

Nutrição Brasil 2017;16(4):257-64

REVISÃO

A obesidade e a ação dos prebióticos, probióticos e simbióticos na microbiota intestinal *The obesity and the action of prebiotics, probiotics and symbiotics in intestinal microbiota*

Michely Lopes Nunes*, Marilene Porawski**

*Nutricionista, Doutoranda do Curso de Pós Graduação Medicina: Hepatologia da Universidade Federal de Ciências da Saúde UFCSPA, Porto Alegre/RS, **Professora adjunta de Fisiologia do Departamento de Ciências Básicas da Saúde e orientadora do PPG Medicina, Hepatologia e do PPG Biociências da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA), Porto Alegre/RS

Recebido 14 de maio de 2017; aceito 15 de setembro de 2017

Endereço para correspondência: Michely Lopes Nunes, Rua Sarmiento Leite, 245, 90050-350 Porto Alegre RS, E-mail: mednutry@gmail.com, Marilene Porawski: marilene@ufcspa.edu.br

Resumo

A crescente prevalência da obesidade e suas comorbidades apresenta-se como um dos principais problemas de saúde pública atualmente. O intestino é um órgão complexo que tem sido cada vez mais estudado na obesidade devido à sua capacidade para sinalizar vias envolvidas na fisiopatologia da doença. *Objetivo:* Esclarecer os principais efeitos de prebióticos e probióticos nas alterações metabólicas e da microbiota intestinal na obesidade. A microbiota intestinal pode ser modulada pela dieta e atuar no controle da ingestão alimentar interagindo com receptores e enzimas que interferem nas alterações metabólicas decorrentes da obesidade e na modulação da resposta inflamatória. Pesquisas com animais mostraram resultados positivos do uso de prebióticos e probióticos como coadjuvantes no tratamento da obesidade, contudo, os resultados com humanos ainda apresentam dados controversos. Portanto a implementação de tal estratégia provavelmente vai abrir o caminho para alimentação personalizada e/ou estratégias terapêuticas inteligentes (incluindo a manipulação da microbiota intestinal através da concepção de novos probióticos, prebióticos e simbióticos para reverter problemas causados pela obesidade.

Palavras-chave: prebióticos, probióticos, obesidade, microbiota intestinal.

Abstract

The growing prevalence of obesity and its comorbidities is currently one of the major public health problems. The intestine is a complex organ that has been increasingly studied in obesity because of its ability to signal pathways involved in the pathophysiology of the disease. *Objective:* to clarify the main effects of prebiotics and probiotics on intestinal microbiota and metabolic changes in obesity. Animal studies showed positive results in the use of prebiotics and probiotics as complement in the treatment of obesity, however, the results with humans still feature controversial data. Therefore implementing such strategies will probably open the way for personalized nutrition and/or clever therapeutic strategies (including manipulation of the intestinal microbiota through the design of new probiotics, prebiotics and symbiotics to reverse problems caused by obesity.

Key-words: prebiotics, probiotics, obesity, intestinal microbiota.

Introdução

A Organização Mundial de Saúde aponta a obesidade como um dos maiores problemas de saúde pública no mundo. A projeção é que, em 2025, cerca de 2,3 bilhões de adultos estejam com sobrepeso e mais de 700 milhões, obesos [1]. A obesidade é causa de incapacidade funcional, de redução da qualidade de vida, redução da expectativa de vida e aumento da mortalidade. Condições crônicas, como doença renal, osteoartrose, câncer, diabetes tipo 2, apneia do sono, doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA), hipertensão arterial e doenças cardiovasculares estão diretamente relacionadas com incapacidade funcional e com a obesidade [2].

De acordo com Pistelli e Costa [3], o desenvolvimento da obesidade nos seres humanos pode ser influenciado pelas proporções relativas de dois filos principais de bactérias da microbiota intestinal, os bacteroidetes e os firmicutes, sugerindo que a atividade metabólica deles pode facilitar a extração e estocagem das calorias ingeridas. A proporção de bacteroidetes é menor em indivíduos obesos do que em magros.

