



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E ENGENHARIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS

KEILA RODRIGUES ZANARDI

**EFEITOS FUNCIONAIS DA YACON (*Smallanthus sonchifolius*) E DO KEFIR
ISOLADOS OU ASSOCIADOS EM RATOS COM CÂNCER DE CÓLON**

ALEGRE - ES
JUNHO – 2021

KEILA RODRIGUES ZANARDI

**EFEITOS FUNCIONAIS DA YACON (*Smallanthus sonchifolius*) E DO KEFIR
ISOLADOS OU ASSOCIADOS EM RATOS COM CÂNCER DE CÓLON**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo, como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientadora: Profa. Dra. Neuza Maria Brunoro Costa

Coorientadores: Profa. Dra. Mirelle Lomar Viana

Prof. Dr. Leonardo Oliveira Trivilin

ALEGRE - ES

JUNHO - 2021

KEILA RODRIGUES ZANARDI

**‘EFEITOS FUNCIONAIS DA YACON (*Smallanthus sonchifolius*) E
DO KEFIR ISOLADOS OU ASSOCIADOS EM RATOS COM CÂNCER
DE CÓLON’**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo, como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Aprovado em 16 de Junho de 2021.

Neuzastosta

Prof^a. Dr^a. Neuz Maria Brunoro Costa
Universidade Federal do Espírito Santo-UFES
Orientadora

AGV

Prof. Dr. André Gustavo Vasconcelos Costa
Universidade Federal do Espírito Santo-UFES
Examinador Interno

mirelle lommar viana

Prof^a. Dr^a. Mirelle Lomar Viana
Universidade Federal de Espírito Santo-UFES
Examinadora Externa

Mariana Grancieri

Pós Doc Mariana Grancieri
Universidade Federal de Viçosa-UFV
Examinadora Externa

Ficha catalográfica disponibilizada pelo Sistema Integrado de Bibliotecas - SIBI/UFES e elaborada pelo autor

Z27e Zanardi, Keila Rodrigues, 1996-
Efeitos funcionais da yacon (*Smallanthus sonchifolius*) e do kefir isolados ou associados em ratos com câncer de cólon / Keila Rodrigues Zanardi. - 2021.
94 f. : il.

Orientador: Neuza Maria Brunoro Costa.

Coorientadores: Mirelle Lomar Viana, Leonardo Oliveira Trivilin.

Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias e Engenharias.

1. Probióticos. 2. Prebióticos. 3. Simbióticos. 4. Câncer colorretal. 5. Saúde intestinal. 6. Rato. I. Costa, Neuza Maria Brunoro. II. Viana, Mirelle Lomar. III. Trivilin, Leonardo Oliveira. IV. Universidade Federal do Espírito Santo. Centro de Ciências Agrárias e Engenharias. V. Título.

CDU: 664

AGRADECIMENTOS

À minha família, meus pais Marilza e Cleverson, por sempre se esforçarem e darem tudo de si para me ajudar a realizar meus sonhos e acreditarem sempre em mim, me dando apoio em todas as minhas escolhas e minhas amadas irmãs Kissila e Kézia, e prima querida prima Ingrid pela torcida constantes, amizade e os momentos de descontração na noite das meninas e também as minhas queridas tias Mônica, Verônica e Claudia, Meu irmão Rafael e sua esposa Luana por sua torcida, amor e apoio. Aos meus amores, sobrinhos Pedro e Lavínia e minha afilhada Ana Clara, por todo os momentos felizes que passamos junto. À toda a minha família a minha eterna gratidão e amor!

Expresso a minha gratidão também aos meus amigos, por toda a amizade e cumplicidade, sempre me lembrarei de todos vocês com muito carinho e amor. As amigas Ana Caroline e Havelane pelo apoio e amizade. E meus amigos / irmãos 'de sempre', Bruno Dutra e Caroline Motta por sempre estarem ao meu lado, me apoiando e tendo paciência comigo, pelos churrascos e noites de series e também pelos abraços na hora que mais precisei.

