

Subárea 4.05.01 – Nutrição / Bioquímica da Nutrição

## **EFICÁCIA A CURTO PRAZO DA SUPLEMENTAÇÃO DE PROBIÓTICOS NO PERFIL LIPÍDICO E GLICÊMICO DE INDIVÍDUOS COM DOENÇA ARTERIAL CORONARIANA EM TRATAMENTO CLÍNICO: UM ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO, PLACEBO-CONTROLADO E TRIPLO-CEGO.**

Ester Godoy Silvestre<sup>1\*</sup>, Isabela Militão Gimenes<sup>1</sup>, Ludmilla Quaresma Teixeira Cabral<sup>2</sup>, Macksuelle Regina Angst Guedes<sup>3</sup>, Marcos Antônio Cantero<sup>4</sup>, Ricardo Fernandes<sup>5</sup>

1. Estudante de Nutrição da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD)
2. Nutricionista e mestranda do Programa de Pós-graduação em Alimentos, Nutrição e Saúde da UFGD
3. Nutricionista e doutoranda do Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde da UFGD
4. Cirurgião cardiovascular e professor da Faculdade de Ciências da Saúde da UFGD
5. Nutricionista e professor da Faculdade de Ciências da Saúde da UFGD – Orientador

### **Resumo**

**Objetivo:** Avaliar o efeito da suplementação de probióticos no perfil lipídico e glicêmico de indivíduos com doença arterial coronariana (DAC) em tratamento clínico.

**Métodos:** Ensaio clínico randomizado, controlado e triplo-cego em que foram incluídos adultos e idosos com DAC em tratamento clínico atual e submetidos previamente à revascularização miocárdica, sendo randomizados nos grupos controle ou probiótico.

**Resultados:** 36 indivíduos foram incluídos (18 no grupo probiótico e 18 no grupo controle). Não houve diferenças significativas no momento basal com relação a características demográficas, clínicas, de ingestão dietética e nível de atividade física. Após 30 dias de suplementação, o grupo probiótico demonstrou redução significativa no colesterol total ( $p=0,037$ ; diferença média de 25,6 mg/dL), sem diferenças significativas para os outros desfechos.

**Conclusão:** A suplementação de probióticos durante 30 dias pode reduzir o colesterol total em indivíduos com DAC em tratamento clínico.

**Autorização legal:** Aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFGD, sob o número 3.480.406.

**Palavras-chave:** Microbiota intestinal; Aterosclerose; Lipídeos.

**Apoio financeiro:** UFGD, por meio da concessão de bolsa de iniciação científica às duas primeiras autoras.

**Trabalho selecionado para a JNIC:** UFGD.

### **Introdução**

As doenças cardiovasculares (DCV) são consideradas a principal causa de mortes em todo o mundo (WHO, 2017). Estima-se que cerca de 300 mil novos casos de DCV surgem a cada ano no Brasil, e a maioria está relacionada a casos de doença arterial coronariana (DAC) (PRÉCOMA et al., 2019).

Apesar de inúmeros avanços tecnológicos que permitem o diagnóstico e tratamento precoces, o estilo de vida sedentário, tabagismo, envelhecimento da população, dietas hipercalóricas, assim como a presença de doenças crônicas, tais como a obesidade, dislipidemia, diabetes mellitus (DM) e hipertensão arterial, contribuem para a alta prevalência da DAC no Brasil (FALUDI et al., 2017; POLANCZYK, 2020).

Entre as abordagens dietoterápicas investigadas estão os probióticos, micro-organismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios à saúde do hospedeiro (HILL et al., 2014). Estes micro-organismos exercem diversas funções benéficas, como a inibição do crescimento de bactérias patogênicas, a preservação da função da barreira epitelial, a modulação imunometabólica favorável ao hospedeiro com melhora no perfil lipídico e glicêmico, entre outros benefícios (GUARNER et al., 2017; KOUTNIKOVA et al., 2019; TANG et al., 2019; POURRAJAB et al., 2020).

Apesar de todos os efeitos observados, a utilização de probióticos vem sendo pouco explorada como uma nova proposta terapêutica para a melhora de parâmetros metabólicos na DAC. Por outro lado, meta-análises têm mostrado efeitos benéficos dos probióticos no perfil lipídico e glicêmico em seres humanos com maior risco cardiovascular, como na obesidade, doença hepática gordurosa não alcoólica, hipercolesterolemia e DM2 (KOUTNIKOVA et al., 2019; TANG et al., 2019; POURRAJAB et al., 2020).

