UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Programa de Pós-Graduação em Ciências dos Alimentos
Área de Nutrição Experimental

Farinha de banana verde: efeitos fisiológicos do consumo regular sobre a fome/saciedade e microbiota intestinal em voluntários saudáveis

Fabiana Andréa Hoffmann Sardá

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências dos Alimentos para obtenção do título de Doutor em Ciências dos Alimentos

Área de Concentração: Nutrição Experimental

Orientador:
Profa. Dr. Elizabete Wenzel de Menezes

São Paulo
2015

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Programa de Pós-Graduação em Ciências dos Alimentos
Área de Nutrição Experimental

Farinha de banana verde: efeitos fisiológicos do consumo regular sobre a fome/saciedade e microbiota intestinal em voluntários saudáveis

Fabiana Andréa Hoffmann Sardá

Versão corrigida da Tese conforme resolução CoPGr 6018.
O original encontra-se disponível no Serviço de Pós Graduação da FCF/USP.

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências dos Alimentos para obtenção do título de Doutor em Ciências dos Alimentos

Área de Concentração: Nutrição Experimental

Orientador:
Profa. Dr. Elizabete Wenzel de Menezes

São Paulo
2015

Ficha Catalográfica
Elaborada pela Divisão de Biblioteca e
Documentação do Conjunto das Químicas da USP.

Sardá, Fabiana Andréa Hoffmann
S244f Farinha de banana verde: efeitos fisiológicos do consumo regular sobre a fome/saciedade e microbiota intestinal em voluntários saudáveis / Fabiana Andréa Hoffmann Sardá. -- São Paulo, 2015.
221p.

Tese (doutorado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental
Orientador: Menezes, Elizabete Wenzel de

1. Alimentos funcionais : Ciência dos alimentos 2. Banana : Bioquímica dos alimentos 3. Carboidrato : Ciências dos alimentos I. T. II. Menezes, Elizabete Wenzel de, orientador.

641.1 CDD

Fabiana Andréa Hoffmann Sardá

Farinha de banana verde: efeitos fisiológicos do consumo regular sobre a fome/saciedade e microbiota intestinal em voluntários saudáveis

Comissão Julgadora
da
Tese para obtenção do grau de Doutor

Elizabete Wenzel de Menezes
Orientador/Presidente

Dan Linetzky Waitzberg
1° examinador

Carla Taddei de Castro Neves
2° examinador

Sandra Roberta Gouvea Ferreira Vivolo
3° examinador

Mauro Batista de Morais
4° examinador

DEDICATÓRIA

Ao meu amado marido e companheiro de sonhos.

Aos meus amados pais e irmãos.

AGRADECIMENTOS

A todos os voluntários, pela participação nessa pesquisa, sem eles esse trabalho não seria possível.

À Prof. Elizabete Wenzel de Menezes pela orientação, ensinamentos e oportunidades de aprendizado e crescimento durante a realização deste trabalho.

Ao Prof. Frederic Bushman pela oportunidade de realização de parte desta pesquisa e um aprendizado incrível em seu laboratório na *University of Pennsylvannia.*

Ao Christian e à Eliana pela co-orientação, se não de direito, de fato com certeza, durante a realização deste trabalho.

A todos os professores com os quais eu tive oportunidade de aprender durante a vida acadêmica e principalmente no doutorado, por terem colaborado na minha formação e amadurecimento.

Às minhas parceiras de projeto Eliana e Gabriela, e nossas super "auxiliares" sem as quais teria sido impossível: Aline, Bianca, Eliana Mazzini, Juliana, Maria Luiza e Samira Prado.

Aos amigos do laboratório – companheirismo e ajuda inestimáveis.

Aos amigos do LEA, do B17, B16, B15, B14, B13 e do HU que muito contribuíram na realização desta tese.

Aos amigos do *Bushman´s Lab*.

Aos funcionários da Faculdade de Ciências Farmacêuticas, por toda a colaboração.

Às "Farmiguinhas" pelo companheirismo e incentivo.

Aos amigos e familiares que de perto e de longe contribuíram muito.

Aos meus avós que mesmo sem nunca terem cursado a universidade, incentivaram a primeira escolha, precursora desta realização.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior pela concessão de bolsa de doutorado.

À FAPESP pelo auxílio ao projeto

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico pelo auxílio ao projeto e a concessão de bolsa de doutorado sanduíche.

“I am the master of my fate:
I am the captain of my soul”

William Ernest Henley

RESUMO

SARDÁ, F.A.H. Farinha de banana verde: efeitos fisiológicos do consumo regular sobre a fome/saciedade e microbiota intestinal em voluntários saudáveis. 2015. 221p. Doutorado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015.

Estudos com farinha de banana verde (FBV), rica em amido resistente, mostram efeitos positivos sobre a saciedade, resposta glicêmica e melhora do funcionamento intestinal. Entretanto, pouco se sabe sobre a capacidade da FBV em estimular seletivamente o crescimento e/ou atividades de microbiota intestinal benéfica e os efeitos fisiológicos do consumo habitual. No presente trabalho foi investigado o efeito da ingestão regular e descontinuada de FBV sobre a microbiota intestinal em voluntários saudáveis, bem como as interações com hormônios relacionados à fome e saciedade, funcionamento intestinal e homeostase da glicose. Para tanto foi realizado estudo de intervenção, duplo cego paralelo controlado com placebo, no qual voluntários saudáveis consumiram FBV ou maltodextrina, veiculadas através de sopa prontas congeladas, três vezes por semana e durante seis semanas. Os resultados evidenciaram que a FBV pode aumentar a saciedade, promover redução no aporte energético de refeições subsequentes (14%) e melhorar o funcionamento intestinal. Ao mesmo tempo reduz a secreção plasmática de insulina no jejum e o Índice HOMA2-RI em 20%, sinalizando aumento na sensibilidade à insulina. A análise da microbiota intestinal utilizando o rDNA 16S mostrou que existem dois grupos distintos de indivíduos, os quais respondem diferentemente ao consumo de FBV. O consumo de FBV por voluntários, cujo microbioma era mais abundante no gênero *Prevotella,* apresentou aumento de genes envolvidos em vias metabólicas relacionadas à degradação anaeróbia de carboidratos (794 *Kegg orthologs*, FDR=0,05), como as vias do metabolismo de amido e glicose, do butirato, propionato. Paralelamente outros genes indicaram redução de algumas vias metabólicas, incluindo a biossíntese de lipopolissacarídeos. Este mesmo grupo de voluntários apresentou gêneros microbianos positivamente relacionados com conteúdo de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), em padrão distinto do outro grupo de voluntários que consumiu FBV e do grupo Controle. Foi possível demonstrar que o consumo de FBV pode promover a modulação do microbioma em indivíduos saudáveis com enterótipos distintos, trazendo efeitos benéficos para a saúde humana.

Palavras-chave: amido resistente, hormônios gastrintestinais, ingrediente funcional, microbiota, sequenciamento de alta performance.

ABSTRACT

SARDÁ, F.A.H. Unripe banana flour: physiological effects of regular consumption on hunger/satiety and intestinal microbiota in healthy volunteers 2015. 221 p. Doctorate – Faculty of Pharmaceutical Sciences, University of São Paulo, São Paulo, 2013.

Studies with Unripe Banana Flour, rich in resistant starch, shave shown positive effects on satiety, glycemic response and improved intestinal function. Nevertheless, little is known about its capacity to selectively stimulate the intestinal microbiota's activity, or the physiological effects of its habitual consumption. This study investigated the effects of the regular, discontinued ingestion of UBF on the intestinal microbiome in healthy volunteers, as well as effects on hormones related to satiety, intestinal function and glucose homeostasis. To achieve these goals, a double blind, parallel, placebo controlled study was designed, in which healthy volunteers ingested UBF or maltodextrin added to a standardized frozen soup meal, 3 times a week for 6 weeks. The results showed that UBF can improve satiety, promote a reduction in energy intake at subsequent meals (14%) and improve intestinal function. At the same time, it reduces plasmatic secretion of fasting insulin and e the HOMA2-RI index by 20%, signaling an increase in insulin sensitivity. The analysis of the microbiome using the 16S rDNA gene showed that there are two clusters of individuals, which respond differently to the dietary intervention. The UBF consumption by volunteers with a *Prevotella* dominant microbiome showed an increase in genes related to anaerobic carbohydrate degradation (794 *Kegg orthologs*, FDR=0,05), such as members of the starch and glucose metabolism, propanoate metabolism and butyrate metabolism. At the same time, other genes were reduced, including the biosynthesis of lipopolysaccharides. The same volunteers presented several microbial groups positively correlated with the short chain fatty acids (SCFA) present in the fecal samples analyzed. This was a distinct pattern to that observed for the remaining volunteers. We demonstrated that the consumption of UBF can promote the overall health of the human host as well as the modulation of the intestinal microbiome in healthy individuals and that this effect is dependent on the enterotype present.

Keywords: resistant starch, gastrointestinal hormones, high-throughput sequencing, functional ingredient, microbiota.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABV - Amido de banana verde

AGCC - Ácidos graxos de cadeia curta

AGL - Ácidos graxos livres

ALD - Amido de lenta digestão

AR - Amido resistente

AR2 - Amido resistente tipo 2

AR3 - Amido resistente tipo 3

AR4 - Amido resistente tipo 4

ARD - Amido rapidamente Digerido

DCNT - Doenças crônicas não transmissíveis

DNA - Ácido desoxirribonucleico

DTU - *Diabetes Trial Unit*

EFSA - *European Food Safety Authority*

FA - Fibra alimentar

FAO - *Food and Agriculture Organization*

FBV - Farinha de banana verde

FDA – *Food and Drug Administration*

FDR – *False discovery rate*

FISH - Hibridização fluorescente *in situ*

FFAR2 – *Free fatty acid receptor 2*

FFAR3 – *Free fatty acid receptor 3*

FND - Fração não disponível

FOS - Fruto-oligossacarídeos

FSIVGTT - Teste intravenoso de tolerância à glicose (*standard frequently-sampled intravenous glucose tolerance test*)

FSM - Fibra solúvel de milho

FTI - frutanos tipo inulina

GLP-1 - Peptídeo semelhante ao glucagon 1

GOS - Galacto-oligossacarídeos

GP - Grau de polimerização

GSRS - *Gastrointestinal Symptom Rating Scale*

h - hora

HAM-AR2 - amido de milho com alto teor de amilose e AR2

HOMA - modelo de homeostase de glicose

HOMA2- RI - modelo de homeostase de glicose e resistência à insulina

IMC - índice de massa corporal

KEGG - Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes

LQBBMA - Laboratório de Química, Bioquímica e Biologia Molecular de Alimentos

MBV - Massa de banana verde

min - minuto

QUICKI - *Quantitative insulin sensitivity check index*

RDC - Resolução de diretoria colegiada

PBMH & PIF - Programa Brasileiro para a Modernização da Horticultura & Produção Integrada de Frutas

PCR - *Polymerase Chain Reaction*

PYY – Peptídeo YY

TTG - Teste de tolerância à glicose

WHO - *World Health Organization*

SUMÁRIO

APRESENTAÇÃO.....13
1 INTRODUÇÃO.....14
1.1 AMIDO RESISTENTE.....15
1.1.1 Aspectos da fermentação colônica.....18
1.1.2 Aspectos relacionados à saciedade.....19
1.1.3 Aspectos relacionados à homeostase da glicose.....23
1.1.4 Aspectos relacionados ao funcionamento intestinal.....25
1.1.5 Aspectos relacionados à microbiota intestinal.....27
1.2 FARINHA DE BANANA VERDE.....33
1.2.1 Avaliações fisiológicas da FBV.....34
1.3 JUSTIFICATIVA.....37
2 OBJETIVOS.....38
3 CAPITULOS.....39
3.1 Impacto de Farinha de banana verde sobre a saciedade, fome e homeostase da glicose.....40
3.2 Modulação de hormônios gastrintestinais após estudo intervencional duplo cego com carboidratos não disponíveis.....70
3.3 A composição da microbiota intestinal influencia a resposta à intervenção com farinha de banana verde.....98
3.4 Farinhas de banana verde disponíveis no mercado brasileiro: valores inesperados? 143
4 CONCLUSÕES.....168
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....169
6 REFERÊNCIAS DA INTRODUÇÃO.....170
7 APÊNDICES.....
Apêndice A – Validação do *Gastrointestinal Symptom Rating Scale* (GSRS).182
Apêndice B – Questionário de funcionamento intestinal (GSRS).....199
Apêndice C – Questionário diário - Hábito intestinal.....201
Apêndice D – Instruções para o preenchimento do recordatório 24 h.....203
Apêndice E – Triagem de voluntários para estudo clínico.....206
Apêndice F - Publicações ao longo do doutorado.....209

8 ANEXOS

Anexo A - Parecer CEP/FCF/194 - “Impacto da ingestão de ingrediente funcional sobre a saciedade e o funcionamento intestinal em voluntários saudáveis”.....211

Anexo B - Parecer CEP/FCF/18/2012 - “Impacto de produto com ingrediente funcional sobre o perfil de hormônios gastrintestinais relacionados à saciedade em voluntários saudáveis”.....217

Anexo C - Parecer CEP/HU/USP 1210/12 - “Impacto de produto com ingrediente funcional sobre o perfil de hormônios gastrintestinais relacionados à saciedade em voluntários saudáveis”.....220

APRESENTAÇÃO

A tese está constituída em sua primeira parte de INTRODUÇÃO, JUSTIFICATIVA e OBJETIVOS. Em seguida as metodologias e resultados estão apresentados em formato de CAPÍTULOS, que correspondem à versão em português de artigos científicos que foram ou serão enviados para publicação. A terceira parte contém as principais CONCLUSÕES e CONSIDERAÇÕES FINAIS.

Documentos e outras informações relevantes estão apresentados em APÊNDICES e ANEXOS.

1. INTRODUÇÃO

As doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) são um dos maiores desafios de saúde do século XXI, cujo enfrentamento, é prioritário para a WHO (2014). O plano de ações global 2013-2020 da WHO, estabeleceu 9 grandes objetivos para diminuir as mortes por DCNT, ajustável a cada país. No Brasil, o compromisso de prevenção e cuidado com as DCNT foi estabelecido através do lançamento do "Plano de Ações Estratégicas para o Enfrentamento das DCNT, 2011-2022", que prioriza e define ações e investimentos necessários à preparação do país para enfrentar e deter as DCNT e seus fatores de risco nos próximos dez anos. O Plano define três diretrizes estratégicas ou eixos de atuação: I. Vigilância, Informação, Avaliação e Monitoramento; II. Promoção da Saúde; e III. Cuidado Integral de DCNT. Nesse sentido aborda os quatro principais grupos de doenças (cardiovasculares, câncer, respiratórias crônicas e diabetes) e seus fatores de risco em comum modificáveis (tabagismo, álcool, inatividade física, alimentação inadequada e obesidade) (Brasil, 2011).

Globalmente, as DCNT são responsáveis por 68% do total mundial de mortes (56 milhões) em 2012 (WHO, 2014). Um levantamento recente, abrangendo os anos de 2006-2010, publicados em "Saúde nas Américas", da Organização Pan-Americana de Saúde (2012), aponta que no Brasil, as DCNT são um dos maiores desafios, pois em 2009 representaram 72,4% de todas as mortes.

Nesse contexto, alimentos e ingredientes funcionais com alto conteúdo de carboidratos não disponíveis, como o amido resistente (AR), têm mostrado potencial promissor para a redução do risco de incidência de DCNT (Lajolo; Menezes, 2006; WHO, 2002), em função da menor velocidade de digestão e absorção desses carboidratos. Por este motivo vem crescendo continuamente o interesse pelo aproveitamento biológico dos carboidratos, principalmente no que se refere ao AR, à fibra alimentar (FA), seus efeitos sobre a fisiologia intestinal (Cummings; Englyst, 1995; Hylla et al., 1998; Topping; Clifton, 2001; Nugent, 2005; Davis; Milner, 2009; Conlon et al., 2012) e a resposta glicêmica (Jenkins et al., 1998; Klosterbuer et al., 2012).

1.1 AMIDO RESISTENTE

A partir da descoberta de Berry (1986) de que uma fração do amido resistia ao processo de digestão durante a análise para a determinação do teor de fibra alimentar, surgiu grande interesse no amido resistente (AR), culminando na criação da EURESTA (*Flair Concerned Action on Resistant Starch*) que definiu AR como a soma do amido e de produtos de degradação do amido que resistem à digestão no intestino delgado de indivíduos saudáveis (Asp, 1994).

De acordo com Englyst e Macfarlane (1986) e com Gee et al. (1992), o AR pode, no entanto, ser fermentado no intestino grosso pela microbiota presente, apresentando comportamento similar ao da FA. A diferença em relação aos outros tipos de fibras é que as ligações químicas entre as unidades de glicose no AR são do tipo α, que podem ser hidrolisadas pela α-amilase presente no trato gastrintestinal humano, enquanto que as unidades de glicose dos componentes das FA são ligadas entre si por ligações β, as quais não podem ser hidrolisadas pelas enzimas do trato gastrintestinal.

Segundo Englyst et al. (1992) o amido pode ser classificado de acordo com a sua velocidade de digestão *in vitro*: amido de rápida digestão (ARD), amido de lenta digestão (ALD) e AR, que não é digerido. O ARD, quando submetido à incubação com amilase pancreática e amiloglicosidase a uma temperatura de 37°C, converte-se em glicose em 20 minutos, o ALD em 120 minutos nas mesmas condições, enquanto que o AR resiste à ação das enzimas digestivas e é subdividido em 4 tipos, de acordo com suas características:

- AR1: amido fisicamente inacessível, presente em grãos parcialmente triturados de cereais e leguminosas, tem sua resistência diminuída por trituração e pela mastigação;

- AR2: grânulos de amido nativo ou não gelatinizado, resistente à hidrólise por alfa-amilase, presente em batata crua, banana verde e amidos com alta concentração de amilose. Sofrem modificações em suas concentrações de acordo com o processamento dos alimentos e o cozimento;

- AR3: amido retrogradado, que pode ser proveniente de batatas, pães, flocos de milho cozidos e resfriados e de outros produtos com tratamento térmico prolongado ou repetitivo;

- AR4: amido quimicamente modificado, que não é encontrado naturalmente nos alimentos, somente em alimentos e bebidas aos quais foi adicionado. Este tipo foi relatado por Topping e Clifton (2001).

Nugent (2005) cita que, a partir dessa classificação, é possível concluir que a resistência do AR pode ser modificada por processos físicos como moagem, mastigação (AR1), processamento e cocção (AR2), e condições de processamento (AR3).

Para Cummings e Stephen (2007), o conhecimento de que a digestão do amido pode variar em extensão e em velocidade, foi um dos mais importantes desenvolvimentos na área de carboidratos dos últimos 30 anos, uma vez que tem implicações na resposta glicêmica produzida pelos alimentos, na fermentação que ocorre no intestino grosso e, consequentemente em doenças como a diabetes e a obesidade.

Historicamente, a maior parte do interesse em FA tinha foco nos polissacarídeos não amido, mas o AR tem adquirido cada vez mais reconhecimento por seu potencial em melhorar a saúde humana, sendo que o *Food Standards Australia New Zealand* (FSANZ, 2011) foi uma das primeiras autoridades regulatórias a incluir o AR na definição de FA (Bird et al., 2012; Menezes et al., 2013). Em 2012, o *Health Canada (*Health-Canada*,* 2012; Menezes et al., 2013), autoridade sanitária no Canadá, também incluiu o AR, ao adotar a definição de FA alinhada com a que foi proposta pelo *Codex Alimentarius* (2009).

O *Codex Committee on Nutrition and Foods for Special Dietary Uses (CCNFSDU)* coordenou as discussões para definição de FA. Na 30ª reunião do CCNFSDU (Codex Alimentarius, 2009) foi acordada, na ALINORM 09/32/26, a seguinte definição para FA: “Fibra alimentar é constituída de polímeros de carboidratos[1] com 10 ou mais unidades monoméricas[2], que não são hidrolisadas

[1] Quando derivada de plantas, a FA pode incluir frações de lignina e/ou outros compostos associados aos polissacarídeos na parede celular. Estes compostos também podem ser quantificados por método(s) específico(s) para FA. Entretanto, estes compostos não estão incluídos na definição de FA se forem extraídos e reintroduzidos nos alimentos. Nota concluída na 31ª reunião do CCNFSDU (Codex Alimentarius 2009).

[2] A decisão sobre a inclusão de carboidratos com 3 a 9 unidades monoméricas na definição de FA deve ser tomada pelas autoridades nacionais (Codex Alimentarius, 2009).

pelas enzimas endógenas no intestino delgado e que podem pertencer a três categorias:

- Polímeros de carboidratos comestíveis que ocorrem naturalmente nos alimentos na forma como são consumidos;

- Polímeros de carboidratos obtidos de material cru por meio físico, químico, ou enzimático, e que tenham comprovado efeito fisiológico benéfico sobre a saúde humana, de acordo com evidências científicas propostas e aceitas por autoridades competentes;

- Polímeros de carboidratos sintéticos que tenham comprovado efeito fisiológico benéfico sobre a saúde humana, de acordo com evidências científicas propostas e aceitas por autoridades competentes.

