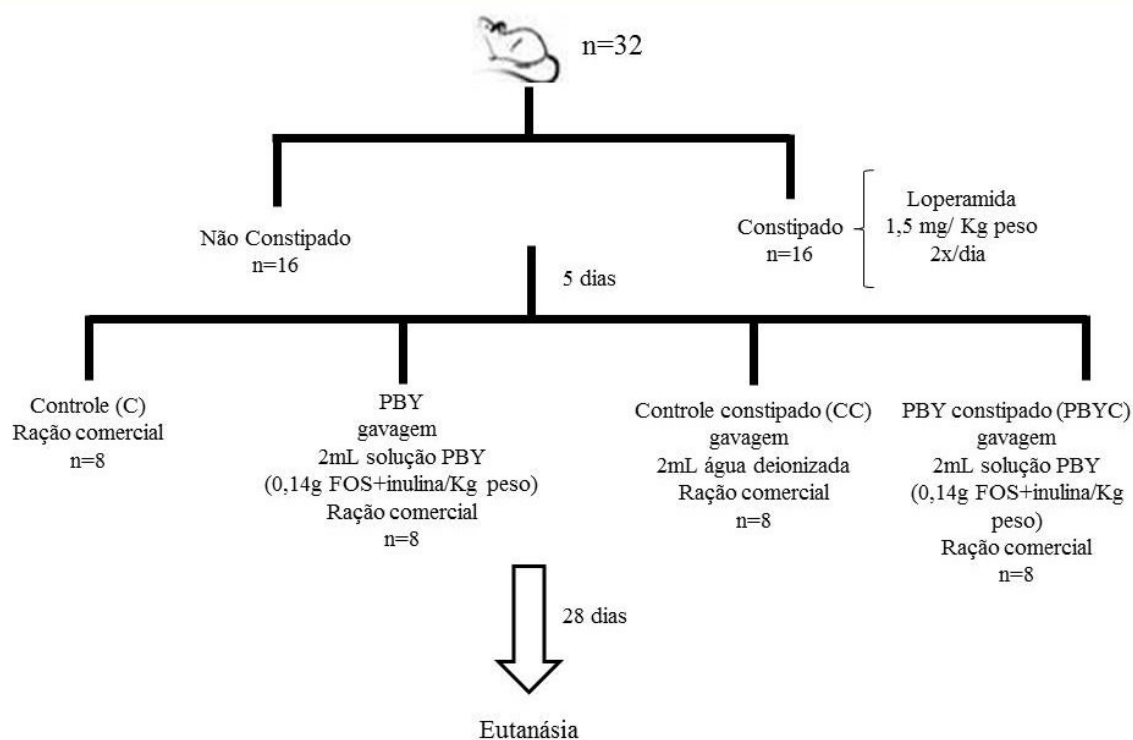


Figura 1 – Organograma do experimento

Os animais foram mantidos em gaiolas individuais apropriadas, com ventilação adequada, ciclos de luminosidade (claro/escuro) de 12 horas e uma temperatura média de 22°C. A constipação intestinal foi induzida por Loperamida ressuspendida em 0,9%

de cloreto de sódio e administrada via gavagem, em dois períodos do dia (08:00h e 16:00h) durante 5 dias (Shimotoyodome et al., 2000). O peso e o consumo alimentar dos animais foram monitorados semanalmente. O ganho de peso dos animais foi determinado pela diferença entre peso final e inicial e o coeficiente de eficiência alimentar (CEA) foi calculado segundo a fórmula: $CEA = (\text{ganho de peso} / \text{consumo de dieta total}) \times 100$. O estudo teve a duração de 28 dias.

O valor de FOS/inulina ingerido foi baseado no estudo de Genta et al. (2009). A gavagem foi realizada diariamente às 8:00h. A solução administrada continha PBY, calculado a partir do peso médio semanal de cada grupo, diluído em água deionizada. Ao final do experimento, após 12 horas de jejum, os animais foram eutanasiados por inalação de CO₂, para remoção do ceco. O conteúdo cecal e as fezes totais foram retirados e armazenados em saco plástico estéril e armazenados a -80°C até o momento das análises. Após a retirada do conteúdo cecal, o órgão foi pesado e em seguida lavado em tampão fosfato (PBS) e fixado pela imersão em paraformaldeído 10% em PBS 0,1 M em, temperatura ambiente por 24 horas. Após esse período, o órgão foi transferido para uma solução de álcool 70% para conservação. O peso relativo do ceco foi calculado pela relação entre o peso cecal e o peso do animal.

2.3 – Escore fecal

Para avaliar a indução da constipação por loperamida e também o efeito do PBY foi realizado a determinação do escore fecal. Essa análise foi feita por meio de observação visual das fezes e suas características e graduação em uma escala de 1 a 5: escore 1 – fezes muito duras e ressecadas com pellets secos e pequenos; escore 2 – fezes duras, secas, firmes e bem formadas; escore 3 – fezes macias, bem formadas, úmidas, com formato preservado; escore 4 – fezes macias, sem forma definida; escore 5 – fezes líquidas (Veronese, 2003). A observação visual foi feita no último dia de indução da constipação e no último dia de consumo do PBY.

2.4 - Análise microbiológica e de pH

As contagens microbiológicas das fezes e do conteúdo cecal foram realizadas em meios seletivos: meio ágar Rogosa (Difco) para *Lactobacillus* (Rogosa, 1951), ágar MRS modificado (Difco) (Hartemink et al., 1997) para *Bifidobacterium*, ágar RCM

(Difco) para *Clostridium* (Santos, et al., 2003); ágar Wilkins Chalgrens (Difco) + solução de garamicina (40 mg/400 ml de meio) para *Bacteroides*, ágar Wilkins Chalgrens (Difco) para anaeróbios totais. Todas as amostras foram incubadas a 37°C/72 horas em jarras de anaerobiose (Gas Pak jar, Franklin Lakes, USA) contendo geradores de CO₂ e H₂ (Anaerobac, Probac). A contagem microbiológica foi expressa em Log₁₀UFC g⁻¹.

A avaliação do pH e da microbiota cecal e fecal foi realizada no Laboratório de Culturas Láticas do Bioagro/UFV. As amostras foram submetidas a diluições decimais, em água peptonada estéril. A primeira diluição foi utilizada para determinação do pH de forma direta, por meio de pHmetro (Bel Engineering-W3B, Monza, Itália).

2.5 - Análise histológica

Fragmentos do ceco foram removidos e fixados em formalina. Após desidratação em um gradiente crescente de etanol, o material foi diafanizado em xilol e incluído em parafina. Foram obtidos cortes histológicos de 7µm de espessura utilizando um micrótomo rotativo (Olympus America Inc. CUT4055) e corados com hematoxilina e eosina (Rosa et al, 2010).

As imagens dos cortes histológicos foram capturadas com uma objetiva de 10x. As seguintes medidas foram tomadas com o uso da imagem do sistema de software Pro-Plus ®, versão 4.5 (Media Cybernetics):

- Altura de vilosidades: dez campos aleatórios foram selecionados por animal. Pelo menos 30 vilosidades por grupo experimental foram medidos. Apenas as vilosidades, com o epitélio definido e conjuntivas visíveis foram utilizados;
- Largura das vilosidades: nas mesmas vilosidades utilizadas na análise de altura, foi realizada a medida da largura no ponto médio da vilosidade.
- Profundidade das criptas: nas mesmas vilosidades foi realizada a medida de profundidade considerando que a base e o ápice das criptas estivessem visíveis.

2.6 - Análise de ácidos graxos de cadeia curta

As análises de ácidos graxos de cadeia curta foram realizadas em duplicata, segundo proposto por Smiric-ktjardes et al. (2003). Para a extração, foi adicionado às amostras 500µL de ácido meta-fosfórico 25%, agitado em vórtex e mantido em repouso

por 30 minutos à temperatura ambiente. Após essa etapa os tubos foram centrifugados a 13.500g por 30 minutos a 4°C, o sobrenadante foi novamente centrifugado a 13.500g por 20 minutos e congelado a -20°C. As análises dos ácidos acético, propiônico e butírico foram realizadas em cromatógrafo a gás modelo (CGMS – QP 5000/Shimadzu/Tokyo, Japan). Os respectivos ácidos foram separados e identificados em coluna capilar Nukol (30 m x 0,25 mm x 0,01 mm). Para a separação cromatográfica, 1 mL de amostra foi injetada com auxílio de seringa de 10 mL (Hamilton®) em sistema Splitless no modo SIM (Sistema de Monitoramento de Íons). O gás hélio foi utilizado como carreador com velocidade linear programada para 38,5 cm/s. As temperaturas do injetor e do detector são respectivamente de 200°C e 220°C. A programação da coluna com temperatura inicial a 80°C (mantida por 5 minutos), aumentando em 12°C por minuto até atingir 180°C e finalizando a 25 °C por minuto até atingir 220°C (mantida por 20 minutos) totalizando 34,13 minutos de análise. A massa foi scaneada de 40 a 400 m/z. O Fluxo da fase móvel na coluna foi de 1,1 mL/minuto.

2.7 - Comitê de ética

Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Animais da Universidade Federal de Viçosa. O experimento foi realizado de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal, adotado pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA).

2.8 - Análises Estatísticas

Para avaliar a distribuição das variáveis foi utilizado o teste de Kolmogorov-Smirnov. A partir dos resultados do teste foram utilizados testes paramétricos ou não paramétricos.

A análise de variância (ANOVA) foi utilizada para comparação entre três ou mais grupos independentes que apresentaram distribuição normal. Em situações em que houve diferença estatística significativa, empregou-se o teste *post-hoc* de *Tukey* de modo a identificar quais grupos diferem entre si. Para os grupos que não apresentaram distribuição normal, empregou-se o teste de *Kruskall-Wallis* e o teste *post-hoc* de *Dunn's*. O nível de rejeição da hipótese de nulidade foi de 0,05 ou 5%.

Para as análises utilizou-se o programa SAS (Statistical Analysis System – SAS Institute Inc., Cary, NC, USA), versão 9.20, licenciado para UFV.

3. Resultados

3.1 – Escore fecal

Os valores do escore fecal no final da fase de indução da constipação intestinal estão apresentados na tabela 1. A loperamida foi eficaz em induzir a constipação intestinal nos animais, uma vez que a maioria apresentou um escore fecal igual a 1, que significa fezes muito duras e ressecadas.

Tabela 1 - Escore fecal verificado na indução da constipação intestinal por loperamida após 5 dias.

Escore	Nº animais por grupo	
	Constipado	Não constipado
1	14	0
2	2	1
3	0	14
4	0	1
5	0	0
Total	16	16

Na tabela 2 os valores apresentados são aqueles observados após o consumo do PBY. A maioria dos animais do grupo constipado, que recebeu o PBY, apresentou valor de escore fecal igual a 3, que significa fezes macias, bem formadas, úmidas com formato preservado. As fezes dos animais do grupo CC, que não recebeu o PBY, apresentaram escore 2, que significa fezes duras, secas, firmes e bem formadas. Pode-se observar também que nenhum animal dos grupos que receberam o PBY apresentaram fezes no escore 5, que significaria diarreia, ou seja, um efeito indesejado.

Tabela 2 –Escore fecal verificado após consumo da solução contendo produto a base de yacon por 28 dias nos diferentes grupos estudados.

Escore	Grupo/Nº animais			
	C	CC	PBY	PBYC
1	0	1	0	0
2	2	5	0	1
3	6	2	5	5
4	0	0	3	2
5	0	0	0	0
Total	8	8	8	8

C= controle; CC= controle constipado; PBY= grupo PBY; PBYC = grupo PBY constipado

3.2 – Peso, ganho de peso, consumo alimentar, CEA, pH fecal e cecal, peso cecal e peso relativo do ceco.

Os dados obtidos em relação ao peso dos animais, ganho de peso, consumo alimentar, pH do conteúdo cecal e fecal, peso cecal e peso relativo do ceco estão apresentados da tabela 3.

