UNIVERSIDADE VILA VELHA - ES PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

USO DO KEFIR EM PACIENTES COM SÍNDROME METABÓLICA DETERMINA MELHORIA NOS PARÂMETROS QUE COMPÕEM ESTA SÍNDROME E REDUÇÃO DO RISCO CARDIOVASCULAR

ANGELA CAMILA DA SILVA GHIZI

VILA VELHA DEZEMBRO / 2016

UNIVERSIDADE VILA VELHA - ES PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

USO DO KEFIR EM PACIENTES COM SÍNDROME METABÓLICA DETERMINA MELHORIA NOS PARÂMETROS QUE COMPÕEM ESTA SÍNDROME E REDUÇÃO DO RISCO CARDIOVASCULAR

Dissertação apresentada à Universidade Vila Velha, como pré-requisito do Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas para obtenção do Grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

ANGELA CAMILA DA SILVA GHIZI

VILA VELHA DEZEMBRO – 2016

Catalogação na publicação elaborada pela Biblioteca Central / UVV-ES

G427u Ghizi, Angela Camila da Silva.

Uso do kefir em pacientes com síndrome metabólica determina melhoria nos parâmetros que compõem esta síndrome e redução do risco cardiovascular / Angela Camila da Silva Ghizi. – 2016.

45 f.: il.

Orientador: Tadeu Uggere de Andrade. Dissertação (mestrado em Ciências Farmacêuticas) -Universidade Vila Velha, 2016. Inclui bibliografias.

Farmacologia e terapêutica.
 Doenças – Cardiovasculares.
 Andrade, Tadeu Uggere de. II.
 Universidade Vila Velha. III. Título.

CDD 615

ANGELA CAMILA DA SILVA GHIZI

USO DO KEFIR EM PACIENTES COM SÍNDROME METABÓLICA DETERMINA MELHORIA NOS PARÂMETROS QUE COMPÕEM ESTA SÍNDROME E REDUÇÃO DO RISCO CARDIOVASCULAR

Dissertação apresentada à Universidade Vila Velha, como pré-requisito do Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas para obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Aprovada, em 20 de dezembro de 2016.

Banca Examinadora:	
Profa. Dra. Denise Coutinho Endringer (UVV)	
Buist	
Dra. Girlandia Alexandre Brasil (UFES)	
4	
Everlyne Holima	
Dra. Ewelyne Miranda de Lima (UVV)	_
Jusudiadi	
Prof. Dr. Tadeu Uggere de Andrade (UVV) Orientador	_

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter criado a natureza tão bela e sábia, os alimentos e a água para nos manter vivos, a inteligência humana para buscar entender seus desígnios.

Ao meu sereno e equilibrado orientador, Prof. Dr. Tadeu Uggere de Andrade, pela orientação e por seu profissionalismo, pela sua persistência em me conduzir ao Mestrado e me aceitar como sua aluna, mas acima de tudo pelas palavras que me tranquilizaram e me conduziram ao término do trabalho.

Aos voluntários que gentilmente se candidataram a participar da pesquisa, alguns com tanto carinho, generosidade e confiança que me fortaleciam a cada dia em que lhes entregava os frascos com o produto a ser consumido. Agradeço pela confiança, todos abraçaram a minha causa, e diante disto, poderemos juntos contribuir para melhorar a saúde de muitas pessoas.

A equipe do laboratório Dra. Ewelyne Miranda de Lima, Doutoranda Miriam, Mestranda Flávia que me auxiliaram nas incontáveis coletas de sangue, e por muito mais, com suas palavras de conforto e carinho.

A Clarisse e Paulo, Laboratório de Microbiologia, pelo acolhimento e auxílio nas dúvidas e dificuldades, fossem com as bactérias ou com as coletas de sangue.

À amiga, Profa. Dra. June Ferreira Maia, que em muitos momentos ouviu divagações, conclusões precipitadas, lamúrias, sinais de desistência, mas com sua sabedoria e confiança extrema, me fortaleceu com suas palavras e gesto amigo.

A Profa. Dra. Ana Maria Bartels Rezende, minha Coordenadora no Curso de Nutrição, por ter me poupado de tarefas que me ocupariam demasiadamente, e, aos demais professores meus colegas que me apoiaram com seus valiosos comentários e palavras de estímulo.

À Profa. Dra. Denise Coutinho Endringer e Dra. Girlandia Alexandre Brasil pela gentileza de participar como Banca de Avaliação e contribuir para melhorar este trabalho.

A FAPES pelo incentivo à pesquisa e pelo financiamento dos exames bioquímicos, sem o qual teria sido impossível alcançarmos resultados com credibilidade.

A minha amada mãe, Jacy, que mesmo a muitos quilômetros de distância se preocupava a cada dia com minha sanidade; e a meu amado pai José (*in memorian*) pelo investimento, sem questionamentos em meus estudos.

SUMÁRIO

LISTA DE SIGLAS E ABREVIAÇÕES	Х
LISTA DE FIGURAS	хi
LISTA DE TABELAS	xii
RESUMO	11
ABSTRACT	12
1. INTRODUÇÃO	13
2. JUSTIFICATIVA	18
3. OBJETIVOS	19
3.1 Geral	19
3.2 Específicos	19
4. MATERIAL E MÉTODOS	20
4.1 Desenho do estudo	20
4.2. Critérios de Inclusão e Exclusão	20
4.3 Amostra	21
4.4 Preparo do leite fermentado com grãos de kefir	21
4.5 Administração dos produtos kefir e coalhada	22
4.6 Avaliação da composição corporal	22
4.7 Ingestão alimentar	23
4.8 Aferição da PA	23
4.9 Bioquímica do Sangue	23
4.10 Escore de Framingham	23
4.11 Análise Estatística	24
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	25
6. CONCLUSÃO	33
REFERÊNCIAS	34
ANEXO 01 - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)	40
ANEXO 02 - Autorização do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres	
Humanos da Universidade Vila Velha (CEP-UVV)	45

LISTA DE SIGLAS E ABREVIAÇÕES

Acetil-CoA: Acetil Coenzima A

ALT: Alanina Aminotransferase

AST: Aspartato Aminotransferase

AVC: Acidente Vascular Cerebral

BSH: Enzima Sal Biliar Hidrolase

CC: Circunferência da Cintura

CPK: Creatinofosfoquinase

CT: Colesterol Total

DP: Desvio Padrão

DCNT: Doenças Crônicas Não Transmissíveis

DCV: Doença Cardiovascular

DM: Diabetes Melito

DM1: Diabetes Melito tipo 1

DM2: Diabetes Melito tipo 2

ECA: Enzima Conversora de Angiotensina

FC: Frequência Cardíaca HA: Hipertensão Arterial

HbA1c: Hemoglobina Glicada

HDLc: Lipoproteína de Alta Densidade

HMG-CoA redutase: Hidroxi-metilglutaril-coenzima A redutase

IAM: Infarto Agudo do Miocárdio

IC: Intervalo de Confiança

IMC: Índice de Massa Corporal

LDL: Lipoproteína de Baixa Densidade

LDL-/-: Ratos sem genes funcionais do receptor de LDL

LDLox: Lipoproteína de Baixa Densidade Oxidada

I DBSM: I Diretriz Brasileira de Diagnóstico e Tratamento da Síndrome Metabólica

ILE-PRO-PRO: Leucina - Prolina - Prolina

ISO-PRO-PRO: Isoleucina - Prolina - Prolina

LPS: Lipopolissacarídeos

NCEP-ATP III: National Cholesterol Education Program's Adult Treatment Panel III

n-HDLc: Colesterol não HDLc

OMS: Organização Mundial da Saúde

PAD: Pressão Arterial Diastólica

PAM: Pressão Arterial Média

PAS: Pressão Arterial Sistólica

PCRus: Proteína C Reativa Ultrassensível

pH: potencial Hidrogeniônico

RI: Resistência à Insulina

SHR: Spontaneously Hypertensive Rat

SM: Síndrome Metabólica

SRAA: Sistema Renina Angiotensina Aldosterona

Tg: Triglicerídeos

UFC: Unidades Formadoras de Colônia

VAL-PRO-PRO: Valina - Prolina - Prolina

VLDL: Lipoproteína de Muito Baixa Densidade

y-GT: Gama Glutamil Transferase

ω-3: Ômega 3

WHO: World Health Organization

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – Fluxograma da Seleção, Exclusão e Alocação dos Voluntários	
participantes da Pesquisa	25

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – Parâmetros demográficos e medidas antropométricas dos	
voluntários, para ambos os grupos, antes e após a administração de coalhada	
(Grupo Controle) ou Kefir (Grupo Kefir)	26
TABELA 2 - Valores de pressão arterial e parâmetros bioquímicos do sangue	
de voluntários, para ambos os grupos, antes e após a administração de	
coalhada (Grupo Controle) ou Kefir (Grupo Kefir)	27

RESUMO

GHIZI, Angela Camila da Silva, M. Sc., Universidade Vila Velha – ES, dezembro de 2016. Uso do kefir em pacientes com síndrome metabólica determina melhoria nos parâmetros que compõem esta síndrome e redução do risco cardiovascular. Orientador: Prof. Dr. Tadeu Uggere de Andrade.

Introdução: A Síndrome metabólica (SM), uma síndrome de múltiplos componentes, contribui fortemente para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares (DCV), as quais totalizam 30% das mortes por doença em todo o mundo. O kefir é obtido pela fermentação do leite com grãos de kefir, e tem sido recomendado como uma forma terapêutica para o tratamento de várias condições clínicas. Este trabalho tem como objetivo avaliar os componentes determinantes da SM, após tratamento diário com kefir, bem como o risco cardiovascular. Trata-se do primeiro ensaio clínico duplo cego, randomizado, placebo controlado, conduzido com 48 voluntários adultos cumprindo pelo menos três critérios para diagnóstico de SM. Métodos: Os indivíduos foram divididos em dois grupos e receberam por onze semanas leite fermentado com grãos de kefir (grupo kefir) ou coalhada (grupo controle). Foram aferidas previamente as medidas da pressão arterial sistólica (PAS) e diastólica (PAD), as medidas antropométricas e realizada avaliação da composição corporal por impedância bioelétrica. Análise bioquímica do sangue avaliou glicemia em jejum, hemoglobina glicada (HbA1c), colesterol total (CT), lipoproteína de alta densidade (HDLc), lipoproteína de baixa densidade oxidada (LDLox), triglicerídeos (Tg), proteína C ultrassensível (PCRus), aspartato aminotransferase (AST), aminotransferase (ALT), creatinofosfoquinase (CPK), γ-glutamil transferase (γ-GT), nitrogênio uréico, uréia e creatinina. Lipoproteína de baixa densidade (LDL) e o total das lipoproteínas não aterogênicas (n-HDL) foram calculadas. O escore de Framingham foi utilizado para avaliar o risco de eventos cardiovasculares na próxima década. Após onze semanas de experimento todas as aferições e medidas foram reavaliadas. Os dados obtidos foram analisados com a utilização do programa estatístico SPSS 11.5 (Statiscal Package Social Science versão 11.5). Foram realizadas frequências relativas simples para variáveis qualitativas dentro de cada grupo. Para os dados quantitativos foi realizada a estatística descritiva e as diferencas foram determinadas pela utilização do teste t de Student pareado (no mesmo grupo) e não pareado (entre os grupos) para um intervalo de confiança de 95%. A diferença entre as médias foi considerada quando p<0,05. Resultados: PAS, PAD, LDLc, HDLc feminino, n-HDLc, Tg, LDLox e escore de Framingham apresentaram considerável melhora (p<0,05) nos voluntários que consumiram o leite fermentado com os grãos de kefir. Os dados antropométricos, composição corporal, glicemia em jejum, HbA1c, CT, HDLc masculino, PCRus, AST, ALT, CPK, y-GT, nitrogênio uréico, uréia e creatinina não sofreram alterações. Conclusão: O consumo diário de leite fermentado pelos grãos de kefir pode contribuir de forma significativa na redução do risco de um evento cardiovascular maior, como o infarto do miocárdio ou morte por causa cardiovascular, atuando efetivamente no controle dos fatores de risco da SM, independente da dieta ingerida. Percebe-se ainda uma tendência a redução no processo de oxidação do organismo demonstrado pela diminuição plasmática de LDLox, o que concomitante a adoção de dieta hipocalórica, para redução de peso corporal e melhora do índice de massa corporal e circunferência da cintura, poderão contribuir ainda para um menor nível de PCRus.