Agradeço também a minha orientadora professora Dra. Neuza Maria Brunoro Costa por sua generosidade, carinho e paciência para comigo em todas as fases dessa pesquisa, sobretudo por ter acreditado e confiado em mim para a realização desse projeto, mesmo com as dificuldades provenientes da pandemia.

Aos meus coorientadores, Prof. Leonardo Oliveira Trivilin por toda a ajuda, disposição e paciência em sanar minhas dúvidas, na ajuda na indução e aplicação de vermífugo dos animais e na realização da análise de Foco de cripta aberrantes, onde se disponibilizou não só em ensinar, mas também com a carona, e sobretudo com bom humor contagiante. Profa. Dra. Mirelle Lomar Viana, por toda a presteza e ajuda na realização das análises de IgA e procedimento de gavagem nos animais, sempre de maneira calma e gentil.

À todos os funcionários do departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, em especial aos queridos Eduardo e Anderson do laboratório de Nutrição Experimental e Fisiologia Humana, por toda ajuda, convivência diária harmoniosa, presteza e todos os momentos de descontração, a minha total gratidão a vocês.

Agradeço a Caroline e sua mãe tia Edna por toda a ajuda ao decorrer de todo o experimento e por sempre serem tão generosas e prestativas em todos os momentos, muito obrigada!

A todas as pessoas que contribuíram para a conclusão deste trabalho, me ajudando sempre que precisei com muita prestatividade e paciência, Anamares, Alexandre, Líbini e Laila, professora Patrícia Bernardes, Prof. Dr. André Costa e a todos os demais que mesmo não citados nominalmente contribuíram de alguma forma para a concretização e interpretação das análises.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo apoio financeiro e concessão da bolsa.

LISTA DE SIGLAS E ABREVIações

% - Porcentagem

°C - Graus Celsius

® - Marca Registrada

α - Alfa

β - Beta

γ - Gama

μ L - Microlitro

AGCC - Ácidos Graxos de Cadeia Curta

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária

AOAC - Association of Official Analytical Chemists

CCR - Câncer Colorretal

CEA - Coeficiente de Eficiência Alimentar

DCNT - Doenças Crônicas não Transmissíveis

DMH - Dimetilhidrazina

DNA - Ácido Deoxiribonucléico

ES - Espírito Santo

EUA - Estados Unidos da América

FCA - Focos de Criptas Aberrantes

FOS – Frutooligossacarídeos

g - Grama

HPLC- Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

IFN- γ – Interferon gama

IgA - Imunoglobulina A

IL- Interleucina

kg - kilograma

LAL – Lisato de Amebócito de Limulus

LPS - Lipopolissacarídeos

mg - Miligrama

ml - Mililitro

mM - Milimolar

mmol - Milimol

ng - Nanograma

NaCl - Cloreto de Sódio
NaNO₂ - Nitrito de Sódio
PBS - Solução Tampão Fosfato-Salina
pH - Potencial Hidrogeniônico
ppm - Partes por milhão
RNA - Ácido Ribonucléico
rpm - Rotações por minuto
sIgA - Imunoglobulina A secretória
SP - São Paulo
ssp. - Espécies
TB - Translocação Bacteriana
TNF- α - Fator de Necrose Tumoral Alfa
TGI - Trato Gastrointestinal
UFC - Unidade Formadora de Colônia
UFES - Universidade Federal do Espírito Santo