Tabela 3: Peso dos animais, ganho de peso, consumo alimentar, CEA, pH das fezes e do conteúdo cecal, peso cecal e peso relativo do ceco de ratos Wistar após 28 dias de intervenção

Variáveis	Grupos de Tratamento			
	C	CC	PBY	PBYC
Peso dos animais (g)	224,51 ^a ±16,81	220,24 ^a ±10,58	220,43 ^a ±11,81	208,87 ^a ±13,60
Ganho de peso (g)	153,15 ^a ±15,20	151,45 ^a ±13,90	146,37 ^a ±15,78	134,94 ^a ±19,48
Consumo Alimentar (g)	148,72 ^a ±10,31	154,00 ^a ±8,76	149,26 ^a ±5,23	144,51 ^a ±11,22
CEA (%)	17,27 ^a ±1,38	16,48 ^a ±1,10	16,42 ^a ±1,46	15,63 ^a ±1,76
pH fezes totais	5,97 ^a ±0,44	7,12 ^b ±0,42	6,93 ^b ±0,63	6,74 ^{ab} ±0,28
pH conteúdo cecal	6,55 ^a ±1,02	6,82 ^a ±1,67	6,54 ^a ±1,10	6,71 ^a ±1,32
Peso cecal (g)	1,37 ^a ±0,25	1,26 ^{ab} ±0,20	1,04 ^b ±0,16	1,42 ^a ±0,24
Peso relativo do ceco (%)	0,63 ^a ±0,10	0,57 ^{ab} ±0,08	0,62 ^a ±0,09	0,50 ^b ±0,07

C= controle; CC= controle constipado; PBY= grupo PBY; PBYC = grupo PBY constipado. Valores em média ± desvio padrão. n=8. Significância (P<0,05): médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha para cada variável não diferem entre si pelo teste de Tukey. CEA= coeficiente de eficiência alimentar.

Em relação ao peso dos animais, ganho de peso, consumo alimentar, CEA e pH do conteúdo cecal não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos estudados. O pH das fezes totais foi estatisticamente maior nos grupos CC e PBY comparados ao grupo controle. O peso cecal foi menor (p<0,05) no grupo PBY. O peso relativo do ceco foi estatisticamente menor no grupo PBYC em relação aos grupos PBY e C, porém em relação ao seu controle não houve diferença significativa.

3.3 - Contagem dos diferentes grupos microbianos

A quantificação dos grupos microbianos estão apresentados na Tabela 4.

Tabela 4: Contagem dos diferentes grupos microbianos nas fezes totais e no conteúdo cecal de ratos Wistar ($\text{Log}_{10}\text{UFC/g}^{-1}$) nos diferentes tratamentos após 28 dias

Grupo	<i>Lactobacillus</i>		<i>Bifidobacterium</i>		<i>Clostridium</i>		Anaeróbios Totais		<i>Bacteroides</i>	
	FT	CCe	FT	CCe	FT	CCe	FT	CCe	FT	CCe
C	9,08 ^a	8,51 ^a	9,25 ^a	7,97 ^a	9,20 ^a	8,17 ^a	9,39 ^a	8,14 ^a	6,04 ^a	4,49 ^a
CC	8,82 ^a	7,84 ^a	9,04 ^a	7,11 ^a	8,99 ^a	7,63 ^a	9,34 ^a	7,93 ^a	5,43 ^{ab}	4,50 ^a
PBY	9,14 ^a	8,27 ^a	8,87 ^a	7,81 ^a	9,04 ^a	8,08 ^a	8,97 ^a	8,20 ^a	4,88 ^b	4,41 ^a
PBYC	9,36 ^a	8,30 ^a	9,23 ^a	8,74 ^a	9,11 ^a	8,04 ^a	9,30 ^a	8,04 ^a	5,85 ^{ab}	4,69 ^a

C= controle; CC= controle constipado; PBY= grupo PBY; PBYC = grupo PBY constipado. FT= fezes totais; CCe= conteúdo cecal. n=8. Significância ($P<0,05$): médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey.

Em relação às fezes totais houve diferença ($p<0,05$) apenas para *Bacteroides* onde o grupo controle apresentou uma contagem maior que o grupo PBY. No conteúdo cecal não houve diferença estatística entre os grupos estudados (Tabela 4).

3.4 - Morfometria das vilosidades intestinais

Foram mensuradas a altura, largura e profundidade das criptas. Encontrou-se diferença significativa para as três variáveis entre os grupos PBYC com o grupo CC e grupo PBY, onde o primeiro apresentou medianas maiores que os outros grupos ($p<0,001$) (Tabela 5). Não foi encontrada diferença entre o grupo PBYC com o grupo controle. Também foram tiradas fotografias para demonstrar a diferença de altura e largura das vilosidades (Figura 2).

Tabela 5 – Altura, largura e profundidades (μm) das criptas do ceco dos animais nos diferentes tratamentos após 28 dias.

Variáveis	Grupos de tratamento			
	C	CC	PBY	PBYC
Altura	190,02 \pm 27,45 ^{ab}	175,03 \pm 39,47 ^a	172,71 \pm 32,55 ^a	208,85 \pm 50,86 ^b
Largura	37,64 \pm 9,45 ^{ab}	35,31 \pm 7,37 ^a	35,14 \pm 6,61 ^a	40,09 \pm 9,18 ^b
Profundidade	77,91 \pm 19,45 ^{ab}	71,75 \pm 14,35 ^a	70,81 \pm 17,16 ^a	85,62 \pm 17,12 ^b

C= controle; CC= controle constipado; PBY= grupo PBY; PBYC = grupo PBY constipado. n=8. Valores em média \pm desvio padrão. Significância ($P < 0,05$): médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Dunn's.

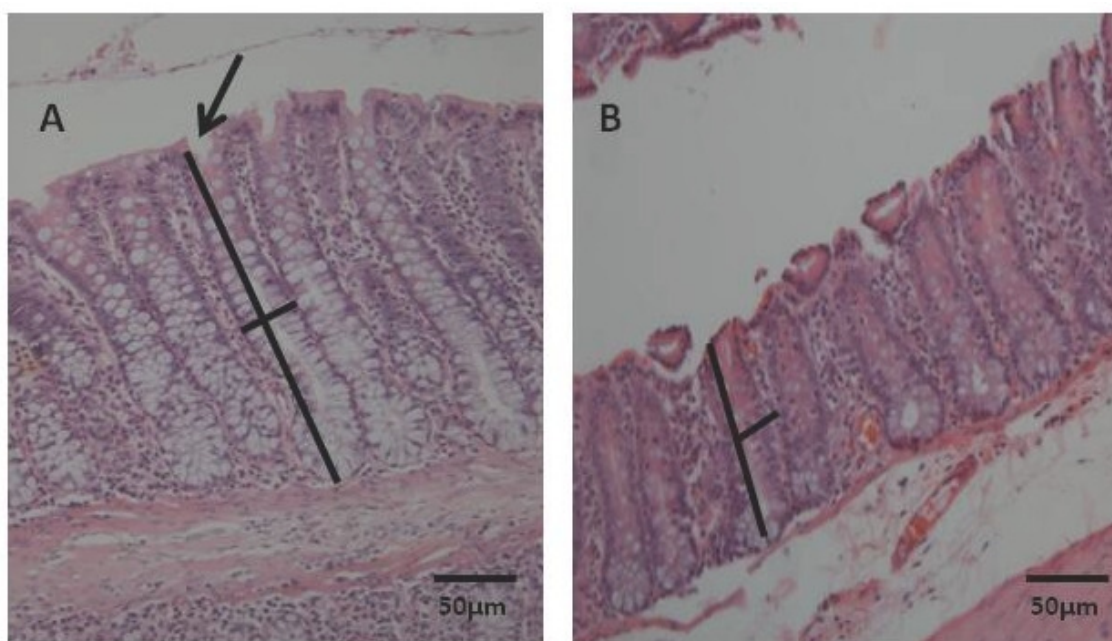


Figura 2- Corte histológico do ceco de ratos dos grupos PBYC (A) e CC (B). As setas indicam a altura e largura das vilosidades. Ampliação de 10x.

3.5- Ácidos graxos de cadeia curta

A quantificação dos ácidos graxos de cadeia curta está apresentada na Tabela 6.

Tabela 6: Concentrações de ácidos graxos de cadeia curta (mmol/L) em ratos wistar após diferentes tratamentos.

AGCC	Grupos de tratamento			
	C	CC	PBY	PBYC
Acetato	299,6±121,2 ^a	159,1±87,8 ^a	260,1±192,3 ^a	126,8±69,7 ^a
Butirato	47,1±34,6 ^{ab}	13,4±10,8 ^a	93,2±65,5 ^b	62,5±38,1 ^{ab}
Propionato	63,8±45,2 ^a	23,1±13,3 ^a	71,8±65,8 ^a	25,1±10,9 ^a

C= controle; CC= controle constipado; PBY= grupo PBY; PBYC = grupo PBY constipado. Valores em média ± desvio padrão. n=8. Médias seguidas por letras diferentes na linha diferem significativamente (p<0,05) no teste de Dunn's. n=8.

Nos grupos estudados houve diferença significativa apenas para o Butirato entre os grupos CC e PBY, onde o grupo PBY apresentou um valor maior como observado na Tabela 5.

4. Discussão

Neste estudo foi demonstrado que a indução da constipação intestinal por Loperamida foi eficiente visto que a maioria dos animais do grupo CC apresentou valores de escore fecal entre 1 e 2 após os 28 dias de indução da constipação.

Nesta pesquisa não foi encontrado aumento no peso, consumo alimentar e coeficiente de eficiência alimentar dos animais pertencentes aos diferentes grupos estudados. Em relação a esses parâmetros, alguns estudos (Campbell et al., 1997; Younes et al., 2001) demonstraram que uma dieta suplementada com FOS não afetou o peso corporal e a ingestão alimentar de ratos.

Houve redução na contagem de *Bacteroides* nas fezes totais no grupo PBY em relação ao controle. Logo após a indução da constipação, não foi encontrada diferença (p<0,05) entre o grupo constipado e não constipado em relação à contagem dos diferentes grupos bacterianos avaliados (dados não demonstrados). Esse resultado é importante, pois os *Bacteroides* são um grupo bacteriano que inclui espécies não desejáveis na microbiota intestinal (Mc Bain & Macfarlane, 1998; Montesi et al., 2005). Ao se comparar os dois grupos constipados (Tabela 4), observou-se um aumento de um ciclo log na contagem de lactobacilos e bifidobactérias nos grupos que receberam o PBY sinalizando um efeito positivo do prebiótico na modulação das bactérias benéficas.

Em um estudo espanhol (Rodriguez-Cabezas et al., 2010) com ratos Wistar não constipados que receberam 2g FOS/dia, os autores encontraram um valor de pH inferior no grupo controle e um aumento na contagem de bactérias dos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* no ceco dos animais que consumiram FOS. Esse aumento na contagem foi anteriormente descrito tanto *in vitro* quanto *in vivo* (Hernot et al., 2009; Van de Wiele et al., 2007) com diferentes frutanos. Esses dois grupos bacterianos são pertencentes ao grupo de bactérias produtoras de ácido lático, micro-organismos capazes de acidificar o ambiente, o que inibe o crescimento de patógenos (Rodriguez-Cabezas et al., 2010).

No presente estudo não houve diferença significativa nas contagens dos diferentes grupos microbianos estudados. Montesi et al (2005) encontraram aumento na população de bifidobactérias, mas não em lactobacilos no ceco de animais suplementados com 5,7% de FOS e ainda diminuição da população de *Bacteroides* e *Clostridium*. Em outro estudo (Hsu et al., 2004) foi encontrado um aumento da população de bifidobactérias nos animais suplementados com FOS (60g/Kg de dieta). No entanto, não houve diminuição na contagem de *Clostridium* em comparação com o grupo controle.

Em um ambiente com o ecossistema complexo como o colón, a capacidade de estirpes microbianas competirem para a fermentação dos substratos é crucial na determinação de seu domínio sobre outras populações. As bifidobactérias são um exemplo clássico dessa capacidade de aumentar o seu número quando um prebiótico se torna disponível como substrato de fermentação (Paturi et al., 2012; Rossi, 2005). Provavelmente, no presente estudo, não foi encontrado aumento significativo no número de lactobacilos e bifidobactérias devido a dose de FOS administrada e/ou o tempo de intervenção.