Palavras-chave: Kefir, Probiótico, Síndrome Metabólica, Doença Cardiovascular, LDL oxidada, Hipertensão, Colesterol.

ABSTRACT

GHIZI, Angela Camila da Silva, M.Sc., Universidade Vila Velha – ES, december 2016. Use of kefir in patients with metabolic syndrome determines improvement in the parameters that make up this syndrome and reduction of cardiovascular risk. Advisor: Dr. Tadeu Uggere de Andrade.

Introduction: Metabolic syndrome (MS), a multiple component syndrome, contributes strongly to the development of cardiovascular diseases (CVD), which account for 30% of global deaths per disease. Probiotics fermented milk (kefir) is obtained by the fermentation of milk with kefir grains and has been recommended as a therapeutic form for the treatment of various clinical conditions. The aim of this trial was to evaluate the determinant components of MS, after daily treatment with kefir, as well as cardiovascular risk. This is the first double blind, randomized, placebo controlled clinical trial conducted with 48 adults volunteers meeting at least three criteria for the diagnosis of MS. Methods: The subjects were divided into two groups randomly and equally and received for eleven weeks, fermented milk with kefir (kefir group) or conventional fermented milk - curd (control group) grains. Measurements of systolic blood pressure (SBP) and diastolic blood pressure (DBP), anthropometric measurements and body composition evaluation were evaluated by bioelectrical impedance at the baseline and end of the study. Blood samples tested for fasting blood glucose, glycated hemoglobin (HbA1c), total cholesterol (TC), high density lipoprotein (HDLc), oxidized low density lipoprotein (Ox-LDL), triglycerides (Tg), ultra-sensitive C-(us-CRP), Reactive Protein aspartate aminotransferase (AST), aminotransferase (ALT), creatine phosphokinase (CPK), y-Glutamyl transferase (y-GT), urea nitrogen, urea and creatinine. Low-density lipoprotein (LDLc) and total nonatherogenic lipoproteins (non-HDL) were calculated. The Framingham score was used to assess the risk of cardiovascular events over the next decade. After eleven weeks of experiment, all measurements were re-evaluated. The data obtained were analyzed using the statistical program SPSS 11.5 (Statiscal Package Social Science version 11.5). Simple relative frequencies were performed for qualitative variables within each group. For the quantitative data, descriptive statistics were performed and the differences were determined using the paired Student t test (in the same group) and unpaired (between the groups) for a 95% confidence interval. The difference between means was considered when p<0,05. Results: SBP, DBP, LDLc, female HDLc, non-HDLc, Tg, Ox-LDL and Framingham score showed a significant improvement (p<0.05) in volunteers who consumed fermented milk with kefir grains. The anthropometric data, body composition, fasting blood glucose, HbA1c, CT, male HDLc, us-CRP, AST, ALT, CPK, y-GT, urea nitrogen, urea and creatinine did not change. Conclusion: Daily consumption of milk fermented by kefir grains may contribute significantly to the reduction of the risk of a major cardiovascular event, such as myocardial infarction or death due to cardiovascular causes, effectively acting to control the risk factors of MS independent of diet ingested. There is also a tendency to reduce the oxidation process of the organism demonstrated by the plasma Ox-LDL decrease, which concomitant to the adoption of a hypocaloric diet to reduce body weight and improvement in body mass index and waist circumference, may also contribute to a lower level of us-CRP.

KEY WORDS: Kefir, Probiotics, Metabolic Syndrome, Cardiovascular diseases, Oxidized LDL, Hypertension, Cholesterol.

1. INTRODUÇÃO

As doenças cardiovasculares (DCV) são a principal causa de morte, totalizando 30% das mortes em todo o mundo por doença afetando aproximadamente17 milhões de pessoas (SIMÃO; PRÉCOMA; ANDRADE, *et al.*, 2013). De acordo com os dados epidemiológicos do Ministério da Saúde, essas doenças são responsáveis por 29,4% de todas as mortes registradas no Brasil anualmente. Isso significa que mais de 308 mil pessoas faleceram, principalmente, de infarto agudo do miocárdio e acidente vascular cerebral. A alta frequência do problema coloca o Brasil entre os 10 países com maior índice de mortes por DCV (GOMES, 2011).

A Síndrome Metabólica (SM), uma síndrome de múltiplos componentes, contribui fortemente para o desenvolvimento de DCV. Segundo a I Diretriz Brasileira de Diagnóstico e Tratamento da Síndrome Metabólica (I DBSM) (SBC, 2005) entender seus mecanismos e associar outras formas terapêuticas, além do tratamento de primeira escolha, poderia auxiliar na redução dos fatores de risco para as DCV. Associada ao *National Cholesterol Education Program's Adult Treatment Panel III*(NCEP-ATP III) (2002), a I DBSM (SBC, 2005), determina a confirmação da SM quando, pelo menos, três fatores estiverem associados: circunferência abdominal maior que 102 cm para homens e maior que 88 cm para mulheres, lipoproteína de alta densidade (HDLc) menor que 40 mg/dL para homens e menor que 50 mg/dL para mulheres, glicemia de jejum a partir de 100 mg/dL, pressão arterial sistólica (PAS) igual ou maior que 130 mmHg ou pressão arterial diastólica (PAD) maior ou igual a 85 mmHg e triglicerídeos (Tg) maior ou igual a 150 mg/dL (SBC, 2005).

A partir deste perfil epidemiológico e da identificação dos fatores de risco, a Organização Mundial da Saúde (OMS) estabeleceu como meta a redução de 25% das doenças crônicas não transmissíveis, dentre elas as DCV até o ano de 2025. De acordo com a OMS, a maior parte (75%) das mortes ocorridas em função das DCV poderiam ter sido evitadas, sendo este o grande desafio em todas as diretrizes que buscam a prevenção das DCV (SIMÃO; PRÉCOMA; ANDRADE, *et al.*, 2013). Propostas dietéticas associadas à prática de atividade física, devem ser a primeira escolha como terapia do tratamento não medicamentoso da SM.

Apesar do conhecimento sobre a necessidade de modificação no estilo de vida e dos hábitos alimentares, a falha na adesão ao tratamento dietético contribui

para a manutenção, e até mesmo progressão, do ganho de peso corporal e as comorbidades associadas a esta condição (ASSUNÇÃO; URSINE, 2008).

A bebida kefir um produto lácteo, composto por um grande número de microrganismos e, por compostos bioativos produzidos pela fermentação bacteriana e por leveduras, possui uma lista de benefícios como a redução dos sintomas da intolerância à lactose, estimulação do sistema imunológico, propriedades anticarcinogenica e antimutagênico, e, redução do colesterol e da pressão arterial (FARNWORTH, 2005; KUMAR; RAVINDER; KUMAR; *et al.*, 2012).

Vários estudos apontam o benefício na utilização do kefir em leite como produto que pode auxiliar na regulação da pressão arterial e no controle dos níveis de colesterol sérico (SIPOLA; FINCKENBERG; SANTISTEBAN; *et al.*, 2001, FUGLSANG, NILSSON, NYBORG, 2002; SEPPO; JAUHIAINEN; KORPELA *et al.*, 2003; MIGUEL; RECIO; RAMOS; *et al.*, 2006, LIU; WANG; CHEN; *et al.*, 2006; CENESIZ; YAMAN; OZCAN; *et al.*, 2008; GELEIJNSE, ENGBERINK, 2010; ANGELIS-PEREIRA; BARCELOS; SOUSA; *et al.*, 2013).

Estudo desenvolvido em 2006 por Liu; Wang; Chen; *et al.*, teve como objetivo comparar a propriedade hipocolesterolêmica do kefir inoculado no leite e do kefir inoculado no extrato de soja em hamsters com dieta enriquecida com colesterol. Como resultado os autores encontraram a redução dos triglicerídeos no soro, bem como as concentrações de colesterol total. A redução do acúmulo de colesterol no fígado, com diminuição da concentração sérica de colesterol principalmente na fração não-HDL também foram verificadas. Tanto o tratamento com kefir do extrato de soja como o kefir do leite levou a um aumento significativo da excreção fecal de esteróis neutros e ácidos biliares.

Cenesiz; Yaman; Ozcan; et al., (2008), desenvolveram um experimento com pintos de corte para avaliar o ganho de peso dos animais e a alteração no colesterol total no soro, o total de lipídio, as atividades da aspartato aminotransferase (AST) e alanina aminotransferase (ALT), com o uso de kefir inoculado no leite, em diferentes concentrações. O peso dos pintos do grupo que recebeu maior concentração de kefir aumentou significativamente enquanto que a concentração de lipídico sérico total bem como o colesterol no soro foi significativamente menor nos grupos tratados com o kefir, independentemente da concentração do produto. Além disso, não foi observada diferença entre o grupo experimental e de controle em termos das atividades de AST e ALT.

Brashears; Gilliland; Buck, (1998) e Xiao; Kondo; Takahaski; et al., (2003), ambos citados em Cenesiz; Yaman; Ozcan et al., (2008), sugerem que a redução do colesterol sérico induzida pelo kefir poderia ser atribuído ao fato de haver desconjugação de sais biliares pelo *Lactobacillus spp*, aumentando a descarga de ácidos biliares que por sua vez, aumenta o consumo de colesterol para produzir os ácidos biliares que compõe a bile, bem como a precipitação do colesterol devido ao valor de pH baixo do kefir.

Sanders, (2000 apud CENESIZ; YAMAN; OZCAN et al., 2008) sugere ainda que os produtos lácteos fermentados inibam a enzima hidroxi-metilglutaril-coenzima A redutase (HMG-CoA redutase), que participa da síntese de colesterol a partir de acetil-CoA, como a razão para a redução do nível de colesterol no soro de animais tratados com leites fermentados.

Em estudo realizado em 2013 por Angelis-Pereira; Barcelos; Sousa *et al.*, em ratos alimentados com dieta rica em colesterol, o tratamento com o kefir reduziu significativamente os níveis de VLDL, LDL e Tg, além de ter aumento de HDL-c. Este trabalho toma como embasamento estudo de Liu; Wang; Chen *et al.*, (2012 *apud* ANGELIS-PEREIRA; BARCELOS; SOUSA *et al.*, 2013) no qual discute que tanto as bactérias como as leveduras presentes no kefir produzem hidrolases biliares, enzimas que desconjugam os sais biliares, sendo estes excretados nas fezes.

Os trabalhos que analisaram o efeito dos leites fermentados sobre a pressão arterial em ratos espontaneamente hipertensos (SHR), observaram que administração oral de leite fermentado reduziu, significativamente, a PAS nos animais. Fuglsan; Nilsson; Nyborg, (2002) constataram a diminuição da pressão arterial em animais SHR que receberam leite fermentado com *Lactobacillus helveticus* CHCC637 e *Lactobacillus helveticus* CHCC641. De acordo com Seppo; Jauhiainen; Korpela *et al.*, (2003), o efeito inibitório acontece sobre a enzima conversora de angiotensina (ECA). Outra pesquisa realizada em 2004 por Fitzgerald; Murray; Walsh, trabalhando *in vitro*, também evidenciou que peptídeos presentes na proteína do leite tiveram ação de inibir a ECA. Muitos estudos sobre os peptídios bioativos produzidos pela fermentação do leite identificaram determinadas sequências peptídicas as quais apresentam efeito anti-hipertensivo (SIPOLA; FINCKENBERG; SANTISTEBAN *et al.*, 2001; MIGUEL; RECIO; RAMOS *et al.*, 2006).