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Etapas da carcinogênese.	25
Figura 2. Representação ilustrativa das etapas do processo de carcinogênese do câncer colorretal.	26
Figura 3. Mucosa de apresentando vários FCAs.	26
Figura 4. Consumo de yacon e os principais benefícios promotores de saúde. Ao ser ingerido, FOS chega ao colón intacto, onde é fermentado liberando ácido orgânicos, ocasionando na redução de pH intraluminal promovendo: Imunomodulação (A); Absorção mineral (B); Metabolismo lipídico (C); Homeostase glicêmica (D); Inibição patogênica (E); Efeito anticarcinogenico (F).	29
Figura 5. Raíz tuberosa yacon.	31
Figura 6. Estrutura química dos principais frutooligossacarídeos.	33
Figura 7. Diagrama esquemático dos mecanismos potenciais ou conhecidos pelos quais as bactérias probióticas podem atuar na microbiota.	37
Figura 8. Imagem dos grãos de kefir.	40
Figura 9. Desenho e mecanismos de ação de simbióticos complementares e sinérgicos.	44
Figura 10. Esquema do desenho experimental.	47
Figura 11. Fluxograma de obtenção da farinha de yacon.	49
Figura 12. Etapas da fermentação do kefir.	50
Figura 13. Plaqueamento sobrecamada.	52
Figura 14. Intestino grosso fixado com auxílio de alfinetes em isopor.	56
Figura 15. Lesões induzidas por 1,2-dimethylhidrazina na mucosa colorretal de ratos, na 15ª semana de experimento.	67
Figura 16. Níveis de citocinas e capacidade antioxidante total do soro em modelo animal induzidos a carcinogênese por 1,2-dimethylhidrazina.	68

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Estudos que mostram a relação entre yacon e câncer colorretal em ratos wistar. _____	30
Tabela 2. Micro-organismos empregados como probióticos. _____	36
Tabela 3. Potenciais efeitos benéficos de probióticos e seus mecanismos. _____	38
Tabela 4. Composição do kefir a base de água e Leite cru, UHT e desnatado. _____	41
Tabela 5. Estudos que mostram a relação entre kefir e câncer. _____	42
Tabela 6. Composição da dieta AIN- 93 M e dieta AIN- 93 M com farinha de yacon. _____	53
Tabela 7. Médias e desvio padrão do peso inicial, peso final, consumo final, ganho de peso dos grupos e coeficiente de eficiência alimentar na 10 ^a semana em modelo animal induzidos a carcinogênese por 1,2-dimethylhidrazina. _____	61
Tabela 8. Médias e desvio padrão do peso inicial, peso final, consumo final, ganho de peso e Coeficiente de eficiência alimentar na 15 ^a semana em modelo animal induzidos a carcinogênese por 1,2-dimethylhidrazina. _____	61
Tabela 9. Médias e desvio padrão do pH do conteúdo cecal em modelo animal induzidos a carcinogênese por 1,2-dimethylhidrazina na 10 ^a e 15 ^a semana de experimento. _____	62
Tabela 10. Determinação de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) nas fezes em modelo animal induzidos a carcinogênese por 1,2-dimethylhidrazina. _____	63
Tabela 11. Excreção urinária de lactulose, manitol e a relação entre eles em modelo animal induzidos a carcinogênese por 1,2-dimethylhidrazina na 10 ^a e 15 ^a semana de experimento. _____	64
Tabela 12. Contagem dos focos de criptas aberrantes (FCA) em modelo animal induzidos a carcinogênese por 1,2-dimethylhidrazina na mucosa colorretal na 10 ^a semana. _____	65
Tabela 13. Descritivo em número e percentual das características histopatológicas das lesões macroscópicas em modelo animal induzidos a carcinogênese por 1,2-dimethylhidrazina na mucosa colorretal. _____	66

RESUMO

ZANARDI, Keila Rodrigues. Efeitos funcionais da yacon (*Smallanthus sonchifolius*) e do kefir isolados ou associados em ratos com câncer de cólon. 2021. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre – ES. Orientadora: Prof^a. Dr^a. Neuza Maria Brunoro Costa. Coorientadores: Prof^a. Dr^a. Mirelle Lomar Viana e Prof. Dr. Leonardo Oliveira Trivilin.