Nesta pesquisa também foi encontrada diferença no pH das fezes totais entre o grupo PBY e seu controle, visto que o grupo suplementado apresentou valor mais elevado ($p < 0,05$). Quanto ao pH, Lobo et al (2007) não encontraram diferença nos valores dessa variável no ceco de ratos suplementados com farinha de yacon em relação ao seu controle. O aumento da acidez é considerado um resultado indireto da produção dos AGCC que são produzidos a partir da fermentação de frutanos e outros carboidratos fermentáveis pelas bactérias intestinais (Lobo et al., 2007; Lu et al., 2000). Nesse caso o grupo PBY apresentou uma maior produção de butirato que os demais grupos influenciando assim no valor de pH encontrado. Mesmo não ocorrendo diferença

significativa o grupo PBYC apresentou uma produção 22% maior de butirato em relação ao seu controle (CC), mostrando assim um possível efeito benéfico do PBY na produção desse ácido orgânico.

No presente estudo o peso cecal dos animais do grupo PBY foi menor ($p < 0,05$) que o grupo PBYC e o grupo controle. Hsu et al (2004) e Rodrigues (2011b) encontraram resultado semelhante em ratos suplementados com FOS. Nesse caso o segundo estudo utilizou yacon na forma de farinha, como fonte de prebiótico. O aumento do peso cecal nesta experimentação pode, ainda, ser confirmado pela maior largura das células intestinais (Figura 2) encontradas no grupo PBYC em relação aos grupos CC e PBY. Esse resultado é muito interessante, pois mostra que os fructooligossacarídeos foram capazes de manter a morfometria intestinal preservada no grupo com constipação induzida. Provavelmente, pelo maior contato desses compostos no epitélio dos animais constipados, uma vez que o trânsito intestinal desses animais apresentava-se mais lento. Campbell et al (1997) também relataram o mesmo efeito e sugerem que esse aumento pode ser causado pelos AGCC (principalmente o butirato) que normalizam a proliferação das células epiteliais. Pelos dados demonstrados (Tabela 5) nota-se que há uma maior produção de butirato nos grupos suplementados com FOS causando assim esse efeito trófico nas vilosidades. O aumento do peso do ceco pode ser atribuído também ao aumento da massa bacteriana causado pela ingestão dos diferentes frutanos, já que nessa região ocorre a maior parte da fermentação bacteriana em ratos (Younes et al., 2001; Klessen et al., 2001).

A taxa e a quantidade de ácidos orgânicos no colón depende de vários fatores como o tipo de substrato para fermentação, composição da microbiota, taxa de absorção e o tempo de trânsito intestinal (Paturi et al., 2012). A produção do butirato é realizada principalmente pelas bactérias do gênero *Clostridium spp.* (Gibson, 1999). Nesse estudo pode-se observar que a população desse gênero não diferiu significativamente entre os grupos, porém nos grupos que receberam o PBY houve uma maior quantidade dessas bactérias no conteúdo cecal em relação aos grupos que não receberam. Essa maior concentração de *Clostridium spp.* pode estar associada à maior produção de butirato encontrada. Em estudo com suplementação de inulina na dose de 50g/Kg de peso de dieta (Paturi et al., 2012) foi encontrado aumento na concentração de butirato, acetato e propionato em 14 dias de intervenção. Os autores relataram que esse aumento é devido há um maior número de micro-organismos produtores desses ácidos como *Clostridium perfringens* e *Bacteroides spp.* Portanto, é importante realizar análises moleculares para

se conhecer quais as espécies desses micro-organismos estão sendo moduladas pelo prebiótico.

Deve-se salientar que o presente estudo avaliou o efeito de um produto alimentício fonte de FOS e inulina (PBY), diferentemente dos outros estudos que avaliaram esses compostos na forma pura. Assim, além do alto teor de frutanos, as raízes de yacon apresentam metabólitos benéficos ao organismo como sesquiterpelactonas, de importante ação citotóxica, antitumoral e analgésica (Capito, 2001) e compostos fenólicos com atividade antioxidante (Chuda et al., 1996). Esses compostos fenólicos, presentes em vários alimentos, além de protegerem as membranas celulares contra os danos causados pelos radicais livres, agem no organismo produzindo efeito anticarcinogênico, antiinflamatório, anticolesterolêmico e de regulação glicêmica (Borges, 2001). Portanto, o PBY além de conter o FOS e a inulina, supõe-se possuir também esses componentes benéficos.

5. Conclusão

O presente estudo mostrou um efeito positivo no consumo do produto a base de yacon, fonte de FOS e inulina na concentração de 0,14gFOS/Kg peso/animal. Houve maior produção de butirato, diminuição na contagem de bacteroides e maior largura, altura e profundidade das criptas nos animais que consumiram o produto. Outros estudos devem ser realizados para avaliar, sobretudo em modelo clínico, o potencial do PBY como alimento funcional não somente na constipação intestinal, mas também em outras doenças.

6. Referências

Association of Official Analytical Chemists. (1997). Official Methods of Analysis of the AOAC. 12th ed. Washington.

Aybar, M., Sanchez-Riera, A., Grau, A., & Sanchez, S. (2001). Hypoglycemic effect of the water extracts of *Smallantus sonchifolius* (yacon) leaves in normal and diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 74, 125-132.

Barbara, G., Stanghellini, V., Brandi, G., Cremon, C., Di Nardo, G., De Giorgio, R., & et al. (2005). Interactions between commensal bacteria and gut sensorimotor function in health and disease. *American Journal of Gastroenterology*. 100, 2560-8.

- Bernalier-Donadille, A. (2010). Fermentative metabolism by the human gut microbiota. *Gastroentérologie Clinique et Biologique*, 34, 16-22.
- Bielecka, M., Biedrzycka, E., Majkowska, A., Juskiewicz, J., Wróblewska, M.(2002). Effect of non-digestible oligosaccharides on gut microecosystem in rats Food Research International, 35, 139–144.
- Borges, VC. Alimentos funcionais: prebióticos, probióticos, fitoquímicos e simbióticos. (2001). In: Waitzberg, DL. Nutrição oral, enteral e parenteral na prática clínica. 3ed. São Paulo, Atheneu, p.561-71.
- Brasil - Resolução RDC nº 360, de 23 de dez. de 2003. *Regulamento técnico sobre rotulagem nutricional de alimentos embalados*. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br>>. Acesso em: 24 de agosto de 2012.
- Bringhenti, F. (2007). Dietary fructans and serum triacylglycerols: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Journal of Nutrition*, 137(11 Suppl), 2552S-2556S.
- Campbell, J. M., Fahey, G. C., & Wolf, B. W. (1997). Selected indigestible oligosaccharides affect large bowel mass, cecal and fecal short-chain fatty acids, pH and microflora in rats. *Journal of Nutrition*, 127, 130-136.
- Capito, SMP. Raíz tuberosa de yacon (*Polymnia Sonchifolia*): caracterização química e métodos de determinação de frutanos (CG e CLAE-DPA). São Paulo, 2001. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo.
- Carabin, IG, Flamm, WG. (1999) Evaluation of safety of inulin and oligofructose as dietary fiber. *Regul. Toxicol. Pharmacol.*, New York, v.30, p.268-282.
- Cherbut, C., Michel, C. & Lecannu, G.(2003). The prebiotic characteristics of fructooligosaccharides are necessary for reduction of TNBS-Induced colitis in rats. *The Journal of Nutrition*, 133, 21-27.
- Chuda, Y., Ono, H, Kameyama, M., Nagata, T., Tsushida, T. (1996). Structural identification of two antioxidants quinic acid derivatives from garland (*Chrysanthemum coronarium* L.). *J Agric Food Chem*, 44: 2037-9.
- Ducrotté, P. (2010). Microbiota and irritable bowel syndrome. *Gastroentérologie Clinique et Biologique*, 34, S52—S56.
- Fortes, R.C., & Muniz, L.B. (2009). Efeitos da suplementação dietética com frutooligosacarídeos e inulina no organismo humano: estudo baseado em evidências. *Comunicação em Ciências da Saúde*, 20, 241-252.

- Fuchs, R.H.B., Borsato, D., Bona, E., & Hauly, M.C.O. (2005) "Iogurte" de soja suplementado com oligofrutose e inulina. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 25, 175-181.
- Genta, S., Cabrera, W., Habib, N., Pons, J., Carillo, I.M., Grau, A., & Sánchez, S. (2009). Yacon syrup: beneficial effects on obesity and insulin resistance in humans. *Clinical Nutrition*, 28,182–187.
- 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., & Roberfroid, M. (1995). Dietary modulation of the human colonic microbiota introducing the concept of prebiotics. *Journal of Nutrition*, 125, 1401-1412.
- Gilliland, S.E. (2001). Probiotics and prebiotics. In: Marth, E.H., Steele, J.L., eds. *Applied Dairy Microbiology*. New York: Marcel Dekker, 327-343.
- Graefe, S., Hermann, M., Manrique, I., Golombek, S., & Buerkert, A. (2004). Effects of post-harvest treatments on the carbohydrate composition of yacon roots in the Peruvian Andes. *Field Crops Research*, 86, 157-165.
- Guigoz, Y., Rochat, F., Perriusseau-Carrier, G., Rochat, J., & Schiffrin, E.J. (2002). Effects of oligosaccharides on the faecal flora and non-specific immune system in elderly people. *Nutrition Research*, 22, 13-25.
- Hartemink, R., Vanlaere, K. M. J., & Rombouts, F. M. (1997). Growth of enterobacteria on fructooligosaccharides, Wageningen, Holanda. *Journal of Applied Microbiology*, 383, 367-374.
- Hernot, D.C., Boileau, T.W., Bauer, L.L., Middelbos, I.S., Murphy, M.R., Swanson, K.S., & et al. (2009). In vitro fermentation profiles, gas production rates, and microbiota modulation as affected by certain fructans, galactooligosaccharides, and polydextrose. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57, 1354-61.
- Hijova, E., & Chmelarova, A. (2007). Short chain fatty acids and colonic health. *Bratisl Lek Listy*, 108,354-358.
- Hsu, C.K., Liao, J.W., Chung, Y.C., Hsieh, C.P., & Chan, Y.C. (2004). Xylooligosaccharides and fructooligosaccharides affect the intestinal microbiota and precancerous colonic lesion development in rats. *The Journal of Nutrition*, 134,1523-1528.
- Kaneko, T., Kudo, T., & Horikoshi, K. (1990). Comparacion of CD composition produced by chimeric CGTases. *Agricultural and Biological Chemistry*, 54, 197-201.

- Khalif , I.L., Quigley, E.M.M., Konovitch, E.A., & Maximova, I.D. (2005). Alterations in the colonic flora and intestinal permeability and evidence of immune activation in chronic constipation. *Digestive and Liver Disease* , 37, 838–849.
- Kirgizov, I.V., Sukhorukov, A.M., Dudarev, V.A., & Istomin, A.A. (2001). Hemostasis in children with dysbacteriosis in chronic constipation. *Journal of Clinical Applied Thrombosis/Hemostasis*, 7, 335–8.
- Kleessen, B., Hartmann, L., & Blaut, M. (2001). Oligofructose and long-chain inulin: influence on the gut microbial ecology of rats associated with a human faecal flora. *British Journal of Nutrition*, 86, 291-300.
- Le Blay, G.M., Michel, C.D., Blottie`re, H.M., & Cherbut, C.J. (1999). Prolonged intake of fructo-oligosaccharides induces a short-term elevation of lactic acid-producing bacteria and a persistent increase in cecal butyrate in rats. *Journal of Nutrition*, 129, 2231–2235.
- Lobo, A., Colli, C., Eliana, P., & Tullia, 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.
- Louis, P., Scott, K.P., Duncan S.H., Flint, H.J.(2007). Understanding the effects of diet on bacterial metabolism in the large intestine. *Journal of Applied Microbiology*, 102, 1197–1208.
- Lu, Z.X., Gibson, P.R., Muir, J.G., Fielding, M., & O’Dea, K, (2000), Arabinoxylan fiber from a by-product of wheat flour processing behaves physiologically like a soluble, fermentable fiber in the large bowel of rats. *Journal of Nutrition*, 130, 1984–1990.
- Manhart, N., Spittler, A., Bergmeister, H., Mittlbock, M., Roth, E.(2003). Influence of fructooligosaccharides on Peyer’s patch lymphocyte numbers in healthy and endotoxemic mice. *Nutrition*, 19(7), 657-660.
- Mattila-Sandholm, T., Myllärinen, P., Crittenden, R., Mogensen, G., Fondén, R., & Saarela, M. (2002). Technological challenges for future probiotic foods. *International Dairy Journal*, 12, 173-182.
- McBain, A.J., & Macfarlane, G.T. (1998). Ecological and physiological studies on large intestinal bacteria in relation to production of hydrolytic and reductive enzymes involved in formation of genotoxic metabolites. *Journal of Medical Microbiology*, 47, 407–416.