Nakamura *et al.*, (1995 *apud* SIPOLA; FINCKENBERG; SANTISTEBAN *et al.*, 2001; NAKAMURA *et al.*, 1996 *apud* MIGUEL; RECIO; RAMOS, *et al.*, 2006; JAKALA; PERE; LEHTINEN, *et al.*, 2009), em estudo que administrou oralmente

peptídeos produzidos pela fermentação das bactérias *Lactobacillus helveticus* e leveduras *Sacharomyces cerevisiae*, ILE-PRO-PRO e VAL-PRO-PRO, produziu redução na PA em animais SHR.

Dong; Szeto; Makinen et al., (2013) conduziram uma meta análise de 14 ensaios randomizados, placebo controlados onde um total de 702 indivíduos foram investigados. Foram utilizados leites fermentados probióticos e controles não probióticos acidificados artificialmente. Em 13 estudos а PAS significativamente em 3,10mmHg (IC95%) e a PAD apresentou uma redução de 1,09mmHg (IC95%). A análise dos autores sugere que houve uma maior redução na PAS dos indivíduos que apresentam HA do que em indivíduos normotensos (-3,98 mmHg x -2,09mmHg). Os autores ressaltam que apesar de ter havido uma modesta redução na PA, esta redução tem consequências importantes, pois a diminuição de apenas 2mmHg na PAS mostra associação com redução de 10% na mortalidade por infarto e de 7% de redução de mortalidade por DCV. Vários componentes funcionais no leite fermentado probiótico podem justificar os efeitos de redução na PA. Dois tripeptídeos VAL-PRO-PRO e ISO-PRO-PRO, tem sido extensamente estudado pois estes têm ação inibitória sobre a ECA. Por outro lado, os microorganismos encontrados neste probiótico, tal como Lactobacillus helveticus e Lactobacillus acidophilus, tem influência sobre a composição da microbiota intestinal, tendo sido sugerido exercer grande impacto no tratamento das doenças metabólicas.

Em 2014, Khalesi; Sun; Buys *et al.*, em revisão sistemática e meta análise de ensaios randomizados placebo controlados, apresentaram como objetivo avaliar a espécie do probiótico, o tempo de duração do experimento e a dose do produto utilizado, a fim de reduzir a PA; uma vez que vários trabalhos são inconclusivos a respeito destes itens. Foram incluídos na revisão sistemática nove artigos, datados entre 1996 e 2013, que cumpriram com os critérios de inclusão pré-estabelecidos. Os resultados da redução da PAS foi de 3,56mmHg (IC95%) e de 2,38mmHg para a PAD (IC95%). A redução da PA mostrou-se similar a restrição no consumo de sal para menos de 2g/dia ou na execução de exercícios de resistência. O estudo HOPE (*Heart Outcomes Prevention Evaluation*) (SLEIGHT, 2000), demonstra que uma redução de 3,3mmHg para PAS e de 1,4mmHg para PAD apresentam uma redução relativa de 22% no risco de mortalidade cardiovascular, IAM e AVC. Consideram ainda que os efeitos significativos estão nos estudos com duração de pelo menos oito semanas de duração e, naqueles onde as doses diárias continham pelo menos 10¹¹UFC.

Entretanto, até o momento não foram avaliados os benefícios do leite fermentado com os grãos de kefir sobre o risco cardiovascular de pacientes portadores de SM. Assim, este estudo teve por objetivo avaliar os componentes determinantes da SM, o perfil nutricional da população estudada, PCRus e LDLox, antes e após onze semanas de tratamento diário com kefir, bem como o risco cardiovascular.

Portanto, pesquisas (FUGLSANG; NILSSON; NYBORG, 2002; AIHARA; KAJIMOTO; HIRATA; et al., 2005; ROSA; GRZEKOWIAK; FERREIRA; et al., 2010; ANGELIS-PEREIRA; BARCELOS; SOUSA; PEREIRA, 2013; GOMES; BUENO; SOUZA; et al., 2014; OSTADRAHIMI; TAGHIZADEH; MOBASSERI; et al., 2015; AAZMI; TEH; RAMASAMY; et al., 2015; ISHIMWE; DALIRI; LEE, et al., 2015; BERNINI; SIMÃO; ALFIERI; et al., 2016; LI; LI; HAN; et al., 2016; SANTANNA; FILETE; LIMA, et al., 2016; FRIQUES; ARPINI; KALIL; et al., 2016) buscam identificar elementos que possam ser associados ao tratamento convencional e contribuir para a melhora do perfil lipídico, redução da pressão arterial e da resistência à insulina. Dentre os alimentos funcionais, os probióticos tem sido considerados como elementos coadjuvantes no tratamento da SM (ROSA; GRZEKOWIAK; FERREIRA; et al., 2016).

2 JUSTIFICATIVA

A preocupação com a incidência das DCV e da SM não é recente. A melhor conduta em saúde é a prevenção. Consultas regulares a equipe de saúde multidisciplinar são essenciais para aferir a pressão arterial; ter avaliado os níveis de colesterol, o peso corporal; receber orientação nutricional e passar por uma avaliação física. A visita regular é necessária inclusive para serem identificados os fatores de risco para desenvolvimento das DCNT. Quando o paciente ainda está na fase préclínica, onde ainda não apresenta sintomas, é possível prevenir a evolução da DCV (GOMES, 2011).

É nesta fase, ainda considerada inicial, que medidas corretivas da pressão arterial e dos níveis de colesterol sérico utilizando produtos funcionais podem ser eficientes, a fim de evitar que a doença se estabeleça de forma clínica.

A bebida kefir, produto da fermentação dos grãos de kefir, é um complexo de bactérias e leveduras que ao fermentar o leite produz tripeptídeos supostamente responsáveis pela redução da PA. Associado a este efeito, o kefir pode ter ainda, atividade na redução de colesterol por inibição da atividade da enzima HMG-CoA ou na desconjugação dos sais biliares, tendo como consequência a excreção fecal dos ácidos biliares.

O produto apresenta baixo custo, podendo ser incluído facilmente na rotina alimentar da população por ser um tipo de iogurte, sem apresentar prejuízo à saúde humana e, as reações podem ser apenas pequena flatulência ou aumento na frequência das evacuações.

Portanto, os dados apresentados demonstram a necessidade de estudos que possam contribuir para o esclarecimento da atividade do produto probiótico kefir sobre a hipertensão arterial e a dislipidemia, dentro do contexto da SM, a fim de reduzir os riscos para desenvolvimento de doenças cardiovasculares ainda em fase préclínica.

3 OBJETIVOS

3.1 Geral:

Investigar o impacto do consumo diário de leite fermentado por grãos de kefir sobre o risco cardiovascular de adultos que apresentam critérios de diagnóstico da SM alterados.

3.2 Objetivos Específicos:

Avaliar o efeito do consumo de leite fermentado por grãos do kefir sobre:

✓ Os componentes da SM:

Glicemia de jejum;

Circunferência abdominal;

Pressão arterial média;

Triglicerídeos;

HDL-c;

- ✓ O risco cardiovascular, por meio do cálculo do Escore de Framinghan;
- ✓ O risco cardiovascular, por meio da medida dos valores de PCRus.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Desenho do estudo

Trata-se de um ensaio clínico randomizado, duplo cego com alocação sigilosa por meio de sistema de randomização automatizado *Random Allocation Software* – versão 1.0, maio de 2004. Os códigos da randomização ficaram sob responsabilidade de profissional supervisor do Laboratório de Técnica e Dietética da Universidade Vila Velha – UVV/ES. O mesmo profissional se responsabilizou pela identificação das bebidas envasadas destinadas aos voluntários. Duplo cego referese ao cegamento de pacientes, pesquisador, coletadores de dados e avaliadores dos desfechos.

O experimento foi desenvolvido em paralelo. O grupo kefir recebeu para consumo por via oral o leite probiótico fermentado com os grãos de kefir e o grupo controle recebeu coalhada.

Os sujeitos da pesquisa foram recrutados em uma instituição de ensino universitário. Após o recrutamento, a confirmação da presença dos parâmetros de SM foi realizada por meio de análises antropométricas, aferição da pressão arterial e dosagem de parâmetros bioquímicos, seguindo os critérios do NCEP-ATP-III (2002). Em seguida, os sujeitos foram randomizados em dois grupos, o controle/coalhada e o kefir. O seguimento do ensaio clínico teve a duração de onze semanas. Após este período as todas as análises realizadas antes do processo de randomização foram repetidas.

Durante o estudo os medicamentos para a redução do colesterol sérico, hipertensão arterial e qualquer outro medicamento de uso contínuo tiveram seu uso mantido.

4.2 Critérios de inclusão e de exclusão

Os critérios de inclusão foram idade acima de 18 anos e possuir alteração de pelo menos três dos componentes da SM. Foram excluídos da pesquisa gestantes e lactantes, aqueles que faziam uso de medicação para dislipidemias que interferiam no metabolismo intestinal como ezetimiba e resina de troca aniônica, hormônios de qualquer tipo, medicamentos para emagrecimento e uso de suplementos antioxidantes como vitamina C ou ω-3.

O presente trabalho foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Vila Velha – UVV, sob o número 1.025.083 (Anexo 1). Todos os voluntários assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido, concordando em participar da pesquisa.

4.3 Amostra

A amostra foi calculada para detectar 12% de redução nos níveis de proteína C reativa ultrassensível (PCRus), considerando um desvio-padrão de 15% (LABONTÉ; DEWAILLY; LUCAS, *et al.*, 2014; ZEMEL; SUN; SOBHANI; *et al.*, 2010), um 2-*tailed* α de 0,05 e um poder de teste de 80%. A amostra foi dimensionada em 24 voluntários por grupo.

4.4 Preparo do leite fermentado com os grãos de Kefir

O filtrado do kefir, bebida teste, foi produzido a partir dos grãos de kefir, gentilmente cedidos pela Profa. Dra. Célia Lúcia L. F. Ferreira, Departamento de Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Viçosa – UFV, Minas Gerais.

As bebidas de kefir e coalhada foram preparadas no Laboratório de Técnica Dietética do Curso de Nutrição e Gastronomia da UVV - ES, com leite integral pasteurizado com 3% de gordura da marca Fiore® (Santa Teresa – ES/Brasil). Os grãos de kefir foram adicionados ao leite, em recipiente de vidro higienizado, em concentração a 5%, o qual fermentou em temperatura ambiente (± 25Cº) por aproximadamente 24 horas. Após a fermentação, com o uso de uma peneira plástica, os grãos foram separados do filtrado, sendo o produto resultante a bebida fermentada de kefir. Logo após a filtragem, iniciou-se a fermentação secundária por mais 24 horas à temperatura de 10°C sob refrigeração, para promover o crescimento de leveduras e finalizar a liberação dos peptídeos, além de conferir sabor e aroma específicos à bebida. Os grãos foram lavados e adicionados novamente a mais leite, e o processo repetido infinitamente (BESHKOVA; SIMOVA; SIMOV; et al., 2002). Ao produto fermentado foram adicionados morangos orgânicos e açúcar demerara orgânico. Para o controle foi utilizado coalhada caseira preparada a partir de cultura starter em leite (3% de gordura), saborizado e adoçado identicamente ao kefir. Os produtos foram envasados em embalagens descartáveis individualmente, rotulados e acondicionados sob refrigeração até o consumo pelos voluntários. Para os voluntários diabéticos, foi utilizado adoçante artificial de sucralose em quantidade proporcional ao poder adoçante do açúcar, conforme indicação do fabricante.