A principal controvérsia em relação à definição de FA adotada pelo *Codex Alimentarius* (2009) se refere à inclusão ou não de carboidratos com grau de polimerização (GP) de 3 a 9, sendo que esta decisão ficou a cargo das autoridades de cada país. Entretanto estas alternativas levam à possibilidade de se ter duas definições distintas, o que pode causar impacto negativo, globalmente, sobre a harmonização da informação nutricional de alimentos. Cabe salientar que existe na literatura dados para auxiliar nessa decisão, como a revisão realizada por Menezes et al. (2013). Esta revisão apresenta justificativas, baseadas em evidências científicas, para inclusão de oligossacarídeos na definição de FA, a qual aborda: aspectos fisiológicos; repercussão sobre métodos analíticos, e impacto sobre os consumidores e usuários de base de dados de composição de alimentos. Os autores salientam que a decisão de incluir os carboidratos não disponíveis de 3 a 9 GP pode levar a uma harmonização global das informações nutricionais, considerando que o principal foco é auxiliar o consumidor a escolher alimentos mais saudáveis.

De acordo com Nugent (2005), o AR pode melhorar a saúde intestinal e, assim, contribuir para a redução do risco de diversas doenças colônicas. Ao chegar ao cólon, o amido não digerido é utilizado como substrato de fermentação pelas bactérias anaeróbicas, que constituem 99% da microbiota intestinal.

Dentro deste contexto as propriedades benéficas do AR foram revisadas quanto aos principais aspectos, como apresentados a seguir.

1.1.1 Aspectos da fermentação colônica

Os componentes da dieta que não são digeridos por enzimas gastrintestinais e nem são absorvidos no intestino delgado chegam intactos ao intestino grosso, onde podem ser degradados pelos microorganismos do cólon. Este processo é denominado de fermentação colônica, o qual consiste na degradação anaeróbia dos substratos, principalmente carboidratos, pela microbiota intestinal (Goñi; Martín-Carrón, 2001).

Os principais substratos de fermentação para a microbiota colônica são a FA, os frutanos, o AR e outros compostos associados, tais como os polifenóis, e que compõem a fração não disponível (FND) (Saura-Calixto, 2006).

A fermentabilidade reflete a extensão da degradação do substrato pela microbiota colônica e a alta fermentabilidade do substrato geralmente significa uma alta produção *in vitro* de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) (Topping; Clifton, 2001), como acético, propiônico e butírico, e os gases hidrogênio (H_2), dióxido de carbono e, em alguns indivíduos, o metano (Nugent, 2005).

Os AGCC trazem benefícios para o organismo e se relacionam com a etiologia e menor risco de diferentes DCNT, como doenças cardiovasculares e câncer de cólon (Velázquez et al., 1996). Estudos *in vitro* e estudos com animais indicam que o propionato e o butirato, em particular, têm potencial para ajudar a manter a saúde do intestino e reduzir fatores de risco envolvidos no desenvolvimento de inflamação intestinal, colite ulcerativa e câncer de cólon (Dronamraju et al., 2009; Johnson, 2009).

Sugere-se que os efeitos benéficos podem ser obtidos especialmente pela ingestão de AR, por ser um grande produtor de butirato e de propionato, quando fermentado (Brouns et al., 2002). Conlon et al. (2012), avaliaram o efeito sobre a produção de AGCC, a proliferação celular e a expressão gênica no cólon de ratos de dieta ocidental (com 20% de proteínas e 19% de lipídios), composta por diferentes fontes de AR em relação a uma dieta padrão (com 13% de proteínas e 7% de lipídios), e verificaram que as dietas com AR diminuíram o dano ao DNA colônico em comparação com dietas ricas em proteína, além de ter sido apresentado maior teor de AGCC (total, butirato, propionato e acetato), indicando que o consumo de AR pode promover melhoria da saúde intestinal.

Jenkins et al. (1998), em estudo do tipo *crossover* (2 semanas de tratamento e 2 de *washout*) com 24 voluntários saudáveis mostraram que a suplementação de dietas com AR2 e AR3 (de amido de milho de alto teor de amilose) resultou em maior concentração de butirato em comparação ao controle, constituído por baixo teor de fibra.

Menezes et al. (2010) avaliaram a fermentação *in vitro* da massa de banana verde (MBV) e do amido de banana verde isolado (ABV), com 8% e 67% de amido resistente, e 10% e 1,3% de fibra alimentar, respectivamente, e verificaram seu alto potencial de fermentabilidade *in vitr*o, expresso em AGCC total, como 75% para MBV e 98% para FBV.

1.1.2 Aspectos relacionados à saciedade

De acordo com a literatura, diversos fatores podem atuar na regulação da ingestão energética e contribuir para o ganho de peso. Entre estes fatores, podem ser citados os neuronais, endócrinos, adipocitários e intestinais (Marx, 2003; Halpern et al., 2004).

O apetite pode ser dividido em três componentes: fome; saciação e saciedade. A fome está relacionada às sensações que promovem o consumo dos alimentos e envolve fatores metabólicos, sensoriais e cognitivos. A saciação está relacionada com a diminuição de apetite durante o consumo e pode ser quantificada pela duração ou tamanho da refeição. A saciedade refere-se à próxima refeição, podendo reduzir seu volume ou diminuir o intervalo de tempo entre elas, sendo estes seus parâmetros de avaliação (Burton-Freeman, 2000; Mattes et al., 2005)

A absorção, ou mesmo a presença de alimento no trato gastrintestinal, contribui para modulação do apetite e para regulação de energia. O trato gastrintestinal possui diferentes tipos de células secretoras de peptídeos que, combinados a outros sinais, regulam o processo digestivo e atuam no sistema nervoso central para a regulação da fome e da saciedade (Sainsbury et al., 2002).

Sinais orexígenos promovem anabolismo e aumento da ingestão alimentar pela sensação de fome enquanto sinais anorexígenos promovem catabolismo e redução da ingestão alimentar pela sensação de saciedade

A sinalização ocorre por meio dos nervos periféricos (como pelas fibras vagais aferentes) e por meio de receptores. Os principais moduladores são colecistoquinina

(CCK), peptídeo YY (PYY), grelina, peptídeo semelhante ao glucagon 1 (GLP-1) e oxintomodulina (OXM) (Sainsbury et al., 2002).

A grelina é sintetizada pelas células da camada mucosa da região fúndica do estômago. Além das células do estômago, uma proporção menor de grelina é sintetizada no hipotálamo, duodeno, coração, rins e nos pulmões. Este hormônio é um dos mais importantes sinalizadores para o início da ingestão alimentar (Konturek et al., 2004).

A grelina, além de aumentar o apetite, também estimula as secreções digestivas e a motilidade gástrica. No entanto, em sujeitos obesos os níveis de grelina são baixos e sua concentração pós-prandial não se modifica em resposta à ingestão alimentar. As razões pelas quais os indivíduos obesos não apresentam mudança nos níveis plasmáticos de grelina após a ingestão alimentar ainda não estão esclarecidas (Romero; Zanesco, 2006; Pimentel et al., 2009).

A produção de peptídeo YY (PYY), pelas células L do intestino é estimulada pelo consumo de alimentos e sua secreção está relacionada ao conteúdo energético da dieta; produz sinais para redução da ingestão, levando à sensação de plenitude e saciedade. O PYY é liberado logo após a ingestão de alimentos, assim é provável que esteja sob controle neural, pois isso ocorre antes dos nutrientes ingeridos chegarem ao intestino delgado e cólon distal (Druce et al., 2004; Wren; Bloom, 2007; Woods;D'Alessio, 2008; Cani et al., 2009). É um inibidor de ingestão alimentar. Obesos apresentam menor elevação dos níveis de PYY pós-prandial, especialmente em refeições noturnas, levando à ingestão calórica maior (Konturek et al., 2004).

O GLP-1, liberado pelo intestino durante a digestão e absorção de alimentos e metabolizado pela enzima dipeptidil peptidase 4 (DPP-4), possui ação insulinotrópica que contribui para a manutenção da glicemia, constituindo, portanto, um alvo terapêutico para o tratamento do diabetes *melittus* tipo II (Romero; Zanesco, 2006; Pimentel et al., 2009).

A Exenatida foi a primeira terapia baseada em GLP-1, aprovada pelo FDA e lançada no Estados Unidos, em 2005, seguida por outros medicamentos, que t~em demonstrado eficácia comparável a insulina, com benefício adicional de perda de peso sem episódios de hipoglicemia, entretanto o uso a longo prazo tem levantado questões sobre os efeitos deletérios ao pâncreas exógeno (Butler et al., 2013). Há alguns medicamentos como liraglutida (análogo de GLP-1), exenatida (agonista dos receptores de GLP-1) e linagliptina (inibidor de DPP-4), entre outros, aprovados para

utilização no tratamento de diabetes tipo II no Brasil, pela ANVISA, entretanto foi publicado um alerta de segurança, emitido pelo Núcleo de Farmacovigilância do Centro de Vigilância Sanitária da Secretaria de Estado de Saúde de São Paulo e também pelo FDA, indicando possível associação entre o uso dessas terapias e o aumento de risco de pancreatite e neoplasias pancreáticas (CVS-SES-SP, 2014).

A homeostase energética é controlada por um sistema neuro-humoral que minimiza o impacto de pequenas flutuações no balanço energético. A leptina e a insulina são elementos críticos desse controle e são secretados em proporção à massa adiposa (Velloso, 2006; Fonseca-Alaniz et al., 2007).

A insulina é produzida pelas células beta do pâncreas, e a sua concentração sérica também é proporcional à adiposidade. Com seu efeito anabólico, a insulina: aumenta a captação de glicose, e a queda da glicemia é um estímulo para o aumento do apetite (Guyton, 1992; Krause et al., 2005). Estudos experimentais demonstraram que a insulina tem uma função essencial no sistema nervoso central para induzir a saciedade, aumentar o gasto energético e regular a ação da leptina (Velloso, 2006; Fonseca-Alaniz et al., 2007).

Umas das formas de controle de peso é a redução da energia ingerida, porém alimentos isoenergéticos podem produzir efeitos fisiológicos distintos que refletem variados efeitos na saciedade, termogênese, estocagem de carboidratos e lipídios (Holt et al., 1995). Dessa forma, um alimento que produza maior saciedade, ou seja, eleve o tempo em que um indivíduo sentirá fome entre duas refeições, pode ser utilizado como fator de controle de peso corporal. Há evidências, também, que o elevado consumo de FA pode ser favorável ao controle de peso (WHO/FAO, 2003).

Cani et al. (2006; 2009) verificaram que a suplementação com prebióticos promoveu saciedade (diminuindo a fome e a ingestão energética em humanos), aumentou a concentração de GLP-1 e PYY, além de ter aumentado a excreção de hidrogênio (H_2), um marcador da fermentação da microbiota intestinal. Delzenne et al. (2013) enfatizam que os nutrientes com potencial prebiótico no intestino promovem a liberação de hormônios gastrintestinais que controlam o apetite, podendo auxiliar na saúde do hospedeiro, em indivíduos com excessivo consumo de alimentos e obesidade. No Quadro 1 podem ser observados alguns exemplos da diversidade e peculiaridades dos efeitos da FA sobre a saciedade e os hormônios gastrintestinais.

A ingestão de AR2 (HAM-AR2), em dose única (48 g) foi avaliada em voluntários saudáveis e não foi verificado aumento de concentração de GLP-1 (Bodinham et al., 2013). Os efeitos da ingestão de AR sobre a saciedade, tem sido relatados em estudos de curta duração (Willis et al., 2009; Anderson et al., 2010; Bodinham et al., 2010), já estudos dos efeitos de ingestão de médio e longo prazo são escassos.

Quadro 1. Efeitos de diferentes tipos fibra alimentar (FA) sobre saciedade e hormônios gastrintestinais

Fonte FA /AR	PYY	Grelina	Saciedade	Tipo e duração do ensaio	Estudo
Beta - glucanas	Aumento área sob a curva (ASC) (16%).	Reduziu ASC (60-180 min) (23%).	Redução da ingestão energética (IE) (19%) almoço subsequente.	Uma refeição. Medições após consumo. Voluntários saudáveis (n=14).	(Vitaglione et al., 2009)
	Aumento ASC	-	-	Uma refeição. Medições após consumo. Voluntários com sobrepeso (n=14).	(Beck et al., 2009)
Inulina	-	Redução em 4,5 h e 6 h	-	Uma refeição. Medições após consumo. Voluntários saudáveis (n=12)	(Tarini; Wolever, 2010)
Oligofrutose	Tendência em aumentar ASC do PYY	-	Redução na IE, e tASC450 mins da fome e na motivação para comer	30 g/dia/6 semanas. Voluntários com sobrepeso e obesidade (n=22)	(Daud et al., 2014)

Estudos em animais demonstraram que a expressão dos hormônios de saciedade, como PYY e GLP-1, é influenciada pela ingestão de AR (Keenan et al., 2006; Zhou et al., 2006; Zhou et al., 2008). Embora não se conheça o mecanismo do controle do apetite, estima-se que a fermentação colônica esteja envolvida. A expressão gênica e o nível plasmático destes hormônios aumentaram após a ingestão de AR e permaneceram elevados por 24 h, sendo que os autores sugerem que a fermentação do AR foi responsável pela regulação dos hormônios, uma vez que a produção de AGCC no intestino grosso foi associada ao aumento da expressão gênica de pro-glucagon e PYY (Zhou et al., 2008).

1.1.2 Aspectos relacionados à homeostase da glicose e resposta glicêmica

A capacidade do AR em produzir reduzido aumento da resposta glicêmica vem sendo examinada e, embora os métodos de avaliação variem, há evidências deste efeito em ensaios de curta duração com voluntários saudáveis (Behall et al., 1988; Robertson et al., 2003; Anderson et al., 2010; Menezes et al., 2010) bem como da habilidade de reduzir insulina de jejum (van Amelsvoort; Weststrate, 1992) e também aumentar sua sensibilidade (Robertson et al., 2003). Haub et al. (2010) compararam o efeito da ingestão de uma única dose de AR2 (HAM-AR2) e de AR4, em relação à dextrose (solução com 30 g), e verificaram que a resposta glicêmica foi menor para os dois tipos de AR, mas a resposta do AR4 foi significativamente menor do que o AR2. Já quando foram comparados dois novos tipos de AR4 em relação à dextrose (solução com 50 g), não houve diferença na resposta glicêmica (Haub et al., 2012).

O “Comitê de produtos dietéticos, nutrição e alergias” da *European Food Safety Authority* (EFSA) publicou uma opinião favorável em relação à substituição do amido disponível em alimentos de alto conteúdo de carboidratos por AR2 (proveniente de amido de milho de alto teor de amilose, entre 50% e 90%), o qual tem a capacidade de reduzir a resposta glicêmica pós-prandial quando substituído o amido disponível em alimentos de alto conteúdo de carboidratos. O Comitê concluiu que há uma relação causa-efeito entre a ingestão de AR, de qualquer fonte, quando substitui o amido disponível em alimentos de panificação, e a redução na resposta glicêmica pós-prandial (EFSA, 2011).

Em estudos com ingestão prolongada de AR2 (de 4 a 12 semanas) de amido de milho com alto teor de amilose, é possível verificar que os efeitos sobre a homeostase da glicose não são uniformes. Um estudo, com ingestão diária de 12 g de AR2 ao longo de 6 semanas, não evidenciou alterações na glicose e insulina de jejum, ou índices calculados a partir destes valores (Penn-Marshall et al., 2010), enquanto em outros estudos pode ser verificado o aumento da sensibilidade à insulina (Johnston et al., 2010; Maki et al., 2012; Robertson et al., 2012).

1.1.3 Aspectos relacionados ao funcionamento intestinal

Vários estudos apresentados na revisão de Grabitske e Slavin (2008) indicaram que, como outras FA, o AR também aumenta o peso das fezes e a frequência de evacuações, além de reduzir a consistência do conteúdo fecal. O AR favoreceu o trânsito intestinal, apresentando variações de acordo com o tipo de AR ingerido. No entanto, o aumento de sintomas gastrintestinais foi associado ao consumo superior a 30 g/dia de AR. O consumo de 4 diferentes fontes de AR (batata, banana verde, trigo e milho) durante 15 dias, por 12 voluntários saudáveis, aumentou o peso das fezes e a frequência de evacuações (Cummings et al., 1996).

Embora a ingestão de AR na Europa e América Latina seja reduzida (entre 3 e 6 g/dia) (Menezes et al., 2001), se comparada ao consumo em outros continentes como a Ásia (8 a 19 g/dia) (Goñi; Martín-Carrón, 2001), existe considerável potencial para o aumento da ingestão deste componente através de alimentos e produtos alimentícios com elevado teor de AR (Buttriss; Stokes, 2008; Menezes et al., 2001)

Em estudos com ingestão prolongada de AR (de 1 a 3 semanas), conforme resumo de 4 estudos com AR (Quadro 2), é possível verificar que os efeitos sobre o funcionamento intestinal não são uniformes. O consumo de 20 g/dia de AR3, por 20 voluntários saudáveis durante 7 dias (estudo randomizado, duplo cego, *crossover*, com *washout* de 3 semanas entre as intervenções), não apresentou diferença no conteúdo de AGCC em relação ao grupo controle (maltodextrina), já o tratamento com fibra de milho solúvel (FMS), apresentou aumento significante de 15% na fermentação (Klosterbuer et al., 2013). Neste mesmo estudo foi verificado que o AR3 aumentou a frequência intestinal, mas não alterou a consistência das fezes, em relação ao controle, e nem houve aumento de sintomas gastrintestinais como flatulência.

Quadro 2. Revisão de ensaios clínicos com amido resistente (AR)

Fonte AR	Controle	Dose diária	Metodologia de análise AR	Tipo e duração do ensaio	Voluntários	Metodologia	Resultados não significantes	Resultados significantes	Autores
AR3 (amido de milho de alto teor de amilose tratado com alto aquecimento)	- Maltodextrina (placebo) - Pululan -Fibra de milho solúvel (FSM)	- 25 g/dia, sozinho ou em combinação com 5 g de Pululan	AOAC 991.43 e AOAC 2001. 03	Duplo cego. *Crossover* 7 dias de tratamento e 21 dias de *washout*	20 voluntários saudáveis (10 homens e 10 mulheres); idade entre 18 e 60 anos, IMC entre 18,5 e 27	Questionário de sintomas gastrintestinais, frequência e consistência das fezes; Amostra de fezes para análises de peso, pH e perfil de AGCC	O peso e a consistência das fezes não diferiu entre AR3 e controle. Não foi reportado aumento de sintomas gastrintestinais negativos.	A frequência das fezes aumentou. Foi verificado aumento na concentração de propionato nas fezes	(Klosterbuer et al., 2013)
AR3 (amido de milho de alto teor de amilose tratado com alto aquecimento)	- Maltodextrina (placebo) - Pululan -Fibra de milho solúvel (FSM) - Dextrina de fibra solúvel (SFD)	- 12 g/dia em 2 porções de 6 g.	AOAC 991.43 e AOAC 2001. 03	Simples cego. *Crossover* 14 dias de tratamento e 21 dias de *washout*	20 voluntários saudáveis (10 homens, com idade média de 32 anos e IMC médio de 24) e 10 mulheres (idade média de 38 e IMC médio de 26)	Questionário de sintomas gastrintestinais, marcadores séricos de doenças crônicas e perfil químico das fezes	Não foi reportado aumento de sintomas gastrintestinais negativos. OS AGCC não diferiram entre os tratamentos. Não houve alteração na consistência das fezes	Houve diminuição significante na % de propionato, em relação ao total de AGC, com leve aumento na % de acetato e butirato	(Stewart et al., 2010)
AR3	Farelo de trigo	- 25 g/dia (em 2 porções: 1 *muffin* e um cereal matinal)	Não disponível	Duplo cego. *Crossover* 2 semanas de *washout*, 14 dias de tratamento, 1 semana de *washout*, 14 dias de tratamento	14 voluntários (6 mulheres e 8 homens), idade de 20 a 45 anos; IMC médio de 28, (ninguém com IMC >40)	Peso das fezes, escala de Bristol, questionários de sintomas gastrintestinais	Não houve alteração na frequência e consistências das fezes.	Aumento do peso fecal, em média, de 130 g/dia para 164 g/dia	(Maki et al., 2009)
AR3 (amido retrodegradado) – *ActistarRM,* com no mínimo 50% do conteúdo com grau de polimerização entre 10 e 35	Amido digerível (Placebo)	Doses diárias crescentes até 40g/dia, durante 14 dias e mais 7 dias de 60 g/ dia.	AOAC 2002.02	Duplo cego 21 dias de tratamento	39 voluntários saudáveis entre 18 e 24 anos (18 homens, com IMC médio de 24) e 21 mulheres (com IMC médio de 23)	Questionário de sintomas gastrintestinais, frequência e consistência das fezes	Não houve aumento nos sintomas de náuseas, gases e borborigmos.	Aumento significante na frequência de movimentos intestinais e maior frequência de fezes aquosas	(Storey et al., 2007)

1.1.3.1 Avaliação do funcionamento intestinal

A avaliação do funcionamento gastrintestinal pode ser realizada através de questionários, alguns mais gerais como o *Bowel Disease Questionnaire (BDS)* (Talley et al., 1989)*, Bowel Function in the Community* (Reilly et al., 2000; Santos et al., 2014), e outros mais específicos, como o *Gastrointestinal Quality of Life Index* (GQLi) (Eypasch et al., 1995) e *Gastrointestinal Symptom Rating Scale* (GSRS) (Svedlund et al., 1988). Entre as poucas opções disponíveis validadas em português estão os questionários *Bowel Disease Questionnaire* (BDS) (Aires; Werneck, 2006) e *Bowel Function in the Community* (Domansky; Santos, 2007). No entanto, cada um é constituído por aproximadamente 70 questões e referem-se a sintomas de doenças e hábitos gastrintestinais manifestados no período relativo ao ano anterior. Assim a aplicação desses instrumentos em estudos de intervenção de curta duração não é adequada, devido ao longo período avaliado. Nesse sentido, o *Gastrointestinal Symptom Rating Scale* (GSRS) é um instrumento mais indicado, pois refere-se ao período da última semana, além de demandar curto tempo de preenchimento e apresentar questões de fácil entendimento sobre sintomas gastrintestinais.