Estudos com o uso de animais livres de germes e o transplante de microbiota mostraram que a microbiota intestinal pode desempenhar um papel importante no desenvolvimento da obesidade e distúrbios metabólicos associados. Nos seres humanos, observa-se diferenças na composição da microbiota correlacionadas com mudanças na atividade metabólica e na expressão de genes entre indivíduos obesos e magros, sugerindo uma contribuição da microbiota intestinal para esses fenótipos [4]. Estudos observacionais e retrospectivos enfatizam que a microbiota intestinal e seus metabólitos estão alterados no estado de obesidade [5]. A microbiota intestinal é complexa e parece afetar o equilíbrio metabólico do hospedeiro, modulando a absorção de energia, a motilidade intestinal, o apetite, o metabolismo da glicose e dos lipídeos, bem como o armazenamento de gordura hepática. Um comprometimento do equilíbrio delicado entre a microbiota intestinal e o sistema imunológico do hospedeiro pode provocar a translocação bacteriana e o desenvolvimento de endotoxemia metabólica, levando à inflamação sistêmica e à resistência à insulina [6].

Pesquisa de Jumpertz *et al.* [7] mostrou que a disponibilidade de diferentes nutrientes provoca mudanças na composição da microbiota intestinal no mecanismo de absorção dos nutrientes. Nesse sentido, a microbiota tanto de humanos como de animais, pode ser modificada através da dieta, de modo que a ingestão de calorias em excesso promove a proliferação de bactérias do filo firmicutes, os quais permitem a extração de nutrientes com maior eficiência. Outro estudo mostrou que uma dieta hiperlipídica e pobre em fibras está associada a alterações na microbiota do intestino distal de camundongos, sugerindo que a atividade metabólica dos micro-organismos intestinais pode gerar derivados lipopolissacarídeos que atuam como um gatilho no desencadeamento da resposta inflamatória, contudo essas alterações metabólicas podem ser reversíveis [8].

Diante das alterações metabólicas e das modificações na microbiota intestinal que ocorrem em indivíduos obesos, a utilização de probióticos pode ser uma estratégia coadjuvante na prevenção e tratamento da obesidade [9]. Os probióticos são definidos como micro-organismos vivos que, quando ingeridos em quantidades adequadas, exercem efeitos benéficos ao organismo. Os gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* são os mais utilizados na elaboração de probióticos. Eles são indicados para o tratamento de diversas doenças, como inflamações, distúrbios alérgicos e diarreia [10].

Os probióticos agem no intestino e estimulam o sistema imunológico o que leva a uma redução nos organismos patogênicos presente na microbiota. Esse fenômeno traz benefícios para o ecossistema intestinal porque reduz a incidência e a gravidade da diarreia. O uso de probióticos reduz o risco de câncer de cólon em modelos animais, provavelmente por sua capacidade de suprimir a atividade de certas enzimas bacterianas que podem aumentar os níveis de pró-carcinógenos, mas isto não foi provado em humanos [11].

Animais obesos, induzidos por dieta e tratados com probióticos mostraram redução do ganho de peso e na acumulação de gordura corporal, bem como diminuição da insulina plasmática, leptina, colesterol total e biomarcadores de toxicidade hepática. Observou-se alterações transcricionais no tecido adiposo e no fígado. No tecido adiposo, a expressão dos genes pró-inflamatórios (TNF α , IL6, IL1 β e MCP1) foi diminuída em ratos que receberam tratamento probiótico. No fígado, a expressão dos genes relacionados com a oxidação de ácidos graxos (PGC1 α , CPT1, CPT2 e ACOX1) foi aumentada em animais que receberam tratamento probiótico. A microbiota intestinal de animais obesos induzidos pela dieta parece ser modulada em ratos que recebem tratamento probiótico [12].

Microbiota, obesidade e modulação da resposta imune inflamatória

Estudos recentes têm associado a microbiota intestinal ao estado inflamatório que ocorre na obesidade, sugerindo que alterações na sua composição e na sua diversidade em obesos podem desempenhar papel importante no desenvolvimento de distúrbios metabólicos [13].

A absorção de nutrientes é diferente para cada pessoa, dependendo da sua microbiota intestinal, este mecanismo de absorção e armazenamento determina a quantidade de calorias

armazenadas pelos indivíduos, pois a microbiota está envolvida no aumento da taxa metabólica, modulação da lipogênese e no aumento da captação de monossacarídeos [14].