4.5 Administração do kefir e coalhada

O volume de probiótico, para os grupos kefir ou coalhada, foram calculados com base em estudo de Reagan-Shaw, Nihal e Ahmad (2007) e Rosa; Peluzio; Bueno et al.(2014), sendo adotado como volume para consumo a média entre a recomendação mínima e a recomendação máxima, o equivalente a 1,6mL/kg de peso corporal/dia para homens e 1,9mL/kg de peso corporal/dia para mulheres.

Os produtos foram distribuídos aos voluntários no local de trabalho durante o horário de expediente, no período matutino, de segunda a sexta feira. A rotina foi seguida diariamente, por onze semanas, totalizando cinquenta e cinco dias de experimento. Tomamos como base para determinação do tempo de execução do ensaio clínico de Khalesi; Sun; Buys; *et al.*, (2014) que em uma metanálise avaliou o efeito dos probióticos na redução da PA, concluindo que a intervenção com estes produtos deve durar pelo menos oito semanas ou cinquenta e seis dias.

4.6 Avaliação da composição corporal

As medidas antropométricas foram aferidas, individualmente, na Clínica de Nutrição da UVV, antes do início do ensaio e repetidas ao término da pesquisa. Para a aferição do peso corporal foi utilizada a balança de plataforma digital RAMUZA DP-300 capacidade máxima de 200 kg e precisão de 100 g, a aferição foi realizada com vestimentas leves e com os voluntários descalços. A estatura foi aferida utilizando o antropometro vertical digital da marca CHORDER HM 210D, aferição máxima de 210 cm e precisão de 1mm, com os indivíduos descalços. Para o cálculo e classificação do índice de massa corporal (IMC) foram adotados os cortes propostos pela OMS (2014). A circunferência da cintura (CC) foi obtida por meio de fita métrica milimetrada e inelástica. Os pontos de corte para verificação do risco associado a complicações metabólicas da obesidade foram propostos segundo WHO, 1998 e Simão; Précoma; Andrade et al., (2013). A composição corporal foi analisada por bioimpedância elétrica (*MaltronBody Fat Analyser* BF 906), conforme descrição de Lukaski; Johnson; Bolonchuk; et al., (1985). Foram avaliadas a porcentagem de massa magra e de gordura corporal.

4.7 Ingestão alimentar

Durante o experimento a seleção dos alimentos ficou a critério do próprio voluntário, seguindo a composição e distribuição das refeições que habitualmente consome.

4.8 Aferição da PA

A aferição da pressão arterial (PAS e PAD) foi efetuada de acordo com o protocolo da VII Diretriz Brasileira de Hipertensão (SBC, 2016), sendo adotada a média entre duas aferições realizadas utilizando aparelho automático HEM-705CPINT, Omron, OmronHealth Care, INC., Illinois-EUA.

4.9 Análise bioquímica do sangue

Para análise bioquímica, foram coletadas amostras de sangue em jejum, por punção venosa tradicional para avaliação dos parâmetros bioquímicos da Glicemia em jejum, Hemoglobina glicada (HbA1c), Colesterol total (CT), Lipoproteína de alta densidade (HDLc), Triglicerídeos (Tg), Proteína C Reativa Ultrassensível (PCRus), Lipoproteína de baixa densidade oxidada (LDLox), Aspartato Aminotransferase (AST), Alanina Aminotransferase (ALT), Creatinofosfoquinase (CPK), γ-Glutamil Transferase (γ-GT), Nitrogênio Uréico, Uréia e Creatinina. As amostras foram enviadas ao Laboratório de Análises Clínicas Tommasi – Vila Velha – ES, para posterior análise.

A Lipoproteína de Baixa Densidade (LDLc) foi calculada pela fórmula de Friedewald.

O valor do colesterol não HDLc(n-HDLc), foi calculado pela diferença entre o CT e o HDLc (n-HDLc = CT – HDLc) (XAVIER; IZAR; FARIA NETO; *et al.*, 2013)

4.10 Escore de Framingham

Para identificar o risco relativo e absoluto de cada voluntário da pesquisa para desenvolvimento de doença coronariana na próxima década de vida, foi utilizado o Escore de Framinghan (WILSON; D'AGOSTINO; LEVY; *et al.*, 1998).

Todos os dados de antropometria, ingestão alimentar, análise bioquímica do sangue, PAS e PAD e, escore de Framinghan foram coletados antes e após o período do consumo dos produtos coalhada ou kefir.

4.11 Análise estatística

Os dados foram compilados em planilha elaborada no Microsoft Excel e foram expressos como a média mais ou menos o desvio padrão (D.P.). O banco de dados foi analisado com a utilização do programa estatístico SPSS 11.5 (*Statiscal Package Social Science* versão 11.5). Foram realizadas frequências relativas simples para variáveis qualitativas dentro de cada grupo. Para os dados quantitativos foi

realizada a estatística descritiva e as diferenças foram determinadas pela utilização do teste t de *Student* pareado (no mesmo grupo) e não pareado (entre os grupos) para um intervalo de confiança de 95%. A diferença entre as médias foi considerada quando p<0,05.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Trata-se do primeiro ensaio clínico, randomizado duplo cego, placebo controlado, que avalia voluntários com SM consumindo o leite fermentado com os grãos de kefir. O estudo clínico, foi conduzido com 48 voluntários, homens (23%) e mulheres (77%), separados em dois grupos com 24 indivíduos cada. Previamente, foram excluídos do estudo 28 voluntários: 08 não compareceram para aferição das medidas, 18 não cumpriam os critérios para SM, 01 fazia reposição hormonal e 02 desistiram de participar da pesquisa, (Figura 1).

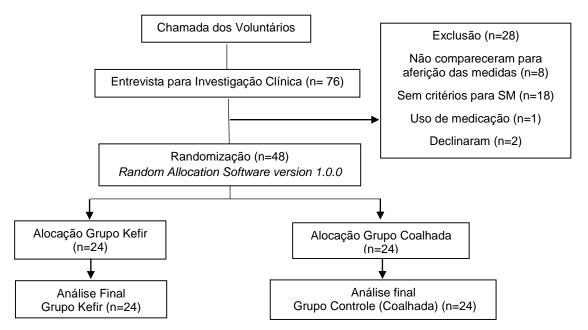


Figura 1: Fluxograma da seleção, exclusão e alocação dos voluntários participantes da pesquisa.

De acordo com o NCEP-ATP III(2002), a SM caracteriza-se pela associação de pelo menos três fatores de risco como hipertensão arterial, circunferência da cintura elevada, HDLc reduzido, triglicerídeos elevados e elevação da glicemia de jejum. Destes fatores de risco, excetuando a elevação da glicemia, todos os outros estão presentes, em ambos os grupos da nossa pesquisa.

Na Tabela 1, observa-se o IMC acima de 24,9 kg/m² classificando os voluntários em obesidade grau I; a composição corporal com elevado percentual de gordura e, o primeiro componente da SM, a CC aumentada com valores acima de 102 cm para homens e acima de 88 cm para as mulheres.

Tabela 1: Parâmetros demográficos e medidas antropométricas dos voluntários, para ambos os grupos, antes e após a administração de coalhada (Grupo Controle) ou kefir (Grupo Kefir).

Parâmetros demográficos	Grupo Controle	Grupo Kefir
Idade (anos)	42±14	44±10
Sexo (masculino/feminino)	6/18	5/19

Medidas Antropométricas	Antes	Depois	Antes	Depois
IMC (kg/m²)	31,4±4,98	31,4±5,13	32±4,37	32±4,5
Massa Magra (%)	49,4±13,7	50,2±14,1	56,5±9,1	55,4±8,9
Massa Gorda (%)	36,8±10	36,1±10,7	39,2±6,9	39,9±7,1
Circunferência da Cintura Feminino (cm)	94,6±11,1	94,9±10,1	94±10,1	95±9,8
Circunferência da Cintura Masculino (cm)	108,5±14,5	110,3±13,8	108,3±13,4	108,3±11,5

Valores expressos em média ± DP

Segundo Moraes, Silva, Almeida-Pititto, *et al.*, (2014), a obesidade tem predisposição genética associada aos fatores do ambiente, como a inatividade física e com a ingestão alimentar com alta densidade energética, estando a obesidade fortemente associada ao desenvolvimento da SM.

Na tabela 2, estão demonstradas as variáveis bioquímicas, com os resultados das análises antes e depois dos voluntários terem consumido coalhada ou kefir.

Tabela 2: Valores de pressão arterial e parâmetros bioquímicos do sangue de voluntários, para ambos os grupos, antes e após a administração de coalhada (Grupo Controle) ou kefir (Grupo Kefir).

	Grupo Controle		Grupo	Kefir
	Inicial	Final	Inicial	Final
PAS (mmHg)	140±15	137±11	139±12	130±9*
PAD (mmHg)	93±10	90±6	90±4	83±5*
Glicemia em jejum (mg/dL)	87±20	85±18	95±9	83±8*
HbA1c (%)	5,5±0,8	5,3±0,6	5,5±0,5	5,7±0,5
Colesterol total (CT) (mg/dL)	180±48	178±44	193±27	189±16
LDLc (mg/dL)	136±36	131±35	133±16	123±11*
HDLc homem (mg/dL)	40±3	41±3	38±3	42±5
HDLc mulher (mg/dL)	43±4	43±5	44±5	48±3*
n-HDLc (mg/dL)	170±42	159±47	163±23	147±19*
Triglicerídeos (Tg) (mg/dL)	191±44	198±54	196±67	147±44*
PCRus (mg/L)	6,27±8	7,20±7	7,10±4	6,6±4
CPK (U/L)	138,6±63,2	135,3±56,1	126,3±47,9	124,6±61
γ-GT (U/L)	26,9±12	27,9±10,9	27,3±14	28,3±13,8
URÉIA (mg/dL)	27,7±9,1	27,1±6,3	27,2±8,4	27,6±6,8
N URÉICO (mg/dL)	12,9±4,4	12,7±3	12,7±4	12,9±3,2
CREATININA (mg/dL)	0,75±0,18	0,72±0,17	$0,79\pm0,1$	0,8±0,16
AST (U/L)	26,5±6,5	26±7,6	27,1±11,8	26,9±12
ALT (U/L)	26,3±17,8	25,3±12,1	28±18,6	26,7±14,9
LDLox (mg/dL)+	12±1,9	12,8±1,6	12,9±1,6	9,8±1,3*
Risco de Eventos Cardiovasculares	6,75±4,4	6,25±4,6	6,67±3,0	5,5±2,7*

Os valores estão expressos como a média ± desvio padrão da média (D.P.)

PAS, pressão arterial sistólica; PAD, pressão arterial diastólica

HbA1c: hemoglobina glicada

LDLc: lipoproteína de baixa densidade; [CT – (HDL+Tg/5)] n-HDLc: total das lipoproteínas aterogênicas; [CT – HDLc]

LDLox: lipoproteína de baixa densidade oxidada

Nota-se o quadro de hipertensão arterial presente em ambos os grupos antes de iniciado o experimento e a redução significativa (p<0,05) dos níveis pressóricos, de -9mmHg na PAS e de -7mmHg para a PAD no grupo tratado com o kefir. O estudo HOPE (SLEIGHT, 2000) demonstrou uma redução de 22% no risco de morte por DCV, IAM e AVC com diminuição da PAS em 3-4 mmHg e da PAD em 1-2mmHg.