O questionário *Gastrointestinal Symptoms Rating Scale* (GSRS) foi desenvolvido para avaliar sintomas de distúrbios gastrintestinais (Svedlund et al., 1988), a partir de estudos e experiência clínica de tais sintomas. Ele é composto por 15 questões, distribuídas em 5 domínios: dor abdominal (dor de fome, dor abdominal e náuseas), síndrome do refluxo (regurgitação ácida e azia), síndrome da diarreia (diarreia, fezes moles e necessidade urgente de evacuação), síndrome da indigestão (borborigmos, distensão abdominal, eructação e flatulência) e síndrome da constipação (constipação, fezes endurecidas e sensação de evacuação incompleta) (Revicki et al., 1998). O GSRS apresenta escala Likert de resposta em 7 pontos, variando de 1 (nenhum desconforto/nenhuma vez) a 7 (desconforto muito forte/muitíssimas vezes).

O GSRS já foi traduzido e validado para o inglês (Revicki et al., 1998), alemão, húngaro, italiano, polonês, espanhol e africâner (Kulich et al., 2008), e vem sendo amplamente utilizado, para avaliar o funcionamento intestinal em estudos intervencionais (Riezzo et al., 2012; Kalaitzakis et al., 2013; Kurppa et al., 2014), em estudos longitudinais (Salmean et al., 2013) e avaliações de sintomas gastrintestinais em crianças celíacas (Gatti et al., 2013).

A escala de Bristol (*Bristol Stool Form Scale*) foi desenvolvida por um grupo de gastroenterologistas da Universidade de Bristol, localizada no Reino Unido, como ferramenta para auxiliar profissionais da saúde a avaliar a consistência e aparência das fezes. A escala classifica as fezes em sete tipos, variando entre fezes secas separadas em caroços até fezes totalmente líquidas (O'Donnell et al., 1990).

Esta escala vem sendo utilizada como ferramenta em diversos estudos, avaliando indivíduos com síndrome do intestino irritável (Kim et al., 2003; Zanini et al., 2012) e com constipação (Riezzo et al., 2012; Waitzberg et al., 2013), entre outros.

1.1.4 Aspectos relacionados à microbiota intestinal

O equilíbrio da microbiota intestinal tem um papel chave sobre o bem estar e a saúde humana. Esse equilíbrio é chamando de normobiose, que é o estado em que os microorganismos com potencial efeito benéfico à saúde predominam em número sobre os que potencialmente seriam prejudiciais (Roberfroid et al., 2010), sendo disbiose o seu estado oposto. A arquitetura hipotética da constituição de uma microbiota saudável foi proposta pela primeira vez em 2012 (Huttenhower et al., 2012), mas as fronteiras referentes ao momento e processo de instalação da disbiose são um grande desafio (Petersen; Round, 2014).

A investigação do microbioma humano (espécies microbianas, seus genes e genomas que habitam o corpo humano) tem sido alvo de intensas investigações, principalmente através do *Human Microbiome Project (HMP*), promovidas pelo *National Human Genome Research Institute* dos Estados Unidos (Consortium, 2012). Os resultados iniciais têm evidenciado um alto grau de diversidade entre indivíduos e no mesmo indivíduo ao longo da vida (Proctor, 2012).

Roberfroid et al. (2010) em um amplo documento de revisão realizado por *experts* da academia e da indústria sobre os conceitos de prebióticos e seus efeitos à saúde, propuseram uma expansão da ideia original do conceito de prebióticos para algo que eles chamaram de “efeitos prebióticos”, definido como: “estimulação seletiva do crescimento e/ou atividades de um ou um número limitado de gêneros/espécies microbianas na microbiota intestinal que confira benefícios à saúde do hospedeiro”.

Os principais resultados fisiológicos associados aos efeitos prebióticos são melhora e/ou estabilização da composição da microbiota intestinal, estimulação das funções intestinais, que incluem consistência, regularidade e quantidade de fezes, modulação da produção de peptídeos gastrintestinais, metabolismo de energia, saciedade, redução do risco de obesidade, de diabetes tipo 2 e da síndrome metabólica (Gibson et al., 2004; Roberfroid et al., 2010).

Todo componente alimentar que alcança o cólon intestinal intacto, total ou parcialmente, é um potencial candidato a ser classificado como prebiótico, mas os critérios, segundo Gibson et al. (2004) que precisam ser atingidos são: 1- resistência à acidez estomacal, à hidrólise por enzimas digestivas e à absorção gastrintestinal; 2- fermentação pela microbiota intestinal; 3- estimulação seletiva do crescimento e /ou atividades de uma ou mais bactérias intestinais beneficamente associadas com a saúde e o bem-estar.

O extenso levantamento realizado por Roberfroid et al. (2010) mostrou que várias substâncias vêm sendo testadas e indicadas pelos seus efeitos prebióticos, mas raros são os casos em que os estudos contemplam o terceiro critério, os quais envolvem testes clínicos em humanos. Embora todos os prebióticos possam ser classificados como FA, nem todas as FA são prebióticas, e é o terceiro critério que faz a separação entre prebióticos e a FA em geral (Brownawell et al., 2012).

Os frutanos tipo inulina (FTI) e os galacto-oligossacarídeos (GOS) são os que mais vêm sendo testados em ensaios clínicos, que vêm confirmando seus efeitos prebióticos, evidenciados por sua ação sobre a microbiota intestinal, particularmente *Lactobacilli* e *Bifidobacteria*, após períodos curtos de tempo e em doses razoavelmente baixas (Davis; Milner, 2009; Roberfroid et al., 2010).

A microbiota fecal não representa a microbiota do trato gastrintestinal como um todo (Zoetendal et al., 2002), mas reflete o conteúdo do cólon em termos representativos (Macfarlane et al., 1998), justificando sua utilização como fonte de informação e conhecimento. O papel da microbiota intestinal na saúde humana tem recebido atenção crescente ao longo dos últimos anos, e métodos baseados em biologia molecular têm sido utilizados para analisar a microbiota fecal, possibilitando a identificação e a caracterização metabólica de vários microorganismos (Roberfroid et al., 2010; Wu et al., 2010). Muitos estudos avaliaram a ação de prebióticos e da FA sobre as bactérias intestinais, aumentando o interesse sobre a atuação da dieta

em relação à microbiota presente no intestino (Carvalho-Wells et al., 2010; Hooda et al., 2012; Rodríguez-Cabezas et al., 2010; Wu et al., 2011).

Até recentemente, para a identificação e caracterização de bactérias do trato gastrintestinal humano, eram utilizados métodos convencionais, baseados no cultivo de bactérias, sendo que já foram identificadas mais de 400 espécies diferentes (Rajilić-Stojanović et al., 2007). Entretanto, como grande parte da microbiota não é cultivável, estes métodos vinham se mostrando inadequados para determinar a real variedade da microbiota intestinal. Assim com o desenvolvimento de métodos moleculares, independentes de cultivo, tem sido possível uma análise mais detalhada da diversidade da microbiota intestinal, o que tem revelado que a microbiota intestinal humana é um ecossistema ainda mais complexo do que se esperava (Gerritsen et al., 2011).

As técnicas independentes de cultivo têm se mostrado cada vez mais apropriadas, considerando sua capacidade de melhor caracterizar e especificar o microorganismo e não apresentar as limitações dos métodos convencionais (Zoetendal et al., 2006), pois a maioria dessas técnicas moleculares tem como base a utilização da região altamente conservada do 16S do RNA ribossomal dos genes bacterianos, sendo que as mais utilizadas são: reação em cadeia da polimerase quantitativa (qPCR - *quantitative polymerase chain reaction*); hibridização *in situ* com fluorescência (FISH - *Fluorescent In Situ Hybridization*); polimorfismo do tamanho e composição de bases de fragmentos terminais de restrição (T-RFLP- *terminal-restriction fragment length polymorphism*) e a eletroforese em gel com gradiente de desnaturação (DGGE - *denaturing gradiente gel electrophoresis*).

Os últimos desenvolvimentos em tecnologias de alto rendimento (*high-throughput technologies*), como o sequenciamento de nova geração (NGS- *next generation sequencing*) tem permitido uma análise mais profunda sobre a diversidade filogenética da microbiota intestinal (van den Bogert et al., 2011; Zoetendal et al., 2008).

A microbiota do trato gastrintestinal humano é composta na sua vasta maioria por bactérias, sendo que, tanto estudos independentes como dependentes de cultivo, têm mostrado que a maioria da população bacteriana de divide em dois filos: Bacteroidetes e Firmicutes (Eckburg et al., 2005; Mariat et al., 2009; Arumugam et al., 2011). O filo Bacteroidetes contempla os gêneros *Bacteroides* e *Prevotella*, provavelmente os melhores estudados. O filo Firmicutes é atualmente o filo

bacteriano mais amplo, com mais de 200 gêneros, e a maioria das bactérias detectadas no trato gastrintestinal pertence primariamente aos dois grupos principais: o *Clostridium coccoides* (também conhecido como *Clostridium cluster* XIVa) e o *Clostridium leptum* group (também conhecido como *Clostridium cluster* IV) (Gerritsen et al, 2011; Mariat et al., 2009). Além dos dois principais filos, também já foram detectadas, no trato gastrintestinal, representantes de outros filos, como Proteobacteria, Actinobacteria, Fusobacteria, Spirochaetes, Verrucomicrobia e Lentisphaerae (Rajilić-Stojanović et al., 2007; Zoetendal et al., 2008).

Os efeitos das interações da microbiota intestinal sobre a saúde humana têm sido intensamente estudados nos últimos anos, gerando conhecimento amplo mas muitas vezes controversos. Assim, algumas revisões têm sido feitas com o objetivo de ajudar a organizar e esclarecer as contribuições da microbiota intestinal sobre o risco cardiovascular (Moraes et al., 2014), ganho de peso (Cardinelli et al., 2015) e doenças metabólicas (Delzenne et al., 2013), entre outras.

Wu et al. (2011) verificaram que indivíduos que consumiam dietas com alta concentração de proteína e gordura animal apresentaram predominantemente o enterotipo *Bacteroides*; entretanto, indivíduos com dieta rica em carboidratos apresentaram predominância do enterotipo *Prevotella*. O mesmo grupo de autores, em estudo posterior, focando na análise de fungos e bactérias *Archaea*, verificou o gênero *Methanobrevibacter* como o mais prevalente, estando presente em 30% das amostras, de 98 indivíduos (Hoffmann et al., 2013).

Carvalho-Wells et al. (2010) realizaram um estudo *crossover* (3 semanas de consumo e 3 semanas de *washout*) com 32 voluntários saudáveis, comparando cereal integral derivado de milho (14 g de FA por porção de 48 g) e cereal padrão (com 1,2 g de FA por porção de 48 g), e verificaram um aumento significante da população de *Bifidobacterium* spp ao final do período de consumo, e um retorno aos níveis anteriores ao final do *washout.* Os outros microorganismos, também avaliados através da técnica FISH, *Bacteroides* spp, sub-grupo *Clostridium histolyticum/perfringes*, sub-grupo *Lactobacillus-Enterococcus* e bactérias total, não apresentaram diferenças entre os dois grupos.

Hooda et al. (2012) avaliaram os efeitos de novas fibras, como a polidextrose e fibra solúvel de milho (FSM) sobre o microbioma intestinal humano, indicando a aplicação potencial destas FA como prebiótico. Através da utilização de pirosequenciamento (454 Roche), os autores verificaram que houve uma mudança

na microbiota dos adultos que ingeriram a FSM, com destaque para o aumento significativo de *Lactobacillus*.

Delzenne et al. (2013), em recente revisão de dados experimentais em animais e estudos observacionais em obesos, descreveram como os nutrientes com potencial prebiótico (ou “nutrientes colônicos”) interagem com o metabolismo do hospedeiro no contexto da obesidade. Os carboidratos com efeitos prebióticos e alta fermentabilidade modificam a composição da microbiota intestinal favorecendo bactérias envolvidas no controle da função da barreira intestinal e imunidade do hospedeiro. No intestino, os “nutrientes colônicos” melhoram a barreira intestinal e promovem a liberação de hormônios gastrintestinais que controlam apetite, homeostase da glicose e inflamação sistêmica. Adicionalmente, esses carboidratos podem reduzir o efeito negativo da esteatose hepática, resistência à insulina e adiposidade pela modificação da expressão de genes nos tecidos. Dessa forma, os mecanismos envolvidos sugerem que as mudanças que ocorrem na microbiota intestinal decorrentes do tratamento com prebiótico, são muito mais amplos que o simples aumento de *Bifidobacteria* como originalmente descrito. Em relação às perspectivas futuras, os autores sinalizam a necessidade de estudos adequados de intervenção com humanos com “nutrientes colônicos”, como FA, prebióticos e outros, capazes de promover bactérias benéficas para confirmar a relevância destes nutrientes no controle do sobrepeso ou obesidade.

O AR tem atraído interesse para seus efeitos fisiológicos e a comprovação de seus possíveis efeitos prebióticos, tanto em revisões publicadas em revistas científicas (Fuentes-Zaragoza et al., 2011; Slavin, 2013), como em publicações direcionadas para determinado país, como a Austrália (Landon et al., 2012). Entretanto, ainda não há protocolos padronizados para determinar o tipo de teste a ser realizado para comprovar atividade prebiótica; isso leva a uma grande variedade de condições, tais como: tamanho da amostra; duração do estudo, dose do componente em avaliação e método de coletar as amostras fecais e quantificar a microbiota, condições que interferem na comparação dos resultados (Brownawell et al., 2012; Slavin, 2013).

Um breve levantamento realizado na base de dados PubMed, em março de 2015, sem restrição de ano de publicação, com as palavras chave “resistant starch” e “microbiota”, revelou 10 revisões e reduzido número de estudos biológicos, sendo

17 de intervenção em animais, variando entre camundongos, ratos e porcos, e somente 2 em humanos saudáveis e um em homens obesos.

Rodriguez-Cabezas et al. (2010) avaliaram a combinação de FOS e AR em ratos, relatando efeitos prebióticos adicionais na combinação dos dois componentes, com aumento de *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* nos conteúdos cecais e colônicos.

Martinez et al. (2010) compararam os efeitos do consumo de AR2 (amido de milho de alto teor de amilose) e AR4 (amido de trigo modificado), veiculados através de biscoitos tipo “cracker”, durante 3 semanas, por voluntários saudáveis, e verificaram efeitos diferentes sobre a microbiota intestinal humana, avaliado através de pirosequenciamento da região do 16S, sugerindo influência da estrutura química do AR e sua “acessibilidade” pelas bactérias.

Walker et al. (2011) avaliaram o efeito de dietas controladas sobre a microbiota de 14 voluntários com sobrepeso, durante 3 semanas: dieta controle; dieta rica em AR3; e dieta rica em farelo de trigo. No nível de filo, não houve nenhum efeito significante sobre as proporções de Bacteroidetes (21,5%), Firmicutes (70,6%) e Actinobacteria (4,9%) ou Proteobacteria (3%). *Eubacterium rectale* (bactéria \produtora de butirato) e *Ruminococcus bromii*, do filo *Firmicutes*, tiveram aumento de proporção no grupo que consumiu AR3, mas não foi verificada alteração em *Bifidobacterium*.

Bird et al. (2010) argumentam, a partir de dados epidemiológicos que mostram alto consumo de AR e níveis elevados de butirato fecal em populações com baixo risco de doenças do intestino grosso, que o papel prebiótico do AR não estaria no conceito formalmente aceito, mas em sua capacidade de estimular bactérias capazes de produzir AGCC, principalmente butirato, e seu consequente benefício para o hospedeiro, sendo que seu consumo deveria ser estimulado pelas políticas públicas de saúde. Em uma revisão recente sobre o papel dos prebióticos com um foco nos aspectos ecológicos e funcionais da microbiota relevantes ao hospedeiro, os autores concluem que o conceito de prebiótico precisa ser revisado e especialmente ampliado para poder preservar e fortalecer sua relevância como abordagem terapêutica e nutricional (Bindels et al., 2015)

A farinha de banana verde, que é rica em AR, ainda não foi estudada no que se refere às alterações na microbiota fecal.

1.2 FARINHA DE BANANA VERDE (FBV)

O Brasil é o quinto maior produtor mundial de banana, com 6,9 milhões de toneladas por ano (FAO, 2014), porém exporta somente 130 mil toneladas por ano (Lima et al., 2012). Do total produzido no país, aproximadamente 30% são perdidos somente na fase pós-colheita, as maiores perdas no Norte e Nordeste. A principal causa dessa perda é a falta de cuidados na comercialização, incluindo desde a carência de embalagens até a má conservação das estradas, além de problemas na cadeia do frio (Almeida, 2012). Assim, apesar de ser um grande produtor mundial do fruto, o Brasil apresenta um índice de desperdício bastante elevado, o que abre caminho para tecnologias e processos que ampliem sua utilização.

A composição das bananas em relação ao tipo de amido sofre grande alteração durante o amadurecimento. Quando verde, grande parte do amido se encontra na forma de amido resistente, porém ao longo do amadurecimento este é hidrolisado em açúcares solúveis, de modo que, para produzir uma farinha de alto teor de amido resistente, é importante avaliar o adequado estádio de maturação dos frutos (Zhang et al., 2005).

Englyst et al. (1992) analisaram amostras de farinha de banana e encontraram 57% de amido resistente, enquanto Faisant et al. (1995) relataram ter encontrado 54,2% de amido resistente em farinha de banana verde.

Tribess et al. (2009) utilizou bananas *Musa cavendish* da variedade Nanicão, verdes, às quais foram submetidas à um pré-tratamento com ácido cítrico para evitar o escurecimento enzimático e, posteriormente, sofreram processo de secagem em bandejas, obtendo produto final com conteúdo médio de amido resistente de 51,0 $\pm$ 7,3%.

De acordo com a RDC nº 263 que aprovou o Regulamento Técnico para produtos de cereais, amidos, farinhas e farelos, farinhas são os produtos obtidos de partes comestíveis de uma ou mais espécies de cereais, leguminosas, frutos, sementes, tubérculos e rizomas, por moagem e/ou outros processos tecnológicos considerados seguros para produção de alimentos (Brasil, 2005).

Nos diversos estudos sobre farinha de banana verde (FBV) realizados nos últimos anos com o objetivo de caracterização e/ou aplicação em produtos alimentícios, o processo normalmente empregado foi a secagem em bandejas ou em estufa com circulação de ar forçado. As temperaturas empregadas variaram de 50ºC

a 70ºC e os tempos de 3 a 24 horas (Muyonga et al., 2001; Juarez-Garcia et al., 2006; Rodríguez-Ambriz et al., 2008; Agama-Acevedo et al., 2009; Borges et al., 2009; Ovando-Martinez et al., 2009; Choo; Aziz, 2010). Mota et al. (2000) empregaram o processo de liofilização e Pacheco-Delahaye et al. (2008), além da liofilização e da secagem em bandejas, estudaram os processos em tambor rotativo e micro-ondas. Entretanto nenhum dos autores avaliou o teor de AR. Somente Tribess et al. (2009) e Ormenese (2010) avaliaram o efeito da secagem no teor de AR da FBV produzida, visando ajustar o processo para a maior conservação.

Assim, embora o processo de produção de FBV, com alto conteúdo de AR já esteja sedimentado, inclusive com processo de patente depositada (USP, 2007), cabe salientar que o grupo da FCF/USP, em conjunto com a POLI/USP e FZEA/USP, dentro das atividades do CEPID FoRC está aperfeiçoando o processo e otimizando cada vez mais a produção da FBV (Rayo et al., 2015), bem como desenvolvendo produtos com a aplicação da FBV.

1.2.1 Avaliações fisiológicas da FBV

O grupo do Laboratório de Química, Bioquímica e Biologia Molecular de Alimentos (LQBBMA), do Depto de Alimentos e Nutrição Experimental- FCF, USP, vem desenvolvendo estudos *in vivo* e *in vitro* de avaliações de produtos derivados de banana verde.

Cardenette (2006) avaliou dois produtos: massa de banana verde (MBV) – um produto de banana verde cozida com casca, que conservou essencialmente o teor de fibra alimentar e parte do amido resistente da fruta *in natura*, e o amido de banana verde (ABV) - amido isolado da banana verde, o qual conservou e concentrou o teor de amido resistente da fruta *in natura*. Ambos os produtos foram considerados fontes de carboidratos não disponíveis e apresentaram alta fermentabilidade, sinalizada pelo aumento de produção de AGCC e diminuição de pH na fermentação colônica *in vitro* e *in vivo* (Menezes et al., 2010).

O consumo de MBV e ABV foi avaliado também em estudos de curta duração com ratos, nos quais foi verificado que afetaram a glicemia pós-prandial e causaram menor secreção de insulina em ilhotas pancreáticas, indicando potencial para

utilização em alimentos destinados à diminuição do risco de ocorrência de DCNT, como a diabetes tipo 2 (Dan et al, 2015).