- Montesi, A., Garcia-Albiach, R., Pozuelo, M.J., Pintado, C., Goni, I., & Rotger, R. (2005). Molecular and microbiological analysis of caecal microbiota in rats fed with diets supplemented either with prebiotics or probiotics. *International Journal of Food Microbiology*, 98, 281-289.
- Morais, M.B., & Jacob, C.M.A. (2006). O papel dos probióticos e prebióticos na prática pediátrica. *Jornal de Pediatria*, 82, S189-S197.
- Mussatto, S.I., & Mancilha, I.M. (2007). Non-digestible oligosaccharides: a review. *Carbohydrate Polymers*, 68, 587-797.
- Nakamura, T., Nishida, S., Mizutani, M., & Iino, H. (2001). Effects of yogurt supplemented with brewer's yeast cell wall on constipation and intestinal microflora in rats. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 47, 367-72.
- Ojansivu, I., Ferreira, C.L., & Salminen, S. (2011). Yacon, new source of prebiotic oligosaccharides with a history of safe use. *Trends of Food Science and Technology*, 22, 40-46.
- Ouwehand, A.C., Lagstrom, H., Suomalainen, T., & Salminen S. (2002). Effect of probiotics on constipation, fecal azoreductase activity and fecal mucin content in the elderly. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 46, 159-62.
- Passos, L.M.L., & Park, Y.K. (2003). Frutooligosacarídeos: implicações na saúde humana e utilização em alimentos. *Ciência Rural*, 33, 385-390.
- Paturi, G., Butts, C.A., Stoklosinski, H., & Ansell, J. (2012). Effects of early dietary intervention with a fermentable fibre on colonic microbiota activity and mucin gene expression in newly weaned rats. *Journal of Functional Foods*, 4, 520-530.
- Roberfroid, M.B. (2002). Functional food concept and its application to prebiotics. *Digest Liver Disease*, 34, S105-S110.
- Roberfroid, M.B. (2007) Inulin-type fructans: functional food ingredients. *Journal of Nutrition*, 137, 2493S-2502S.
- Rodrigues, V.C. (2011a). Formulação, índice glicêmico e aplicação alimentar de um produto à base de yacon (*Smallanthus sonchifolius*). Tesis. 89p.
- Rodrigues, F.C. (2011b). Avaliação da farinha de yacon (*Smallanthus sonchifolius*) na modulação das propriedades biomecânicas e na retenção de minerais nos ossos de ratos wistar. Tesis. 180p.
- Rodriguez-Cabezas, M.E., Camuesco, D., Arribas, B., Garrido-Mesa, N., Comalada, M., Bailón, E., & et al. (2010). The combination of fructooligosaccharides and resistant starch shows prebiotic additive effects in rats. *Clinical Nutrition*, 29, 832-839.

- Reid, G. (2008). Probiotics and prebiotics – Progress and challenges. *International Dairy Journal*, 18, 969–975.
- Rogosa, M., Mitchell, J.A., & Wiseman, R.F. (1951). A selective medium for the isolation and enumeration of oral and fecal Lactobacilli. *Journal of Bacteriology*, 62, 132-133.
- Rosa, DD, Sales, RL, Moraes, LFS, Lourenço, FC, Neves, CA, Sabarense, CM, Pelúzio, MCG. (2010). Flaxseed, olive and fish oil influence plasmatic lipids, lymphocyte migration and morphometry of the intestinal of Wistar rats. *Acta Cirurgica Brasileira*, 25, 275-280.
- Rossi, M., Corradini, C., Amaretti, A., Nicolini, M., Pompei, A., Zanoni, S., & Matteuzzi, D. (2005). Fermentation of fructooligosaccharides and inulin by bifidobacteria: A comparative study of pure and fecal cultures. *Applied and Environmental Microbiology*, 71, 6150–6158.
- Santos, M.S., Ferreira, C.L.L.F., Santos, J.L., Pozza, P.C., & Teshima, E. (2003). Influência do fornecimento de probiótico à base de *Lactobacillus* sp. sobre a microbiota intestinal de leitões. *Ciência e Agrotecnologia*, 27, 1395-1400.
- Sant’Anna, M.S.L., Coelho, C.G., Ferreira, C.L.L.F. (2012). Prevalência de constipação intestinal no município de Viçosa-MG. In: 10º Congresso Brasileiro de Saúde Coletiva, 2012, Porto Alegre. In Anais 10º Congresso Brasileiro de Saúde Coletiva, 2012.
- 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.
- Scholz-Ahrens, K.E., Ade, P., Marten, B., Weber, P., Timm, W., Asil, Y., Gluer, C.C., & Schrezenmeir, J. (2007). Prebiotics, probiotics, and synbiotics affect mineral absorption, bone mineral content, and bone structure. *Journal of Nutrition*, 137, 838S-846S.
- Shimotoyodome, A., Meguro, S., Hase, T., Tokimitsu, I., & Sakata, T. (2000). Decreased colonic mucus in rats with loperamide-induced constipation. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 126, 203–21.
- Smirick-Ktjardes, M. R., Griedshop, C. M., & Flickinger, E. A. (2003). Dietary galactooligosaccharides affect ileal and total-tract nutrient digestibility, ileal and fecal bacterial concentrations, and ileal fermentive characteristics of growing pigs. *American Society of Animal Science*. 81,2535-45.

- Tuohy, K.M., Probert, H.M., Smejkal, C.W., & Gibson, G.R. (2003). Using probiotics and prebiotics to improve gut health. *Drug Discovery*, 8, 692-700.
- Valentova, K., Stejskal, D., Bartek, J., Dvorackova, S., Kren, V., Ulrichova, J., et al.(2008). Maca (*Lepidium meyenii*) and yacon (*Smallanthus sonchifolius*) in combination with silymarin as food supplements: in vivo safety assessment. *Food and Chemical Toxicology*, 46 (3)1006–1013.
- Van de Wiele, T., Boon, N., Possemiers, S., Jacobs, H., & Verstraete, W. (2007). Inulin-type fructans of longer degree of polymerization exert more pronounced in vitro prebiotic effects. *Journal of Applied Microbiology*, 102,452-60.
- Veronesi C. (2003). Efeito de dois alimentos comerciais secos no consumo energético, peso vivo e peso metabólico, escore corporal, escore e peso fecal de cães adultos em manutenção e atividade. 93f. *Dissertação (Mestrado)* - Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Vilhena, S. M. C.; Camara, F.L.A., Kakihara S.T. (2000). O cultivo de yacon no Brasil. *Horticultura Brasileira*, 18 (1), 5-8 .
- Waitzberg, D.L, Pereira, C.C., Logullo, L.C, Jacintho, M.T., Almeida, D., Silva, M.L.T., Torrinhas, R.S (2012). Microbiota benefits after inulin and partially hydrolyzed guar gum supplementation – a randomized clinical trial in constipated women. *Nutricion Hospitalaria*, 27(1), 123-129.
- Waitzberg, D.L., Logullo, L.C., Bittencourt, A.F. , Torrinhas, R.S., Shirom, G.M., Paulino, N.P., & et al. (2012). Effect of synbiotic in constipated adult women- a randomized, double-blind, placebo-controlled study of clinical response. *Clinical Nutrition (in press)*.
- Younes, H., Coudray, C., Bellanger, J., Demigne, C., Rayssiguier, Y., & Remesy, C. (2001). Effects of two fermentable carbohydrates (inulin and resistant starch) and their combination on calcium and magnesium balance in rats. *British Journal of Nutrition*, 86, 479-485.

ARTIGO 4
PRODUTO A BASE DE YACON (PBY) NA MODULAÇÃO DA CONSTIPAÇÃO
INTESTINAL

Produto a base de yacon (PBY) na modulação da constipação intestinal

SANT'ANNA, M.S.L.¹; RODRIGUES, V.C.¹; OLIVEIRA, T.T.² PELÚZIO, M.C.G.³
FERREIRA, C.L.L.F.¹

¹Departamento de Tecnologia de Alimentos. ²Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular.

³Departamento de Nutrição e Saúde. Universidade Federal de Viçosa, Av, PH Rolfs, s/n, Cep: 36570-000, Viçosa-Brasil. [*monicassantana@gmail.com](mailto:monicassantana@gmail.com)

Resumo

Esse estudo objetivou avaliar um produto a base de yacon (PBY) sobre a constipação intestinal de adultos e idosos. Foram recrutados 48 indivíduos divididos em dois grupos de intervenção iguais denominados de grupo teste e controle. O PBY (teste) e controle (maltodextrina) foram veiculados em suco de laranja comercial. Os voluntários do grupo teste consumiram diariamente o PBY adicionado ao suco de laranja na dose de 10g FOS/inulina/dia. O grupo controle consumiu diariamente o suco de laranja adicionado de 25 g de maltodextrina. O estudo teve a duração de 30 dias. Foram avaliados a frequência de evacuações, consistência das fezes, score de constipação, sintomas abdominais (flatulência, dor e distensão abdominal), efeito sobre a microbiota, pH, lactato e ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) das fezes. Constatou-se um aumento no número de evacuações após o consumo do PBY bem como melhora na consistência das fezes e diminuição no score de constipação. Após os 30 dias de intervenção o grupo que consumiu o PBY apresentou maior contagem de bifidobactérias, menor contagem de clostrídios, enterobactérias e menor pH fecal. Em relação aos AGCC não foi encontrado diferença significativa antes e após a intervenção. Porém, a concentração de lactato foi maior no grupo teste em relação ao controle pós tratamento. O PBY foi eficiente em melhorar os sintomas da constipação intestinal constatando-se não somente sua característica funcional na diminuição de risco da constipação, mas também um potencial para uso terapêutico.

Palavras-chaves: yacon, constipação, prebióticos, alimento funcional

1.Introdução

A constipação intestinal é definida como uma condição em que o número de evacuações por semana é menor que 3, com presença de fezes duras e ressecadas dificultando o processo de eliminação das mesmas ¹. É uma enfermidade muito comum entre crianças, adultos e idosos, com prevalência variando de 2% a 28% ², sendo mais prevalente entre as mulheres³. No município de Viçosa-MG foi encontrada uma prevalência de 31,4% ⁴.

A ingestão inadequada de fibras é uma das causas da constipação ³. As fibras dietéticas insolúveis, como os farelos, tem sido utilizadas como forma de tratar a constipação demonstrando bons resultados ⁵. No entanto, as fibras solúveis como os prebióticos também apresentam benefícios no tratamento da doença ⁶, pois promovem o equilíbrio da microbiota intestinal saudável fermentando esses compostos em ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), entre eles o butirato, que tem efeito trófico sobre o epitélio intestinal ⁷.

Prebióticos são componentes alimentares não digeríveis que afetam beneficemente o hospedeiro por estimularem seletivamente a proliferação e/ou atividade de populações de bactérias desejáveis no cólon (bifidobactérias), o que resultaria na inibição de crescimento de patógenos, garantindo assim benefícios à saúde do hospedeiro ⁸.