O termo disbiose descreve qualquer desequilíbrio significativo no ecossistema microbiano intestinal, isto inclui o crescimento excessivo ou o esgotamento de uma espécie comensal particular, a família ou o filo de bactérias, ou um deslocamento geográfico de uma ou mais espécies (isto é, bactérias do cólon que colonizam o intestino delgado) [15]. A disbiose do intestino pode ser um dos principais desencadeadores de uma ampla gama de distúrbios gastrointestinais e sistêmicos, isso ocorre quando os adipócitos liberam citocinas pró-inflamatórias, entre elas, interleucinas (IL-1, IL-6) e fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), sendo que a expressão gênica aumenta conforme ocorre hipertrofia das células epiteliais. A gordura saturada induz a liberação de prostaglandinas, principalmente de série par como a PGE₂, oriundas da biossíntese do ômega. O excesso do consumo de ômega-6 também está associado à resposta imune através dos efeitos sobre o receptor do tipo *toll like*, os TLR-4, que ao ser ativado induz a sinalização das proteínas da via das MAP quinases e, por fim, pode ativar o fator de transcrição NF- κ B, relacionado com a expressão de mais de 200 genes [16].

Recentes estudos têm demonstrado a participação de receptores de interleucina 1/TLR, como o receptor TLR5, na inflamação [17]. O TLR5 é uma proteína que atua na resposta imunológica através do reconhecimento de patógenos associados a bactérias. A interação entre microbiota e TLR5 é fundamental para a homeostase intestinal, pois a maioria dos microorganismos do intestino tem alta afinidade com o TLR5 e essa reação emite sinais que regulam o funcionamento intestinal, portanto deficiências nesse receptor levam ao início da cascata inflamatória, com transcrição de citocinas e mediadores inflamatórios como o NF- κ B [18].

Estudos, mostram que camundongos geneticamente deficientes em toll-like receptor 5 (TLR5) exibem hiperfagia e desenvolvem características da síndrome metabólica, incluindo hiperlipidemia, hipertensão, resistência à insulina e aumento da adiposidade. A restrição alimentar impediu a obesidade, mas não a resistência à insulina, nos camundongos deficientes em TLR5. Estes resultados suportam a visão emergente de que a microbiota intestinal contribui para a doença metabólica e sugerem que o mau funcionamento do sistema imune inato pode promover o desenvolvimento da síndrome metabólica [18,19].

O que são prebióticos e probióticos?

O termo prebiótico foi empregado em 1995, para designar ingredientes nutricionais não digeríveis que afetam o hospedeiro estimulando seletivamente o crescimento e a atividade de uma ou mais bactérias benéficas do cólon, melhorando a saúde do seu hospedeiro [20].

Os prebióticos não são metabolizados ou absorvidos durante a sua passagem pelo trato digestivo superior; devem servir como substrato a uma ou mais bactérias intestinais benéficas (algumas espécies de *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*) e, desta maneira, reduzem a quantidade de outras bactérias como Bacteroides, Clostridium e Coliformes [21]. Possuem a capacidade de alterar a microbiota intestinal de maneira favorável à saúde do hospedeiro [22].

Alguns açúcares absorvíveis ou não, fibras, álcoois de açúcares e oligossacarídeos estão dentro deste conceito de prebióticos. Destes, os oligossacarídeos - cadeias curtas de polissacarídeos compostos de 3 a 10 açúcares simples ligados entre si, têm recebido mais atenção pelas inúmeras propriedades prebióticas atribuídas a eles. Os frutooligossacarídeos são polissacarídeos que têm demonstrado bons efeitos prebióticos, podem ser obtidos na forma natural em sementes e raízes de alguns vegetais como a chicória, cebola, alho, alcachofra, aspargo, cevada, centeio, nas leguminosas como: grãos de soja, grão-de-bico, feijões, lentilha, ervilha. Também, podem ser extraídos por cozimento ou através de ação enzimática ou alcoólica. Há, também, os oligossacarídeos sintéticos obtidos através da polimerização direta de alguns dissacarídeos da parede celular de leveduras ou fermentação de polissacarídeos. Estudos mostram que os oligossacarídeos sintéticos têm apresentado melhores resultados como prebióticos e menos efeitos colaterais [6,23].

Desta maneira, os prebióticos agem intimamente relacionados aos probióticos, constituem o "alimento" das bactérias. O uso de prebióticos em associação como os probióticos apresentam ações benéficas superiores aos antibióticos. São promotores de crescimento, não deixam resíduos nos produtos de origem animal e não induzem o desenvolvimento de resistência às drogas, por serem produtos essencialmente naturais [24].