Dan (2007) avaliou o efeito trófico, decorrente da fermentação de carboidratos não disponíveis da banana verde, no intestino grosso de ratos adultos. Foram avaliados ABV e MBV, em estudo de média duração (28 dias), divididos em 3 grupos: Controle, 5% de AR (GRUPO MBV) e 10% de AR (GRUPO ABV). Não houve diferença no consumo de ração. Houve queda do pH cecal, devido a produção de ácidos graxos de cadeia curta pela fermentação. A análise histológica do tecido cecal evidenciou que tanto a fermentação da ração com ABV como da ração com MBV exerceram efeito trófico no intestino grosso destes animais ($p<0,01$). Os resultados obtidos indicaram que os carboidratos não disponíveis presentes na banana verde exercem efeito positivo sobre a fisiologia dos animais, apontando a possibilidade de utilização dessa matéria prima na elaboração de alimentos voltados para a diminuição do risco de determinadas DCNT.

A resposta glicêmica após a ingestão de MBV e ABV foi avaliada em estudo clínico de curta duração com voluntários saudáveis, e foi verificado que as áreas sob as curvas glicêmicas produzidas após a ingestão tanto da MBV como do ABV foram significativamente diferentes em relação à ingestão de pão branco. Os resultados mostraram que tanto MBV quanto ABV não aumentam a resposta glicêmica pós-prandial (Menezes et al., 2010).

Santos (2010) elaborou uma barra de cereais com FBV e avaliou-a *in vivo* e *in vitro* quanto às propriedades funcionais comparando-a com uma barra de cereal controle, sem FBV. As barras de FBV apresentaram maior fermentabilidade e produção de AGCC *in vitro* do que a barra de cereal controle. O ensaio clínico agudo da barra de cereal com FBV, com voluntários saudáveis, visando avaliar a resposta glicêmica, revelou um produto de baixo índice glicêmico e baixa carga glicêmica comparada com o padrão (pão).

A FBV foi avaliada por Dan (2011) quanto à resposta glicêmica, funcionamento intestinal, hormônios gastrintestinais relacionados à saciedade e capacidade antioxidante no plasma e urina em voluntários saudáveis e eutróficos, em um ensaio de curta duração: caracterizado pela ingestão de uma única refeição (refeição controle -RC ou refeição com FBV - RF conforme o grupo experimental) e realização das avaliações descritas anteriormente e um ensaio de média duração (14 dias) caracterizado pela ingestão diária de 8 g de FBV concomitante com a dieta usual

dos voluntários. Em relação ao funcionamento intestinal, foi observado nos dois ensaios o aumento significante da frequência de evacuações, sem o acréscimo de relatos de desconforto abdominal, que incluem flatulência, dor e distensão abdominal. A avaliação dos hormônios gastrintestinais relacionados à saciedade apresentou variação pós-prandial positiva após a ingestão diária de FBV, além de menor resposta glicêmica (Dan, 2011).

Alguns produtos alimentícios como biscoitos (Fasolin et al., 2007), massas (Agama-Acevedo et al., 2009), barras de cereais (Santos, 2010), e *noodles* (Choo; Aziz, 2010) foram fabricados utilizando-se FBV como ingrediente. A comercialização de FBV já está ocorrendo em casas de produtos naturais e em sites da internet, não apenas no Brasil (http://verdenutri.com.br/; http://www.natue.com.br/), mas também no exterior (http://www.bananaflour.com/; www.bananaflour.com.au). Até o momento não há legislação específica para padrão de identidade e qualidade da FBV disponível no Brasil, no Canadá, na Austrália ou nos Estados Unidos, entre outros. Entretanto, FBV comercial já foi utilizada, sem a avaliação do conteúdo de AR presente, em ensaio clínico com voluntários portadores de síndrome metabólica (Tavares da Silva et al., 2014).

1.3 JUSTIFICATIVA

O aumento contínuo da incidência de DCNT (OPAS, 2012; WHO, 2014) estimulou o estabelecimento de diretrizes e orientações em relação à dieta usual. Com o objetivo de reduzir estas ocorrências, surge a oportunidade para o desenvolvimento de alimentos que tenham potencial para contribuir com a redução de riscos dessas doenças. Neste sentido alimentos e ingredientes funcionais, com alto teor de carboidratos não disponíveis, como o amido resistente, têm demonstrado potencial promissor (Lajolo; Menezes, 2006; EFSA, 2011).

Estudos *in vitro* de fermentação da farinha de banana verde (FBV) têm apresentado sua alta fermentabilidade e consequente capacidade de produção de ácidos graxos de cadeia curta (Menezes et al., 2010), o que também foi verificado em estudos com ratos (Dan, 2007; Dan et al, *in press*). Estes compostos, resultantes da fermentação do AR, têm sido associados a várias propriedades benéficas para a saúde intestinal (Topping; Clifton, 2001), bem como efeitos sistêmicos no metabolismo de glicose e lipídios (Bird et al., 2010; Robertson, 2012).

Ensaios clínicos de curta e média duração realizados em voluntários saudáveis mostraram respostas positivas em relação ao controle de fome/saciedade e melhoria do funcionamento intestinal, indicando que a FBV possui atributos positivos visando à diminuição de riscos para as DCNT (Dan, 2011; Menezes et al., 2010). No entanto, ainda há efeitos decorrentes da fermentação que precisam ser avaliados e esclarecidos.

Assim, é importante conhecer o impacto nutricional do uso prolongado de FBV sobre o funcionamento intestinal e o potencial de estimular mudanças na microbiota intestinal. Porém é importante que esse consumo seja viável em termos de quantidade e frequência, para ser condizente com a realidade.

Adicionalmente, a comercialização e utilização da FBV, tanto para aplicação em produtos como para a realização de ensaios clínicos (Tavares da Silva et al., 2014), reforça a necessidade de estabelecer seu padrão de identidade e qualidade.

2. OBJETIVOS

Investigar o efeito da ingestão regular e descontinuada de FBV sobre a microbiota intestinal em voluntários saudáveis, bem como as interações com hormônios relacionados à fome e saciedade, funcionamento intestinal e homeostase da glicose.

Realizar levantamento das FBV disponíveis no mercado e seu conteúdo de amido resistente, para correlacionar com a FBV produzida *in house*;

3. CAPÍTULOS

Os resultados obtidos estão descritos a seguir, em 4 capítulos, os quais respondem às duas principais questões desta tese.

(I) A avaliação dos efeitos do consumo regular e descontinuado de FBV por voluntários saudáveis:

Esta avaliação foi obtida por ensaios clínicos, que incluíam outros grupos, além da FBV, conforme especificado na Figura 1. Os resultados destes ensaios clínicos estão apresentados em três capítulos:

3.1 Impacto de farinha de banana verde sobre a saciedade, fome e homeostase da glicose (Ensaio C).

3.2 Modulação de hormônios gastrintestinais após estudo intervencional duplo cego com carboidratos não disponíveis (Ensaio D).

3.3 A composição da microbiota intestinal influencia a resposta à intervenção com amido resistente (Ensaios A e B).

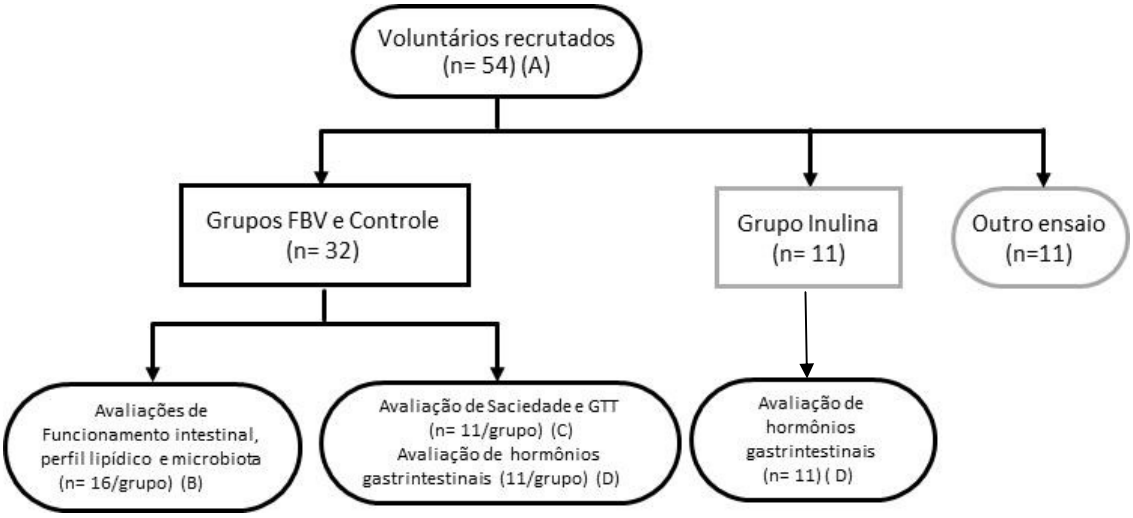


Figura 1. Desenho dos ensaios clínicos

(II) Caracterização das farinhas de banana verde disponíveis no mercado em relação com a FBV produzida *in house*:

3.4 Farinhas de banana verde disponíveis no mercado brasileiro: valores inesperados?

4.CONCLUSÕES

Foi possível observar que a ingestão de carboidratos não disponíveis, como a farinha de banana verde, mesmo de maneira regular e descontinuada, por voluntários saudáveis, pode:

- melhorar os níveis plasmáticos de hormônios gastrintestinais, com redução da grelina, insulina e elevação de PYY;
- reduzir a ingestão energética em 14% em refeições subsequentes;
- reduzir a fome e elevar a saciedade;
- proporcionar impacto positivo sobre a homeostase da glicose ao promover redução na secreção plasmática de insulina no jejum;
- reduzir indicadores de resistência à insulina, como o HOMA2-RI e QUICKI, sinalizando uma maior sensibilidade à insulina;
- contribuir com a melhora do funcionamento intestinal;
- promover a modulação do microbioma intestinal e o seu efeito no enterotipo individual pode definir o resultado de uma intervenção.

É importante que a farinha de banana verde disponível no mercado brasileiro tenha um padrão de qualidade estabelecido, e possa garantir esses benefícios ao ser consumida.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os conhecimentos sobre os benefícios do consumo intermitente de farinha de banana verde (FBV) para o indivíduo saudável, despertam interesse para a avaliação do consumo de FBV por indivíduos com alterações metabólicas, por exemplo glicose e perfil lipídico alterados.

As interações da FBV com a microbiota e a produção de ácidos graxos de cadeira curta trazem subsídios para investigar os mecanismos de ação, por exemplo em modelos com *knock out* de receptores de ácidos graxos.

6. REFERÊNCIAS

Agama-Acevedo E, Islas-Hernandez JJ, Osorio-Díaz P, Rendón-Villalobos R, Utrilla-Coello RG, Angulo O, et al. Pasta with unripe banana flour: physical, texture, and preference study. J Food Sci. 2009; 74(6):S263-7.

Aires MT, Werneck GL. Portuguese-language cultural adaptation and translation of "The Bowel Disease Questionnaire" used to assess functional bowel disorders. Arq Gastroenterol. 2006; 43(2):138-53.

Almeida CO. Economia. Lima MB, Oliveira e Silva S, Ferreira CF, editores. Coleção 500 Perguntas 500 Respostas: Banana O produtor pergunta, a Embrapa responde. Economia. Brasília, DF: Embrapa; 2012. p. 2011-4.

Anderson GH, Cho CE, Akhavan T, Mollard RC, Luhovyy BL, Finocchiaro ET. Relation between estimates of cornstarch digestibility by the Englyst in vitro method and glycemic response, subjective appetite, and short-term food intake in young men. Am J Clin Nutr. 2010; 91(4):932-9.

Arumugam M, Raes J, Pelletier E, Le Paslier D, Yamada T, Mende DR, et al. Enterotypes of the human gut microbiome. Nature. 2011; 473:174-80.

Asp NG. Nutritional classification and analysis of food carbohydrates. Am J Clin Nutr. 1994; 59(3 Suppl):679S-81S.

Beck EJ, Tapsell LC, Batterham MJ, Tosh SM, Huang XF. Increases in peptide Y-Y levels following oat beta-glucan ingestion are dose-dependent in overweight adults. Nutr Res. 2009; 29(10):705-9.

Behall KM, Scholfield DJ, Canary J. Effect of starch structure on glucose and insulin responses in adults. Am J Clin Nutr. 1988; 47(3):428-32.

Berry CS. Resistant starch: Formation and measurement of starch that survives exhaustive digestion with amylolytic enzymes during the determination of dietary fibre. J Cereal Sci. 1986; 4(4):301-14.

Bindels LB, Delzenne NM, Cani PD, Walter J. Towards a more comprehensive concept for prebiotics. Nat Rev Gastroenterol Hepatol. 2015;12(5):303-10.

Bird AR, Conlon MA, Christophersen CT, Topping DL. Resistant starch, large bowel fermentation and a broader perspective of prebiotics and probiotics. Benef Microbes. 2010; 1(4):423-31.

Bird AR, Usher S, May B, Toppping DL, Morell MK. Resistant Starch: measurement, intakes, and dietary targets. In: Cho SS, Almeida N, editores. Dietary Fiber and Health: CRC Press; 2012. p. 41-56.

Bodinham CL, Al-Mana NM, Smith L, Robertson MD. Endogenous plasma glucagon-like peptide-1 following acute dietary fibre consumption. Br J Nutr. 2013; 110(8):1429-33.

Bodinham CL, Frost GS, Robertson MD. Acute ingestion of resistant starch reduces food intake in healthy adults. Br J Nutr. 2010; 103(6):917-22.

Borges A, Pereira J, Lucena E. Caracterização da farinha de banana verde. Ciênc. Tecnol. Aliment. 2009; 29(2):333-9.

Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC nº 263, de 22 de setembro de 2005. Regulamento técnico para produtores de cereais, amidos, farinhas e farelos. Brasília: Diário Oficial da União; 2005.

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Análise de Situação de Saúde. Plano de ações estratégicas para o enfrentamento das doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) no Brasil2011-2022. Brasília: Ministério da Saúde; 2011. 160 p.

Brouns F, Kettlitz B, Arrigoni E. Resistant starch and the butyrate revolution. Trends Food Sci Technol. 2002; 13(8):251-61.

Brownawell AM, Caers W, Gibson GR, Kendall CW, Lewis KD, Ringel Y, et al. Prebiotics and the health benefits of fiber: current regulatory status, future research, and goals. J Nutr. 2012; 142(5):962-74.

Burton-Freeman B. Dietary fiber and energy regulation. J Nutr. 2000; 130:272S-5S.

Butler PC, Elashoff M, Elashoff R, Gale EA. A critical analysis of the clinical use of incretin-based therapies: Are the GLP-1 therapies safe? Diabetes Care. 2013;36(7):2118-25.

Buttriss JL, Stokes CS. Dietary fibre and health an overview. Nutr Bull. 2008; 33(3):186-200.

Cani PD, Joly E, Horsmans Y, Delzenne NM. Oligofructose promotes satiety in healthy human: a pilot study. Eur J Clin Nutr. 2006; 60(5):567-72.

Cani PD, Lecourt E, Dewulf EM, Sohet FM, Pachikian BD, Naslain D, et al. Gut microbiota fermentation of prebiotics increases satietogenic and incretin gut peptide production with consequences for appetite sensation and glucose response after a meal. Am J Clin Nutr. 2009 Nov;90(5):1236-43.

Cardinelli CS, Sala PC, Alves CC, Torrinhas RS, Waitzberg DL. Influence of intestinal microbiota on body weight gain: a narrative review of the literature. Obes Surg. 2015;25(2):346-53.

Carvalho-Wells AL, Helmolz K, Nodet C, Molzer C, Leonard C, McKevith B, et al. Determination of the in vivo prebiotic potential of a maize-based whole grain breakfast cereal: a human feeding study. Br J Nutr. 2010 Nov;104(9):1353-6.

Centro de Vigilância Sanitária da Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo. ALERTA TERAPÊUTICO EM FARMACOVIGILÂNCIA – 01/2014. Risco de Pancreatite e Neoplasia Pancreática associado à terapia baseada nas Incretinas.

Núcleo de Farmacovigilância do Centro de Vigilância Sanitária da Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo. Fevereiro de 2014. http://www.cvs.saude.sp.gov.br/up/ALERTA%20_Incretinas_01_14.pdf

Choo CL, Aziz NAA. Effects of banana flour and β-glucan on the nutritional and sensory evaluation of noodles. Food Chem. 2010;119(1):34-40.

Conlon MA, Kerr CA, McSweeney CS, Dunne RA, Shaw JM, Kang S, et al. Resistant starches protect against colonic DNA damage and alter microbiota and gene expression in rats fed a Western diet. J Nutr. 2012;142(5):832-40.

Consortium HMP. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. Nature. 2012;486(7402):207-14.

Cummings J, Beatty E, Kingman S, Bingham S, Englyst H. Digestion and physiological properties of resistant starch in the human large bowel. Brit Jf Nutr. 1996;75(5):733-47.

Cummings JH, Englyst HN. Gastrointestinal effects of food carbohydrate. Am J Clin Nutr. 1995;61(4 Suppl):938S-45S.

Cummings JH, Stephen AM. Carbohydrate terminology and classification. Eur J Clin Nutr. 2007;61(Suppl 1):S5-18.

Dan MCT. Avaliação da potencialidade da farinha de banana verde como ingrediente funcional : estudo *in vivo* e *in vitro* [Tese de doutorado]. São Paulo (Brasil): Universidade de São Paulo; 2011.

Dan MCT. Efeito trófico dos carboidratos não-disponíveis de banana/plátano verde sobre o intestino grosso de ratos adultos. [Dissertação] São Paulo (Brasil): Universidade de São Paulo; 2007.

Dan MC, Giselli HL, Sardá FAH, Giuntini EB, Belllo-Pérez LA, Carpinelli AR, Lajolo FM, Menezes EW. Colonic fermentation of unavailable carbohydrates from unripe banana and its influence over glycemic control. Plant Foods for Human Nutrition. *In press*

Daud NM, Ismail NA, Thomas EL, Fitzpatrick JA, Bell JD, Swann JR, et al. The impact of oligofructose on stimulation of gut hormones, appetite regulation and adiposity. Obesity. 2014;22(6):1430-8.

Davis CD, Milner JA. Gastrointestinal microflora, food components and colon cancer prevention. J Nutr Biochem. 2009;20(10):743-52.

Delzenne NM, Neyrinck AM, Cani PD. Gut microbiota and metabolic disorders: How prebiotic can work? Br J Nutr. 2013;109 Suppl 2:S81-5.

Domansky RC, Santos VLG. Cross-cultural adaptation and validation of the Portuguese version of the Bowel Function in the Community instrument. J Wound Ostomy Cont. 2007;34(6):671-7.

Dronamraju SS, Coxhead JM, Kelly SB, Burn J, Mathers JC. Cell kinetics and gene expression changes in colorectal cancer patients given resistant starch: a randomised controlled trial. Gut. 2009;58(3):413-20.

Druce MR, Small CJ, Bloom SR. Minireview: Gut peptides regulating satiety. Endocrinolog. 2004;145:2660-5.

Eckburg PB, Bik EM, Bernstein CN, Purdom E, Dethlefsen L, Sargent M, et al. Diversity of the human intestinal microbial flora. Science. 2005;308(5728):1635-8.

EFSA. European Food Safety Authority. Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to resistant starch and reduction of post-prandial glycaemic responses (ID 681), “digestive health benefits” (ID 682) and “favours a normal colon metabolism” (ID 783) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006. European Food Safety Authority Journal. 2011;9(4):2024 [17 pp].

Englyst HN, Kingman SM, Cummings JH. Classification and measurement of nutritionally important starch fractions. Eur J Clin Nutr. 1992;46(Suppl 2):S33-50.

Englyst HN, Macfarlane GT. Breakdown of resistant and readily digestible starch by human gut bacteria. J Sc Food Agr. 1986; 37(7):699-706.

Eypasch E, Williams JI, Wood-Dauphinee S, Ure BM, Schmülling C, Neugebauer E, et al. Gastrointestinal Quality of Life Index: development, validation and application of a new instrument. Br J Surg. 1995; 82(2):216-22.

Faisant N, Buléon A, Colonna P, Molis C, Lartigue S, Galmiche JP, et al. Digestion of raw banana starch in the small intestine of healthy humans: structural features of resistant starch. Brit J Nutr. 1995; 73(1):111-23..

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Food and Agricultural commodities production. 2014. [citado 01 mai 2015]. Disponível em: http://faostat3.fao.org/home/index.html#DOWNLOAD

Fasolin LH, Almeida GCd, Castanho PS, Netto-Oliveira ER. Biscoitos produzidos com farinha de banana: avaliações química, física e sensorial. Food Sci Technol. 2007; 27:524-9.

Fonseca-Alaniz MH, Takada J, Alonso-Vale MIC, Lima FB. O tecido adiposo como órgão endócrino: da teoria à prática. J Pediatr. 2007; 83(5):S192-S203.

FSANZ. Food Standards Australia New Zealand. 2011. Australia New Zealand Food Standards Code. Standard 1.2.8 – Nutrition Information Requirements (F2001C00537) 2011 [citado 25 mar 2015]. Disponível em: http://www.comlaw.gov.au/Details/ F2011C00537/Download.

Fuentes-Zaragoza E, Sánchez-Zapata E, Sendra E, Sayas E, Navarro C, Fernández-López J, et al. Resistant starch as prebiotic - A review. Starch – Stärke. 2011; 63(7):406-15.

Gatti S, Caporelli N, Galeazzi T, Francavilla R, Barbato M, Roggero P, et al. Oats in the diet of children with celiac disease: preliminary results of a double-blind, randomized, placebo-controlled multicenter Italian study. Nutrients. 2013; 5(11):4653-64.