Dentre os prebióticos, tem-se os fructooligosacarídeos (FOS) e a inulina. Esses compostos são oligossacarídeos de ocorrência natural em produtos de origem vegetal ⁹, formados por ligação específica (β 2 \rightarrow 1) entre uma molécula de glicose e duas a oito moléculas de frutose ¹⁰. Essa ligação não é quebrada pelas enzimas digestivas do trato gastrointestinal, assim esses compostos chegam intactos ao colón e são fermentados pela microbiota.

Na natureza o yacon (*Smallanthus sonchifolius*) é uma das fontes mais ricas em FOS e inulina onde esses nutrientes compõem cerca de 10 a 14 % da matéria seca ^{11,12}. É uma raiz tuberosa pertencente à família da *Asteraceae* originalmente cultivado nos Andes. No Brasil seu cultivo teve início na década de 1990 ¹³. Por ser uma fonte de FOS e inulina, as raízes ou seus subprodutos podem potencialmente ser utilizados como fonte de prebióticos na dieta. O yacon destaca-se pelo seu alto conteúdo de água que pode exceder mais de 70% do seu peso fresco ¹⁴. Essa característica torna a raiz altamente perecível. Assim, é de suma importância o desenvolvimento de produtos que possam

diminuir essa perecibilidade e ainda disponibilizar o produto durante todo o ano uma vez que a raiz é sazonal.

O consumo de quantidades moderadas de produtos feitos com as raízes de yacon está relacionado a redução dos níveis de glicemia plasmáticos ^{15, 16}, redução dos níveis de triacilgliceróis ¹⁷, aumento na absorção de cálcio e magnésio ¹⁸ e melhora da constipação intestinal ^{15,19}.

O presente estudo teve como objetivo avaliar os efeitos clínicos de um produto a base de yacon (PBY) em indivíduos constipados por meio de comparação de mudanças na frequência de evacuações, consistência das fezes, score de constipação, sintomas abdominais, efeito sobre a microbiota, pH, lactato e AGCC das fezes.

2.Métodos

2.1 – Produto a base de yacon

O produto foi processado de acordo com metodologia proposta por Rodrigues (2011) ¹⁶ que está em processo de pedido de patente PI 1106621-0.

A composição química foi determinada conforme metodologia da AOAC ²⁰. Os seguintes valores foram encontrados por 100g: 36,41g de carboidratos, 0,08g de lipídeos, 0,20g de proteína, 62,96g de umidade, 0,35g de cinzas e 19g de oligofrutos (FOS e inulina).

2.2 – Voluntários

Adultos e idosos (20-75 anos) com sintomas de constipação intestinal foram convidados a participar do estudo por meio de cartazes, texto em site e e-mails. Os idosos foram recrutados no Programa Municipal da Terceira Idade (PMTI) do município de Viçosa-MG. Para confirmação do diagnóstico de constipação foi utilizado o critério Roma III ²¹. Os critérios de exclusão utilizados foram: constipação intestinal induzida por fármacos, presença de doenças que afetam o trânsito intestinal como doença celíaca e intolerância à lactose, dependência de laxantes, uso de álcool e drogas, uso de alimentos que contenham prebióticos e probióticos (iogurtes, bebidas, suplementos) e uso de antibióticos nos últimos 3 meses.

Os voluntários foram informados e esclarecidos sobre os objetivos, bem como a forma de execução deste trabalho, sendo o termo de consentimento apresentado a estes, e solicitada, então, a sua concordância em participar deste estudo.

2.3 – Intervenção

Participaram desse estudo 48 voluntários (38 adultos e 10 idosos), sendo 6 homens e 42 mulheres com idade média de $39,77 \pm 17,81$ anos, divididos em 2 grupos com 24 indivíduos cada.

Os voluntários foram divididos em dois grupos iguais de intervenção. O grupo teste recebeu 52g de PBY misturado à 448 ml de suco de laranja (Del Valle®) fornecendo uma dose de 10g FOS/inulina. O grupo controle recebeu 25g de maltodextrina misturado em 475 ml de suco de laranja (Dell Valle®). A quantidade de maltodextrina foi determinada a fim de fornecer a mesma quantidade de calorias do PBY. Os voluntários recebiam as amostras de suco duas vezes por semana totalizando 7 garrafas com 500mL cada. Estes foram orientados a consumirem o suco em duas porções diárias, uma pela manhã e outra ao fim da tarde (1 garrafa por dia). O estudo teve a duração de 30 dias.

2.4 - Avaliação antropométrica

Para caracterização da população estudada foi realizada a avaliação antropométrica dos indivíduos antes e após o período de intervenção. Eles foram pesados utilizando-se balança eletrônica digital (Plenna) com capacidade de 150 kg e precisão de 100 g, vestindo roupas leves. A altura foi determinada utilizando-se antropômetro vertical milimetrado, com capacidade de 2,0 m, com escala de 0,5 cm. Foi calculado o índice de massa corporal (IMC) que relaciona o peso (kg) e a altura (metros) ao quadrado ²².

2.5 – Categorização das evacuações

Para categorização das evacuações foram utilizados dois sistemas de avaliação. A escala de Bristol ²³ que avalia a consistência e forma das fezes e o escore de Agachan ²⁴ que tem como objetivo avaliar a intensidade da constipação.

A Escala de Bristol é uma escala médica destinada a classificar a forma das fezes humanas em sete categorias: 1- caroços duros e separados, como nozes; 2- forma de salsicha, mas granuloso; 3- como uma salsicha, mas com fissuras; 4- como uma salsicha, mas sem fissuras; 5- bolhas suaves com bordas nítidas; 6- peças fofas com bordas em pedaços; 7- aquoso. A categoria 4 é a considerada ideal. Os voluntários responderam a escala antes e após o período de intervenção.

O escore de Agachan também foi aferido antes e após a intervenção. Esse escore considera o seguinte conjunto de sintomas: frequência de evacuações, dor ao evacuar, dificuldade e/ou esforço ao evacuar, sensação de evacuação incompleta, dor abdominal, tempo necessário para iniciar a evacuação, tipo de assistência (sem assistência, manobras manuais, uso de laxantes), tentativas de evacuação por dia e duração da constipação. Quanto menor a pontuação menor é a intensidade da constipação. Valores de 0 a 10, 11 a 20 e 21 a 30 foram classificados como constipação leve, moderada e grave, respectivamente ³.

Os voluntários registraram também o número de evacuações por semana antes e ao final do tratamento.

2.6 – Sintomas abdominais

Ao final do estudo os pacientes registraram sua percepção quanto a dor abdominal, distensão abdominal, flatulência de acordo com quatro classificações: 0 – nenhum sintoma; 1 – sintomas toleráveis; 2- sintomas incômodos e 3 – sintomas que prejudicaram as atividades diárias ³.

2.7- Quantificação da microbiota e análise de pH

Para a coleta de fezes os indivíduos foram orientados a evacuar em recipiente limpo e seco e transferir uma porção das fezes recém emitidas para o frasco coletor de polipropileno com tampa de rosca com capacidade de 80 ml. As fezes foram armazenadas nos recipientes coletores a -80°C. Esta coleta foi realizada antes e depois da intervenção clínica.

As amostras de fezes foram pesadas em saco plástico estéril de polietileno. Após efetuar as diluições apropriadas foi feito o plaqueamento em profundidade em meios apropriados para cada grupo a ser analisado. Para avaliação dos diferentes grupos

microbianos foram utilizados os seguintes meios de cultura: agar Rogosa (Difco, Detroit-USA) para *Lactobacillus*²⁵, MRS modificado (Difco, Detroit-USA)⁹ para *Bifidobacterium*; RCM (Difco, Detroit-USA) para *Clostridium*²⁶, Agar Mac Conkey (Difco, Detroit-USA) para Enterobactérias e meio Wilkins Chalgrens (Difco, Detroit-USA) para anaeróbios totais. Todas as amostras foram incubadas a 37°C/72 horas em câmara de anaerobiose (Anaerobac work station, Bug Box, Leeds, UK). A contagem microbiológica foi expressa em Log₁₀UFC g⁻¹.

A mensuração do pH foi realizada na primeira diluição para a análise da microbiota, utilizando-se pHmetro (Bel Engineering W3B, Monza, Itália).

2.8 – Quantificação lactato e ácidos graxos de cadeia curta

As análises de lactato e ácidos graxos de cadeia curta das fezes foram realizadas em duplicata, segundo proposto por Smiric-ktjardes et al. (2003)²⁷. Para a extração, foi adicionado às amostras 500µL de ácido meta-fosfórico 25%, agitado em vórtex e mantido em repouso por 30 minutos à temperatura ambiente. Após essa etapa os tubos foram centrifugados a 13.500g por 30 minutos a 4°C, o sobrenadante foi novamente centrifugado a 13.500g por 20 minutos e congelado a -20°C. As análises dos ácidos láctico, acético, propiônico e butírico foram realizadas em cromatógrafo a gás modelo (CGMS – QP 5000/Shimadzu/Tokyo, Japan). Os respectivos ácidos foram separados e identificados em coluna capilar Nukol (30 mm x 0,25 mm x 0,01 mm). Para a separação cromatográfica, 1 mL de amostra foi injetada com auxílio de seringa de 10 mL (Hamilton®) em sistema Splitless no modo SIM (Sistema de Monitoramento de Íons). O gás hélio foi utilizado como carreador com velocidade linear programada para 38,5 cm/s. As temperaturas do injetor e do detector são respectivamente de 200°C e 220°C. A programação da coluna com temperatura inicial a 80°C (mantida por 5 minutos), aumentando em 12°C por minuto até atingir 180°C e finalizando a 25 °C por minuto até atingir 220°C (mantida por 20 minutos) totalizando 34,13 minutos de análise. A massa foi scaneada de 40 a 400 m/z. O Fluxo da fase móvel na coluna foi de 1,1 mL/minuto. A partir de soluções estoque de ácido acético, láctico, butírico e propiônico foram feitas diluições para obtenção das soluções padrões. Cada solução foi injetada no cromatógrafo para obtenção das curvas, correlacionando a área do pico com a concentração de ácido na solução. O volume de 1 µL de cada amostra foi injetado com auxílio de seringa de 10 µL em sistema Splitless, e cada ácido presente foi identificado

e quantificado por comparação com os tempos de retenção e concentrações dos ácidos graxos nas soluções padrões. Os cálculos foram feitos pelo microcomputador acoplado ao sistema de cromatografia gasosa equipado com o programa GC Solution.

2.9 - Comitê de ética

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de Viçosa.

2.10 - Análises Estatísticas

Para avaliar a distribuição das variáveis foi utilizado o teste de Kolmogorov-Smirnov. A partir dos resultados do teste foram utilizados testes paramétricos ou não paramétricos²⁸.

Para a comparação das variáveis dos dois grupos antes e após a intervenção foi feito o teste t pareado para as variáveis de distribuição normal. Para as que não apresentaram tal distribuição foi realizado o teste de Wilcoxon. Para a comparação dos grupos independentes foi utilizado o teste t de Student para variáveis de distribuição normal e teste de Mann-Whitney para variáveis que não apresentaram tal distribuição. O nível de rejeição da hipótese de nulidade foi de 5%.

Para as análises utilizou-se o programa SAS (Statistical Analysis System – SAS Institute Inc., Cary, NC, USA), versão 9.20, licenciado para UFV.

3. Resultados

3.1 – Voluntários

Os dados de idade, peso, estatura e IMC antes e após à intervenção clínica estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 – Características clínicas dos 48 voluntários constipados antes e após intervenção por 30 dias, Viçosa-MG, 2013.

Variáveis	Grupo teste		Valor de p	Grupo Controle		Valor de p
	Antes	Após		Antes	Após	
	Média ± DP	Média ± DP		Média ± DP	Média ± DP	
Idade (anos)	39,83±18,51	39,83±18,51	1,00	39,71±17,62	39,71±17,62	1,00
Peso (kg)	63,53±11,34	63,48±10,89	0,52	63,33±8,92	63,28±8,74	0,74
Estatura(m)	1,64±0,06	1,64±0,06	1,00	1,67±0,06	1,67±0,06	1,00
IMC	23,56±3,03	23,56±2,95	0,57	22,85±3,22	22,83±3,19	0,80

DP = desvio-padrão; Teste t pareado $p \geq 0,05$

Para essas variáveis não houve diferença estatisticamente significativa antes e após o período de intervenção nos dois grupos avaliados.