Como já mencionado, as substâncias prebióticas agem alimentando e estimulando o crescimento de diversas bactérias intestinais benéficas, cujos metabólitos atuam também reduzindo o pH através do aumento da quantidade de ácidos orgânicos, presentes no ceco.

Por outro lado, atuam bloqueando os sítios de aderência principalmente a D-manose imobilizando e reduzindo a capacidade de fixação de algumas bactérias patogênicas na mucosa intestinal [25]. Especula-se que os oligossacarídeos possam atuar também estimulando o sistema imune, através da redução indireta da translocação bacteriana [26].

Probióticos

O termo probiótico foi proposto pela primeira vez em 1965. Atualmente utiliza-se o termo probiótico para designar suplemento alimentar composto de cultura pura ou composta de microorganismos vivos, com a capacidade de se instalar e proliferar no trato intestinal, com a ação de promotores de crescimento, beneficiando a saúde do hospedeiro pelo estímulo das propriedades existente na microflora intestinal [27]. Segundo a Organização de Alimentação e Agricultura das Nações Unidas e a Organização Mundial de Saúde, probióticos são microrganismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas conferem um benefício à saúde do hospedeiro [28].

Existe uma variedade de microrganismos utilizados como probióticos, que podem ser classificados da seguinte forma: probióticos bacterianos e não bacterianos. Com a exceção de certas leveduras e probióticos fúngicos, a maioria dos microrganismos utilizados são bactérias. Exemplos de probióticos bacterianos são várias espécies de *Lactobacillus* [29], *Bifidobacterium* [30,31], *Bacillus* [32] e *Enterococcus* [33]. Os probióticos não bacterianos (levedura ou fungos) incluem *Aspergillus oryzae* [34], *Candida pintolopesii* [35], *Saccharomyces boulardii* [36], e *Saccharomyces cerevisiae* [37].

Os probióticos podem conter bactérias totalmente conhecidas e quantificadas ou, culturas bacterianas não definidas. *Enterococcus*, *Bacteroides*, *Eubacterium* e especialmente *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* estão presentes em todas as culturas. Por outro lado, não se conhece ainda a composição ideal que melhor estimula as propriedades probióticas in vivo. Produtos com culturas não definidas têm melhor ação probiótica que as culturas definidas [38].

Os lactobacilos são bactérias gram-positivas e anaeróbicas facultativas, predominantes no intestino delgado. Entre suas espécies pode-se citar os *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus acidophilus*. Os lactobacilos inibem a proliferação de microrganismos patogênicos, pela competição com locais de ligação de nutrientes e produzem ácidos orgânicos, que reduzem o pH intestinal, retardando o crescimento de bactérias patogênicas [36].

Os probióticos fazem parte dos chamados Alimentos Funcionais, cujo principal alvo é a mucosa intestinal [40]. Diferentes probióticos são capazes de induzir respostas pró-inflamatórias, anti-inflamatórias ou secretórias que podem inibir a carcinogênese. Vários estudos têm comprovado a eficácia dos probióticos na prevenção e tratamento de diarreia associada aos antibióticos [43].

Qual é a quantidade recomendada de probióticos?

O Grupo de Trabalho Conjunto da Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura (FAO) e da Organização Mundial de Saúde (OMS) definiu os probióticos como microrganismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem um benefício para a saúde do hospedeiro [40]. Esta definição é amplamente aceita e adotada pela Associação Científica Internacional de Probióticos e Prebióticos [41]. Os diferentes probióticos são estudados e comercializados na forma de preparações contendo um único ou uma combinação de microrganismos. O probiótico deve se apresentar viável na preparação e manter essa viabilidade no ecossistema digestivo, condição indispensável para a sua atuação [42].