Gee JM, Johnson IT, Lund EK. Physiological properties of resistant starch. Eur J Clin Nutr. 1992; 46 Suppl 2:S125.

Gerritsen J, Smidt H, Rijkers GT, de Vos WM. Intestinal microbiota in human health and disease: the impact of probiotics. Genes Nutr. 2011; 6(3):209-40.

Gibson GR, Probert HM, Loo JV, Rastall RA, Roberfroid MB. Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics. Nutr Res Rev. 2004; 17:259-75.

Giuntini EB, Menezes EW. Fibra alimentar. ILSI ed Série de Publicações ILSI Brasil - Funções Plenamente Reconhecidas de Nutrientes. 18. São Paulo: ILSI; 2011. 23 p.

Goñi I, Martín-Carrón N. Fermentación colónica de fibra dietética y almidón resistente. In: Lajolo FM, Saura-Calixto F, Penna EW, Menezes E, editores. Fibra dietética em Iberoamérica: tecnología y salud. São Paulo: Varela; 2001. p. 311-38.

Grabitske HA, Slavin JL. Low-digestible carbohydrates in practice. J Am Diet Assoc. 2008; 108(10):1677-81.

Guyton AC. Tratado de fisiologia medica. 8°, editor. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1992.

Halpern ZSC, Rodrigues MDB, Costa RF. Determinantes fisiológicos do controle do peso e apetite. Rev Psiquiatr Clin. 2004; 31(4):150-3.

Haub MD, Hubach KL, Al-Tamimi EK, Ornelas S, Seib PA. Different types of resistant starch elicit different glucose reponses in humans. J Nutr Metab. 2010. 4 p. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1155/2010/230501

Haub MD, Louk JA, Lopez TC. Novel resistant potato starches on glycemia and satiety in humans. J Nutr Metab. 2012. 4 p. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1155/2012/478043

Health-Canada. Policy for Labelling and Advertising of Dietary Fibre- Containing Food Products. Bureau of Nutritional Sciences. Food Directorate, Health Products and Food Branch 2012 [citado 20 mar 2015]. Disponível em: http://www.hc-sc.gc.ca/ fn-an/legislation/pol/fibre-label-etiquetage-eng.php.

Hoffmann C, Dollive S, Grunberg S, Chen J, Li H, Wu GD, et al. Archaea and fungi of the human gut microbiome: correlations with diet and bacterial residents. PLoS One. 2013;8(6):e66019. doi:10.1371/journal.pone.0066019

Holt SHA, Brand-Miller JC, Petocz P, Farmakalidis E. A satiety index of common foods. Eur J Clin Nutr. 1995;49:675-90.

Hooda S, Boler BM, Serao MC, Brulc JM, Staeger MA, Boileau TW, et al. 454 pyrosequencing reveals a shift in fecal microbiota of healthy adult men consuming polydextrose or soluble corn fiber. J Nutr. 2012; 142(7):1259-65

Huttenhower C, Gevers D, Knight R, Abubucker S, Badger J, Chinwalla A. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. Nature. 2012;486:207/14.

Hylla S, Gostner A, Dusel G, Anger H, Bartram HP, Christl SU, et al. Effects of resistant starch on the colon in healthy volunteers: possible implications for cancer prevention. Am J Clin Nutr. 1998;67(1):136-42.

Jenkins DJ, Vuksan V, Kendall CW, Würsch P, Jeffcoat R, Waring S, et al. Physiological effects of resistant starches on fecal bulk, short chain fatty acids, blood lipids and glycemic index. J Am Coll Nutr. 1998;17(6):609-16.

Johnson IT. Impact of resistant starch on colonic crypt cytokinetics and cell cycle regulatory genes. Gut. 2009; 58(3):327-8.

Johnston KL, Thomas EL, Bell JD, Frost GS, Robertson MD. Resistant starch improves insulin sensitivity in metabolic syndrome. Diabet Med. 2010; 27(4):391-7.

Juarez-Garcia E, Agama-Acevedo E, Sáyago-Ayerdi SG, Rodríguez-Ambriz SL, Bello-Pérez LA. Composition, digestibility and application in breadmaking of banana flour. Plant Foods Hum Nutr. 2006;61(3):131-7.

Kalaitzakis E, Josefsson A, Castedal M, Henfridsson P, Bengtsson M, Andersson B, et al. Gastrointestinal symptoms in patients with cirrhosis: a longitudinal study before and after liver transplantation. Scand J Gastroenterol. 2013;48(11):1308-16.

Keenan MJ, Zhou J, McCutcheon KL, Raggio AM, Bateman HG, Todd E, et al. Effects of resistant starch, a non-digestible fermentable fiber, on reducing body fat. Obesity. 2006;14(9):1523-34.

Kim HJ, Camilleri M, McKinzie S, Lempke MB, Burton DD, Thomforde GM, et al. A randomized controlled trial of a probiotic, VSL#3, on gut transit and symptoms in diarrhoea-predominant irritable bowel syndrome. Aliment Pharmacol Ther. 2003; 17(7):895-904.

Klosterbuer AS, Hullar MA, Li F, Traylor E, Lampe JW, Thomas W, et al. Gastrointestinal effects of resistant starch, soluble maize fibre and pullulan in healthy adults. Br J Nutr. 2013; 110(6):1068-74.

Konturek SJ, Konturek JW, Pawlik T, Brzozowk T. Brain-gut axis and its role in the control of food intake. J Physiol Pharmacol. 2004; 55:137-54.

Krause MV, Mahan LK, Escott-Stump S. Krause alimentos, nutrição & dietoterapia. 11 ed. São Paulo: Roca; 2005. 1242 p.

Kulich KR, Madisch A, Pacini F, Piqué JM, Regula J, Van Rensburg CJ, et al. Reliability and validity of the Gastrointestinal Symptom Rating Scale (GSRS) and

Quality of Life in Reflux and Dyspepsia (QOLRAD) questionnaire in dyspepsia: a six-country study. Health Qual Life Outcomes. 2008;6:12

Kurppa K, Paavola A, Collin P, Sievänen H, Laurila K, Huhtala H, et al. Benefits of a gluten-free diet for asymptomatic patients with serologic markers of celiac disease. Gastroenterology. 2014; 147(3):610-7.

Lajolo FM, Menezes EW, editores. Carbohidratos en alimentos regionales ibero-americanos. São Paulo: EDUSP; 2006. 648 p.

Landon S, Colyer CGB, Salman H. The resistant starch report: An Australian update on health benefits, measurement and dietary intakes. 2012. 20 p. [citado 10 abr 2013]. Disponível em: http://foodaust.com.au/wp-content/uploads/2012/04/Hi_Maize-supplement_web.pdf

Lima MB, Oliveira e Silva S, Ferreira CF, editores. Coleção 500 Perguntas 500 Respostas: Banana. O produtor pergunta, a Embrapa responde. 2012. Brasília, DF: Embrapa [citado 26 mar 2015]. Disponível em: http://mais500p500r.sct.embrapa.br/view/pdfs/90000019-ebook-pdf.pdf

Macfarlane GT, Macfarlane S, Gibson GR. Validation of a three-stage compound continuous culture system for investigating the effect of retention time on the ecology and metabolism of bacteria in the human colon. Microb Ecol. 1998;35(2):180-7.

Maki KC, Pelkman CL, Finocchiaro ET, Kelley KM, Lawless AL, Schild AL, et al. Resistant starch from high-amylose maize increases insulin sensitivity in overweight and obese men. J Nutr. 2012;142(4):717-23.

Maki KC, Sanders LM, Reeves MS, Kaden VN, Rains TM, Cartwright Y. Beneficial effects of resistant starch on laxation in healthy adults. Int J Food Sci Nutr. 2009; 60(Suppl 4):S296-305.

Mariat D, Firmesse O, Levenez F, Guimarães V, Sokol H, Doré J, et al. The Firmicutes/Bacteroidetes ratio of the human microbiota changes with age. BMC Microbiol. 2009; 9:123. 6 p. Disponível em: http://www.biomedcentral.com/1471-2180/9/123

Martínez I, Kim J, Duffy PR, Schlegel VL, Walter J. Resistant starches types 2 and 4 have differential effects on the composition of the fecal microbiota in human subjects. PLoS One. 2010;5(11):e15046. doi: 10.1371/journal.pone.0015046.

Marx J. Cellular warriors at the battle of the bulge. Science. 2003;299:846-9.

Mattes RD, Hollis J, Hayes D, Stunkard AJ. Appetite: measurement and manipulation misgivings. J Am Diet Assoc. 2005; 105(5 Suppl 1):S87-97.

Menezes EW, Dan MC, Cardenette GH, Goñi I, Bello-Pérez LA, Lajolo FM. In vitro colonic fermentation and glycemic response of different kinds of unripe banana flour. Plant Foods Hum Nutr. 2010; 65(4):379-85.

Menezes EW, Giuntini EB, Dan MC, Sardá FA, Lajolo FM. Codex dietary fibre definition - Justification for inclusion of carbohydrates from 3 to 9 degrees of polymerisation. Food Chem. 2013;140(3):581-5.

Menezes EW, Giuntini EB, Lajolo FM. Perfil de ingestão de fibra alimentar e amido resistente pela população brasileira nas últimas três décadas. In: Lajolo FM, Saura-Calixto F, Penna EW, Menezes EW, editores. Fibra dietética en Iberoamérica: tecnología y salud Obtención, caracterización, efecto fisiológico y aplicación en alimentos. São Paulo: Varela; 2001. p. 433-44.

Moraes AC, Silva IT, Almeida-Pititto B, Ferreira SR. Intestinal microbiota and cardiometabolic risk: mechanisms and diet modulation. Arq Bras Endocrinol Metabol. 2014;58(4):317-27.

Mota RVd, Lajolo FM, Cordenunsi BR, Ciacco C. Composition and functional properties of banana flour from different varieties. Starch - Stärke. 2000; 52(2-3):63-8.

Muyonga JH, Ramteke RS, Eipeson WE. Predehydration steaming changes physicochemical properties of unripe banana flour

Nugent AP. Health properties of resistant starch. Nutr Bull. 2005; 30(1):27-54.

O'Donnell LJ, Virjee J, Heaton KW. Detection of pseudodiarrhoea by simple clinical assessment of intestinal transit rate. BMJ. 1990; 300(6722):439-40.

OPAS. Organização Pan-Americana de Saúde. Saúde nas Américas: edição 2012. Panorama regional e perfis dos países. Publicação Técnica e Científica n. 636. Pan American Health Organization; 2012.

Ormenese RCSC. Obtenção de farinha de banana verde por diferentes processos de secagem e aplicação em produtos alimentícios. [tese de doutorado]. Campinas (Brasil): Universidade Estadual de Campinas; 2010. 182 p.

Ovando-Martinez M, Sáyago-Ayerdi S, Agama-Acevedo E, Goñi I, Bello-Pérez LA. Unripe banana flour as an ingredient to increase the undigestible carbohydrates of pasta. Food Chem. 2009;113(1):121-6.

Pacheco-Delahaye E, Maldonado R, Pérez E, Schroeder M. Production and characterization of unripe plantain (*Musa paradisiacal L.*) flours. Interciencia. 2008;33(4):290-6.

Penn-Marshall M, Holtzman GI, Barbeau WE. African americans may have to consume more than 12 grams a day of resistant starch to lower their risk for type 2 diabetes. J Med Food. 2010;13(4):999-1004.

Petersen C, Round JL. Defining dysbiosis and its influence on host immunity and disease. Cell Microbiol. 2014;16(7):1024-33.

Pimentel GD, Mota JF, Oyama LM. Oxintomodulina e obesidade. Rev Nutr. 2009;22(5):727-37.

Proctor LM. The Human Microbiome Phoenix, USA: ILSI; 2012 [citado 15 abr 2015]. Disponível em: http://www.ilsi.org/Documents/2012%20AM%20Presentations/ Proctor.pdf.

Rajilić-Stojanović M, Smidt H, de Vos WM. Diversity of the human gastrointestinal tract microbiota revisited. Environ Microbiol. 2007;9(9):2125-36.

Rayo LM, Chaguri e Carvalho L, Sardá FAH, Dacanal GC, Menezes EW, Tadini CC. Production of instant green banana flour (Musa cavendischii, var. Nanicão) by a pulsed-fluidized bed agglomeration. LWT - Food Sci Technol. 2015. In press.

Rayo LM, Chaguri e Carvalho L, Sardá FAH, Dacanal GC, Menezes EW, Tadini CC. Production of instant green banana flour (Musa cavendischii, var. Nanicão) by a pulsed-fluidized bed agglomeration. LWT - Food Sci Technol. 2015;63(1):461-9.

Reilly WT, Talley NJ, Pemberton JH, Zinsmeister AR. Validation of a questionnaire to assess fecal incontinence and associated risk factors: Fecal Incontinence Questionnaire. Dis Colon Rectum. 2000;43(2):146-53.

Revicki DA, Wood M, Wiklund I, Crawley J. Reliability and validity of the Gastrointestinal Symptom Rating Scale in patients with gastroesophageal reflux disease. Qual Life Res. 1998;7(1):75-83.

Riezzo G, Orlando A, D'Attoma B, Guerra V, Valerio F, Lavermicocca P, et al. Randomised clinical trial: efficacy of Lactobacillus paracasei-enriched artichokes in the treatment of patients with functional constipation--a double-blind, controlled, crossover study. Aliment Pharmacol Ther. 2012;35(4):441-50.

Roberfroid M, Gibson GR, Hoyles L, McCartney AL, Rastall R, Rowland I, et al. Prebiotic effects: metabolic and health benefits. Br J Nutr. 2010;104(Suppl 2):S1-63.

Robertson MD, Currie JM, Morgan LM, Jewell DP, Frayn KN. Prior short-term consumption of resistant starch enhances postprandial insulin sensitivity in healthy subjects. Diabetologia. 2003;46(5):659-65.

Robertson MD, Wright JW, Loizon E, Debard C, Vidal H, Shojaee-Moradie F, et al. Insulin-sensitizing effects on muscle and adipose tissue after dietary fiber intake in men and women with metabolic syndrome. J Clin Endocrinol Metab. 2012;97(9):3326-32.

Robertson MD. Dietary-resistant starch and glucose metabolism. Curr Opin Clin Nutr Metab Care. 2012;15(4):362-7.

Rodríguez-Ambriz SL, Islas-Hernández JJ, Agama-Acevedo E, Tovar J, Bello-Pérez LA. Characterization of a fibre-rich powder prepared by liquefaction of unripe banana flour. Food Chem. 2008;107(4):1515-21.

Rodríguez-Cabezas ME, Camuesco D, Arribas B, Garrido-Mesa N, Comalada M, Bailón E, et al. The combination of fructooligosaccharides and resistant starch shows prebiotic additive effects in rats. Clin Nutr. 2010;29(6):832-9.

Romero CEM, Zanesco A. O papel dos hormônios leptina e grelina na gênese da obesidade. Rev Nutr. 2006;19(1):85-91.

Sainsbury A, Cooney GJ, Herzog H. Hypothalamic regulation of energy homeostasis. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab. 2002;16(4):623-37.

Salmean YA, Zello GA, Dahl WJ. Foods with added fiber improve stool frequency in individuals with chronic kidney disease with no impact on appetite or overall quality of life. BMC Res Notes. 2013;6:510.

Santos JF. Avaliação das propriedades nutricionais de barras de cereais elaboradas com farinha de banana verde. [Dissertação] São Paulo: Universidade de São Paulo; 2010. 70 p.

Santos VL, Domansky ReC, Hanate C, Matos DS, Benvenuto CV, Jorge JM. Self-reported fecal incontinence in a community-dwelling, urban population in southern Brazil. J Wound Ostomy Cont. 2014;41(1):77-83.

Saura-Calixto F. Evolucion Del concepto de fibra. In: Lajolo FM, Menezes EW, editores. Carbohidratos en Alimentos Regionales Ibero-Americanos. 1° ed. São Paulo: EDUSP; 2006. p. 235-54.

Slavin J. Fiber and prebiotics: mechanisms and health benefits. Nutrients. 2013;5(4):1417-35.

Stewart ML, Nikhanj SD, Timm DA, Thomas W, Slavin JL. Evaluation of the effect of four fibers on laxation, gastrointestinal tolerance and serum markers in healthy humans. Ann Nutr Metab. 2010;56(2):91-8.

Storey D, Lee A, Bornet F, Brouns F. Gastrointestinal responses following acute and medium term intake of retrograded resistant maltodextrins, classified as type 3 resistant starch. Eur J Clin Nutr. 2007;61(11):1262-70.

Svedlund J, Sjödin I, Dotevall G. GSRS--a clinical rating scale for gastrointestinal symptoms in patients with irritable bowel syndrome and peptic ulcer disease. Dig Dis Sci. 1988;33(2):129-34.

Talley NJ, Phillips SF, Melton J, Wiltgen C, Zinsmeister AR. A patient questionnaire to identify bowel disease. Ann Intern Med. 1989;111(8):671-4.

Tarini J, Wolever TM. The fermentable fibre inulin increases postprandial serum short-chain fatty acids and reduces free-fatty acids and ghrelin in healthy subjects. Appl Physiol Nutr Metab. 2010;35(1):9-16.

Tavares da Silva S, Araújo Dos Santos C, Marvila Girondoli Y, Mello de Azeredo L, Fernando de Sousa Moraes L, Keila Viana Gomes Schitini J, et al. Women with metabolic syndrome improve antrophometric and biochemical parameters with green banana flour consumption. Nutr Hosp. 2014;29(5):1070-80.

Topping DL, Clifton PM. Short-chain fatty acids and human colonic function: roles of resistant starch and nonstarch polysaccharides. Physiol Rev. 2001;81(3):1031-64.

Tribess TB, Hernández-Uribe JP, Méndez-Montealvo MGC, Menezes EW, Bello-Perez LA, Tadini CC. Thermal properties and resistant starch content of green banana flour (Musa cavendishii) produced at different drying conditions. LWT - Food Sci Technol. 2009;42(5):1022-5.

van Amelsvoort JM, Weststrate JA. Amylose-amylopectin ratio in a meal affects postprandial variables in male volunteers. Am J Clin Nutr. 1992;55(3):712-8.

van den Bogert B, de Vos WM, Zoetendal EG, Kleerebezem M. Microarray analysis and barcoded pyrosequencing provide consistent microbial profiles depending on the source of human intestinal samples. Appl Environ Microbiol. 2011;77(6):2071-80.

Velázquez OC, Lederer HM, Rombeau JL. Butyrate and the colonocyte. Implications for neoplasia. Dig Dis Sci. 1996;41(4):727-39.

Velloso LA. O controle hipotalâmico da fome e da termogênese: implicações no desenvolvimento da obesidade. Arq Bras Endocrinol Metab. 2006;50(2):165-76.

Vitaglione P, Lumaga RB, Stanzione A, Scalfi L, Fogliano V. beta-Glucan-enriched bread reduces energy intake and modifies plasma ghrelin and peptide YY concentrations in the short term. Appetite. 2009;53(3):338-44.

Waitzberg DL, Logullo LC, Bittencourt AF, Torrinhas RS, Shiroma GM, Paulino NP, et al. Effect of synbiotic in constipated adult women - a randomized, double-blind, placebo-controlled study of clinical response. Clin Nutr. 2013;32(1):27-33.

Walker AW, Ince J, Duncan SH, Webster LM, Holtrop G, Ze X, et al. Dominant and diet-responsive groups of bacteria within the human colonic microbiota. ISME J. 2011;5(2):220-30.

WHO. World Health Organization. Global status report on noncommunicable diseases 2014. World Health Organization. 2014. 298 p.

WHO. World Health Organization. Globalization, diets and noncommunicable diseases Geneva: WHO Press, World Health Organization; 2002 [citado 23 mar 2015]. Disponível em: http://whqlibdoc.who.int/publications/9241590416.pdf.

WHO/FAO. World Health Organization/Food and Agriculture Organization. Diet, nutrition and prevention of chronic diseases. WHO Technical Report Series, 916. Geneve. 2003. 149 p.

Willis HJ, Eldridge AL, Beiseigel J, Thomas W, Slavin JL. Greater satiety response with resistant starch and corn bran in human subjects. Nutr Res. 2009;29(2):100-5.

Woods SC, D'Alessio DA. Central control of body weight and appetite. J Clin Endocrino Metab. 2008;93(Suppl):S37-50.

Wren AM, Bloom SR. Gut hormones and appetite control. Gastroenterol. 2007;132:2116-30.

Wu GD, Chen J, Hoffmann C, Bittinger K, Chen YY, Keilbaugh SA, et al. Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes. Science. 2011;334(6052):105-8.

Wu GD, Lewis JD, Hoffmann C, Chen YY, Knight R, Bittinger K, et al. Sampling and pyrosequencing methods for characterizing bacterial communities in the human gut using 16S sequence tags. BMC Microbiol. 2010;10:206. 14 p. Disponível em: http://www.biomedcentral.com/1471-2180/10/206

Zanini B, Ricci C, Bandera F, Caselani F, Magni A, Laronga AM, et al. Incidence of post-infectious irritable bowel syndrome and functional intestinal disorders following a water-borne viral gastroenteritis outbreak. Am J Gastroenterol. 2012;107(6):891-9.

Zhang P, Whistler RL, BeMiller JN, Hamaker BR. Banana starch: production, physicochemical properties, and digestibility - a review. Carbohyd Polym. 2005;59(4):443-58.

Zhou J, Hegsted M, McCutcheon KL, Keenan MJ, Xi X, Raggio AM, et al. Peptide YY and proglucagon mRNA expression patterns and regulation in the gut. Obesity. 2006;14(4):683-9.