Muitos estudos têm sido desenvolvidos com objetivo de comprovar e compreender a redução da PA com a suplementação de leites fermentados, sejam

^{*}p<0,05 em relação ao valor inicial do grupo

em modelos animais ou ensaios clínicos em humanos (AIHARA, KAJIMOTO, HIRATA et al., 2005; DONG, SZETO, MAKINEN, et al., 2013; KHALESI; SUN; BUYS; et al., 2014). Vários autores propõem que o efeito anti-hipertensivo se deve aos peptídeos produzidos pela atividade proteolítica dos microrganismos em simbiose nos grãos de kefir, sobre a α-lactoalbumina e caseína, após 12-24 horas de fermentação (HAYES, STANTON, SLATTERY, et al., 2007; FERREIRA, PINHO, MONTEIRO, et al., 2010. GARCÍA-TEJEDOR, PADILLA, SALOM, et al., 2013). Os peptídeos bioativos ILE-PRO-PRO e VAL-PRO-PRO tem ação inibitória sobre a enzima conversora de angiotensina (ECA), enzima que participa do sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA), produzindo vasoconstrição, reabsorção de sódio e água com elevação da PA(FUGLSANG, NILSSON, NYBORG, 2002; AIHARA, KAJIMOTO, HIRATA, et al., 2005; MIGUEL, RECIO, RAMOS, et al., 2006; HAYES, STANTON, SLATTERY, et al., 2007; FERREIRA, PINHO, MONTEIRO, et al., 2010; DONG, SZETO, MAKINEN, et al., 2013; GARCÍA-TEJEDOR, PADILLA, SALOM, et al., 2013; KHALESI; SUN; BUYS; et al., 2014; DROUIN-CHARTIER, GIGLEUX, TREMBLAY, et al., 2014; ETTINGER, MACDONALD, REID, et al., 2014; ŞANLI, AKAL, YETIŞEMIYEN et al., 2016). Os trabalhos que, na maioria, foram desenvolvidos com apenas uma bactéria, obtiveram resultados divergentes, já aqueles que utilizaram mais de uma espécie bacteriana para fermentação do leite, encontraram resultados mais expressivos, com maior redução da pressão arterial, e, com doses diárias de 109 a 1012 UFC (KHALESI; SUN; BUYS; et al., 2014; DROUIN-CHARTIER, GIGLEUX, TREMBLAY, et al., 2014; ETTINGER, MACDONALD, REID, et al., 2014; ŞANLI, AKAL, YETIŞEMIYEN et al., 2016). Análise microbiológica em nosso laboratório encontrou uma contagem total de 7,44x10⁷UFC para o kefir utilizado nesta pesquisa, com excelente resultado sobre redução da pressão arterial, o que fortalece esta hipótese pois o kefir apresenta uma biodiversidade de espécies microbiológicas, com pelo menos 50 espécies já identificadas (POGACIC, SINKO, ZAMBERLIN, et al., 2013), que provavelmente são responsáveis pela hidrólise parcial das proteínas do leite em peptídeos com atividade inibitória sobre a ECA.

Pesquisa desenvolvida por Friques, Arpini, Kalil, *et al.*, (2016), em nosso laboratório, obteve redução significativa da PAM em 15%, bem como Klippel, Duemke, Leal, *et al.* (2016), com resultados de atenuação significativa da PA ao administrar kefir por 60 dias em animais SHR, além de demonstrarem redução da frequência cardíaca (FC).

Nossos resultados demonstraram redução de LDLc sem alterar CT, associado à elevação de HDLc, com redução na circulação de partículas de não-HDL. A redução do colesterol não-HDL demonstra que as lipoproteínas aterogênicas (LDL, VLDL e seus remanescentes) foram reduzidas, assim como a redução significativa nos níveis de oxidação de LDL, a mais aterogênica forma de LDL (de 12,9±1,6 para 9,8±1,3, p<0,05), prevenindo assim a lesão endotelial.

Os leites fermentados têm sido eficientes em reduzir CT e LDLc. Alguns mecanismos de ação dos probióticos têm sido propostos como a desconjugação dos sais biliares pela enzima sal biliar hidrolase (BSH) que libera ácidos biliares; que, por serem menos solúveis serão menos reabsorvidos, determinando assim maior utilização do colesterol para composição biliar (LI, 2012; ANGELIS-PEREIRA, BARCELOS, SOUSA, *et al.*, 2013). Outra hipótese baseia-se na conversão do colesterol a coprostanol, que assim como os ácidos biliares são facilmente excretados nas fezes (ETTINGER, MACDONALD, REID, *et al.*, 2014); além do sequestro do colesterol no intestino para incorporação na membrana celular bacteriana (ETTINGER, MACDONALD, REID, *et al.*, 2014; ISHIMWE, DALIRI, LEE, *et al.*, 2015).

O processo de oxidação de LDL, representa um evento que antecede a aterosclerose, sendo um dos importantes contribuintes da aterogênese. LDL é uma lipoproteína com alto teor de colesterol e, quando em altas concentrações no plasma será depositada na parede da artéria, produzindo disfunção do endotélio vascular. Esta lipoproteína será oxidada provocando a instabilidade e ruptura da placa aterosclerótica (FÉLÉTOU, VANHOUTTE, 2006).

A diminuição significativa de LDLox ocorreu provavelmente pelo efeito antioxidante do kefir. Uchida, Ishii, Inoue, et al., (2010) descrevem menor acúmulo de colesterol em VLDL de coelhos alimentados concomitantemente com dieta hipercolesterolêmica e kefiran – um exopolissacarídeo produzido por *Lactobacillus kerafinofaciens* isolado de grãos de kefir, sugerindo efeito preventivo na formação de placas ateromatosas, da formação de estrias gordurosas e da cápsula fibrosa. Tais benefícios evitariam a instabilidade e a ruptura da placa, bem como a liberação de trombos que poderiam obstruir parcial ou completamente o vaso sanguíneo. Dois estudos de nossa equipe sugerem também o efeito antioxidante do kefir por melhora da função do endotélio e por alterar a circulação de citocinas inflamatórias com redução da deposição lipídica em artérias de ratos LDLr-/- (FRIQUES, ARPINI, KALIL, et al., 2016; SANTANNA, FILETE, LIMA, et al., 2016).

A análise dos níveis séricos de triglicerídeos de nossos voluntários demonstrou redução significativa no grupo kefir, resultando em uma diminuição de 25% nos níveis sanguíneos. Aazmi, Teh, Ramasamy, *et al.*, (2015) observaram igualmente redução significativa dos Tg séricos, porém com associação da redução do peso corporal por diminuição da ingestão energética, ao trabalhar com *Lactobacillus casei* sp. *Shirota* em ratos.

Apesar dos níveis glicêmicos em jejum terem demonstrado valores que não caracterizam diabetes melito (DM) nos voluntários em estudo, o consumo do kefir promoveu redução significativa na glicemia mas sem impacto sobre a HbA1c. Ostadrahimi, Taghizadeh, Mobasseri, et al., (2015), ao suplementar pacientes DM2 com 600 mL de kefir por oito semanas, obtiveram redução significativa tanto da glicemia em jejum como da HbA1c. Em teste oral de tolerância à glicose, Rosa, Grzekowiak, Ferreira, et al., (2016) encontraram uma redução de 10% como resultado em sua pesquisa com suplementação com 1 ml de kefir ao dia, por dez semanas, em animais SHR com SM induzida. Metanálise recente avaliou estudos placebo controlados sobre os efeitos dos probióticos nos níveis glicêmicos no DM2, resistência à insulina (RI) ou hiperglicemia, e concluiu que os probióticos podem melhorar o controle glicêmico em DM2, mas não demonstrou diferenças significativas na HbA1c (LI, LI, HAN, et al., 2016). Pouco se entende como os efeitos hipoglicemiantes são produzidos pelos probióticos. Uma das hipóteses seria a recuperação da microbiota intestinal. As bactérias em desequilíbrio com redução de lactobacilos e de bifidobactérias possibilitam a permeabilidade intestinal dos lipopolissacarídeos (LPS), que ao circularem no sangue produzem citocinas pro inflamatórias (BERNINI, SIMÃO, ALFIERI, et al., 2016) que podem causar lesão nas células ß do pâncreas (AMYOT, SEMACHE, FERDAUOSSI, et al. 2012; GOMES, BUENO, SOUZA, et al., 2014; HULSTON, CHURNSIDE, VENABLES, 2015) e desenvolver diabetes melito tipo 1 (DM1).

Para avaliação do risco de desenvolvimento de eventos cardiovasculares para os próximos dez anos pelo Escore de Framinghan, deve-se considerar a idade, CT, HDLc, Tg, LDLc, PAS, PAD, DM e consumo de tabaco (WILSON, D'AGOSTINO, LEVY, *et al.*, 1998). O cálculo do Escore de Framinghan do grupo que consumiu o leite fermentado com os grãos de kefir apresentou uma alteração positiva para HDLc, Tg, PAS e PAD. Estas alterações produziram a redução expressiva no risco para eventos cardiovasculares nestes voluntários.

As enzimas AST, ALT, y-GT além de uréia, creatinina e nitrogênio uréico foram coletadas a fim de monitorar qualquer lesão hepática ou renal durante o ensaio clínico. Conforme demonstrado na Tabela 2, notamos que os valores das enzimas e compostos orgânicos que avaliam a manutenção da função hepática e da função renal não sofreram alterações, demonstrando que as funções destes órgãos foram preservadas. Nossos resultados corroboram com os dados de Rosa, Peluzio, Bueno, et al., (2014) que ao medir a toxicidade do kefir em doses normais ou muito aumentadas (5 vezes maior) em consumo oral cronicamente por 4 semanas, sobre a função hepática, renal e da mucosa intestinal, demonstrou que o kefir é um alimento seguro para consumo humano. Igualmente a CPK foi avaliada antes e após os tratamentos com kefir ou coalhada. Os tratamentos não produziram modificações nesta enzima que está presente no metabolismo dos tecidos contráteis como os músculos, tecido cardíaco e no cérebro. CPK estará aumentada na possibilidade ou risco para infarto agudo do miocárdio (IAM) podendo estar alterada também por uso de certos medicamentos utilizados para tratamento da hipercolesterolemia. Os valores de CPK mantiveram-se sem alterações significativas e os voluntários que possuíam valores inicialmente aumentados foram alertados a buscar avaliação médica adequada.

Quando comparamos o grupo controle, antes do consumo com o período após o consumo da coalhada, observamos que não houveram alterações significativas nos níveis pressóricos e, nem mesmo na análise da bioquímica do sangue.

A SM caracterizada neste grupo de voluntários está associada a um alto percentual de gordura corporal com acúmulo de tecido adiposo na região abdominal, sendo este último o principal contribuinte na elevação de PCRus circulante, produzida pelo fígado. Valores acima de 3mg/L de PCRus está associado a um alto risco cardiovascular, (PEARSON, MENSAH, ALEXANDER, *et al.*, 2003; MIRANDA, PELUZIO, FRANCESCHINI, *et al.*, 2014; GARCIA, ROCHA, SALES, *et al.*, 2016) por contribuir na formação da lesão endotelial, ao mediar a formação, desestabilização e ruptura da placa de aterosclerótica (TEIXEIRA, LOPES, MACEDO, *et al.*, 2014). Este marcador inflamatório o consumo do kefir não foi capaz de reduzir, mantendo o alto risco cardiovascular. Ressalta-se que os voluntários não tiveram redução do IMC e muito menos da CC, ambos permanecendo elevados. De acordo com Pearson, Mensah, Alexander, *et al.*, (2003) PCRus é diretamente proporcional ao peso corporal, o que pode explicar os resultados observados. Durante o desenvolvimento do estudo

os voluntários não receberam orientação nutricional para eliminação do excesso de peso corporal. Apesar do seguimento do ensaio clínico ser classificado como de longo prazo por ter duração de onze semanas, este tempo não é suficiente para a redução necessária do peso corpóreo, redução média de 20 kg, considerando IMC máximo de 24,9 kg/m² como eutrofia (WHO, 1998), e da CC onde a redução para os homens seria de 6 cm e para as mulheres de pelo menos 7 cm, em média, considerando a composição dos fatores de risco para a SM segundo a I DBSM (SBC, 2005) e NCEP-ATP III (2002).

Ao analisarmos os fatores de risco para SM que foram modificados com o consumo de kefir, evidenciamos melhora nos níveis glicêmicos, de triglicérides e HDLc; redução da PAS e PAD, permanecendo apenas a CC elevada em ambos os gêneros.