3.2 – Categorização das evacuações

Os pacientes dos dois grupos apresentaram valores similares para a escala de Bristol, escore de Agachan e número de evacuações antes do período de intervenção. Após os 30 dias de tratamento houve aumento significativo para a escala de Bristol e número de evacuações ($p < 0,001$) no grupo que consumiu o suco com PBY. Em relação ao escore de Agachan houve uma diminuição ($p < 0,001$) dos valores para o grupo teste, indicando uma mudança de classificação de constipação moderada para constipação leve (Tabela 2). Para o grupo controle não houve diferenças estatísticas significantes no período antes e após a intervenção.

Tabela 2- Escala de Bristol, escore de Agachan e número de evacuações antes e após o tratamento nos dois grupos estudados.

	Grupo Teste (n=24)	Grupo Controle (n=24)
Escala de Bristol	Média ± DP	Média ± DP
Antes	2,29±0,90	2,33±0,82
Após	3,50±0,78	2,29±0,78
p	<0,001 ^b	0,84 ^b
Agachan		
Antes	12,71±3,26	12,83±3,65
Após	5,96±2,8	12,54±3,04
p	<0,001 ^a	0,33 ^b
Nº Evacuações		
Antes	2,04±0,95	1,92±0,78
Após	6,08±1,69	2,00±0,59
p	<0,001 ^a	0,54 ^b

a= teste t pareado; b= teste de Wilcoxon p<0,05.

3.3 – Sintomas abdominais

Apenas 2 voluntários do grupo teste relataram dor abdominal, classificando-a como tolerável. Foi constatado sintomas toleráveis de flatulência em 13 voluntários. Em relação à distensão abdominal 3 voluntários relataram sintoma tolerável. Todos os voluntários informaram que esses incômodos ocorreram apenas na primeira semana de intervenção. Os voluntários do grupo controle não referiram tais desconfortos durante o tratamento.

3.4 – Quantificação da microbiota

No grupo teste a contagem de Bifidobactérias aumentou (p<0,05) e as contagens de *Clostridium* e Enterobactérias diminuíram (p<0,05) após os 30 dias de intervenção. Para o grupo controle houve apenas diminuição (p<0,05) para bactérias do gênero *Lactobacillus*, não ocorrendo diferenças entre os outros grupos bacterianos estudados (Figura 1).

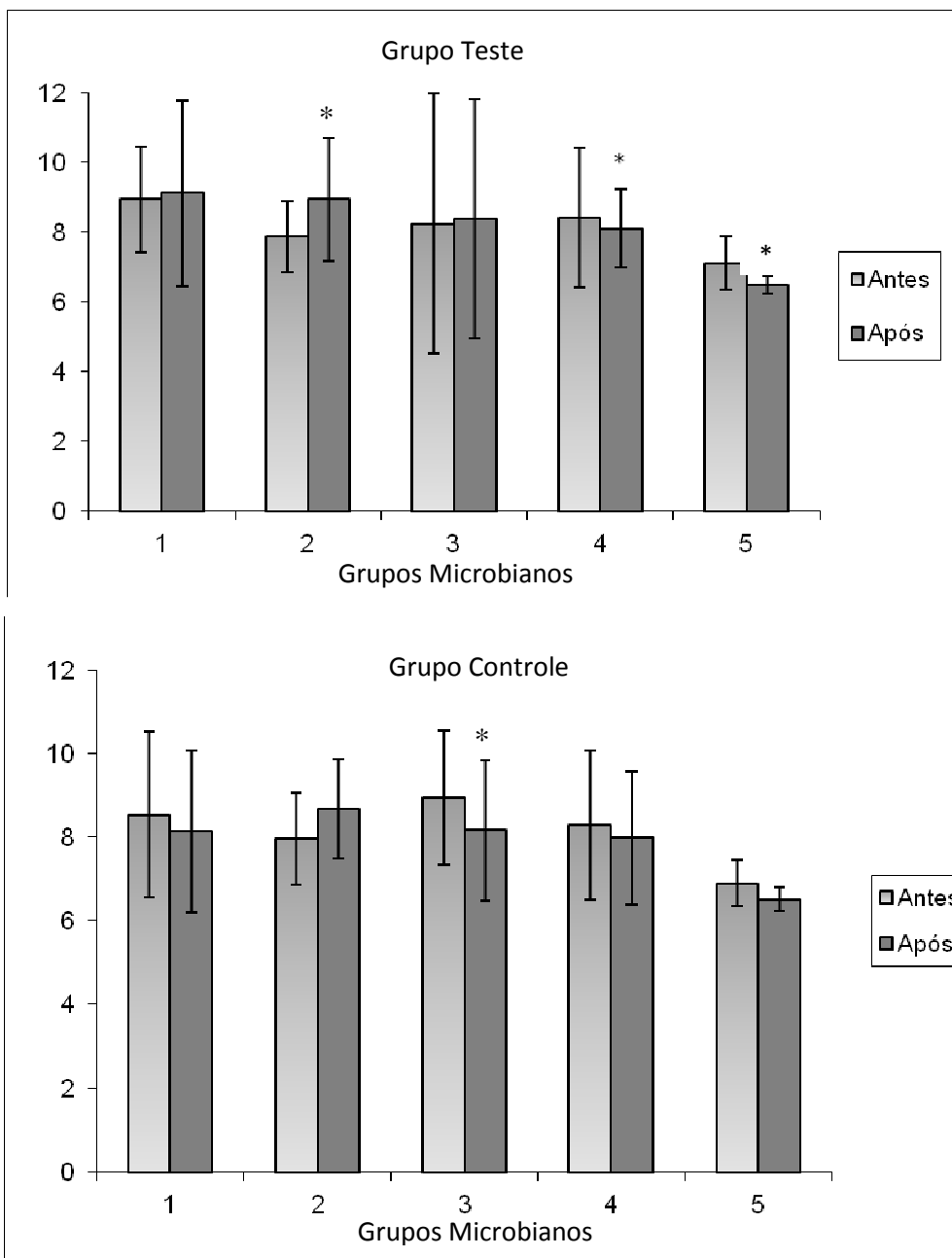


Figura 1 – Contagem dos diferentes grupos microbianos presentes nas fezes dos 48 voluntários dos dois grupos de intervenção antes e após o tratamento por 30 dias. 1 = Anaeróbios totais; 2= *Bifidobacterium*; 3= *Lactobacillus*; 4= *Clostridium*; 5= Enterobactérias. * = teste t pareado, $p < 0,05$.

3.5 – pH, Lactato e AGCC

O pH das fezes do grupo teste apresentou diminuição ($p < 0,05$) após o tratamento com PBY. Para o grupo controle não houve diferença estatisticamente significativa. Entre os dois grupos não houve diferença significativa antes da intervenção ($p = 0,428$).

No entanto, após a intervenção o pH do grupo teste foi significativamente ($p=0,001$) menor que o grupo controle (Tabela 3). Em relação aos ácidos orgânicos não houve diferença estatisticamente significativa nos dois grupos estudados antes e após a intervenção, porém após a intervenção o grupo teste apresentou maiores valores de lactato que o grupo controle ($p=0,02$).

Tabela 3 – Valores de pH, acetato, butirato, lactato e propionato encontrado nas fezes dos 48 voluntários dos dois grupos de intervenção antes e após o tratamento por 30 dias.

Variáveis	Grupo Teste			Grupo Controle		
	Antes	Depois	p	Antes	Depois	p
	Média±DP			Média±DP		
pH	6,98±0,74	6,56±0,53	0,006 ^a	7,15±0,72	7,17±0,67	0,157 ^a
Acetato	64,74±24,59	61,83±34,11	0,570 ^b	63,00±33,00	60,68±29,10	0,112 ^b
Butirato	25,25±15,77	25,84±15,29	0,576 ^b	17,65±4,15	18,33±3,43	0,207 ^b
Lactato	4,50±3010	4,86±3,05	0,133 ^b	3,27±0,96	3,05±1,48	0,555 ^b
Propionato	27,67±23,31	26,06±18,68	0,202 ^b	31,87±19,80	31,77±22,57	0,676 ^b

a= teste t pareado. b= teste de wilcoxon. Valores dos ácidos em mmol/L. DP = desvio padrão.

4. Discussão

O presente estudo apresentou resultados positivos quanto a modulação da constipação intestinal pelo PBY durante os 30 dias de intervenção. Houve aumento do número de evacuações, melhora na forma das fezes e diminuição na intensidade da constipação mensurada pelo escore de Agachan nos voluntários que consumiram o produto alimentar fonte de prebiótico em relação ao grupo controle. A maltodextrina foi utilizada como placebo porque é um carboidrato facilmente digerido e absorvido e que não é fermentado pelas bactérias do colón não interferindo na ecologia microbiana do trato gastrointestinal³. Diferentemente de outros estudos que avaliaram doses de FOS e inulina na modulação da constipação os voluntários do presente estudo apresentaram sintomas de desconforto abdominal como flatulência e distensão na primeira semana de intervenção. Provavelmente, esse efeito pode estar relacionado ao aumento acentuado das bactérias desejáveis no colón, pelo consumo do PBY, e os produtos de sua fermentação como gases, por exemplo, e quando essa microbiota se equilibrou esses metabólitos também se equilibraram e não ocasionaram o efeito indesejável após a

segunda semana de intervenção. Em um estudo realizado por Genta et al (2009)¹⁵ os autores encontraram aumento na frequência de evacuações em 55 mulheres que consumiram xarope de yacon durante 120 dias. A dose administrada nesse estudo foi de 0,14g de FOS por quilo de peso corporal. Resultado semelhante foi encontrado em um estudo com idosos constipados com a mesma dose e período dessa intervenção²⁹.

Em relação aos parâmetros antropométricos não foi encontrada diferença significativa no período da intervenção. Esse resultado é semelhante a outros estudos que avaliaram o efeito do FOS na constipação³⁰ e síndrome metabólica¹⁷.

A constipação provoca alterações no equilíbrio da microbiota intestinal como diminuição das bactérias benéficas e aumento paralelo de micro-organismos potencialmente patogênicos e fungos³¹. Estudos com prebióticos, tanto em modelo animal como humano, tem demonstrado a habilidade desses compostos em normalizar a microbiota e estimular a motilidade intestinal^{3,15,32}.

O efeito bifidogênico dos FOS, em adultos saudáveis, foi demonstrado em ensaios clínicos^{6,33,34}, porém poucos estudos avaliaram o efeito do FOS na constipação. No presente estudo foi encontrado um aumento significativo na população de bifidobactérias e diminuição na contagem de *Clostridium* e Enterobactérias no grupo teste mostrando efeito positivo na modulação do equilíbrio da microbiota após o consumo de PBY. Algumas espécies dos gêneros *Clostridium* e *Enterobacteriaceae* estão associadas ao aparecimento de algumas intercorrências intestinais como diarreia, colite³⁵, enterocolite necrótica³⁶ e gastroenterite³⁷. Portanto, a redução na contagem das bactérias desses dois gêneros após a ingestão de PBY indica potencial benéfico para a saúde intestinal. Benefícios clínicos foram observados em 10 idosos de ambos os sexos com diagnóstico de constipação que consumiram 10g de FOS por 30 dias. Os autores encontraram um aumento na contagem de bactérias do gênero *Bifidobacterium* e diminuição na contagem de clostrídios no grupo que recebeu a suplementação. Porém não foi relatado aumento na frequência de evacuações³⁸.