Zhou J, Martin RJ, Tulley RT, Raggio AM, McCutcheon KL, Shen L, et al. Dietary resistant starch upregulates total GLP-1 and PYY in a sustained day-long manner through fermentation in rodents. Am J Physiol Endocrinol Metab. 2008;295(5):E1160-6.

Zoetendal EG, Rajilic-Stojanovic M, de Vos WM. High-throughput diversity and functionality analysis of the gastrointestinal tract microbiota. Gut. 2008;57(11):1605-15.

Zoetendal EG, Vaughan EE, de Vos WM. A microbial world within us. Mol Microbiol. 2006;59(6):1639-50.

Zoetendal EG, von Wright A, Vilpponen-Salmela T, Ben-Amor K, Akkermans AD, de Vos WM. Mucosa-associated bacteria in the human gastrointestinal tract are uniformly distributed along the colon and differ from the community recovered from feces. Appl Environ Microbiol. 2002;68(7):3401-7.

Apêndice A - Validação do *Gastrointestinal Symptom Rating Scale* (GSRS)

Revista Arquivos de Gastroenterologia
versão impressa ISSN 0004-2803

Prospective study-original article on clinical gastroenterology

Translation and validation of a Brazilian version of the *Gastrointestinal Symptom Rating Scale* (GSRS) questionnaire

Tradução e validação da versão brasileira do questionário *Gastrointestinal Symptom Rating Scale* (GSRS)

Gabriela Santos Souza: contribuiu na coleta, tabulação e análise de dados, interpretação dos resultados, revisão de literatura e redação do artigo

Fabiana Andrea Hoffmann Sardá: contribuiu na concepção do projeto, na coleta e análise de dados, interpretação dos resultados, redação do artigo e aprovação final da versão a ser submetida

Eliana Bistriche Giuntini: contribuiu na análise e interpretação dos resultados, redação do artigo e aprovação final da versão a ser submetida

Iara Gumbrevicius: participou da revisão da literatura e revisão crítica do manuscrito

Mauro Batista de Moraes: contribuiu *revisão crítica e aprovação final da versão a ser publicada (para sua avaliação e concordância)*

Elizabete Wenzel de Menezes: contribuiu na concepção do projeto, revisão crítica e aprovação final da versão a ser publicada

Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo.

Elizabete Wenzel de Menezes
(11) 3091-3624
wenzelde@usp.br

Av. Prof. Lineu Prestes, 580 Bloco 14
São Paulo/SP - 05508-000 - Brasil

The authors declare that they have no conflict of interest.

Abstract

Context: The bowel function is a widely evaluated parameter in interventional and longitudinal studies, since it is associated with good health maintenance. The evaluation of intestinal function has been performed by many questionnaires, however there are few options validated in Portuguese.

Objective: The aim of this work was to translate and validate the *Gastrointestinal Symptom Rating Scale* (GSRS) questionnaire to Portuguese (Brazil).

Method: Translation and cultural adaptation were performed according to a previously established methodology, followed by reliability calculations.

Results: The final translated GSRS questionnaire showed an adequate value of overall reliability of Cronbach's alpha of 0.83, and its domains were classified from acceptable to adequate. The overall test-retest reliability by ICC was 0.84, considered excellent. ***Conclusion***: The GSRS was translated and validated in Portuguese (Brazil), with appropriate internal consistency and reliability and is available to be used in assessments of bowel function.

Headings: cultural adaptation; intestinal function; questionnaire; translation; validation

Resumo

Contexto: O funcionamento intestinal é um dos parâmetros amplamente avaliado em estudos intervencionais e longitudinais, pois está associado à manutenção da saúde. A avaliação do funcionamento intestinal tem sido realizada através de propostas de diferentes questionários, mas são poucas as alternativas validadas em português.

Objetivo: O objetivo deste trabalho foi traduzir e validar para a língua portuguesa (Brasil) o questionário *Gastrointestinal Symptom Rating Scale* (GSRS).

Métodos: A tradução e adaptação cultural foram realizadas de acordo com metodologia previamente estabelecida, seguida dos cálculos de confiabilidade. A aplicação do questionário GSRS traduzido apresentou valor adequado de confiabilidade geral alfa de Cronbach de 0,83, com domínios classificados de aceitável a adequado; o teste-reteste geral apresentou coeficiente de correlação intraclasse (CCI) de 0,84, considerado excelente.

Conclusão: O GSRS foi traduzido e validado para Português (Brasil), apresentando confiabilidade e reprodutibilidade apropriadas, e está disponível para ser utilizado em avaliações de funcionamento intestinal.

Descritores: adaptação cultural; funcionamento intestinal; questionário; tradução; validação.

Introdução

A saúde intestinal é amplamente avaliada em estudos intervencionais e longitudinais, pois está associada à manutenção da saúde global e bem estar do indivíduo, não se limitando à digestão de alimentos e absorção de nutrientes.

Distúrbios gastrintestinais são bastante comuns, tanto em crianças como em adultos (1), e muitas vezes não apresentam razão estrutural ou bioquímica para se manifestarem (2). Segundo Tahan et al. (3), a constipação infantil é altamente prevalente no Brasil e envolve principalmente a retenção fecal, que incorre em complicações como escape fecal, dor abdominal e anorexia, os quais podem desencadear problemas psicossociais; dessa forma é preciso diferenciar entre a CI funcional ou fisiológica e um questionário sobre funcionamento intestinal pode contribuir tanto no diagnóstico como na avaliação do tratamento.

Todas essas alterações afetam negativamente a qualidade de vida dos pacientes, que reportam diversos sintomas. Além disso, há fatores subestimados como o impacto econômico devido aos gastos e grau de absenteísmo (4, 5). Nos Estados Unidos, entre 2006-2011, houve aumento de 41,5% de pessoas relatando constipação que procuraram o serviço de emergência, elevando esse gasto nacional em mais 120% no período, o que representou US $1,622,624,341 em 2011 (6).

Entre os parâmetros estudados para determinar o funcionamento intestinal adequado estão a consistência das fezes, a frequência de evacuação e os desconfortos intestinais que eventualmente possam ocorrer (2, 7). No entanto a maior parte dos instrumentos existentes é utilizada principalmente como critério diagnóstico de doenças como síndrome de refluxo, síndrome de intestino irritável, incontinência fecal, diarreia, constipação intestinal (CI), entre outras. Entre as opções disponíveis, estão validadas para o português os questionários *Bowel Disease Questionnaire* (BDS) (8) e *Bowel Function in the Community* (9) cada um é constituído por aproximadamente 70 questões e referem-se a sintomas de doenças e hábitos gastrintestinais manifestados no período relativo ao ano anterior.

Em função do longo período avaliado, a aplicação desses instrumentos em estudos de intervenção de curta duração não é adequada. Nesse sentido, o *Gastrointestinal Symptom Rating Scale* (GSRS) (10) é o instrumento mais indicado, pois se refere ao período da última semana, além de demandar curto tempo de

preenchimento e apresentar questões de fácil entendimento sobre sintomas gastrintestinais.

Originalmente o GSRS foi desenvolvido na Suécia para avaliar pacientes com sintomas de síndrome do intestino irritável e doença de úlcera péptica (10). Posteriormente foi bem documentada sua confiabilidade e validade para outros distúrbios no mesmo país (11), bem como sua aplicabilidade para a população em geral (12).

O GSRS foi traduzido e validado para o inglês (13), alemão, húngaro, italiano, polonês, espanhol e africâner (14), e vem sendo amplamente utilizado para avaliar funcionamento intestinal em estudos intervencionais (15; 16; 17; 18), em estudos longitudinais (19; 20) e avaliações de sintomas gastrintestinais em crianças celíacas (21).

Diante da pouca disponibilidade de instrumentos no Brasil que permita a avaliação do funcionamento gastrintestinal, relativo a período recente, e de forma fácil e autoaplicável, o objetivo deste trabalho foi traduzir e validar o questionário GSRS para a língua portuguesa (Brasil).

Métodos

Instrumentos utilizados

Gastrointestinal Symptom Rating Scale

O questionário GSRS é autoaplicável e apresenta 15 questões, divididas em 5 domínios que abrangem o sistema gastrintestinal: diarreia, constipação, dor abdominal, refluxo e indigestão. As respostas do questionário estão dispostas de acordo com a escala Likert em 7 pontos, no qual “1” indica ausência e “7” maior frequência ou intensidade dos sintomas (13). Esta ferramenta foi originalmente validada quanto às suas questões e escalas de avaliação (validade de constructo e validade de critério) (10, 12)

36 item Short-Form Health Survey

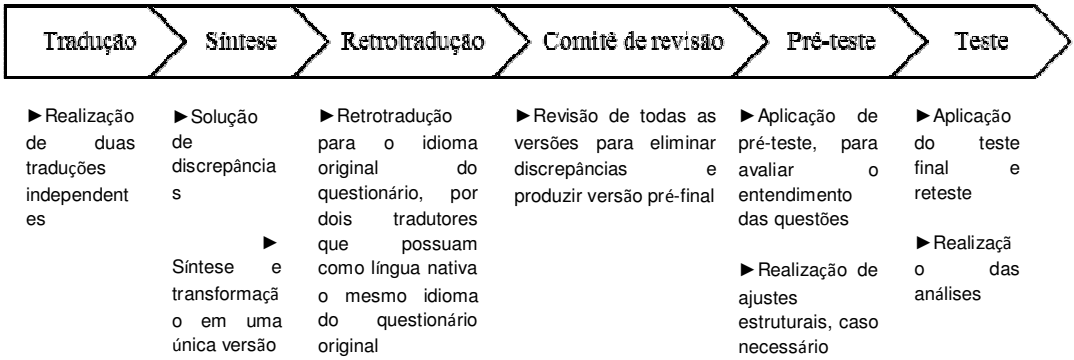
O questionário geral de qualidade de vida SF-36 é autoaplicável, apresenta 36questões divididas em 8 domínios, os quais também ser analisados individualmente ou de forma agrupada, em Componentes Físicos e/ou Componentes

Mentais. O SF-36 foi validado para o português (22) e tem sido utilizado em outros estudos de validação (14).

Processo de tradução

A tradução e adaptação cultural do questionário GSRS (10, 13) foi realizada em 5 etapas, de acordo com metodologia previamente desenvolvida (23). As etapas de tradução, síntese e retrotradução foram realizadas conforme descrito na Figura 1. O questionário original e as versões criadas na etapa de tradução e retrotradução foram avaliadas por um tradutor juramentado fluente em inglês, com o português como língua nativa; todos os profissionais envolvidos eram da área da saúde. A versão pré-final do questionário foi elaborada por este tradutor após comparação das versões e adaptação cultural de determinadas terminologias, e consolidada por equipe multiprofissional. Para facilitar a aplicação foi reservado um espaço abaixo de cada pergunta para a indicação da resposta e para possíveis comentários. O pré-teste com esta versão foi respondida por 20 voluntários, de ambos os gêneros, para avaliação do entendimento das questões.

Fluxograma de validação de questionário



Adaptado do método desenvolvido por Beaton et al. (2000).

Figura 1. Fluxograma de tradução e adaptação cultural de questionário do *Gastrointestinal Symptom Rating Scale* (GSRS) para a língua portuguesa (Brasil)

Voluntários

Participaram 155 voluntários, de ambos os gêneros (72 % mulheres), entre 18 e 60 anos, moradores das regiões Norte (31 %), Sudeste (53 %) e Sul (16 %) do

Brasil. Esta pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo (FCF/USP), sob parecer CEP/FCF/194, CAAE 0042.0.018.000-11. Todos os voluntários assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido permitindo participação e divulgação dos resultados.

Propriedades psicométricas e análise estatística

As propriedades psicométricas da versão Brasileira do questionário GSRS foram avaliadas utilizando o programa *Statistica* 10, através dos seguintes testes:

- A consistência interna da versão definitiva do questionário (respondido por 155 voluntários) foi calculada através do alfa de Cronbach, que avalia a extensão em que um conjunto de itens está relacionado, dentro de um mesmo domínio de medida (24). O valor de alfa de Cronbach pode ser classificado como excelente (> 0,90), adequado (entre 0,70 e 0,90) e aceitável (> 0,60) (25).

- A reprodutibilidade (estabilidade teste-reteste) foi avaliada a partir do reteste aplicado em 100 voluntários, após duas semanas, período necessário para que os voluntários não lembrassem as perguntas já respondidas, garantindo a releitura com atenção ao questionário, e suficiente para que não houvesse grandes mudanças nos seus hábitos (26). O cálculo foi realizado através do coeficiente de correlação intraclasse (CCI), que mediu a estabilidade de uma pontuação após a mesma ferramenta ser aplicada duas vezes, nos mesmos indivíduos em semelhantes condições (27). Foi considerada correlação satisfatória quando 0,40 ≤ CCI < 0,75 e excelente quando CCI ≥ 0,75 (28).

Durante o reteste, os voluntários responderam o questionário GSRS juntamente com o questionário geral de avaliação de qualidade de vida SF-36 para o teste de validade de critério, que avalia como uma medida de um questionário é capaz de relacionar-se com outro critério já considerado padrão (27). O cálculo foi realizado através da correlação de *Spearman*, a qual pode ser classificada como fraca (<0,30), moderada (entre 0,30 e 0,60) e forte (>0,60) (14).

Resultados

Os procedimentos de tradução, adaptação cultural e validação do questionário GSRS neste estudo foram realizados em etapas, de forma ordenada, apresentando resultados satisfatórios.

Em função do pequeno número de questões, as quais são colocadas de forma objetiva no questionário em inglês, o processo de tradução e retrotradução não apresentou discordâncias, ou necessidade de mudanças significativas no vocabulário a fim de não comprometer o entendimento. Na fase de pré-teste o questionário não apresentou dificuldade de compreensão ao ser respondido pelos voluntários, tanto em relação às perguntas como em relação às escalas, assim não houve a necessidade de realizar ajustes estruturais ou de linguagem para a fase final de teste.

Na etapa de revisão de todas as versões o comitê discutiu o objetivo do GSRS e sua estrutura, a abrangência das perguntas e a nomenclatura mais adequada, para tornar a leitura do questionário clara e acessível a todos.

O Questionário de Sintomas Gastrintestinais GSRS (*Gastrointestinal Symptom Rating Scale*) traduzido para a língua portuguesa está apresentado no Anexo, e o tempo para preenchimento variou entre 5 e 10 minutos.

O valor de consistência interna geral da versão final do questionário, expressa pelo alfa de Cronbach, foi 0,83, considerado adequada (25) e seus domínios variaram de aceitável (0,65 - para dor abdominal) à adequado (0,79 - para síndrome de diarreia), valores apresentados na Tabela 1, e consistentes com validações prévias do GSRS em outros idiomas, para os 5 domínios (13, 14).

A reprodutibilidade geral da versão brasileira do GSRS foi 0,84, considerada excelente, assim como o domínio síndrome do refluxo; os outros 4 domínios apresentaram valores menores, mas ainda compatíveis com os obtidos em validações do GSRS em outros idiomas (13, 14) (Tabela 1).

A validade de critério apresentou correlação negativa entre o domínio Componente Mental do questionário SF-36 e 4 domínios do GSRS: correlação moderada com Dor Abdominal (0,30) e Síndrome do Refluxo (0,32), e correlação fraca com Síndrome da Diarreia (0,16) e Síndrome da Constipação (0,17). Este teste sugeriu que quanto menos intensos os sintomas avaliados pelo GSRS, maior seria a qualidade de vida avaliada pelo SF-36. Os domínios do questionário GSRS em seis

idiomas (14) também demonstraram correlação negativa com o SF-36, sendo significativa e mais destacada para o domínio dor abdominal, variando de 0,36 a 0,45.

Tabela 1. Consistência interna avaliada pelo alfa de Cronbach e reprodutibilidade avaliada pelo CCI dos domínios da versão brasileira do questionário *Gastrointestinal Symptom Rating Scale*, e valores obtidos nas validações para outros idiomas[1,2]

	Domínios do GSRS	Português (Brasil)	Sul Africano[1]	Alemão[1]	Húngaro[1]	taliano[1]	olonês[1]	Espanhol[1]	Inglês[2]
Alfa de Cronbach	Dor abdominal	0,65	0,60	0,43	0,59	0,65	0,49	0,45	0,62
	Síndrome do refluxo	0,72	0,61	0,72	0,73	0,84	0,49	0,67	0,61
	Síndrome da indigestão	0,69	0,76	0,79	0,74	0,74	0,73	0,78	0,70
	Síndrome da diarreia	0,79	0,75	0,84	0,79	0,72	0,78	0,82	0,83
	Síndrome da constipação	0,67	0,82	0,81	0,79	0,76	0,87	0,75	0,80
CCI	Dor abdominal	0,71	0,55	0,36	0,57	ND	0,45	0,48	0,51
	Síndrome do refluxo	0,75	0,37	0,66	0,59	ND	0,61	0,62	0,42
	Síndrome da indigestão	0,55	0,46	0,61	0,75	ND	0,71	0,75	0,50
	Síndrome da diarreia	0,55	0,56	0,67	0,70	ND	0,63	0,38	0,53
	Síndrome da constipação	0,64	0,71	0,60	0,72	ND	0,72	0,72	0,60

[1]Adaptado de Kulich et al, 2008 (7) ; [2] adaptado de Revicki et al, 1988 (6). CCI - coeficiente de correlação intraclasse ND-não disponível.

Discussão

Para diagnóstico de constipação intestinal (CI) e outros problemas gastrintestinais já há vários instrumentos disponíveis, porém para a avaliação geral do funcionamento intestinal a tarefa não é simples, uma vez que se trata de uma somatória de sintomas e percepções.

De acordo com Bovenschen et al. (2006) (29) o desenvolvimento de ferramentas para avaliar os sintomas gastrintestinais foi bastante expressivo nas últimas décadas, e a confiança nos dados obtidos em pesquisas indica a importância de se utilizar instrumentos validados. Alguns questionários, no entanto, não passaram por um processo de validação, o que deve incluir uma compreensão correta da terminologia por parte dos voluntários, dessa forma é importante incluir definições inequívocas (29). A fim de evitar inadequação das respostas decorrente da má compreensão da pergunta, na versão em português (Brasil) do GSRS foram mantidos exemplos, sinônimos e definições, seguindo modelo adotado (12).

O processo de adaptação cultural é indicado quando o instrumento é utilizado em diferentes países, idiomas ou épocas, para a redução do risco de introdução de viés na sua aplicação. Não há um protocolo de adaptação de um instrumento para utilizá-lo em outro ambiente cultural, entretanto há um consenso de que é totalmente inapropriado traduzir literalmente um questionário e utilizá-lo em outro contexto linguístico (30). Neste trabalho durante a tradução e retrotradução utilizou-se terminologia com abrangência em todo o território brasileiro, evitando a regionalização.

De acordo com Kulich et al. (2008) (13), o GSRS é um dos mais estabelecidos, validados, sensíveis e confiáveis questionários entre os instrumentos disponíveis para avaliação do funcionamento e de sintomas gastrintestinais em estudos e avaliações clínicas, uma vez que apresenta características psicométricas muito boas. O GSRS foi um dos 65 questionários selecionados para avaliação de doença do refluxo gastroesofágico e, apesar de ser considerado um questionário genérico, foi considerado de grande utilidade por ser autoaplicável e confiável, além de passível de ser utilizado em estudos entre diferentes países, uma vez que é validado em diversos idiomas (31). Esses e outros estudos corroboram a importância de validar esse instrumento para ser utilizado na população brasileira (14; 16; 17; 18; 19; 20).

Os resultados referentes às propriedades psicométricas do GSRS traduzido para o português são semelhantes às encontradas em investigações prévias como nas validações realizadas por Revicki *et al*. (1998) (12) na versão americana do GSRS, e por Kulich *et al*. (2008) (13) nas versões "Afrikaan", húngara, italiana, alemã, espanhola e polonesa, como demonstrado na Tabela 1.

Assim como nas validações em outros idiomas, um dos valores mais elevados de Alfa de Cronbach foi para o domínio Síndrome da Diarreia, que no GSRS versão em português (Brasil) apresentou confiabilidade adequada (0,79). Paralelamente o domínio Dor Abdominal foi o que apresentou menor valor de Alfa de Cronbach, 0,65, semelhante ao encontrado nos outros estudos. Esse valor indica consistência interna (CI) aceitável e apesar de baixo, é bastante superior aos encontrados nas validações para a língua Alemã (0,43), Polonesa (0,49) e Espanhola (0,45) (13). Baixos valores de CI podem ser atribuídos à grande variação de sintomas, assim como da pequena quantidade de itens para avaliação destes sintomas, que no caso Dor Abdominal apresenta somente duas questões. Porém o principal fator que pode ter interferido nos valores de CI é o fato de que o questionário foi aplicado em voluntários saudáveis.

Na avaliação de reprodutibilidade, o GSRS apresentou excelente resultado no geral (0,84), assim como seu domínio Síndrome do Refluxo (0,75), a qual teve resultado de ICC superior às validações do GSRS em outros idiomas (13). Outro domínio que se posicionou à frente das outras versões de GSRS foi o de Dor Abdominal (0,71), reprodutibilidade considerada satisfatória. Os outros domínios também apresentaram resultados satisfatório, semelhante aos das outras validações do GSRS.