Ao término da pesquisa, os voluntários foram encaminhados à Clínica de Nutrição da UVV, para receberem orientações dietéticas além de acompanhamento com nutricionista, e orientados à consulta médica para diagnóstico complementar.

6. CONCLUSÃO

Podemos inferir como resultado inédito neste ensaio clínico que o consumo crônico por onze semanas de leite fermentado pelos grãos de kefir pode contribuir de forma significativa na redução do risco de um evento cardiovascular maior, como o infarto do miocárdio ou morte por causa cardiovascular, nos próximos dez anos, atuando efetivamente no controle dos fatores de risco da SM independente da dieta ingerida. Percebe-se ainda uma tendência a redução no processo de oxidação do organismo demonstrado pela diminuição de LDLox plasmática, o que concomitante a adoção de dieta hipocalórica para eliminação de peso corporal e melhora do IMC e CC, poderão contribuir para a redução de PCRus.

REFERENCIAS

- AAZMI, S.; THE, L. K.; RAMASAMY, K.; RAHMAN, T.; SALLEH, M. Z. Comparison of the anti-obesity and Hypocholesterolaemic effects of single Lactobacillus casei strain Shirota and probiotic cocktail. International Journal of Food Science and Technology. 2015; v50; 1589-1597. doi.org/10.1111/ijfs.12810
- AIHARA, K.; KAJIMOTO, O.; HIRATA, H.; TAKAHASHI, R.; NAKAMURA, Y. Effect of powdered fermented milk with Lactobacillus helveticus on subjects with high-normal blood pressure or mild hypertension. J Am CollNutr. 2005; v24, n4; 257-265. PMID: 16093403
- AMYOT, J.; SEMACHE, M.; FERDAUOSSI, M.; et al. Lipopolysaccharides impair insulin gene expression in isolated islets of Langerhans via toll-like receptor-4 ADN NF-kß signalling. PloS One. 2012; v7, n4; e36200-136200. doi.org/10.1371/journal.pone.0036200
- ANGELIS-PEREIRA, M. C.; BARCELOS, M. F. P.; SOUSA, M. S.; PEREIRA, J. A. R. Effects of the kefir and banana pulp and skin flours on hypercholesterolemic rats. Acta Cirurgica Brasileira. 2013; v28, n7. http://dx.doi.org/10.1590/S0102-86502013000700001
- ASSUNCAO, T. S.; URSINE, P. G. S. Estudo de fatores associados à adesão ao tratamento não farmacológico em portadores de diabetes mellitus assistidos pelo Programa Saúde da Família, Ventosa, Belo Horizonte. Ciênc. & Saúde coletiva, Rio de Janeiro, v.13, supl.2, p.2189-2197, Dec. 2008. http://dx.doi.org/10.1590/S1413-81232008000900024.
- BERNINI, L. J.; SIMÃO, A. N. C.; ALFIERI, D. F.; LOZOVOY, M. A. B.; MARI, N. L.; SOUZA, C. H. B.; DICHI, I.; COSTA, G. N. Beneficial effects of Bifidobacterium lactis on lipid profile and cytokines in patients with metabolic syndrome: A randomized trial. Effects of probiotics on metabolic syndrome. Nutrition. 2016; v32; 716-719.doi: 10.1016/j.nut.2015.11.001.
- BESHKOVA, D. M.; SIMOVA, E. D.; SIMOV, Z. I.; FRENGOVA, G. I.; SPASOV, Z. N. *Pure cultures for making kefir.* Food Microbiology. 2002; v19, n5, 537-544. doi:10.1006/fmic.2002.0499.
- CENESIZ, S.; YAMAN, H.; OZCAN, A.; KART, A.; KARADEMIR, G. Effects of kefir as a probiotic on serum cholesterol, total lipid, aspartate amino transferase and alanine amino transferase activities in broiler chicks. MedycynaWet. 2008; n64, v2; 168-170.
- DONG, J-Y.; SZETO, I. M. Y.; MAKINEN, K.; GAO, Q.; WANG, J.; QIN, L-Q.; ZHAO, Y. Effect of probiotic fermented milk on blood pressure: a meta-analysis of randomized controlled trials. British Journal of Nutrition. 2013; n110, 1188-1194. PMID: 23823502 doi: 10.1017/S0007114513001712
- DROUIN-CHARTIER, J-P.; GIGLEUX, I.; TREMBLAY, A.J.; POIRIER, L.; LAMARCHE, B.; COUTURE, P. *Impact of dairy consumption on essential hypertension: a clinical study.* Nutrition Journal. 2014; n13, v83. doi: 10.1186/1475-2891-13-83.

- ETTINGER, G.; MACDONALD, K.; REID, G.; BURTON, J.P. *The influence of the human microbiome and probiotics on cardiovascular health.* Gut Microbes. Nov/Dec; 2014: v5. n6: 719-728. doi: 10.4161/19490976.2014.983775.
- FARNWORTH, E. R. *Kefir a complex probiotic*. Food Science and Technology: Functional Foods. 2005; n2, v1; 1-17. doi: 10.1616/1476-2137.13938.
- FÉLÉTOU, M.; VANHOUTTE, P. M. Endothelial dysfunction: a multifaceted disorder (The Wiggers Award Lecture). Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2006; n291; H985–1002. PMID: 16632549 doi: 10.1152/ajpheart.00292.2006
- FERREIRA, I. M. P. L. V. O.; PINHO, O.; MONTEIRO, D.; FARIA, S.; CRUZ, S.; PERREIRA, A.; ROQUE, A. C. Short communication: effects of kefir grains on proteolysis of major milk proteins. J Dairy Sci. 2010; v93; 27-31.doi: 10.3168/jds.2009-2501
- FITZGERALD, R.; MURRAY, B. A.; WALSH, D. J. *Hypotensive Peptides from Milk Proteins*. Journal of Nutrition. 2004; v134; 980s-988s. PMID: 15051858 doi: 10.1093/jn/134.4.980S
- FRIQUES, A. G.; ARPINI, C. M.; KALIL, I. C.; GAVA, A. L.; LEAL, M. A.; PORTO, M. L.; NOGUEIRA, B. V.; DIAS, A. T.; ANDRADE, T. U.; PEREIRA, T. M.; MEYRELLES, S. S.; CAMPAGNARO, B. P.; VASQUEZ, E. C. *Chronic Administration of the Probiotic Kefir Improves the Endothelial Function in Spontaneously Hypertensive Rats.* J Transl Med. 2016; 13:390. doi: 10.1186/s12967-015-0759-7.
- FUGLSANG, A.; NILSSON, D.; NYBORG, N. C. B. Cardiovascular effects of fermented milk containing antiotensin-converting enzyme inhibitors evaluated in permanently catheterized, Spontaneously Hypertensive Rats. Applied and Environmental Microbiology. July. 2002; 3566-3569. doi: 10.1128/AEM.68.7.3566-3569.2002.
- GARCÍA-TEJEDOR, A.; PADILLA, B.; SALOM, J. B.; BELLOCH, C.; MANZANARES, P. *Dairy yeasts produce milk protein-derived antihypertensive hydrolysates.* Food Research International. 2013; v53; 203-208.
- GARCIA, V. P.; ROCHA, H. N. M.; SALES, A. R. K.; ROCHA, N. G.; NÓBREGA, A. C. L. Diferenças na Proteína C Reativa Ultrassensível associado ao gênero em Indivíduos com Fatores de Risco da Síndrome Metabólica. Arq Bras Cardiol. 2016; v 106, n3; 182-187. doi: 10.5935/abc.20160027.
- GELEIJNSE, J. M.; ENGBERINK, M. F. Lactopeptides and human blood pressure. Curr Opin Lipidol. 2010; v21, n1; 58-63. doi: 10.1097/MOL.0b013e3283333813.
- GOMES, A. C.; BUENO, A. A.; SOUZA, R. G. M.; MOTA, J. F. *Gut microbiota, probiotics and diabetes.* Nutrition Journal. 2014; v13, n60. doi: 10.1186/1475-2891-13-60.
- GOMES, R. C. *Doenças cardiovasculares causam quase 30% das mortes no País.* Portal Brasil publicado em 06/09/2011 Ministério da Saúde. Disponível em:http://www.brasil.gov.br/saude/2011/09/doencas-cardiovasculares-causam-quase-30-das-mortes-no-pais>.
- HAYES, M.; STANTON, C.; SLATTERY, H.; O'SULLIVAN, O.; HILL, C.; FITZGERALD, G. F.; ROSS, R. P. Casein fermentate of Lactobacillus animalis DPC6134 contains a range of novel propeptide angiotensin-converting enzyme

- inhibitors. Applied and Environmental Microbiology. 2007; Jul, 4658-4667. doi:10.1128/AEM.00096-07.
- HULSTON, C. J.; CHURNSIDE, A. A.; VENABLES, M. C. *Probiotic supplementation prevents high-fat, overfeeding-induced insulin resistance in human subjects.* British Journal of Nutrition. 2015; n113; 596-602. doi: 10.1017/S0007114514004097.
- ISHIMWE, N.; DALIRI, E. B.; LEE, B. H.; FANG, F.; DU, G. *The perspective on cholesterol-lowering mechanisms of probiotics.* Mol. Nutr. Food Res. 2015; v59, n1; 94-105. doi: 10.1002/mnfr.201400548
- JAKALA, P.; PERE, E.; LEHTINEN, R.; TURPEINEN, A.; KORPELA, R.; VAPAATALO, H. Cardiovascular Activity of Milk Casein-Derived Tripeptides and Plant Sterols in Spontaneously Hypertensive Rats. Journal of Physiology and Pharmacology 2009; v60, n4; 11-20.
- KHALESI, S.; SUN, J.; BUYS, N.; JAYASINGHE, R. Effect of probiotics on blood pressure: a systematic review and meta-analysis of randomized, controlled trials. Hypertension, 2014, july. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.114.03469
- KLIPPEL, B. F.; DUEMKE, L. B.; LEAL, M. A.; FRIQUES, A. G.; DANTAS, E. M.; DALVI, R. F.; GAVA, A. L.; PEREIRA, T. M.; ANDRADE, T. U.; MEYRELLES, S. S.; CAMPAGNARO, B. P.; VASQUEZ, E. C. *Effects of Kefir on the Cardiac Autonomic Tones and Baroreflex Sensitivity in Spontaneously Hypertensive Rats.* Front Physiol. 2016; 7:211. PMID: 27375490 doi: 10.3389/fphys.2016.00211
- KUMAR, M.; RAVINDER, N. L.; KUMAR, R.; HEMALATHA, B.; VERMA, V.; KUMAR, A.; CHAKRABORTY, C.; SINGH, B.; MAROTTA, F.; JAIN, S.; YADAV, H. Cholesterol-Lowering Probiotics as Potential Biotherapeutics for Metabolic Diseases. Hindawi Publishing Corporation. Experimental Diabetes Research. 2012; v14. doi:10.1155/2012/902917.
- LABONTÉ, M-È.; DEWAILLY, É.; LUCAS, M.; COUTURE, P.; LAMARCHE, B. Association of red blood cell n-3 polyunsaturated fatty acids with plasma inflammatory biomarkers among the Quebec Cree population. European Journal of Clinical Nutrition. 2014; v68, n9; 1042-1047. doi:10.1038/ejcn.2014.12.
- LI, C.; LI, X.; HAN, H.; CUI, H.; PENG, M.; WANG, G.; WANG, Z. *Effect of probiotics on metabolic profiles in type 2 diabetes mellitus.* Medicine. 2016; v95, n26. doi. 10.1097/MD:000000000004088.
- LI, G. Intestinal probiotics: Interactions with bile salts and reduction of cholesterol. Procedia Environmental Sciences. 2012; v12; 1180-1186.
- LIU, J-R.; WANG, S-Y.; CHEN, M-J.; CHEN, H-L.; YUEH, P-Y.; LIN, C-W. *Hypocholesterolaemic effects of milk-kefir and soyamilk-kefir in cholesterol-fed hamsters.* British Journal of Nutrition. 2006; v95; 939–946. PMID: 16611384
- LUKASKI, H. C.; JOHNSON, P. E.; BOLONCHUK, W. W.; LYKKEN, G. I. Assessment of fat-free mass using bioelectrical impedance measurements of the human body. American Journal of Clinical Nutrition. 1985; v41; 810-17. PMID: 3984933. doi: 10.1093/ajcn/41.4.810