A Legislação Brasileira define que a quantidade mínima viável para o probiótico deve estar situada na faixa de 10^8 a 10^9 UFC (unidades formadoras de colônias) na porção diária do alimento para ser de importância fisiológica para o consumidor [41]. O consumo de quantidades adequadas dos microrganismos probióticos desejados nos bioprodutos (10^9 a 10^{10} UFC/100g de produto) é suficiente para a manutenção das concentrações ativas fisiologicamente (quantidade intestinal de 10^6 a 10^7 UFC/g) in vivo [41]. Para um produto ser considerado como probiótico é necessário conter uma quantidade mínima de 10^8 unidade formadora de colônia (UFC) que cheguem vivas até o intestino. Vale ressaltar que tudo que consumimos tem que passar pela boca, esôfago e estômago para chegar até o intestino, e lembre-se também que o nosso estômago tem o pH ácido, fator limitante para a chegada dos microrganismos vivos até o intestino. Considerando isso, a quantidade de microrganismos

nos produtos têm que ser superior a $1 \times 10^8 = 100.000.000$ UFC, pois alguns não resistiram ao pH ácido do estômago. Para proteger os microorganismos da ação ácida do estômago é usado um carboidrato, que pode ser açúcares ou fibras, chamados de prebióticos, para envolver essas bactérias e impedir que o ácido clorídrico do estômago degrade as.

Cepa por dose para indivíduo saudável

Quadro 1 - Probióticos mais utilizados conforme (ANVISA/OMS).

Cepa	Dose
<i>Lactobacillus casei</i>	10^{10} ufc/g - 2x/dia
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	$10^9 - 10^{10}$ ufc/g – 1 a 3x/dia
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	$10^{10} - 10^{11}$ ufc/g - 2 x/dia
<i>Bifidobacterium lactis</i>	10^{10} ufc/g - 2x/dia

A imunorregulação induzida pelos probióticos pode atuar a nível local e sistêmico. A nível local, promove a inibição da adesão de microrganismos patogênicos, a atividade antimicrobiana, a produção de mucinas, o reforço da função de barreira intestinal e a produção de citocinas pró-inflamatórias. A nível sistêmico, regula a proliferação de linfócitos B e linfócitos T e a produção de imunoglobulinas. Sugerem um efeito positivo na modulação da microbiota intestinal na prevenção e no tratamento de doenças metabólicas relacionadas com a obesidade [48]. Nesse contexto, Aguilar, Esparza e Fragoso [43] encontraram redução nos níveis de coliformes totais e aumento nos níveis de lactobacilos no trato gastrointestinal de ratos Zucker obesos após suplementação com o probiótico BIO-L6®, que continha 10 cepas do gênero *Lactobacillus*, durante nove semanas, mostrando a capacidade de modulação benéfica da microbiota intestinal. Além disso, encontraram redução de marcadores inflamatórios como fator de necrose tumoral α (TNF- α) e interleucinas 4, 10 e 11. Esse mecanismo pode configurar-se efeito benéfico ao combater o estado de inflamação associado à obesidade.

Kadooka *et al.* [44], utilizando *Lactobacillus casseri* LG2055 com aproximadamente 5×10^{10} CFU/100g/dia via oral em indivíduos obesos, verificaram que os probióticos comparados ao placebo, determinaram redução de adiposidade visceral, além de redução de peso corporal e circunferência da cintura [50].

Neste estudo com ratos obesos e diabéticos induzidos por dieta (Ob/ob) alimentados com dieta hiperlipídica e suplementada com oligofrutose (0,3 g/rato/dia) adicionada em água, a suplementação prebiótica diminuiu filos Firmicutes e aumentou Bacteroidetes. Além disso, os probióticos melhoraram a tolerância à glicose, aumentaram o número de células L e os parâmetros associados (expressão do ARNm do proglucagon intestinal e níveis plasmáticos de peptídeo-1 semelhante ao glucagon) e reduziram o desenvolvimento de massa gorda, estresse oxidativo e inflamação de baixo grau. Em ratos alimentados com dieta hiperlipídica, o tratamento prebiótico melhorou a sensibilidade à leptina, assim como os parâmetros metabólicos [45].

Nguyen *et al.* [46] utilizaram um suplemento de plantarum PH04 em ratos hipercolesterolêmicos na quantidade de 10^7 UFC/g/rato/dia, durante 14 dias. Comparado com um grupo controle, o colesterol sérico e os triglicérides foram respectivamente 7 e 10% menores no grupo alimentado com *L. plantarum* PH04 sem diferenças significativas no peso corporal, no índice de peso visceral e translocação bacteriana entre dois grupos. Os resultados indicaram que *L. plantarum* PH04 poderia ser eficaz como um probiótico com atividades de redução do colesterol.