Questionários referentes a outros assuntos foram traduzidos para o português, obtendo notas superiores a 0,66, consideradas satisfatórias para consistência interna. Pereira et al. (2007) (32) encontraram alta consistência interna (>0,70) para três dos quatro domínios avaliadas (aspecto físico, dor, sono) pelo questionário HBQOL (*Heartburn Specific Quality of Life Instrument*). Carvalho et al. (2013) (33) traduziram e validaram *Male Body Dissatisfaction Scale* (MBDS) para a língua portuguesa, e obtiveram consistência interna de 0,92. Da mesma forma que neste trabalho, os nomes em inglês foram mantidos, a fim de ser facilmente identificado e reconhecido pela comunidade científica.

Na avaliação de validade de critério, estão em destaque os componentes mentais do SF-36 que apresentaram correlação moderada ($p<0,05$) com os domínios do GSRS: Saúde Mental e Vitalidade, sendo 0,37 e 0,34 em relação à Dor Abdominal, 0,32 e 0,31em relação à Síndrome do Refluxo, respectivamente. Estes valores sugerem que, mesmo nos voluntários saudáveis, a presença de sintomas de dor abdominal e refluxo, causam incômodo e interferem negativamente no bem estar do indivíduo. Em Revick et al. (1998) (12), o domínio Dor Abdominal foi o que apresentou a correlação mais forte ($r=0,44$; $p<0,0001$) com as escalas do SF-36, principalmente com as de Dor Corporal e Vitalidade. No presente estudo, o único item do Componente Físico que apresentou correlação com os domínios do GSRS foi o de Dor Corporal, variando de fraca a moderada em relação aos domínios Dor Abdominal (0,32), Síndrome do Refluxo (0,25), Síndrome da Diarreia (0,16) e Síndrome da Constipação (0,26). Os itens Desempenho Físico e Função física não apresentaram correlação com nenhum domínio do GSRS, demonstrando que os sintomas gastrintestinais relatados pelos voluntários saudáveis não causavam nenhuma limitação física que impedisse o desenvolvimento das atividades diárias.

Outros questionários referentes ao sistema gastrintestinal no Brasil utilizaram o SF-36 para validação, caso do FIQL (*Fecal Incontinence Quality of Life*) (34) e do IBQD (*Inflammatory Bowel Questionnaire Disease*) (35) que apresentaram boa e moderada correlação com o SF-36. No FIQL foi observado também que os parâmetros de qualidade de vida de pacientes portadores de incontinência fecal são inferiores em relação aos voluntários sadios ou com constipação intestinal (33).

A consolidação de uso do GSRS permite que este questionário esteja sendo utilizado na validação de outros instrumentos, caso do *Global Overall Symptom* (GOS) Scale, considerado um método simples para avaliar sintomas de dispepsia em ensaios clínicos. Para auxiliar na validação do GOS, esta nova ferramenta foi comparada com o GSRS, e também com o *Overall Treatment Effect* (OTE), o *Quality of Life in Reflux and Dyspepsia* (QoLRAD) questionnaire e o *Reflux Disease Questionnaire* (RDQ), por 2 e 28 dias (36).

Em estudo de revisão referente a questionários para avaliação de doença de refluxo gastroesofágico, foram levantados quatorze instrumentos utilizados para avaliar tratamento aplicado aos pacientes, e o GRSR é o único apontado como tendo a habilidade de discriminar tanto a severidade quanto a frequência de

diferentes sintomas gastrintestinais. A maior parte avalia sintomas específicos como refluxo, disfagia, regurgitação, dispepsia (31).

Todos os aspectos avaliados para a validação do questionário GSRS em português (Brasil) apresentaram resultados adequados, de acordo com cada parâmetro, indicando que o instrumento apresentou excelente reprodutibilidade e consistência interna, de fácil entendimento e rápido preenchimento por quem responde às questões, podendo ser útil em ensaios clínicos e atendimento laboratorial para avaliações de sintomas gastrintestinais.

Conclusão

O GSRS foi traduzido e validado para Português (Brasil), apresentando confiabilidade adequada e reprodutibilidade excelente, e está disponível para ser utilizado em avaliação e pesquisas sobre funcionamento gastrintestinal.

Referências

1. Bharucha AE, Pemberton JH, Locke GR. American Gastroenterological Association technical review on constipation. Gastroenterology. 2013;144(1):218-38.

2. Bischoff SC. 'Gut health': a new objective in medicine? BMC Med. 2011;9:24.

3. Tahan S, Speridião P, Fagundes Neto U, Morais M. Constipação intestinal em pediatria: diagnóstico e tratamento. Pediatr mod. 2006;42:79-86.

4. López-Colombo A, Morgan D, Bravo-González D, Montiel-Jarquín A, Méndez-Martínez S, Schmulson M. The epidemiology of functional gastrointestinal disorders in Mexico: a population-based study. Gastroenterol Res Pract. 2012; doi: 10.1155/2012/606174.

5. Bang CS, Kim YS, Han JH, Lee YS, Baik GH, Kim JB, et al. Functional gastrointestinal disorders in young military men. Gut Liver. 2014; doi: 10.5009/gnl14109.

6. Sommers T, Corban C, Sengupta N, Jones M, Cheng V, Bollom A, et al. Emergency department burden of constipation in the United States from 2006 to 2011. Am J Gastroenterol. 2015;110(4):572-9.

7. Warschburger P, Hänig J, Friedt M, Posovszky C, Schier M, Calvano C. Health-related quality of life in children with abdominal pain due to functional or organic gastrointestinal disorders. J Pediatr Psychol. 2014;39(1):45-54.

8. Aires MT, Werneck GL. Portuguese-language cultural adaptation and translation of "The Bowel Disease Questionnaire" used to assess functional bowel disorders. Arq Gastroenterol. 2006;43(2):138-53.

9. de Cássia Domansky R, de Gouveia Santos VL. Cross-cultural adaptation and validation of the Portuguese version of the Bowel Function in the Community instrument. J Wound Ostomy Cont. 2007;34(6):671-7.

10. Svedlund J, Sjödin I, Dotevall G. GSRS - a clinical rating scale for gastrointestinal symptoms in patients with irritable bowel syndrome and peptic ulcer disease. Dig Dis Sci. 1988;33(2):129-34.

11. Dimenäs E, Glise H, Hallerbäck B, Hernqvist H, Svedlund J, Wiklund I. Well-being and gastrointestinal symptoms among patients referred to endoscopy owing to suspected duodenal ulcer. Scand J Gastroenterol. 1995;30(11):1046-52.

12. Dimenäs E, Carlsson G, Glise H, Israelsson B, Wiklund I. Relevance of norm values as part of the documentation of quality of life instruments for use in upper gastrointestinal disease. Scand J Gastroenterol. 1996(Suppl.);221:8-13.

13. Revicki DA, Wood M, Wiklund I, Crawley J. Reliability and validity of the Gastrointestinal Symptom Rating Scale in patients with gastroesophageal reflux disease. Qual Life Res. 1998;7(1):75-83.

14. Kulich KR, Madisch A, Pacini F, Piqué JM, Regula J, Van Rensburg CJ, et al. Reliability and validity of the Gastrointestinal Symptom Rating Scale (GSRS) and Quality of Life in Reflux and Dyspepsia (QOLRAD) questionnaire in dyspepsia: a six-country study. Health Qual Life Outcomes. 2008;6:12.

15. Riezzo G, Orlando A, D'Attoma B, Guerra V, Valerio F, Lavermicocca P, et al. Randomised clinical trial: efficacy of Lactobacillus paracasei-enriched artichokes in the treatment of patients with functional constipation--a double-blind, controlled, crossover study. Aliment Pharmacol Ther. 2012;35(4):441-50.

16. Kalaitzakis E, Josefsson A, Castedal M, Henfridsson P, Bengtsson M, Andersson B, et al. Gastrointestinal symptoms in patients with cirrhosis: a longitudinal study before and after liver transplantation. Scand J Gastroenterol. 2013;48(11):1308-16.

17. Kurppa K, Paavola A, Collin P, Sievänen H, Laurila K, Huhtala H, et al. Benefits of a gluten-free diet for asymptomatic patients with serologic markers of celiac disease. gastroenterology. 2014; 147(3):610-7.

18. Akamaru Y, Takahashi T, Nishida T, Omori T, Nishikawa K, Mikata S, et al. Effects of daikenchuto, a Japanese herb, on intestinal motility after total gastrectomy: a prospective randomized trial. J Gastrointest Surg. 2015;19(3):467-72.

19. Salmean YA, Zello GA, Dahl WJ. Foods with added fiber improve stool frequency in individuals with chronic kidney disease with no impact on appetite or overall quality of life. BMC Res Notes. 2013;6:510.

20. Dong R, Guo ZY, Ding JR, Zhou YY, Wu H. Gastrointestinal symptoms: a comparison between patients undergoing peritoneal dialysis and hemodialysis. World J Gastroenterol. 2014;20(32):11370-5

21. Gatti S, Caporelli N, Galeazzi T, Francavilla R, Barbato M, Roggero P, et al. Oats in the diet of children with celiac disease: preliminary results of a double-blind, randomized, placebo-controlled multicenter Italian study. Nutrients. 2013;5(11):4653-64.

22. Ciconelli R, Ferraz M, Santos W, Meinão I, Marina R. Tradução para a Língua Portuguesa e validação do questionário genérico de avaliação de qualidade de vida SF-36 (Brasil SF-36). Rev Bras Reumatol. 1999;39:8.

23. Beaton DE, Bombardier C, Guillemin F, Ferraz MB. Guidelines for the process of cross-cultural adaptation of self-report measures. Spine (Phila Pa 1976). 2000;25(24):3186-91.

24. Cronbach L. Coefficient Alpha and the internal structure of tests. Psychometrika. 1951;16:37.

25. Maroco J, Garcia-Marques T. Qual a fiabilidade do alfa de Cronbach? Questões antigas e soluções modernas? Laboratório de Psicologia. 2006;4(1):25.

26. Digesu GA, Panayi D, Kundi N, Tekkis P, Fernando R, Khullar V. Validity of the Rome III Criteria in assessing constipation in women. Int Urogynecol J. 2010 Oct;21(10):1185-93.

27. Jensen MP. Questionnaire validation: a brief guide for readers of the research literature. Clin J Pain. 2003;19(6):345-52.

28. Fleiss J. The Design and Analysis of Clinical Experiments. New York1986.

29. Bovenschen HJ, Janssen MJ, van Oijen MG, Laheij RJ, van Rossum LG, Jansen JB. Evaluation of a gastrointestinal symptoms questionnaire. Dig Dis Sci. 2006;51(9):1509-15.

30. Gjersing L, Caplehorn JR, Clausen T. Cross-cultural adaptation of research instruments: language, setting, time and statistical considerations. BMC Med Res Methodol. 2010;10:13.

31. Bolier EA, Kessing BF, Smout AJ, Bredenoord AJ. Systematic review: questionnaires for assessment of gastroesophageal reflux disease. Dis Esophagus. 2015;28(2):105-20.

32. Pereira GI, Costa CD, Geocze L, Borim AA, Ciconelli RM, Camacho-Lobato L. [Cross-cultural adaptation and validation for Portuguese (Brazil) of health related quality of life instruments specific for gastroesophageal reflux disease]. Arq Gastroenterol. 2007;44(2):168-77.

33. Carvalho PH, Ferreira ME, Kotait M, Teixeira PC, Hearst N, Cordás TA, et al. Conceptual, semantic, and instrumental equivalences: preliminary analysis of the Brazilian Portuguese version of the Male Body Dissatisfaction Scale (MBDS). Cad Saude Publica. 2013;29(2):403-9.

34. Yusuf SA, Jorge JM, Habr-Gama A, Kiss DR, Gama Rodrigues J. Evaluation of quality of life in anal incontinence: validation of the questionnaire FIQL (Fecal Incontinence Quality of Life]. Arq Gastroenterol. 2004;41(3):202-8.

35. Pontes RM, Miszputen SJ, Ferreira-Filho OF, Miranda C, Ferraz MB. [Quality of life in patients with inflammatory bowel diseases: translation to Portuguese language and validation of the "Inflammatory Bowel Disease Questionnaire" (IBDQ)]. Arq Gastroenterol. 2004;41(2):137-43.

36. Veldhuyzen van Zanten SJ, Chiba N, Armstrong D, Barkun AN, Thomson AB, Mann V, et al. Validation of a 7-point Global Overall Symptom scale to measure the severity of dyspepsia symptoms in clinical trials. Aliment Pharmacol Ther. 2006;23(4):521-9.

Apêndice B - Questionário semanal sobre funcionamento intestinal

Gastrointestinal Symptom Rating Scale (GSRS)

Questionário semanal sobre funcionamento intestinal –

***Gastrointestinal Symptom Rating Scale* (GSRS)**

Nome:_____ Data: _____

Por favor, para cada questão **dê uma nota de 1 a 7**, conforme a escala abaixo:

Escala de resposta (em intensidade ou frequência):
1. Nenhum desconforto / nenhuma vez
2. Desconforto mínimo / raras vezes
3. Desconforto leve / pouquíssimas vezes
4. Desconforto moderado / poucas vezes
5. Desconforto moderadamente severo / algumas vezes
6. Desconforto forte / muitas vezes
7. Desconforto muito forte / muitíssimas vezes

1. Você teve dores abdominais durante a semana passada?
(Dor se refere a todos os tipos de dores no estômago ou de intestino/barriga).
Resposta:_____. Observação:
2. Você sentiu azia durante a semana passada?
(Por azia queremos dizer uma dor em queimação ou desconforto em seu peito).
Resposta:_____. Observação:
3. Você sentiu refluxo ácido durante a semana passada?
(Por reflux o ácido queremos dizer: regurgitação ou fluxo de fluido azedo ou amargo na boca).
Resposta:_____. Observação:
4. Você sentiu dor de fome no estômago durante a semana passada?
(Esta sensação de estômago vazio está associada com a necessidade de comer entre as refeições).
Resposta:_____. Observação:
5. Você sentiu náuseas durante a semana passada?
(Por náuseas queremos dizer uma sensação de mal estar iminente - parece que vai vomitar).
Resposta:_____. Observação:
6. Seu estômago ou barriga roncou durante a semana passada? (Ronco refere-se a barulhos ou ruídos no estômago).
Resposta:_____. Observação:
7. Você sentiu o seu estômago cheio de ar durante a semana passada?
(Sentir o estômago cheio de ar se refere ao inchaço no estômago ou barriga).
Resposta:_____. Observação:
8. Você arrotou durante a semana passada?
(Arrotar refere-se a trazer ar ou gás através da boca).
Resposta:_____. Observação:
9. Você eliminou gases ou teve flatulência durante a semana passada?
(Eliminar gases ou flatulência refere-se à liberação de ar ou gás a partir do intestino).
Resposta:_____. Observação:
10. Você teve constipação/prisão de ventre durante a semana passada? (Constipação refere-se a uma capacidade reduzida de defecar).
Resposta:_____. Observação:
11. Você teve diarreia durante a semana passada?
(Diarreia refere-se a fezes moles ou líquidas frequentes).
Resposta:_____. Observação:
12. Você teve/apresentou fezes moles durante a semana passada?
(Se as fezes foram alternadamente duras e moles, essa questão refere-se apenas ao quanto você se sentiu incomodado pelas fezes moles).
Resposta:_____. Observação:
13. Você teve/apresentou fezes duras durante a semana passada?
(Se as fezes foram alternadamente duras e moles, essa questão refere-se apenas ao quanto você se sentiu incomodado pelas fezes duras).
Resposta:_____. Observação:
14. Você sentiu uma necessidade urgente de evacuar durante a semana passada?
(Por necessidade urgente entenda-se necessidade de correr ao banheiro para defecar).
Resposta:_____. Observação:
15. Ao ir ao banheiro durante a semana passada, você teve a sensação de não esvaziar completamente o intestino? (A sensação de que depois de terminar uma defecação, ainda há mais fezes que precisam ser eliminadas).
Resposta:_____. Observação:

Apêndice C - Questionário diário - Hábito intestinal

Hábito intestinal

Questionário diário

Voluntário: _____ Data do recebimento: _____

Responda as perguntas abaixo diariamente.

Utilize a seguinte escala para responder as questões 2 a 5:

0 – Nenhum (a) 1 – Fraco (a) 2 – Moderado (a) 3 – Forte 4 – Muito forte

	2ª feira	3ª feira	4ª feira	5ª feira	6ª feira	sábado	domingo	2ª feira	3ª feira	4ª feira	5ª feira	6ª feira	Sábado	domingo
1. Hoje você comeu sopa oferecida pelo ensaio clinico? Qual sabor?														
2. Você sentiu cólicas abdominais hoje?														
3. Você teve flatulência hoje?														
4. Você teve ruídos abdominais (borborigmos) hoje?														
5. Você teve distensão abdominal (inchaço) hoje?														
6. Quantas vezes você foi ao banheiro (evacuar) hoje?														
7. De acordo com as figuras abaixo, qual foi a aparência ou consistência das suas fezes hoje?														

Apêndice D - Instruções para o preenchimento do recordatório 24 h

Instruções para o preenchimento do R24h

1. Pergunte ao voluntário o nome completo e escreva no cabeçalho;
2. Assinale a alternativa se o R24h é antes ou após a intervenção;
3. Assinale qual o número do R24h, sendo 1 = primeiro; 2 = segundo; 3 = terceiro;
4. Anote no campo “Data de referência” a data do dia anterior;
5. Anote no campo “Dia da semana de referência” o dia da semana que equivale ao dia anterior;
6. Pergunte ao voluntário se o dia dele foi típico (comum) ou atípico (fora do comum);
7. Para fazer a descrição do dia alimentar devem ser feitos questionamentos de fácil entendimento, como se segue:
    a. Descrição dos alimentos consumidos. Nesta etapa anote todas as informações fornecidas pelo voluntário sem interrompê-lo:

    Por favor, descreva todos os alimentos e bebidas que você consumiu ontem desde a hora que acordou até a hora que foi dormir;

    b. Revisão dos dados fornecidos e obtenção de dados mais precisos:

    - Os alimentos consumidos nesta refeição foram “X, Y e Z”, correto?

    - Qual foi o horário em que você consumiu esses alimentos?

    - Que refeição foi essa? (Café da manhã, lanche, almoço, jantar)

    - Qual foi a quantidade que você comeu destes alimentos?

    - Você consegue me informar a marca/receita deste alimento?

    - Esta refeição foi feita aonde (casa, restaurante, etc.)

    c. Descrição de líquidos e doces consumidos durante o dia. É importante não esquecer este item, pois muitos indivíduos não consideram água, balas e chicletes como sendo alimentos.

    - Você tomou água ontem? Quanto?

    - Você chupou alguma bala ou chiclete?

    - Você consumiu algum outro tipo de alimento durante o dia?
8. Agradeça o voluntário e finalize a entrevista.

Nome do voluntário: _____

Recordatório: ( ) antes ( ) depois

Data de referência (anterior)	Dia da semana de referência	Dia típico ou atípico	Horário da refeição	Local da refeição	Refeição referente	Acompanhado/ Sozinho	Alimento/bebida consumidos	Quantidade (medida caseira)	Marca/receita

Apêndice E - Triagem de voluntários para estudo clínico

TRIAGEM DE VOLUNTÁRIOS PARA ESTUDO CLÍNICO

Nome completo: _____

E mail:_____Telefone:_____

Data de nascimento: _____ Gênero: _____

Peso: _____ Altura: _____

1. Você apresenta alguma das condições abaixo?
   a. Diabetes: Não ☐ Sim ☐
   b. Hipertensão: Não ☐ Sim ☐
   c. Colesterol alto: Não ☐ Sim ☐
   d. Doenças gastrintestinais Não ☐ Sim ☐
   e. Outras: _____

2. Possui histórico familiar de:
   a. Diabetes: Não ☐ Sim ☐
   Se sim, qual o grau de parentesco? _____
   b. Hipertensão: Não ☐ Sim ☐
   Se sim, qual o grau de parentesco? _____
   c. Colesterol alto: Não ☐ Sim ☐
   Se sim, qual o grau de parentesco? _____

3. Você possui alergia ou intolerância a algum alimento? Não Sim
Se sim, qual alimento? _____ ☐ ☐

4. Você está usando algum medicamento regularmente? Não ☐ Sim ☐
Se sim, para qual finalidade? _____

5. Quando foi a última vez que você fez uso de antibióticos?
Há menos de 1 mês ☐ Entre 1 e 3 meses ☐ Há mais de 3 meses ☐

6. Quando foi a última vez que você fez uso de medicamento laxativo?
Há menos de 1 mês ☐ Entre 1 e 3 meses ☐ Há mais de 3 meses ☐ Nunca ☐

7. Você consome algum suplemento alimentar (vitaminas, minerais, etc.) regularmente?
Não ☐ Sim ☐
Se sim, qual? _____

8. Você consome alimentos probióticos ou ricos em fibra regularmente?
Não ☐ Sim ☐
Se sim, quais? _____

9. Você aceitaria consumir sopa 3 vezes por semana, durante 6 semanas? As 18 sopas são congeladas, sendo 9 de feijão com calabresa e 9 de legumes com carne.