Considerando os benefícios dos probióticos no perfil lipídico e glicêmico em populações com alto risco cardiovascular, além da carência de estudos que avaliaram o efeito destes micro-organismos em indivíduos com DAC, destaca-se a necessidade de estudos robustos com o objetivo de avaliar o papel adjuvante dos probióticos no tratamento desta doença.

Portanto, este ensaio clínico tem por objetivo determinar a eficácia a curto prazo de probióticos em indicadores do perfil lipídico e glicêmico em indivíduos com DAC em tratamento clínico.

### **Metodologia**

O estudo foi um ensaio clínico randomizado, placebo-controlado e triplo cego, realizado no Hospital Evangélico Dr. e Sra. Goldsby King, Dourados, MS. Os critérios de inclusão foram: indivíduos adultos e idosos

(≥ 20 anos) de ambos os sexos revascularizados após infarto agudo do miocárdio e que atualmente estavam em acompanhamento clínico. Não foram incluídos aqueles com: doenças gastrointestinais prévias; doença renal crônica em diálise; intolerâncias e/ou alergias alimentares; dependência alcoólica e/ou de drogas ilícitas; uso atual ou prévio (até três meses) de antibióticos e/ou laxativos e/ou inibidores de apetite, exceto antibioticoterapia profilática para a cirurgia; uso regular de antiespasmódicos e/ou antiácidos; uso atual ou prévio (até três meses) de módulos de fibras alimentares, prebióticos, probióticos, simbióticos ou produtos enriquecidos com estes ingredientes; intolerância a prebióticos e/ou probióticos e/ou simbióticos; grávidas ou lactantes e indígenas.

A técnica de randomização foi do tipo estratificada por blocos adaptada a covariáveis (sexo e presença de DM2, garantindo o equilíbrio destas covariáveis entre os grupos). Os participantes do estudo, bem como os pesquisadores responsáveis pelo recrutamento, coleta e análises laboratoriais, além do responsável pelo tratamento e análises estatísticas foram mascarados, caracterizando o estudo como triplo-cego.

A coleta dos dados ocorreu em dois momentos: M0 - momento basal; e M1 - momento final, com 30 dias de suplementação. A intervenção consistiu em sachês com a seguinte composição: *Lactocaseibacillus paracasei* LBC81, *Streptococcus termophilus* ATCC 19258, *Saccharomyces boulardii* CCT 4309, *Bifidobacterium lactis* Bb-12, na quantidade de  $1 \times 10^9$  UFC/dia para cada cepa. Os participantes foram orientados a consumir um sachê por dia durante 30 dias. O placebo foi a maltodextrina, na mesma quantidade do suplemento (peso: 1 g por dia).

Os participantes do estudo foram caracterizados quanto a dados demográficos (sexo e idade), antropométricos (índice de massa corporal e circunferência da cintura), clínicos (presença de comorbidades, fármacos utilizados, hábito tabágico, características das fezes e sintomas gastrointestinais), bioquímicos (colesterol total, LDL, HDL, triglicerídeos e glicose de jejum), além do consumo alimentar atual e avaliação do nível de atividade física.

A análise estatística foi realizada no programa estatístico STATA® versão 13.1. Para avaliação da distribuição dos dados foi aplicado o teste de normalidade de Shapiro-Wilk. Para variáveis contínuas, as comparações entre os grupos foram realizadas utilizando o teste T de student ou o Teste de Mann-Whitney, dependendo da normalidade das variáveis. Para variáveis categóricas, as comparações entre os grupos (controle e suplementado) foram realizadas utilizando o Teste de Qui-Quadrado ou Teste de Fisher. Para todos os testes, foi adotado o nível de significância de 5% ( $p < 0,05$ ).

## Resultados e Discussão

Todos os indivíduos internados no período de setembro de 2020 a julho de 2021 foram avaliados quanto aos critérios de elegibilidade (n=148). No total, 108 não foram incluídos por não cumprirem os critérios de elegibilidade. Desse modo, 40 participantes foram randomizados e alocados nos grupos probiótico e placebo. Ao longo do estudo três participantes foram descontinuados, dois no grupo probiótico porque usaram antibióticos e dois no grupo controle porque um não compareceu a avaliação final e um usou antibiótico, totalizando 36 participantes (18 no grupo probiótico e 18 no grupo controle).