Em outro estudo [47] com ratos alimentados com dieta hiperlipídica e suplementaram *Lactobacillus plantarum* LS/07 e *Lactobacillus plantarum* Biocenol LP96, as cepas probióticas foram proporcionadas em dose 3×10^9 CFU de cepas/1 ml, e cada rato recebeu aproximadamente $1,5 \times 10^9$ CFU de lactobacilos via oral. Os resultados mostram que *Lactobacillus plantarum* LS/07 reduziu o colesterol sérico e o colesterol LDL, mas o *Lactobacillus plantarum* Biocenol LP96 diminuiu os triglicérides e VLDL. Ambas as cepas probióticas reduziram os ácidos biliares totais no soro [47].

Assim a definição do efeito dos prebióticos ainda é algo a ser explorado, visto que a maioria dos estudos existentes apresenta fatores de confusão e/ou baixa comparabilidade por lançarem mão de diferentes modelos experimentais, e diferentes métodos de análise, espécie estudada (maioria dos estudos feitos em animais), falta de padronização dos graus de adiposidade corporal, da idade dos participantes e da dieta empregada.

Conclusão

A administração de probióticos e prebióticos tem sido amplamente utilizada para manipular a microbiota intestinal. No entanto, apesar de vários estudos relatarem resultados promissores, ainda não há evidência clínica sólida recomendando seu uso terapêutico para doenças metabólicas. Também faltam estudos clínicos de longo prazo. Portanto, estudos adicionais e ensaios clínicos randomizados, usando probióticos e prebióticos, são necessários para entender melhor seu impacto na manipulação da microbiota intestinal. Os estudos sobre a influência de nutrientes específicos e/ou alimentos funcionais para tratar a obesidade estão no início e ainda são inconclusivos para que se possa identificar estratégias nutricionais capazes de promover modulação da microbiota intestinal e minimizar as complicações da obesidade. A partir da determinação de estratégias eficazes para a combinação de dietas com utilização de prebióticos e/ou probióticos será possível estabelecer uma forma de alimentação personalizada e/ou estratégias terapêuticas para a manipulação da microbiota intestinal a favor da manutenção da saúde dos indivíduos.

Referências

1. World Health Organization (WHO). Obesity and overweight. Fact sheet no. 311. WHO Media Center. [citado 2016 ago 26]. Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/>.
2. ABESO - Associação Brasileira para Estudo da Obesidade. [citado 2016 ago 25]. Disponível em: www.abeso.org.br/noticia/dia-nacional-de-prevencao-da-obesidade.
3. Pistelli GC, Costa CEM. Bactérias intestinais e obesidade. *Revista Saúde e Pesquisa* 2010;3(1):115-6.
4. Gerard P. Gut microbiota and obesity. *Cell Mol Life Sci* 2016;73(1):147-62.
5. Graham C, Mullen A, Whelan K. Obesity and the gastrointestinal microbiota: A review of associations and mechanisms. *Nutr Rev* 2015; 73:376-85.
6. Festi D, Schiumerini R, Eusebi LH, Marasco G, Taddia M, Colecchia A. Gut microbiota and metabolic syndrome. *World J Gastroenterol* 2014;20(43):16079-94.
7. Jumpertz RDS, Turnbaugh PJ, Trinidad C, Bogardus C, Gordon JI et al. Energy-balance studies reveal associations between gut microbes, caloric load and nutrient absorption in humans. *Am J Clin Nutr* 2011;94(1):58-65.
8. DiBaise JK, Zhang H, Crowell MD, Krajmalnik-Brown R, Decker GA, Rittmann BE. Gut microbiota and its possible relationship with obesity. *Mayo Clin Proc* 2008;83(4):460-9.
9. Petschow B, Doré J, Hibberd P, Dinan T, Reid G, Blaser M et al. Probiotics, prebiotics, and the microbiome: the science of translation. *Ann N Y Acad Sci* 2013;1306:1-17. doi: 10.1111/nyas.12303
10. Quigley EMM. Prebiotics and probiotics; modifying and mining the microbiota. *Pharmacol Res* 2010;61(3):2138.
11. Park DY, Ahn YT; Park SE, Huh CS, Yoo SR, Yu R, Sung MK, McGregor RA, Choi MS. Supplementation of *Lactobacillus curvatus* HY7601 and *Lactobacillus plantarum* KY1032 in diet-induced obese mice is associated with gut microbial changes and reduction in obesity. *PLoS One* 2013;8(3):e59470. doi: 10.1371/journal.pone.0059470
12. Rodrigues A. Microbiota intestinal e sua possível relação com a obesidade. *ABESO* 2011;53(5).
13. Gerritsen J, Smidt H, Rijkers Ger T, de Vos WM. Intestinal microbiota in human health and disease: the impact of probiotics *Genes Nutr* 2011;6(3):209-40.
14. Fibali L, Henderson B, Sadiq ST, Donos N. Genetic dysbiosis: the role of microbial insults in chronic inflammatory diseases. *J Oral Microbiol* 2014;25(6).
15. Myles IA. Fast food fever: reviewing the impacts of the Western diet on immunity. *Nutr J* 2014;13:61.
16. Dasu MR, Ramirez S, Isseroff RR. Toll-like receptors and diabetes: a therapeutic perspective. *Clin Sci (Lond)* 2012;122(5):203-14.
17. Shen J, Obin MS, Zhao L. The gut microbiota, obesity and insulin resistance. *Mol Aspects Med* 2013;34(1):39-58.
18. Vijay-Kumar M, Aitken JD, Carvalho FA, Cullender TC, Mwangi S, Srinivasan S et al. Metabolic syndrome and altered gut microbiota in mice lacking Toll-like receptor 5. *Science* 2010;328(5975):228-31.