- MIGUEL; RECIO; RAMOS, M.; DELGADO, M. A.; Aleixandre, M. A. *Antihypertensive* effect of peptides obtained from Enteroccus faecalis-fermented milk in rats. J Dairy Sci. 2006; v89; 3352-3359. PMID: 16899668 doi:10.3168/jds.S0022-0302(06)72372-4.
- MIRANDA, V. P. N.; PELUZIO, M. C. G.; FRANCESCHINI, S. C. C.; PRIORE, S. E. Marcadores Inflamatórios na avaliação nutricional: relação com parâmetros antropométricos, composição corporal e níveis de atividade física. RASBRAN Revista da Associação Brasileira de Nutrição. 2014; v6, n1; 61-72. ISSN 2177-7527
- MORAES, A. C. F.; SILVA, I. T.; ALMEIDA-PITITTO, B.; FERREIRA, S. R. G. *Microbiota intestinal e risco cardiometabólico: mecanismos e modulação dietética.* Arq Bras Endocrinol Metab. 2014; v58, n4. doi: 10.1590/0004-2730000002940.
- National Cholesterol Education Program's Adult Treatment Panel III (NCEP-ATP III) Circulation December 17/24. 2002. PMID: 124485966
- OSTADRAHIMI, A.; TAGHIZADEH, A.; MOBASSERI, M.; FARRI, N.; PAYAHOO, L.; BEYRAMALIPOOR, GHESHLAGHI, Z.; VAHEDJABBARI, M. *Effect of probiotic fermented milk (kefir) on glycemic control and lipid profile in type 2 diabetic patients: a randomized double-blind placebo-controlado clinical trial.* Iran J Public Health. 2015; v44, n2; 228-237. PMID: 25905057
- PEARSON, T. A.; MENSAH, G. A.; ALEXANDER, W.; ANDERSON, J. L.; CANON III, R. O.; CRIQUI, M.; FALD, Y. Y.; FORTMANN, S. P.; HONG, Y.; MYERS, G. L.; RIFAI, N.; SMITH, S. C.; JR. TAUBERT, K.; TRACY, R. P.; VINICOR, F. Markers of Inflammation and Cardiovascular Disease: Application to Clinical and Public Health Practice: A Statement for Healthcare Professionals From the Centers for Disease Control and Prevention and the American Heart Association. Circulation. 2003; v107; 499-511. doi:10.1161/01.CIR.0000052939.59093.45.
- POGACIC, T.; SINKO, S.; ZAMBERLIN, S.; SAMARZIJA, D. *Microbiota of kefir grains*. Mljekarstvo. 2013; v63, n1; 3-14. URI: https://hrcak.srce.hr/98224
- REAGAN-SHAW, S.; NIHAL, M.; AHMAD, N. *Dose translation from animal to human studies revisited.* The FASEB Journal. 2007; v22; 659-661. doi: 10.1096/fj.07-9574LSF.
- ROSA, D. D.; PELUZIO, M. C. G.; BUENO, T. P.; CAÑIZANES, E. V.; MIRANDA, L. S.; DORBIGNYI, B. M.; DUBÍ, D. C.; CASTAÑO, I. E.; GRZESKOWIAK, L. M.; FERREIRA, C. L. L. F. *Evaluation of the subchronic toxicity of kefir by oral administration in Wistar rats.* Nutrición Hospitalaria. 2014; v29; 1352-1359. doi: 10.3305/nh.2014.29.6.7390
- ROSA, D. D.; GRZEKOWIAK, M.; FERREIRA, C. L. L. F.; FONSECA, A. C.M.; REIS, S. A.; DIAS, M. N.; SIQUEIRA, P.; LINHARES, L. L.; NEVES, C. A.; OLIVEIRA, L. L.; MACHADO, A. F.; PELUZIO, M. D. C. G. *Kefir reduces insulin resistance and inflammatory cytokine expression in animal model of the metabolic syndrome.* Food Funct. 2016. doi: 10.1039/C6FO00339G.
- ŞANLI, T.; AKAL, H. C.; YETIŞEMIYEN, A.; HAYALOGLU, A. A. Influence of adjunct cultures on angiotensin-converting enzyme (ACE)-inhibitory activity, organic acid content and peptide profile of kefir. International Journal of Dairy Technology. 2016. doi: 10.1111/1471-0307.12346.

- SANTANNA, A. F.; FILETE, P. F.; LIMA, E. M.; PORTO, M. L.; MEYRELLES, S. S.; VASQUEZ, E. C.; ENDRINGER, D. C.; LENZ, D.; ABDALLA, D. S. P.; PEREIRA, T. M. C.; ANDRADE, T. U. Chronic administration of the soluble non-bacterial fraction of kefir attenuates lipid deposition in LDLr-/-mice. Nutrition. 2016. doi: 10.1016/j.nut.2016.11.001.
- SEPPO, L.; JAUHIAINEN, T.; POUSSA, T.; KORPELA, R. A fermented milk high in bioactive peptides has a blood pressure-lowering effect in hypertensive subjects. American Journal of Clinical Nutrition. 2003; v77; 326-330. doi: 10.1093/ajcn/77.2.326
- SIMÃO, A. F.; PRÉCOMA, D. B.; ANDRADE, J. P.; CORREA FILHO, H.; SARAIVA, J. F. K.; OLIVEIRA, G. M. M.; et al. Sociedade Brasileira de Cardiologia. *I Diretriz Brasileira de Prevenção Cardiovascular. Arquivos Brasileiros de Cardiologia*. 2013; n101, v6, Supl2; 1-63. doi.org/10.5935/abc.2013S012.
- SIPOLA M, FINCKENBERG P, SANTISTEBAN J, KORPELA R, VAPAATALO H, NURMINEN ML. Long-term intake of milk peptides attenuates development of hypertension in spontaneously hypertensive rats. J Physiol Pharmacol. 2001; v52; 745-54. PMID 11785770
- SLEIGHT, P. The Hope Study (Heart Outcomes Prevention Evaluation). J Renin Angiotensin Aldosterone Syst. 2000; v1, n1; 18-20. https://doi.org/10.3317/jraas.2000.002
- Sociedade Brasileira de Cardiologia SBC. I Diretriz Brasileira de Diagnóstico e Tratamento da Síndrome Metabólica. Arquivos Brasileiros de Cardiologia. 2005; v84(Supl1); 1-28. ISSN-0066-782X
- Sociedade Brasileira de Cardiologia 7ª Diretriz Brasileira de Hipertensão Arterial. 2016; v107, n3(Supl3). ISSN-0066-782X
- TEIXEIRA, B. C.; LOPES, A. L.; MACEDO, R. C. O.; CORREA, C. S.; RAMIS, T. R.; RIBEIRO, J. L.; OLIVEIRA, A. R. *Marcadores inflamatórios, função endotelial e riscos cardiovasculares.* J Vasc Bras. 2014; v13, n2; 108-115. doi:10.1590/jvb.2014054.
- UCHIDA, M.; ISHII, I.; INOUE, C.; AKISATO, Y.; WATANABE, K.; HOSOYAMA, S.; TOIDA, T.; ARIYOSHI, N.; KITADA, M. *Kefiran reduces atherosclerosis in rabbits fed a high cholesterol diet.* J Atheroscler and Thromb 17:980-988. 2010. doi.org/10.55551/jat4812.
- WILSON, P. W.; D'AGOSTINO, R. B.; LEVY, D.; BELANGER, A. M.; SILBERSHATZ, H.; KANNEL, W. B. *Prediction of coronary heart disease using risk factor categories*. Circulation. 1998; v97, n18; 1837-47. PMID: 9603539
- World Health Organization (WHO). 65th World Health Assembly closes with new global health measures. 1998. Disponível em: http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2012/what65_closes_20/20526/en
- XAVIER H. T., IZAR M. C., FARIA NETO J. R., ASSAD M. H., ROCHA V. Z., SPOSITO A. C., FONSECA F. A., DOS SANTOS J. E., SANTOS R. D., BERTOLAMI M. C., FALUDI A. A., MARTINEZ T. L. R., DIAMENT J., GUIMARÃES A., FORTI N. A., MORIGUCHI E., CHAGAS A. C. P., COELHO O. R., RAMIRES J. A. F. V DIRETRIZ BRASILEIRA DE DISLIPIDEMIAS E PREVENÇÃO da Aterosclerose. Arq. Bras. Cardiol, São Paulo.2013; v101, n4(supl1); 1-20. Available from

http://dx.doi.org/10.5935/abc.2013S010">http://dx.doi.org/10.5935/abc.2013S010.

ZEMEL, M. B.; SUN, X.; SOBHANI, T.; WILSON, B. Effects of dairy compared with soy on oxidative and inflammatory stress in overweight and obese subjects. Am J Clin Nutr. 2010; v91, n1; 16-22. doi: 10.3945/ajcn.2009.28468.

Anexo 1 – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

"USO DO KEFIR COMO COADJUVANTE NO TRATAMENTO DOS COMPONENTES DA SÍNDROME METABÓLICA: estudo experimental duplo cego, randomizado, placebo controlado."

Responsável pela pesquisa: Tadeu Uggere de Andrade "Universidade Vila Velha"

Este documento que você está lendo é chamado de Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). Ele contém explicações sobre o estudo que você está sendo convidado a participar. Antes de decidir se deseja participar (de livre e espontânea vontade) você deverá ler e compreender todo o conteúdo. Ao final, caso decida participar, você será solicitado a assiná-lo e receberá uma cópia do mesmo. Antes de assinar faça perguntas sobre tudo o que não tiver entendido bem. A equipe deste estudo responderá às suas perguntas a qualquer momento (antes, durante e após o estudo). Sua participação é voluntária, o que significa que você poderá desistir a qualquer momento, retirando seu consentimento, sem que isso lhe traga nenhum prejuízo ou penalidade, bastando para isso entrar em contato com um dos pesquisadores responsáveis.

Esta pesquisa visa analisar se o consumo de leite fermentado por grãos de Kefir é capaz de reduzir a pressão arterial e os níveis de colesterol sanguíneo. Verificar a palatabilidade dos voluntários em relação ao leite fermentado pelos grãos de kefir; verificar se o uso da bebida fermentada possui efeito como controlador de níveis lipêmicos séricos e glicêmicos; investigar se o consumo de fermentado por grãos de kefir pode alterar as medidas da pressão arterial, com diminuição dos níveis pressóricos e verificar a frequência intestinal e a excreção fecal de ácidos biliares com o uso da bebida fermentada.

Garantimos o acesso, em qualquer etapa do estudo, sobre qualquer esclarecimento de eventuais dúvidas. Também é garantida a liberdade da retirada de consentimento a qualquer momento e assim, deixar de participar do estudo. Garantimos que as informações obtidas serão analisadas em conjunto com outras pessoas, não sendo

divulgada a identificação de nenhum dos participantes. Não existirão despesas ou compensações pessoais para o participante em qualquer fase do estudo. Também não há compensação financeira relacionada à sua participação. Se existir qualquer despesa adicional, ela será absorvida pelo orçamento da pesquisa. Comprometemonos a utilizar os dados coletados somente para pesquisa e os resultados serão veiculados através de artigos científicos em revistas especializadas e/ou em encontros científicos e congressos, sem nunca tornar possível a sua identificação.