Não houve nenhuma diferença estatisticamente significativa entre os grupos para as variáveis demográficas, clínicas, de ingestão dietética, antropométricas e o nível de atividade física no momento basal ( $p > 0,05$ ), o que demonstra a comparabilidade dos grupos (Tabela 1). É importante destacar que todos os participantes utilizavam no momento basal: anti-hipertensivos, anticoagulantes e estatinas. Todos os indivíduos com DM2 utilizavam metformina.

Tabela 1 – Características basais da amostra.

Características	Probiótico (n=18)	Placebo (n=18)	Valor-p
Idade (anos)	57,8 ± 10,1	61,9 ± 6,8	0,162 <sup>a</sup>
Sexo (n, %)			0,121 <sup>b</sup>
Masculino	16 (88,9)	11 (61,1)	
Feminino	2 (11,1)	7 (38,9)	
Tabagismo (n, %)			
Nunca fumou	9 (47,1)	6 (33,3)	0,500 <sup>bt</sup>
Fumante atual	0 (0)	1 (5,6)	1,000 <sup>bt</sup>
Ex-fumante	9 (52,9)	11 (61,1)	0,738 <sup>bt</sup>
Comorbidades conhecidas pelo paciente (n, %)*			
Nenhuma	10 (55,5)	7 (38,9)	0,317 <sup>c</sup>
Hipertensão arterial sistêmica	6 (33,3)	11 (61,1)	0,095 <sup>c</sup>
Diabetes <i>mellitus</i> tipo 2	2 (11,1)	3 (16,7)	1,000 <sup>bt</sup>
Outros**	2 (11,1)	0 (0)	0,492 <sup>bt</sup>
Ingestão energética (kcal/dia)	1203,2 ± 338,6	1235,5 ± 329,7	0,777 <sup>a</sup>
Carboidratos (g/dia)	184,0 ± 52,9	178,4 ± 41,6	0,724 <sup>a</sup>
Proteínas (g/dia)	56,5 ± 24,6	59,8 ± 24,9	0,693 <sup>a</sup>
Lipídios (g/dia)	27,0 ± 11,1	30,9 ± 14,4	0,371 <sup>a</sup>
Fibras (g/dia)	12,2 ± 4,8	11,8 ± 4,7	0,807 <sup>a</sup>
Escala de Bristol (n, %)			0,494 <sup>c</sup>
1-2 ou 5-7	6 (33,3)	8 (44,4)	
3-4	12 (66,7)	10 (55,6)	

Tabela 1 – Continuação.

Características	Probiótico (n=18)	Placebo (n=18)	Valor-p
Nível de atividade física**			0,735 <sup>c</sup>
Insuficientemente ativos	10 (55,6)	11 (61,1)	
Ativos	8 (44,4)	7 (38,9)	
Presença de sintomas gastrointestinais (ao menos um episódio na última semana)****			
Dores abdominais	3 (17,6)	4 (22,2)	1,000 <sup>b†</sup>
Refluxo	4 (23,5)	7 (38,9)	0,481 <sup>b†</sup>
Náuseas	6 (35,3)	9 (50,0)	0,516 <sup>b†</sup>
Constipação	4 (23,5)	4 (22,2)	1,000 <sup>b†</sup>
Diarreia	1 (5,9)	5 (27,8)	0,182 <sup>b†</sup>
Índice de Massa Corporal	29,1 ± 5,0	26,7 ± 3,0	0,064 <sup>d</sup>
Circunferência da cintura	101,7 ± 13,2	97,7 ± 8,6	0,288 <sup>a</sup>

Legenda: M – Masculino. F – Feminino. Os dados contínuos foram apresentados em média ± desvio padrão.

\*A soma das colunas excede 100% porque os indivíduos poderiam apresentar mais de uma comorbidade. Informação obtida pelo relato dos pacientes.

\*\*Doença pulmonar obstrutiva crônica ou hipercolesterolemia.

\*\*\*Classificação obtida de acordo com PITANGA et al. (2018), a partir da aplicação do *International Physical Activity Questionnaire* (IPAQ), versão longa (MATSUDO et al., 2001). Sedentários e pouco ativos foram unidos na categoria “Insuficientemente ativos”, enquanto fisicamente ativos foram considerados na categoria “Ativos”. Para a classificação considerou-se o tempo total gasto em atividades físicas em uma semana habitual nos domínios trabalho, transporte, atividades domésticas e de lazer.

\*\*\*\*Escala de classificação de sintomas gastrointestinais (*Gastrointestinal Symptom Rating Scale*) (SOUZA et al., 2016). No caso do sintoma “diarreia”, em ambos os grupos o relato variou entre raras vezes a poucas vezes.