19. Gibson GR, Roberfroid MB. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *J Nutr* 1995;125(6):1401-12.
20. Flesch AG, Poziomyck AK, Damin DC. The therapeutic use of symbiotics. *Arq Bras Cir Dig* 2014;27(3):206-9.
21. Denipote FG, Trindade EB, Burini RC. Probiotics and prebiotics in primary care for colon cancer. *Arq Gastroenterol* 2010;47(1):93-8.
22. Horvat M, Krebs B, Potrc S, Ivanecz A, Kompan L. Preoperative synbiotic bowel conditioning for elective colorectal surgery. *Wien Klin Wochenschr* 2010;122(Suppl2):26-30.
23. Organização Mundial de Gastroenterologia (OMGE). Guias práticos: probióticos e prebióticos; 2011. Disponível em: http://www.worldgastroenterology.org/assets/export/userfiles/Probiotics_FINAL_pt_2012.pdf.
24. Hill C, Guarner F, Reid G, Gibson GR, Merenstein DJ, Pot B, Morelli L, Canani RB, Flint HJ, Salminen S, Calder PC, Sanders ME. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2014;11(8):506-14. doi: 10.1038/nrgastro.2014.66.
25. Salminen S, Lovenen H. Probiotics and prebiotics: health claim substantiation. *Microb Ecol Health Dis* 2012;23: 10.3402/mehd.v23i0.18568.
26. Hutkins RW, Krumbeck JA, Bindels LB, Cani PD, Fahey G Jr, Goh YJ, Hamaker B, Martens EC, Mills DA, Rastal RA, Vaughan E, Sanders ME. Prebiotics: why definitions matter. *Curr Opin Biotechnol* 2016.;37:1-7.
27. European Food Safety Authority. Reasoned opinion on the modification of the existing maximum residue levels (MRLs) for dazomet in several vegetables. *EFSA Journal* 2015;13(3):4049.
28. Mookiah S, Sieo CC, Ramasamy K, Abdullah N, Ho YW. Effects of dietary prebiotics, probiotic and synbiotics on performance, caecal bacterial populations and caecal fermentation concentrations of broiler chickens. *J Sci Food Agric* 2014;94(2):341-8.
29. Khaksar V, Golian A, Kermanshahi H. Immune response and ileal microflora in broilers fed wheat-based diet with or without enzyme Endofeed W and supplementation of thyme essential oil or probiotic PrimaLac. *African Journal of Biotechnology* 2012;11(81):14716-23.
30. Pedroso AA, Hurley-Bacon AL, Zedek AS, Kwan TW, Jordan APO, Avellaneda G, Hofacre CL, Oakley BB, Collett SR, Maurer JJ, Lee MD. Can probiotics improve the environmental microbiome and resistome of commercial poultry production? *Int J Environ Res Public Health* 2013;10(10):4534-59.
31. Abdelqader A, Irshaid R, Al-Fataftah AR. Effects of dietary probiotic inclusion on performance, eggshell quality, cecal microflora composition, and tibia traits of laying hens in the late phase of production. *Trop Anim Health Prod* 2013;45(4):1017-24.
32. Mountzouris K, Tsitsrikos P, Palamidi I, Arvaniti A, Mohnl M, Schatzmayr G, Fegeros K. Effects of probiotic inclusion levels in broiler nutrition on growth performance, nutrient digestibility, plasma immunoglobulins and cecal microflora composition. *Poult Sci* 2010;89(1):58-67.
33. Daskiran M, Onol AG, Cengiz O, Unsal H, Turkyilmaz S, Tatli O, Sevim O. Influence of dietary probiotic inclusion on growth performance, blood parameters, and intestinal microflora of male broiler chickens exposed to posthatch holding time. *J Appl Poult Res* 2012;21(3):612-22.
34. Rahman M, Mustari A, Salaudin M, Rahman M. Effects of probiotics and enzymes on growth performance and haematobiochemical parameters in broilers. *Journal of the Bangladesh Agricultural University* 2013;11(1):111-8.
35. Bai S, Wu A, Ding X, Lei Y, Bai J, Zhang K, Chio J. Effects of probiotic-supplemented diets on growth performance and intestinal immune characteristics of broiler chickens. *Poult Sci* 2013;92(3):663-70.
36. Hill C, Guarner F, Reid G, Gibson GR, Merenstein DJ, Pot B et al. Expert consensus document. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2014;11:506-14.
37. Bindels LB, Neyrinck AM, Claus SP, Roy CI, Grangette C, Pot B, Martinez I, Walter JD, Cani P, Delzenne NM. Synbiotic approach restores intestinal homeostasis and prolongs survival in leukaemic mice with cachexia. *ISME Journal* 2016;10:1456-70.