Precedendo à coleta do sangue e a aferição das medidas antropométricas será aplicado o questionário de frequência alimentar simplificado, que será enviado para seu endereço de correio eletrônico. Você terá um prazo para responde-lo e caso julgue ser demorado, você poderá reiniciar a responde-lo em outro momento, desde que respeitado o prazo para devolução, ou seja, vinte dias a contar da data do envio do formulário para seu e-mail.

A aferição das medidas antropométricas, bem como responder ao questionário de frequência alimentar simplificado podem gerar algum tipo de constrangimento para você, o que será minimizado através das seguintes providências: seu nome não aparecerá nos resultados da pesquisa e caso não se sinta à vontade você não precisará respondê-lo.

A coleta de exames laboratoriais por acesso venoso periférico não apresenta riscos graves, mas caso gere desconforto durante a realização do procedimento, o mesmo será imediatamente interrompido.

A aferição das medidas antropométricas e determinação da composição corporal não oferecem risco, nem desconforto, pois são indolores, mas caso julgue estar incomodado com o procedimento os mesmos serão interrompidos imediatamente.

A ingestão do produto teste ou controle poderá ter um sabor desconhecido e, portanto, pode parecer desagradável para o consumo, neste caso a oferta do produto será descontinuada, havendo automaticamente o desligamento da pesquisa.

Você terá os seguintes benefícios caso concorde em participar da pesquisa: exame laboratorial, dosagem do perfil lipídico, avaliação da pressão arterial e do risco cardíaco, bem como avaliação do estado nutricional e da composição corporal.

No caso de alteração no perfil lipídico, e/ou presença de risco de desenvolvimento de doença coronariana, o voluntário receberá orientações preliminares pela nutricionista pesquisadora desta proposta e será encaminhado para profissional especializado para diagnóstico complementar e tratamento adequado.

Caso haja alterações nos exames, você receberá encaminhamento adequado para tratamento na Policlínica de Referência da UVV.

Todas as informações obtidas serão sigilosas. O material com as informações (entrevistas, entre outras) ficará guardado em local seguro sob a responsabilidade do Professor orientador Tadeu Uggere de Andrade com a garantia de manutenção do sigilo e confidencialidade e de que será destruído após a pesquisa. A divulgação dos resultados será feita de forma a não identificar os voluntários. Os resultados deste trabalho poderão ser apresentados em encontros ou revistas científicas, entretanto, ele mostrará apenas os resultados obtidos como um todo, sem revelar seu nome, instituição a qual pertence ou qualquer informação que esteja relacionada com sua privacidade.

Conforme previsto pelas normas brasileiras de pesquisa com a participação de seres humanos você não receberá nenhum tipo de compensação financeira pela sua participação neste estudo. Se você tiver algum gasto que seja devido à sua participação na pesquisa, você será ressarcido, caso solicite. Em qualquer momento, se você sofrer algum dano comprovadamente decorrente desta pesquisa, você terá direito a indenização.

Você ficará com uma cópia deste Termo e toda a dúvida que você tiver a respeito desta pesquisa, poderá perguntar diretamente para Tadeu Uggere de Andrade, (27) 99248-1387, tadeu.andrade@uvv.br e/ou Angela Camila Ghizi, (27) 98884-4373 ou 99253-1898, aghizi@uvv.br.

Dúvidas sobre a pesquisa envolvendo princípios éticos poderão ser questionadas ao **Comitê de Ética em Pesquisa da UVV** localizado na Avenida Comissário José Dantas de Melo, nº 21, Boa Vista, Vila Velha-ES, CEP: 29.102-770, Tel.: (27) 3421-2085, e-mail: cep.uvv@gmail.com, horário de funcionamento: 2ª a 6ª feira –13:30 às 18:30h. Secretária: Andréa Sarmento. Reclamações e/ou insatisfações relacionadas

à participação do cliente na pesquisa poderão ser comunicadas por escrito à Secretaria do CEP/UVV, desde que os reclamantes se identifiquem, sendo que o seu nome será mantido em anonimato.

CONSENTIMENTO DA PARTICIPAÇÃO DA PESSOA COMO SUJEITO

Declaro que fui devidamente informado e esclarecido pelo pesquisador sobre a pesquisa "USO DO KEFIR COMO COADJUVANTE NO TRATAMENTO DOS COMPONENTES DA SÍNDROME METABÓLICA: estudo experimental duplo cego, randomizado, placebo controlado", dos procedimentos nela envolvidos, assim como dos possíveis riscos e benefícios decorrentes da minha participação. Ficou claro, também, que a minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia do acesso aos resultados e de esclarecer minhas dúvidas a qualquer momento. Foi-me garantido que posso retirar meu consentimento a qualquer momento sem que isso me traga prejuízo ou penalidade, declaro ainda que recebi cópia do documento que esclarece sobre a pesquisa, intitulado como Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE.

Tadeu Uggere de Andrade (assinatura, nome e CPF)
Angela Camila Ghizi (assinatura, nome e CPF)
Voluntário (assinatura, nome e CPF)
Vila Velha (ES),//
Data (dia/mês/ano)

Nota: Formulário em duas vias, cabendo uma via ao paciente e permanecendo a outra via anexada aos arquivos individuais dos voluntários (protocolo da pesquisa).

ANEXO 2 – Autorização do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Vila Velha para a realização da pesquisa



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: USO DO KEFIR COMO COADJUVANTE NO TRATAMENTO DOS COMPONENTES

DA SÍNDROME METABÓLICA: estudo experimental duplo cego, randomizado,

placebo controlado.

Pesquisador: Tadeu Uggere de Andrade

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 43028115.8.0000.5064 .

Instituição Proponente: SOC EDUC DO ESP SANTO UNIDADE DE V VELHA ENSINO SUPERIO

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.025.083 Data da Relatoria: 15/04/2015

Apresentação do Projeto:

A Doença Cardiovascular (DCV) é a principal causa de morte e, nos países desenvolvidos, que passam por uma transição epidemiológica, a prevalência de mortes está relacionada às doenças crônicas não transmissíveis (DCNT). Quando há associação da DCV com resistência à insulina e com maior deposição de gordura visceral, é estimado um aumento na mortalidade em 2,5 vezes e, a união de pelo menos três fatores de risco cardiovascular caracterizam a Síndrome Metabólica (SM). Propostas dietéticas para a prevenção de DCV como a redução da ingestão de sal, gordura saturada e de gordura trans, bem como a redução do peso corporal são eficazes para diminuição da concentração de colesterol no sangue e da pressão arterial. Porém, estas medidas tornam-se menos eficazes devido à baixa adesão à dieta. Diversos estudos mostram a associação entre o uso do kefir e a redução do colesterol total, triglicerídeos e pressão arterial. Contudo, não foram avaliados os benefícios sobre o risco cardiovascular de pacientes portadores de SM. Dessa forma, é importante verificar se o consumo de kefir é capaz de reduzir o risco cardiovascular nestes indivíduos. Estudos podem trazer benefícios, principalmente, em relação à qualidade de vida desta população de doentes.

Objetivo da Pesquisa:

Geral: Investigar o impacto do consumo diário de leite fermentado por grãos de kefir, como

Endereço: Rua Comissário José Dantas de Melo, 21

Bairro: Boa Vista CEP: 29.102-770

UF: ES Município: VILA VELHA

Telefone: (27)3241-2080 Fax: (27)3241-2080 E-mail: cep.uvv@gmail.com



Continuação do Parecer: 1.025.083

adjuvante, sobre o risco cardiovascular de adultos que apresentam critérios de diagnóstico da SM alterados.

Específicos: Avaliar o efeito do consumo de leite fermentado por grãos do kefir sobre:

- Os componentes da SM: glicemia de jejum, circunferência abdominal, pressão arterial média, triglicerídeos e HDL-c:
- O risco cardiovascular, avaliado por meio do cálculo do Escore de Framinghan;
- O risco cardiovascular, avaliado por meio da medida dos valores de proteína C reativa ultrassensível;
- A ingestão alimentar dos voluntários com SM;
- Verificar a frequência intestinal e a excreção fecal de ácidos biliares com o uso da bebida fermentada.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

A coleta de sangue será realizada por profissional de farmácia com experiência em punção venosa. A coleta de exames laboratoriais por acesso venoso periférico não apresenta riscos graves ao voluntário do estudo, conferindo um risco mínimo, pois será realizado por profissional especializado, mas caso gere desconforto durante a realização do procedimento, o mesmo será imediatamente interrompido. Como a pesquisa envolve aferição de medidas antropométricas e coleta de amostras de sangue, os voluntários terão os horários previamente agendados para que a coleta dos dados antropométricos não interfiram em seus horários de trabalho. Responder ao QFAS, apesar de poder causar como riscos o cansaço vocal e o constrangimento, os mesmos serão minimizados por se tratar de instrumento cotidiano de trabalho de profissional nutricionista, sendo

aplicado em local reservado (consultório de nutrição) e podendo ser interrompido a qualquer momento. Vale ressalvar ainda que o nome do voluntário não aparecerá nos resultados da pesquisa. Além disso, o voluntário pode, a seu critério, se recusar a continuar a coleta de dados.

Benefícios:

Compreendem: exame laboratorial incluindo a dosagem do perfil lipídico, avaliação da pressão arterial e do risco cardíaco, bem como avaliação do estado nutricional e da composição corporal; além de ser conscientizado sobre os cuidados adequados à

Endereço: Rua Comissário José Dantas de Melo, 21

Bairro: Boa Vista CEP: 29.102-770

UF: ES Município: VILA VELHA

Telefone: (27)3241-2080 Fax: (27)3241-2080 E-mail: cep.uvv@gmail.com



Continuação do Parecer: 1,025,083

manutenção da saúde. No caso de alteração nos exames bioquímicos ou no perfil lipídico, e/ou presença de risco para desenvolvimento de doença coronariana, o voluntário receberá dietéticas e acompanhamento por nutricionista na Clínica de Nutrição da UVV – ES e será encaminhado para diagnóstico complementar e acompanhamento médico colaborador da pesquisa. A pesquisa contribuirá para a saúde da comunidade da UVV e para a ciência, na busca de alternativas para tratamentos preventivos de doenças tão frequentes na população brasileira.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisa está bem elaborada e deverá envolver professores e funcionários da UVV. O importante é que, de acordo com os resultados, os envolvidos que apresentarem qualquer

alteração nos exames bioquímicos ou no perfil lipídico, e/ou presença de risco para desenvolvimento de doença coronariana, o voluntário receberá dietéticas e acompanhamento por nutricionista na Clínica de Nutrição da UVV – ES e será encaminhado para diagnóstico complementar e acompanhamento médico colaborador da pesquisa.

Além disso, a pesquisa contribuirá para a saúde da comunidade da UVV e, para a ciência, na busca de alternativas para tratamentos preventivos de doenças tão frequentes na população brasileira.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

O termo expõe, para aqueles que forem aderir à pesquisa, todas as abordagens para cada etapa. Deixa claro os possíveis constrangimentos que possam ocorrer e como será contornado. Esclarece ainda que a qualquer momento o integrante pode se desligar da pesquisa, entre outros.

Recomendações:

Sem recomendações.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Sem pendências

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

O colegiado sugere uma revisão de português para melhor compreensão do texto.

Endereço: Rua Comissário José Dantas de Melo, 21

Bairro: Boa Vista CEP: 29.102-770

UF: ES Município: VILA VELHA

Telefone: (27)3241-2080 Fax: (27)3241-2080 E-mail: cep.uvv@gmail.com



Continuação do Parecer: 1.025.083

VILA VELHA, 15 de Abril de 2015

Assinado por: Valéria Rosseto Lemos (Coordenador)

Endereço: Rua Comissário José Dantas de Melo, 21

Bairro: Boa Vista

CEP: 29.102-770

Telefone: (27)3241-2080

UF: ES Município: VILA VELHA

Fax: (27)3241-2080

E-mail: cep.uvv@gmail.com