O efeito bifidogênico do FOS e da inulina observado nesse estudo é semelhante aos achados de outros autores que realizaram estudos in vitro³⁹ ou in vivo utilizando oligofrutose^{40,41}, galactooligosacarídeos^{42,43}, FOS e inulina^{37,44} como fonte de carboidratos não digeríveis. Um aumento na produção dos AGCC por meio da fermentação dos prebióticos resulta em uma diminuição do pH do colón que pode ser um dos mecanismos para explicar a diminuição da população de bactérias potencialmente patogênicas⁴⁰. No entanto, Gibson (1995)⁴¹ aponta que essa acidez pode

não ser o único mecanismo de inibição de patógenos. Os autores mostraram por meio de experimentos de fermentação dos carboidratos não digeríveis que mesmo em nível de pH neutro bactérias do gênero *Clostridium* foram inibidas quando co-cultivadas com *Bifidobacterium infantis*. Os autores concluem que esse efeito pode ser explicado pela produção de substâncias inibidoras, tais como as bacteriocinas que são produzidas pelas bifidobactérias atuando então nesse efeito positivo de manutenção de uma microbiota equilibrada. No presente estudo o grupo que recebeu PBY apresentou menor pH fecal após a intervenção e comparado ao grupo controle indicando que a maior acidez pode ter atuado positivamente no aumento da população de bifidobactérias e diminuição na população de clostrídios e enterobactérias.

Com relação ao lactato e aos AGCC não foi encontrado aumento na sua produção após a ingestão do PBY corroborando com os achados de outros estudos^{30,37}. Alguns autores^{30,45} discutem que uma maior produção de AGCC leva também a uma maior utilização desses ácidos pelo enterócitos e também pelas bactérias presentes no colón refletindo assim em um menor valor encontrado nas fezes. Encontrou-se aumento na concentração de lactato no grupo teste após o consumo do prebiótico em relação ao grupo controle. Esse efeito pode estar relacionado com o aumento das bifidobactérias no grupo teste, que são as principais bactérias produtoras desse ácido orgânico. Essa maior concentração de lactato também reflete nos resultados de pH encontrados.

O yacon por ser fonte de compostos prebióticos pode ser considerado como um alimento com alegação de funcionalidade. Os alimentos funcionais devem ser consumidos com o objetivo de diminuir o risco de desenvolvimento de doenças crônicas não transmissíveis atuando assim de forma preventiva. Nesse estudo avaliou-se o efeito do PBY como forma terapêutica na constipação intestinal, porém esse alimento também pode ser utilizado para prevenir o aparecimento dessa enfermidade.

5. Conclusão

O consumo de um produto a base de yacon foi eficiente em aumentar o número de evacuações, melhorar a consistência das fezes e diminuir a cronicidade da constipação. Além disso, apresentou efeito bifidogênico e foi efetivo em diminuir a contagem de gêneros de bactérias indesejáveis durante 30 dias de intervenção.

6. Referências Bibliográficas

- 1-Amenta, M, Cascio MT, Di Fiore P, Venurini I: Diet and chronic constipation. Benefits of oral supplementation with symbiotic zir fos (*Bifidobacterium longum* W11 + FOS Actilight). *Acta Biomed* 2006; 77:157-162.
- 2-Stewart WF, Liberman JN, Sandler RS, Woods MS, Stemhagen A, Chee E, Lipton RB, Farup CE: Epidemiology of constipation (EPOC) study in the United States: relation of clinical subtypes to sociodemographic features. *Am J Gastroenterol* 1999; 94: 3530-3540.
- 3-Waitzberg DL, Logullo LC, Bittencourt AF , Torrinhas RS, Shirom GM, Paulino NP: Effect of synbiotic in constipated adult women- a randomized, double-blind, placebo-controlled study of clinical response. *Clin Nutr* 2012, (in press).
- 4-Sant'Anna MSL, Coelho CG, Ferreira CLLF: Prevalência de constipação intestinal no município de Viçosa-MG. In: 10º Congresso Brasileiro de Saúde Coletiva, 2012, Porto Alegre. *In Anais 10º Congresso Brasileiro de Saúde Coletiva*, 2012.
- 5-Sturtzel B, Elmadfa I. Intervention with dietary fiber to treat constipation and reduce laxative use in residents of nursing homes: *Ann Nutr Metab* 2008; 52: 54-56.
- 6-Gibson G, Roberfroid M: Dietary modulation of the human colonic microbiota introducing the concept of prebiotics. *J Nutr* 1995; 125: 1401-1412.
- 7-Macfarlane S, Macfarlane GT, Cummings JH. Review article: prebiotics in the gastrointestinal tract: *Aliment Pharmacol Ther* 2006;24:701e14.
- 8-Roberfroid MB: Functional food concept and its application to prebiotics. *Digest Liver Disease* 2002; 34, S105-S110.
- 9-Hartemink R, Vanlaere K M ., Rombouts FM: Growth of enterobacteria on fructooligosaccharides. *J Appl Microbiol* 1997; 383, 367-374.
- 10-Passos LML, Park YK: Frutooligosacarídeos: implicações na saúde humana e utilização em alimentos. *Ciêñ Rural* 2003; 33, 385-390.
- 11-Aybar M, Sanchez-Riera A, Grau A, Sanchez S: Hypoglycemic effect of the water extracts of *Smallantus sonchifolius* (yacon) leaves in normal and diabetic rats. *J Ethnopharmacol* 2001; 74, 125-132.
- 12-Graefe S, Hermann M, Manrique I, Golombek S, Buerkert A: Effects of post-harvest treatments on the carbohydrate composition of yacon roots in the Peruvian Andes. *Field Crops Research* 2004; 86, 157-165.

- 13-Vilhena SMC, Camara FLA, Kakihara ST: O cultivo de yacon no Brasil. *Horticultura Bras* 2000; 18: 5-8.
- 14-Lachman J, Fernandez EC, Orsak M: Yacon (*Smallanthus sonchifolia* (Poepp. et Endl.) H. Robinson] chemical composition and use e a review. *Plant, Soil and Environ* 2003; 49: 283-290.
- 15-Genta S, Cabrera W, Habib N, Pons J, Carillo IM, Grau A, Sánchez S: Yacon syrup: beneficial effects on obesity and insulin resistance in humans. *Clin Nutr* 2009; 28:182–187.
- 16-Rodrigues VC: Formulação, índice glicêmico e aplicação alimentar de um produto à base de yacon (*Smallanthus sonchifolius*). *Tesis*. 2011. 89p.
- 17-Valentova K, Stejskal D, Bartek J, Dvorackova S, Kren V, Ulrichova J, et al: 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.
- 18-Rodrigues FC: Avaliação da farinha de yacon (*Smallanthus sonchifolius*) na modulação das propriedades biomecânicas e na retenção de minerais nos ossos de ratos wistar. *Tesis*. 2011, 180p.
- 19-Geyer M, Manrique I, Degen L, Beglinger C: Effect of yacon (*Smallanthus sonchifolius*) on colonic transit time in healthy volunteers. *Digestion* 2008; 78: 30–33.
- 20- Association of Official Analytical Chemists (AOAC). Official Methods of Analysis of the AOAC. 12th ed. Washington, 1997.
- 21-Drossman DA: Rome III: the new criteria. *Chin J Dig Dis* 2006;7:181-5.
- 22-Bray GA, Gray DS: Obesity. Part I-Pathogenesis. *West J Med* 1988, 149(4):429-441.
- 23-Lewis SJ, Heaton KW: Stool form scale as a useful guide to intestinal transit time. *Scand J Gastroenterol* 1997;32:920-4.
- 24-Agachan F, Chen T, Pfeifer J, Reissman P, Wexner SD: A constipation scoring system to simplify evaluation and management of constipated patients. *Dis Colon Rectum* 1996;39:681-5.
- 25-Rogosa, M.; Mitchell, J.A.; Wiseman, R.F: A selective medium for the isolation and enumeration of oral and fecal Lactobacilli. *J Bacteriol* 1951; 62:132-133.
- 26-Santos MS, Ferreira CLLF, Santos JL, Pozza PC, Teshima E: Influência do fornecimento de probiótico à base de *Lactobacillus* sp. sobre a microbiota intestinal de leitões. *Cien Agrotecnol* 2003; 27 (6):1395-1400.

- 27-Smirick-Ktjardes M R, Griedshop CM, Flickinger EA: Dietary galactooligosaccharides affect ileal and total-tract nutrient digestibility, ileal and fecal bacterial concentrations, and ileal fermentive characteristics of growing pigs. *American Society of Animal Science* 2003; 81: 2535-45.
- 28- Callegari-Jaques SM: Bioestatística: princípios e aplicações. Porto Alegre: Artmed, 2003.
- 29-Chen RD, Lu RN, Lin MD, Ko MD: Effects of fructooligosaccharide on bowel function and indicators of nutritional status in constipated elderly men. *Nutr Res* 2000; 20(12):1725–33.
- 30-Waitzberg DL, Pereira CC, Logullo LC, Jacintho MT, Almeida D, Silva MLT, Torrinhas RS: Microbiota benefits after inulin and partially hydrolyzed guar gum supplementation – a randomized clinical trial in constipated women. *Nutr Hosp* 2012; 27(1): 123-129.
- 31- Khalif IL, Quigley EMM., Konovitch EA, Maximova ID: Alterations in the colonic flora and intestinal permeability and evidence of immune activation in chronic constipation. *Digest Liver Dis* 2005; 37: 838–849.
- 32- Ouwehand AC, Langstrom H, Suomalainen T, Salminen S: Effect of probiotics on constipation, fecal azoreductase activity and fecal mucin content in the elderly. *Ann Nut Metab* 2002; 46:159–162.
- 33-Bouhnik Y, Vahedi K, Achour L, Attar A, Salfati J, Pochart P, et al: Short-chain fructo-oligosaccharide administration dose-dependently increases fecal bifidobacteria in healthy humans. *J Nutr* 1999;129:113–6.
- 34-Bouhnik Y, Raskine L, Simoneau G, Vicaut E, Neut C, Flourie B, et al: The capacity of nondigestible carbohydrates to stimulate fecal bifidobacteria in healthy humans: a double-blind, randomized, placebo-controlled, parallelgroup, dose–response relation study. *Am J Clin Nutr* 2004;80:1658–64.
- 35-Vaishnavi C: Clinical spectrum & pathogenesis of *Clostridium difficile* associated diseases. *Indian J Med Res* 2010; 131: 487- 499
- 36-Morris WE, Fernández-Miyakawa ME: Toxinas de *Clostridium perfringens*. *Rev Argent Microbiol* 2009; 41: 251-260.
- 37-Kleessen B, Sykura B, Zunft H-J & Blaut M: Effects of inulin and lactose on fecal microflora, microbial activity, and bowel habit in elderly constipated persons. *Am J Clin Nutr* 1997; 65: 1397–1402.

- 38-Yen CH, Kuo YW, Tseng YH, Lee MC, Chen HL: Beneficial effects of fructooligosaccharides supplementation on fecal bifidobacteria and index of peroxidation status in constipated nursing-home residents: a placebo-controlled, diet-controlled trial. *Nutr* 2011;27:323-8.
- 39-Wang X, Gibson GR: Effect of the in vitro fermentation of oligofructose and inulin by bacteria growing in the human large intestine. *J Appl Bacteriol* 1993; 75:373–380.
- 40-Kleessen B, Hartmann L, Blaut M: Oligofructose and long-chain inulin: influence on the gut microbial ecology of rats associated with a human faecal flora. *Br J Nutr* 2001;86(2):291-300.
- 41-Gibson GR, Beatty EB, Wang X, Cummings JH: Selective stimulation of bifidobacteria in the human colon by oligofructose and inulin. *Gastroenterol* 1995;108: 975–982.
- 42-Rowland JR, Tanaka R: The effect of transgalactosylated oligosaccharides on gut flora metabolism in rats associated with a human faecal microflora. *J Appl Bacteriol* 1993;74:667-74.
- 43-Davis, LMG, Martínez, I., Walter, J., Hutkins R: A dose dependent impact of prebiotic galactooligosaccharides on the intestinal microbiota of healthy adults. *Int J Food Microbiol* 2010; 144: 285-292.
- 44-Costabile A, Klinder A, Fava F, Napolitano A, Fogliano V, Leonard C, Gibson GR, Tuohy KM: Whole-grain wheat breakfast cereal has a prebiotic effect on the human gut microbiota: a double-blind, placebo-controlled, crossover study. *Brit J Nutr* 2008; 99: 110–120.
- 45-Hengst C, Ptok S, Roessler A, Fechner A, Jahreis G. Effects of polydextrose supplementation on different faecal parameters in healthy volunteers. *Int J Food Sci Nutr* 2009; 60: 96-105.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados desse estudo evidenciaram que o PBY é um alimento com potencial prebiótico por apresentar um teor elevado de FOS e inulina, além disso, por possuir um menor teor de umidade tem uma vida útil maior que o yacon *in natura*.