Sim ☐ Não ☐ Motivo_____

10. Você possui o hábito de consumir bebida alcoólica?

Não ☐ Sim ☐ Se sim, com que frequência? _____

11. Você é fumante? Não ☐ Sim ☐

Se sim, há quanto tempo? _____

12. Você pratica atividade física regularmente? Não ☐ Sim ☐

Se sim, com que frequência (quantos dias por semana)? _____

Qual a duração diária (em minutos ou horas)? _____

<u>Para mulheres:</u>

13. Você está grávida? Não ☐ Sim ☐

14. Você está amamentando? Não ☐ Sim ☐

15. Você realiza terapia hormonal? Não ☐ Sim ☐

Apêndice F - Publicações ao longo do doutorado

Participação em trabalhos científicos, com publicações realizadas ao longo do doutorado

Publicações:

de Menezes EW, Giuntini EB, Dan MC, Sardá FAH, Lajolo FM. Codex dietary fibre definition - Justification for inclusion of carbohydrates from 3 to 9 degrees of polymerisation: Food Chem, 2013; 140, p. 581-5.
Disponível em: http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814613002380

Giuntini EB, Sardá FAH, Lui MC, Tadini CC, Lajolo FM, Menezes EW. Gastrointestinal hormones modulation after a double-blind interventional study with unavailable carbohydrates: Food Research International.
Disponível em: http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996915001544

Rayo, LM, L Chaguri e Carvalho, FAH. Sardá, GC Dacanal, EW Menezes, and CC Tadini. Production of instant green banana flour (Musa cavendishii, var. Nanicão) by a pulsed-fluidized bed agglomeration: LWT - Food Science and Technology. 2015 .
Disponível em:
http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643815002121

Sardá FAH, Giuntini EB. Carboidratos. In: Cozzolino, SMF; Cominetti, C. (Org.). Bases bioquímicas e fisiológicas da nutrição nas diferentes fases da vida, na saúde e na doença. 1ed.Barueri: Manole, 2013, v. 1, p. 44-74.

Em processo de submissão:

Souza GS, Sardá FAH, Giuntini EB, Gumbrevivicus I, Menezes EW. Translation and validation of a Brazilian version of the Gastrointestinal Symptom Rating Scale (GSRS). Arquivos de Gastroenterologia.

Dan MC, Giselli HL, Sardá FAH, Giuntini EB, Belllo-Pérez LA, Carpinelli AR, Lajolo FM, Menezes EW. Colonic fermentation of unavailable carbohydrates from unripe banana and its influence over glycemic control. Plant Foods for Human Nutrition.

Anexo A - Parecer CEP/FCF/194 - “Impacto da ingestão de ingrediente funcional sobre a saciedade e o funcionamento intestinal em voluntários saudáveis”

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Comitê de Ética em Pesquisa - CEP

PARECER CONSUBSTANCIADO

Parecer CEP/FCF/194
Protocolo CEP/FCF/594
CAAE: 0042.0.018.000-11

I – Identificação:

Projeto de Pesquisa:	**Impacto da ingestão de ingrediente funcional sobre a saciedade e saúde intestinal em voluntários saudáveis.**
Pesquisador Responsável:	**Profa. Dra. Elizabete Wenzel de Menezes**
Equipe:	**Pós-doutoranda Eliana Bistriche Giuntini, Doutoranda Fabiana A. Hoffmann Sardá e Mestranda Gabriela Santos Souza**
Instituição:	Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo

II - Sumário Geral do Protocolo:
Trata-se de um projeto que engloba pesquisa de alunos de mestrado, doutorado e pós-doutorado. Assim, para o alcance dos objetivos serão realizados quatro sub projetos envolvendo voluntários saudáveis: "**Impacto da ingestão de ingrediente funcional sobre a resposta glicêmica** em voluntários saudáveis, Impacto da ingestão de ingrediente funcional **sobre o funcionamento intestinal** em voluntários saudáveis, Impacto da ingestão de ingredientes funcionais **sobre a saciedade** em voluntários saudáveis e **Validação de questionário** para avaliação de funcionamento intestinal".
Objetivos do estudo:
Geral: Avaliar o impacto do consumo de refeições adicionadas de frutanos, ou farinha de banana verde (FBV) e/ou nisina sobre a fome/saciedade, funcionamento intestinal e perfil da microbiota, em voluntários saudáveis.
Específicos:
- Elaborar protótipos de refeições (sopas prontas congeladas), em planta piloto, adicionadas de frutanos, FBV (fonte de amido resistente) ou nisina;
- Avaliar o perfil químico dos ingredientes e/ou das refeições (sopas);
- Avaliar a resposta glicêmica das refeições (sopas) em ensaio de curta duração;
- Avaliar o efeito do consumo regular das refeições (sopas) adicionadas de frutanos, FBV ou nisina por seis semanas (três vezes por semana) sobre a fome/ saciedade, funcionamento intestinal, H_2 expirado e perfil da microbiota;
- Avaliar o perfil de fermentação *in vitro* da fração não disponível das refeições (sopas).

Para os estudos as refeições serão adicionadas de frutanos (Sinergy 1, Beneo-Orafti™- Tienen, Bélgica), produto comercial disponível no mercado; farinha de banana verde (FBV), fonte de amido resistente e produzida em planta piloto; ou nisina, bacteriocina disponível no mercado (Nisaplin, Danisco).

Serão elaborados protótipos de sopas prontas congeladas, em duas opções de sabor (para consumo semanal). Os protótipos serão produzidos em planta piloto, seguindo as Boas Práticas de Manufatura, pela Sadia S.A. Serão

Av. Prof. Lineu Prestes, nº 580, Bloco 13 A - Cidade Universitária - CEP 05508-900 - São Paulo - SP
Fone: (11) - 3091-3622 - Fone / Fax: (11) 3091-3677 - e-mail: cepfcf@usp.br

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Comitê de Ética em Pesquisa - CEP

elaboradas as seguintes sopas: a) Controle; b) Frutano - com os mesmos ingredientes da sopa controle, será adicionada de frutanos durante o processo de fabricação; c) FBV - sopa Controle adicionada de farinha de banana verde (FBV) fonte; d) Bacteriocina - sopa Controle adicionada de nisina durante o processo de fabricação. A adição de FBV deverá ocorrer após o descongelamento e aquecimento da sopa. As sopas prontas, assim como a FBV, serão previamente submetidas a análises químicas específicas e microbiológicas pelo Laboratório Central da Sadia S.A.

III – Situação do Protocolo: APROVADO em reunião de 28 de novembro de 2011.

Cabe ao pesquisador responsável:

- Comunicar ao CEP:
  - A ocorrência de efeitos colaterais e ou de reações não esperadas;
  - Eventuais modificações no projeto aguardando a apreciação e aprovação do CEP;
  - A interrupção do projeto;
- Rubricar todas as folhas do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE, apondo sua assinatura na última página do referido termo. Da mesma forma, o sujeito de pesquisa ou seu representante legal;
- Apresentar relatório parcial em dez/12 e relatório final em dez/13 (modelo do CEP)

São Paulo, 28 de novembro de 2011.

Profa. Dra. Mariza Landgraf
Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa
CEP/FCF/USP

Av. Prof. Lineu Prestes, nº 580, Bloco 13 A - Cidade Universitária - CEP 05508-900 - São Paulo - SP
Fone: (11) - 3091-3622 - Fone / Fax: (11) 3091-3677 - e-mail: cepfcf@usp.br

Universidade de São Paulo
Faculdade de Ciências Farmacêuticas

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO – TCLE

1. Informações do Sujeito da Pesquisa

Nome:			
Documento de Identidade nº:		Sexo: ( ) M ( )F	
Data de Nascimento: / /			
Endereço:	Nº	Complemento:	
Bairro:	Cidade:		Estado:
CEP:	Telefones:		

2. Título do Projeto de Pesquisa: "**Impacto da ingestão de ingrediente funcional sobre a saciedade e saúde intestinal em voluntários saudáveis**"	
3. Duração da Pesquisa: 3 meses	
4. Nome do pesquisador responsável: Profa Dra Elizabete Wenzel de Menezes	
Cargo/ Função: docente	Nº do Registro do Conselho Regional:
Instituição: Faculdade de Ciências Farmacêuticas/USP	

5. Você está sendo convidado(a) a participar da Pesquisa "**Impacto da ingestão de ingrediente funcional sobre o funcionamento intestinal em voluntários saudáveis**" de responsabilidade da Profa Dra Elizabete Wenzel de Menezes com colaboração da Dra Eliana Bistriche Giuntini, pós-doutoranda da FCF/USP, Fabiana Andréa Hofmann Sardá, doutoranda e Gabriela Santos Souza, mestrando, ambas do Programa de Pós-graduação em Ciência dos Alimentos da da FCF/USP.

Os carboidratos não disponíveis (que não são digeridos pelo organismo humano) produzem diversos efeitos benéficos já comprovados em uma ou mais funções do organismo humano, assim pode ser considerado um ingrediente funcional. Os carboidratos não disponíveis incluem os frutanos e o amido resistente (presente na farinha de banana verde - FBV) que são fermentados no intestino grosso e podem estimular a atividade e o crescimento de micro-organismos benéficos, como as bifidobactérias e lactobacilos (bactérias do trato intestinal com potencial benéfico à saúde humana), e também produzir o aumento da saciedade, regular a liberação de insulina e de hormônios gastrintestinais, entre outros benefícios. Outro possível ingrediente funcional é a nisina, que é utilizada na conservação de alimentos, cujo efeito sobre o funcionamento intestinal é desconhecido. O objetivo desta pesquisa é avaliar o impacto do consumo regular de refeições (sopas prontas congeladas), adicionadas de frutanos, farinha de banana verde ou nisina (substância produzida por bactérias consideradas benéficas utilizadas para conservar alimentos) sobre o funcionamento intestinal, hidrogênio (H_2) expirado (decorrente da fermentação) e avaliação da microbiota intestinal (tipos de micro-organismo presentes no intestino), em pessoas saudáveis. A pesquisa terá a duração de 6 semanas e é considerada de risco mínimo.

Você receberá 18 potes de sopas (2 sabores) que deverão ser consumidas 3 vezes por semana, durante seis semanas. As sopas serão à base de carne ou frango, adicionadas de legumes e deverão ser aquecidas de acordo com a instruções para consumo, sendo levadas diretamente do freezer ao micro-ondas. Durante o período da pesquisa, você deverá comparecer por duas vezes no Depto de Alimentos e Nutrição Experimental FCF/USP; em cada dia você deverá permanecer por até 7 h, onde será realizado o Teste de Hidrogênio expirado, descrito abaixo:

Universidade de São Paulo
Faculdade de Ciências Farmacêuticas

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO – TCLE

Teste de Hidrogênio expirado: no primeiro dia e no último dia da pesquisa, você deverá comparecer 3 a 4 h após o café da manhã. Na sua chegada, você fará o teste que consiste em assoprar em um pequeno aparelho, cujo bocal é descartável. Isso serve para medir a produção de gases decorrentes da fermentação intestinal. Em seguida uma das sopas será servida. O mesmo teste será aplicado num total de seis vezes nos seguintes tempos: 0, 30, 60, 90, 120 e 180 minutos.
Durante o período da pesquisa serão também avaliados o funcionamento intestinal e a microbiota, da seguinte forma:
Avaliação de funcionamento intestinal: você receberá um questionário com perguntas sobre hábito intestinal, frequência, consistência das fezes e desconfortos. Esse questionário deverá ser preenchido semanalmente durante todo o período do estudo (seis semanas).
Avaliação da microbiota intestinal: no primeiro dia, ao final da terceira semana e no último dia de ensaio (ou dias próximos), você deverá coletar amostras de fezes, em potes plásticos esterilizados fornecidos, que deverão ser mantidos com gelo até entrega no laboratório. O prazo entre a coleta e entrega das amostras não deverá ultrapassar 2 h.

Serão selecionados 160 sujeitos da pesquisa saudáveis, ambos os gêneros, com idades entre 18 e 45 anos, que gostem de consumir sopa. Os participantes serão divididos em quatro grupos: controle, frutano, FBV e nisina para o consumo regular de sopas (3 vezes por semana/ 6 semanas).
Poderão participar pessoas em boas condições de saúde, segundo relato sobre a ausência de diabetes, doenças renais e gastrintestinais, hipertireoidismo e sem diagnóstico prévio de *diabetes mellitus*, nem familiares portadores; as mulheres voluntárias não poderão estar em período de gravidez, amamentação ou relatar terapia hormonal. As pessoas não poderão estar utilizando qualquer tipo de medicação que afete digestão e absorção de alimentos (antibióticos, medicamentos para diarréia e constipação intestinal) durante o período do estudo. Para participar é preciso ter forno de micro-ondas.
Serão adotados cuidados especiais (não haverá constrangimento ou sanção: perda de bolsa, demissão, etc.) para evitar que indivíduos subordinados ou diretamente ligados ao pesquisador se sintam obrigados a participarem do estudo.
Não poderão participar pessoas com sobrepeso/obesidade (Índice de Massa Corporal IMC ≥ 25 kg/m^2) e baixo peso (IMC ≤ 18,6 kg/m^2), relato de doença, gravidez, ou tratamento de qualquer espécie, com possíveis distúrbios alimentares (anorexia, bulemia) ou problemas intestinais (diarréia crônica, síndrome de cólon irritado, doença de Chron, retocolite ulcerativa).

A ingestão de alguns tipos de carboidratos pode eventualmente causar ligeiro desconforto como gases e/ou cólica intestinal, raramente diarréia. As refeições serão adicionadas de 8 g de frutano ou farinha de banana verde, dose segura até mesmo para pessoas que apresentem problemas gastrintestinais com qualquer alteração na alimentação. A quantidade de nisina adicionada à sopa é a recomendada pelo Ministério da Agricultura (4 mg).

O bom funcionamento intestinal pode evitar dor abdominal, gases, distensão abdominal, anorexia, cefaléia, entre outros sintomas, e reduzir o risco de doenças como apendicite, doença de Chron (doença crônica inflamatória, caracterizada pelo aparecimento de lesões em qualquer parte do trato gastrintestinal que compromente a absorção de nutrientes) e hemorróidas, entre outras.

Você tem livre acesso, a qualquer tempo, às informações sobre os procedimentos e riscos relacionados à pesquisa; e pode contar com o pesquisador para esclarecer eventuais dúvidas. Você tem o direito de retirar seu consentimento a qualquer momento e de deixar de participar do estudo sem qualquer prejuízo. Todos os dados pessoais e material coletado serão

Universidade de São Paulo
Faculdade de Ciências Farmacêuticas

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO – TCLE

confidenciais e de uso exclusivo para a pesquisa em questão; somente o sujeito da pesquisa e os pesquisadores poderão ter acesso a estes dados. Caso surjam problemas decorrentes do consumo, isso deve ser comunicado imediatamente para as devidas providências e encaminhamento ao Hospital Universitário/USP. Eventuais danos à saúde decorrentes da pesquisa serão devidamente indenizados.

6. Contato em caso de dúvidas, intercorrências clínicas ou reações adversas
Pesquisador Responsável: Profa Dra Elizabete Wenzel de Menezes
Endereço: Depto de Alimentos e Nutrição Experimental da FCF/USP
Av. Prof. Lineu Prestes, 580 Bloco 14 05508-900 São Paulo - SP
Telefone: (011) 3091-3624 / 3812-7145 (res); e-mail: wenzelde@usp.br
Pesquisadores colaboradores: Dra Eliana Bistriche Giuntini, tel (011) 3091-3624, e-mail: elibi@usp.br; Fabiana Andréa Hofmann Sardá, tel (011) 3091-3624, e-mail: fahsarda@usp.br; Gabriela Santos Souza, tel. (011) 3091-3624; e-mail: gssouza@usp.br.

7. Consentimento Pós-Esclarecido

Declaro que, após convenientemente esclarecido pelo pesquisador e ter entendido o que me foi explicado, consinto em participar do presente Protocolo de Pesquisa.

São Paulo, de de .

Assinatura do sujeito de pesquisa Ou responsável legal	Elizabete Wenzel de Menezes

Para qualquer questão, dúvida, esclarecimento ou reclamação sobre aspectos éticos dessa pesquisa, favor entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo – Av. Prof. Lineu Prestes, 580 - Bloco 13A – Butantã – São Paulo – CEP 05508-900. Fone: 3091-3622, fone-fax: 3091-3677 – e-mail: cepfcf@usp.br

Anexo B - Parecer CEP/FCF/18/2012 - “Impacto de produto com ingrediente funcional sobre o perfil de hormônios gastrintestinais relacionados à saciedade em voluntários saudáveis”

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Comitê de Ética em Pesquisa - CEP

PARECER CONSUBSTANCIADO

Parecer CEP/FCF/18/2012
Protocolo CEP/FCF/608
CAAE: 0069.0.018.198-11

I – Identificação:

Projeto de Pesquisa:	**Impacto de produto com ingrediente funcional sobre o perfil de hormônios gastrintestinais relacionados à saciedade em voluntários saudáveis**
Pesquisador Responsável:	**Profa. Dra. Elizabete Wenzel de Menezes**
Equipe:	**Dra. Eliana Bistriche Giuntini, Doutoranda Fabiana A. Hoffmann Sardá**
Instituição:	Faculdade de Ciências Farmacêuticas – FCF-USP/SP

II - Sumário Geral do Protocolo:

Atualmente, inúmeros produtos prontos são nutricionalmente equilibrados, de modo a atender consumidores tais como idosos, pessoas que querem uma refeição leve e prática ou que buscam o controle de peso corporal. Dentre estes alimentos, a sopa pode ser citada como uma refeição prática, acessível e de boa aceitação, embora seja considerada de baixa saciedade. A adição de ingredientes funcionais à sopa pode propiciar maior saciedade que as receitas tradicionais, e também contribuir para um funcionamento intestinal adequado, fatores estes que podem reduzir o risco de desenvolvimento de doenças. Estudos demonstram que carboidratos não disponíveis como os frutanos (fruto-oligossacarídeos, FOS) e o amido resistente, que compõe a fibra alimentar, é eficaz no controle da saciedade, da resistência à insulina e dos níveis plasmáticos de glicose.

Neste contexto, o presente trabalho tem por objetivo avaliar o impacto da adição de frutanos ou farinha de banana verde (FBV), a formulação de sopas, sobre o perfil plasmático de hormônios gastrintestinais relacionados à saciedade ((insulina, grelina, GLP-1 e PYY). Serão selecionados 45 voluntários que consumirão sopas previamente formuladas e avaliados os níveis plasmáticos dos hormônios e o grau de saciedade dos indivíduos, por período de 6 semanas. Espera-se obter um alimento funcional que proporcione maior saciedade, e bem-estar aos consumidores.

Os objetivos do presente estudo são: avaliar o impacto do consumo regular de sopas prontas congeladas, adicionadas de frutanos ou farinha de

Av. Prof. Lineu Prestes, nº 580, Bloco 13 A - Cidade Universitária - CEP 05508-900 - São Paulo - SP
Fone: (011) 3818-3622 - Fone/Fax (011) 3091-3677 - e-mail:

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Comitê de Ética em Pesquisa - CEP

banana verde (FBV), sobre o perfil plasmático de hormônios gastrintestinais relacionados à saciedade. Para tanto, serão realizadas as seguintes etapas: elaboração de protótipos de sopas prontas congeladas, em planta piloto, adicionadas de frutanos ou FBV (fonte de amido resistente); avaliação do perfil químico dos ingredientes e/ou das sopas e avaliação do efeito do consumo das sopas por seis semanas (três vezes por semana) sobre a liberação plasmática de hormônios gastrintestinais (insulina, grelina, GLP-1 e PYY).

III – Situação do Protocolo: APROVADO em reunião de 27 de fevereiro de 2012.

Cabe ao pesquisador responsável:

- Comunicar ao CEP:
  - A ocorrência de efeitos colaterais e ou de reações não esperadas;
  - Eventuais modificações no projeto aguardando a apreciação e aprovação do CEP;
  - A interrupção do projeto;
- Apresentar relatório parcial em ago/12 e relatório final em mar/13 (modelo do CEP)

São Paulo, 28 de fevereiro de 2012.

Profa. Dra. Mariza Landgraf
Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa
CEP/FCF/USP

Av. Prof. Lineu Prestes, nº 580, Bloco 13 A - Cidade Universitária - CEP [illegible] - São Paulo - SP
Fone (011) 2810-3622 - Fone/Fax (011) 3091-3677 - e-mail: [illegible]

Anexo C - Parecer CEP/HU/USP 1210/12 - “Impacto de produto com ingrediente funcional sobre o perfil de hormônios gastrintestinais relacionados à saciedade em voluntários saudáveis”

São Paulo, 20 de julho de 2012.

Il^mo(a). Sr^(a).
Profa. Dra. Elizabete Wenzel de Menezes
Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental
Faculdade de Saúde Pública
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

REFERENTE: **Projeto de Pesquisa** "Impacto de produto com ingrediente funcional sobre o perfil de hormônios gastrintestinais relacionados à saciedade em voluntários saudáveis" – **Pesquisador(a) responsável:** Profa. Dra. Elizabete Wenzel de Menezes – **Equipe de Trabalho:** Eliana Bistriche Giuntini, Fabiana A. H. Sardá - **Registro CEP-HU/USP**: 1210/12 – **CAAE:** 0069.0.018.198-11

Prezada Professora

O Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário da Universidade de São Paulo, em reunião ordinária realizada no dia 20 de julho de 2012, analisou o Projeto de Pesquisa acima citado, considerando-o como **APROVADO,** bem como o seu **Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.**

Lembramos que cabe ao pesquisador elaborar e apresentar a este Comitê, relatórios anuais (parciais ou final, em função da duração da pesquisa), de acordo com a Resolução nº 196/96 do Conselho Nacional de Saúde, inciso IX.2, letra "c".

O primeiro relatório está previsto para 20 de julho de 2013.

Atenciosamente,

Dr. Maurício Seckler
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa
Hospital Universitário da USP

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DA USP
Avenida Professor Lineu Prestes, 2565 – Cidade Universitária – 05508-000 São Paulo – SP
Tels.: (11) 3091-9457 – Fax: (11) 3091-9479 - E-mail: cep@hu.usp.br