<sup>a</sup>Teste T de Student independente. <sup>b</sup>Teste exato de Fisher. <sup>c</sup>Teste de Qui-Quadrado. <sup>d</sup>Teste de Mann Whitney.

<sup>†</sup>Teste realizado entre a categoria de interesse e as demais categorias reunidas (tabela de contingência 2x2), uma vez que a variável não cumpria os pré-requisitos para realização do teste de qui-quadrado.

No momento final também não houve diferença significativa entre os grupos para as mesmas variáveis da tabela 1, assim como para os desfechos da pesquisa ( $p > 0,05$ ).

Após 30 dias de suplementação houve diferença estatisticamente significativa para o colesterol total (diferença média: 25,6 mg/dL;  $p=0,037$ ). Nas demais análises não houve diferenças significativas (Tabela 2).

Tabela 2 – Indicadores do perfil lipídico e glicêmico após 30 dias de suplementação (n=36).

Indicadores	Placebo (n=17)	Probiótico (n=18)	Valor-p (teste não pareado)
Glicemia de jejum (mg/dL)	99,2 ± 17,5	106,9 ± 32,4	0,491 <sup>a</sup>
Triglicerídeos (mg/dL)	171 (109-236)	103,5 (83,5-173,5)	0,156 <sup>b</sup>
Colesterol total (mg/dL)	167,5 ± 27,8	141,9 ± 13,3	<b>0,037<sup>a</sup></b>
LDL-colesterol (mg/dL)	76,3 (72,6-107,6)	70,2 (62,3-79,0)	0,121 <sup>b</sup>
HDL-colesterol (mg/dL)	42,1 ± 5,5	46,6 ± 14,2	0,471 <sup>a</sup>

Legenda: <sup>a</sup>Teste T de Student independente. <sup>b</sup>Teste de Mann Whitney.

No que se refere a adesão a suplementação, o grupo probiótico apresentou uma média percentual de consumo de 98,3% (desvio padrão: 2,8) e o grupo controle de 98,8% (desvio padrão: 1,7). Não houve diferença estatisticamente significativa na adesão a suplementação ( $p = 0,868$ , teste de Mann-Whitney). Nenhum dos participantes relataram efeitos adversos relativos à suplementação.

É importante destacar que o grupo probiótico apresentou redução média na avaliação intragrupo (30 dias) de 16,2 mg/dL no colesterol total, enquanto o grupo placebo apresentou redução de 3,6 mg/dL, reforçando o efeito benéfico dos probióticos na melhora deste desfecho que está fortemente relacionado ao desenvolvimento das placas ateroscleróticas. Não houve diferenças estatisticamente significativas após a suplementação para as demais variáveis bioquímicas analisadas (glicemia de jejum, triglicerídeos, LDL-c e HDL-c), apesar de ter havido redução mediana de 19,6 mg/dL no LDL-c, de 45 mg/dL nos triglicerídeos e aumento médio de 12,1 mg/dL no HDL-c no grupo probiótico, sendo resultados clinicamente significativos. Por outro lado, no grupo controle, houve aumento mediano de LDL-c em 13,2 mg/dL, redução mediana mais discreta nos triglicerídeos (18,5 mg/dL) e aumento médio mais discreto de HDL-c em comparação com o grupo probiótico (6,6 mg/dL), o que sugere melhor equilíbrio no metabolismo lipídico no grupo probiótico.

Estudos tem concluído que indivíduos com hipercolesterolemia e hipertrigliceridemia obtiveram melhores respostas ao tratamento com probióticos (RYAN et al., 2015; WU et al., 2017; GADELHA E BEZERRA, 2019). Alguns mecanismos têm sido propostos para a melhora do perfil lipídico com o uso de probióticos, como a supressão da captação de ácidos graxos mediado pela insulina em adipócitos, aumento da expressão gênica de vias lipolíticas e redução da produção de proteínas capazes de ativar a transcrição de enzimas envolvidas na lipogênese. Além disso, foi observado que o consumo de *Saccharomyces boulardii* reduz o número de

lipoproteínas ricas em triglicerídeos, reduzindo o potencial aterogênico (RYAN et al., 2015; WU et al., 2017; GADELHA E BEZERRA, 2019).