38. Varavallo MA, Santos TT. A importância de probióticos para o controle e/ou reestruturação da microbiota intestinal. *Revista Itpac* 2011;4(1).
39. Verspreet J, Damen B, Broekaert WF, Verbeke K, Delcour JA, Courtin CM. A critical look at prebiotics within the dietary fiber concept. *Annu Rev Food Sci Technol* 2016;7:167-90.
40. FAO/WHO. Health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. Food and Agriculture Organization of the United Nations; 2001 Acessado: 19/Abril/2017.
41. Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Alimentos. Comissões e Grupos de Trabalho. Comissão Tecnocientífica de Assessoramento em Alimentos Funcionais e Novos Alimentos. Alimentos com Alegações de Propriedades Funcionais e ou de Saúde, Novos Alimentos/ Ingredientes, Substâncias Bioativas e Probióticos. [citado 2017 mar 14]. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno_lista_alega.htm.
42. SPED - Sociedade Portuguesa de Endoscopia Digestiva; 2009. [citado 2017 mar 16]. Disponível em: www.sped.pt/index.php?option=com_k2
43. Aguilar LT, Esparza JRE, Fragoso LR. Effect of probiotic BIO-L6® on intestinal morphology, microbiota and serum cytokines in obese Zucker rats. *FASEB J* 2014;28(1):633-47.
44. Kadooka Y, Sato M, Imaizumi K, Ogawa A, Ikuyama K, Akai Y et al. Regulation of abdominal adiposity by probiotics (*Lactobacillus gasseri* SBT2055) in adults with obese tendencies in a randomized controlled trial. *Eur J Clin Nutr* 2010;64(6):636-43.
45. Everard A, Lazarevic V, Derrien M, Girard M, Muccioli GG, Muccioli GM et al. Responses of gut microbiota and glucose and lipid metabolism to prebiotics in genetic obese and diet-induced leptin-resistant mice. *Diabetes* 2011;60(11):2775-86.
46. Nguyen TD, Kang JH, Lee MS. Characterization of *Lactobacillus plantarum* PH04, a potential probiotic bacterium with cholesterol-lowering effects. *Int J Food Microbiol* 2007;113:358-61.
47. Salaj R, Štofilová J, Šoltsová A, Hertelyová Z, Hijová E, Bertková I, Strojný L, Kružliak P, Bomba A. The effects of two *Lactobacillus plantarum* strains on rat lipid metabolism receiving a high fat diet. *ScientificWorldJournal* 2013: 135142.