O fornecimento do PBY para os animais na dose de 0,14g FOS/inulina/kg peso foi eficiente em melhorar a constipação induzida, diminuir a concentração de bactérias do gênero *Bacteroides* que possui espécies patogênicas. Aumentou a concentração de butirato que está ligado ao efeito trófico das células intestinais refletindo assim na maior vilosidade, largura e profundidade das criptas cecais nos animais que receberam a suplementação. Importante salientar que durante o experimento os animais não apresentaram diarreia que seria um efeito indesejado do produto.

Os voluntários com diagnóstico de constipação intestinal que consumiram o suco de laranja adicionado ao PBY apresentaram um efeito positivo do tratamento, com aumento no número de evacuações, melhora na consistência das fezes, diminuição da intensidade da constipação, efeito bifidogênico e diminuição do pH fecal.

Devido à versatilidade que o PBY possui ele pode ser incorporado a vários tipos de alimentos, contribuindo para o desenvolvimento de produtos com alegação de funcionalidade por apresentar alto conteúdo de FOS e inulina. O PBY quando comparado com os ingredientes prebióticos disponibilizados no mercado, geralmente importados, pode ser considerado um alimento de baixo custo com maior alcance para a população.

ANEXOS

Anexo 1



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA
COMISSÃO DE ÉTICA EM PESQUISA NO USO DE ANIMAIS

Campus Universitário - Viçosa, MG - 36570-000 - Telefone: (31) 3899-3783

Viçosa, 05 de outubro de 2011.

Ilma. Sra.
Professora Célia Lúcia de Luces Fortes Ferreira
Departamento de Tecnologia de Alimentos

Senhora Coordenadora:

Após avaliação da Metodologia utilizada no Projeto de Pesquisa nº 68/2011 e intitulado "*Efeito do yacon (Smallanthus sonchifolius) na modulação da constipação intestinal de adultos*", a CEUA/UFV emite parecer favorável ao protocolo de utilização de animais proposto, baseado nas Normas para o uso de animais no ensino, pesquisa e extensão do DVT/UFV, no Código de Ética Profissional do Médico Veterinário, nas Normas do COBEA (Colégio Brasileiro de Experimentação Animal) e na legislação vigente.

Atenciosamente,

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Cláudio César Fonseca', written in a cursive style.

Professor Cláudio César Fonseca

Comissão de Ética para o Uso de Animais da UFV- CEUA
Coordenador



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA
COMISSÃO DE ÉTICA EM PESQUISA NO USO DE ANIMAIS

Campus Universitário - Viçosa, MG - 36570-000 - Telefone: (31) 3899-3783

CERTIFICADO

A Comissão de Ética para Uso de Animais (CEUA) / UFV certifica que o projeto n.º 68 / 2011, intitulado "*Efeito do yacon (Smallanthus sonchifolius) na modulação da constipação intestinal de adultos*", coordenado pela professora Célia Lúcia de Luces Fortes Ferreira, do Departamento de Tecnologia de Alimentos, está de acordo com o Código de Ética Profissional do Médico Veterinário, com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e com a legislação vigente, tendo sido aprovado por esta Comissão em 05/10/2011.

CERTIFICATE

The Ethic Committee in Animal Use / UFV certify that the process number 68 / 2011, "*Efeito do yacon (Smallanthus sonchifolius) na modulação da constipação intestinal de adultos*", is in agreement with the Medical Veterinary Professional Ethics Code, with the Ethical Principles for Animal Research established by the Brazilian College for Animal Experimentation (COBEA) and with actual Brazilian legislation. This Institutional Commission on October 5, 2011 approved this process.

Viçosa, 05 de outubro de 2011.

Professor Cláudio César Fonseca

Comissão de Ética para o Uso de Animais da UFV - CEUA
Coordenador

Anexo 2

Questionário para levantamento de prevalência de constipação intestinal (Roma III)

Nome: _____
 Idade: _____ Sexo: _____
 Endereço: _____
 Telefone para contato: _____
 Peso: _____
 Estatura: _____
 IMC: _____
 Data avaliação: _____

Por favor, responda as perguntas abaixo, colocando no quadro em branco o número da sua resposta.

1. Nos últimos três meses quantas vezes você teve dor ou desconforto abdominal?	0- Nunca 1- menos de um dia por mês 2- um dia por mês 3- dois ou três dias por mês 4- um dia por semana 5- mais de um dia por semana 6- todos os dias	<u>Resposta</u>
2. Somente para mulheres. Esse desconforto ou dor abdominal ocorre no período menstrual?	0- Não 1- Sim 2- Não se aplica porque estou na menopausa	
3. Você tem algum desconforto ou dor abdominal há pelo menos 6 meses?	0- Não 1- Sim	
4. Quantas vezes essa dor ou desconforto melhora ao evacuar?	0- Nunca ou raramente 1- Às vezes 2- Frequentemente 3- Na maioria das vezes 4- Sempre	
5. Quando você sente essa dor ou desconforto você evacua mais vezes?	0- Nunca ou raramente 1- Às vezes 2- Frequentemente 3- Na maioria das vezes 4- Sempre	
6. Quando você sente essa dor ou desconforto você evacua menos vezes?	0- Nunca ou raramente 1- Às vezes 2- Frequentemente 3- Na maioria das vezes 4- Sempre	
7. Quando você sente essa dor ou desconforto suas fezes estavam mais moles?	0- Nunca ou raramente 1- Às vezes 2- Frequentemente	

	3-Na maioria das vezes 4- Sempre	
8. Quando essa dor ou desconforto se inicia fica mais difícil evacuar?	0- Nunca ou raramente 1- Às vezes 2- Frequentemente 3-Na maioria das vezes 4- Sempre	
9. Nos últimos 3 meses, quantas vezes você teve menos de 3 evacuações por semana?	0- Nunca ou raramente 1- Às vezes 2- Frequentemente 3-Na maioria das vezes 4- Sempre	
10. Nos últimos três meses quantas vezes você apresentou fezes endurecidas ou fragmentadas?	0- Nunca ou raramente 1- Às vezes 2- Frequentemente 3-Na maioria das vezes 4- Sempre	
11. Nos últimos três meses você sentiu dor ao evacuar?	0- Nunca ou raramente 1- Às vezes 2- Frequentemente 3-Na maioria das vezes 4- Sempre	
12. Nos últimos três meses quantas vezes você teve a sensação de esvaziamento (evacuação) incompleto?	0- Nunca ou raramente 1- Às vezes 2- Frequentemente 3-Na maioria das vezes 4- Sempre	
13. Nos últimos três meses quantas vezes você percebeu que as fezes não poderiam ser expelidas ao ter vontade de evacuar?	0- Nunca ou raramente 1- Às vezes 2- Frequentemente 3-Na maioria das vezes 4- Sempre	
14. Nos últimos três meses quantas vezes você teve que retirar suas fezes manualmente para ter uma evacuação completa?	0- Nunca ou raramente 1- Às vezes 2- Frequentemente 3-Na maioria das vezes 4- Sempre	
15. Nos últimos três meses quantas vezes você evacuou sem ter que fazer força?	0- Nunca ou raramente 1- Às vezes 2- Frequentemente 3-Na maioria das vezes 4- Sempre	
16. Alguns dos sintomas listados nas perguntas 9 e 15 começaram há mais de 6 meses?	0- Não 1- Sim	
17. Nos últimos três meses quantas vezes você apresentou fezes amolecidas?	0- Nunca ou raramente 1- Às vezes 2- Frequentemente 3-Na maioria das vezes 4- Sempre	

Anexo 3

A ESCALA FECAL DE BRISTOL

TIPO 1		Caroços duros e separados, como nozes (difíceis de passar)
TIPO 2		Salsicha-moldada, mas granuloso
TIPO 3		Como uma salsicha, mas com fissuras em sua superfície
TIPO 4		Como uma salsicha ou serpente, suave e macio
TIPO 5		Bolhas Suaves com bordas nítidas (que passa facilmente)
TIPO 6		Peças Fofas com bordas em pedaços, um cocô sem consistência
TIPO 7		Aquoso, Sem partes sólidas. Inteiramente líquido

Tipo: _____

Anexo 4

Sistema de pontuação da constipação (Score de Agachan)

Circule sua resposta

Frequência de evacuação

- 0 1 ou 2 vezes por dia
- 1 2 vezes por semana
- 2 Uma vez por semana
- 3 Menos que uma vez por semana
- 4 Menos de uma vez por mês

Dificuldade: evacuação dolorosa

- 0 Nunca
- 1 Raramente
- 2 As vezes
- 3 Geralmente
- 4 Sempre

Sensação de evacuação incompleta

- 0 Nunca
- 1 Raramente
- 2 As vezes
- 3 Geralmente
- 4 Sempre

Dor abdominal

- 0 Nunca
- 1 Raramente
- 2 As vezes
- 3 Geralmente
- 4 Sempre

Tempo gasto ao evacuar

- 0 Menos que 5 min
- 1 5-10 min
- 2 10-20 min
- 3 20-30min
- 4 Mais que 30 min

Tipo de assistência

- 0 Sem assistência
- 1 Uso de laxantes
- 2 Manobras manuais

Tentativas sem sucesso em 24 horas

- 0 Nunca
- 1 1-3 tentativas
- 2 3-6 tentativas
- 3 6-9 tentativas
- 4 Mais que 9 tentativas

Duração da constipação

- 0 Menos de 1 ano
- 1 1 a 5 anos
- 2 5-10 anos
- 3 10-20 anos
- 4 Mais que 20 anos

Score Total: _____

Anexo 5

Questionário pós intervenção

Nome:

Data:

Peso:

Altura:

IMC:

Durante o consumo do suco adicionado de um produto para combate da constipação intestinal circule a alternativa mais coerente com a situação ocorrida:

Presença de dor abdominal

0 – Nenhum sintoma

1-Sintomas toleráveis

2- Sintomas incômodos

3- Sintomas que prejudicam as atividades diárias

Flatulência

0 – Nenhum sintoma

1-Sintomas toleráveis

2- Sintomas incômodos

3- Sintomas que prejudicam as atividades diárias

Distensão abdominal

0 – Nenhum sintoma

1-Sintomas toleráveis

2- Sintomas incômodos

3- Sintomas que prejudicam as atividades diárias

Número de evacuações por semana antes do tratamento: _____

Número de evacuações por semana pós tratamento: _____

Anexo 6



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA COM SERES HUMANOS-CEPH

Campus Universitário - Divisão de Saúde - Viçosa, MG - 36570-000 - Telefone: (31) 3899-3783

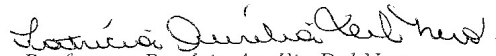
Of. Ref. Nº 130/2012/CEPH/06-11-07

Viçosa, 11 de outubro de 2012

Prezada Professora:

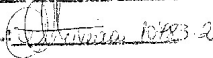
Cientificamos Vossa Senhoria de que o Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos, em sua 6ª Reunião de 2011, realizada no dia 30 de agosto de 2011, aprovou, sob o aspecto ético, o projeto intitulado "Efeito do yacon (*Smallanthus sonchifolius*) na modulação da constipação intestinal de adultos".

Atenciosamente,


Professora Patrícia Aurélio Del Nero

Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos-CEPH
Presidente

Confere com o Original

04/10/12 1.12.
Ass:  10983-2

À Profª. Célia Lúcia de Luces Fortes Ferreira
Departamento de Tecnologia de Alimentos - DTA