Fatores como tempo de suplementação, se a suplementação foi feita isolada ou associada a outro produto ou se foi associada a exercício físico, podem influenciar os resultados. Parece que o tempo estimado para observação de resultados melhores no tocante ao uso exclusivo de probióticos pode ser um fator que influencia diretamente os resultados (GADELHA e BEZERRA, 2019). Ainda assim, mesmo em um tempo curto de suplementação (30 dias), resultados significativos foram observados, demonstrando a potencialidade do uso de probióticos no tratamento de indivíduos com DAC.

Entre os pontos fortes da pesquisa destacam-se o processo de randomização e cegamento (triplo-cego), e a adesão à suplementação de ambos os grupos (>98%), assim como os critérios de elegibilidade que não permitiram a participação de indivíduos que seguiam dietas não usuais, que apresentassem intolerâncias e/ou alergias alimentares e/ou que faziam uso de fármacos ou suplementos que podiam alterar diretamente a microbiota intestinal e o apetite, uma vez que são fatores confundidores neste tipo de intervenção. No entanto, houve limitações, como o tamanho amostral limitado, a falta de avaliação da microbiota fecal devido a questões orçamentárias, variações intra e interindividuais nos tipos de alimentos consumidos (embora todos tenham recebido a mesma educação interdisciplinar quanto à alimentação no período da pesquisa), bem como o possível subrelato na ingestão dietética, considerando que a maioria dos indivíduos tinha excesso de peso.

### Conclusões

Os probióticos podem reduzir o colesterol total em indivíduos com DAC em tratamento clínico, contribuindo de forma adjuvante no tratamento desta população do ponto de vista não farmacológico.

### Referências bibliográficas

FALUDI, A. A. et al. Atualização da Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 109, n. 1, p. 1-76, 2017.

GADELHA, C. J. M. U.; BEZERRA, A. N. Efeitos dos probióticos no perfil lipídico: revisão sistemática. **Jornal Vascular brasileiro**, v. 18, 2019.

GUARNER, F. et al. **World Gastroenterology Organisation global guidelines: probiotics and prebiotics February 2017**. [Acesso em: 01 mar 2021]. Disponível em: <http://www.worldgastroenterology.org/guidelines/global-guidelines/probiotics-and-prebiotics/probiotics-and-prebiotics-english>.

HILL, C. et al. Expert consensus document. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. **Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology**, v. 11, n. 8, p. 506-514, 2014.

KOUTNIKOVA, et al. Impacto f bacterial probiotics on obesity, diabetes and non-alcoholic fatty liver disease related variables: a systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. **BMJ Open**, v. 9, n. 3: e017995, 2019.

MATSUDO, S. et al. Questionário internacional de atividade física (IPAQ): estudo de validade e reprodutibilidade no Brasil. **Revista Brasileira de Atividade Física e Saúde**, v. 6, n. 2, p. 05-18, 2001.

PITANGA, F. J. C. et al. Atividade Física no Tempo Livre, porém não Atividade Física no Deslocamento, está Associada com Risco Cardiovascular em Participantes do ELSA-Brasil. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 110, n. 1, p. 36-43, 2018.

POLANCZYK, C. A. Epidemiology of cardiovascular diseases in brazil: The truth hidden in the numbers. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 115, n. 2, p. 161–162, 2020.

POURRAJAB, B. et al. The impact of probiotic yogurt consumption on lipid profiles in subjects with mild to moderate hypercholesterolemia: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. **Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases**, v. 30, n. 1, p. 11-22, 2020.

PRÉCOMA, D.B. et al. Atualização da Diretriz de Prevenção Cardiovascular da Sociedade Brasileira de Cardiologia – 2019. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 113, n. 4. p. 787-891, 2019.

RYAN, J. J. et al. Effect of the Probiotic *Saccharomyces boulardii* on Cholesterol and Lipoprotein Particles in Hypercholesterolemic Adults: a Single-Srm, Open-Label Pilot Study. **The Journal of Alternative and Complementary Medicine**, vol. 21, n. 5, p. 288-293, 2015.

SOUZA, G. S. et al. Translation and validation of the brazilian portuguese version of the gastrointestinal symptom rating scale (gsrs) questionnaire. **Arquivos de Gastroenterologia**, v. 53, n. 3, p. 146-151, 2016.

TANG, Y. et al. Effects of probiotics on nonalcoholic fatty liver disease: a systematic review and meta-analysis. **Therapeutic Advances in Gastroenterology**, v. 12, p. 1-23, 2019.

WU, Y. et al. Effect of probiotic *Lactobacillus* on lipid profile: a systematic review and meta-analysis of randomized, controlled trials. **Plos One**, vol. 12, n. 6, 2017.