O câncer colorretal (CCR) é uma das neoplasias malignas mais comuns e representa um problema para a saúde pública devido à sua importante frequência e mortalidade. A modulação da saúde intestinal por intermédio da administração de pró e prebióticos pode ser uma alternativa viável para reduzir o risco do desenvolvimento do câncer de cólon. O kefir é uma bebida fermentada, facilmente digerida pelo intestino, rica em probióticos naturais. A yacon (*Smallanthus sonchifolius*) é uma raiz tuberosa, rica em frutooligossacarídeos (FOS), os quais possuem propriedades prebióticas. O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos funcionais do yacon (*Smallanthus sonchifolius*) e do kefir isolados ou associados em ratos com câncer de cólon. Ratos *Wistar* adultos (n=60) foram divididos em cinco grupos: C (controle saudável alimentado com AIN-93 M), T (induzidos ao CCR e alimentados com AIN-93 M), Y (induzidos ao CCR e alimentados com AIN-93 M e yacon em quantidades suficientes para fornecer 5% de FOS), K (induzidos ao CCR e alimentados AIN-93 M e com 1 mL de kefir misturado a dieta padrão AIN-93 M) e YK (induzidos ao CCR e alimentados com AIN-93 M e associação yacon/kefir). A carcinogênese foi induzida nos grupos T, Y, K e YK, com 1,2-dimetilhidrazina (55 mg/kg, subcutânea, semanalmente), durante cinco semanas consecutivas. Durante a indução, todos os grupos receberam dieta padrão AIN-93 M. Nas 6^a a 15^a semanas, os grupos experimentais foram alimentados com suas respectivas dietas. Ao final da 10^a semana, quatro animais de cada grupo foram eutanasiados para coleta de dados referentes ao período pré-neoplásico. Os animais restantes permaneceram no estudo até o final da 15^a semana, na qual realizou-se análise da permeabilidade intestinal por meio da coleta da urina de 24h pós administração de lactulose (100 mg/kg) e manitol (50 mg/kg). Em seguida, os animais foram eutanasiados e coletados sangue para análise do perfil de citocinas pró e anti-inflamatórias e capacidade antioxidante total (CAT); conteúdo do intestino grosso para análise do pH intraluminal, ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), imunoglobulina A secretória (sIgA), e lesões macro e microscópicas da mucosa

colorretal. Kefir: reduziu IL-6 e aumentou lactulose e ácido acético; Yacon: reduziu pH intraluminal e IL-6, e aumentou sIgA, CAT e butirico; Yacon+Kefir: reduziu do pH intraluminal e IL-6, e aumentou sIgA, CAT, ácido acético, FCA ≤ 3 e FCA total. Os resultados do trabalho sugerem que o consumo de yacon e de kefir, yacon+kefir não reduziram o risco e/ou progressão do câncer colorretal em animais induzidos ao câncer colorretal em experimento de 15 semanas e yacon+kefir não teve ação simbiótica.

Palavras-chave: probióticos, prebióticos, simbióticos, câncer colorretal, saúde intestinal, ratos

ABSTRACT

ZANARDI, Keila Rodrigues. Functional effects of yacon (*Smallanthus sonchifolius*) and kefir isolated or associated in rats with colon cancer. 2021. Dissertation (Master in Food Science and Technology) - Federal University of Espírito Santo, Alegre - ES. Advisor: Prof. Dr. Neuza Maria Brunoro Costa. Co-advisors: Prof. Dr. Mirelle Lomar Viana and Prof. Dr. Leonardo Oliveira Trivilin.

Colorectal cancer (CRC) is one of the most common malignancies and represents a public health problem due to its important frequency and mortality. The modulation of intestinal health through the administration of pro and prebiotics may be a viable alternative to reduce the risk of colon cancer development. Kefir is a fermented drink, easily digested by the gut, rich in natural probiotics. Yacon (*Smallanthus sonchifolius*) is a tuberous root rich in fructooligosaccharides (FOS), which have prebiotic properties. The aim of this study was to evaluate the functional effects of yacon and kefir isolated or associated in rats with colon cancer. Adult Wistar rats (n=60) were divided into five groups: C (healthy control fed with AIN-93 M), T (induced to CRC and fed with AIN-93 M), Y (induced to CRC and fed with AIN-93 M and yacon in sufficient quantities to provide 5% FOS), K (CRC-induced and Fed AIN-93 M and with 1 mL kefir mixed with standard diet AIN-93 M) and YK (CRC-induced and fed With AIN-93 M and yacon/kefir combination). Carcinogenesis was induced in groups T, Y, K and YK, with 1,2-dimethylhydrazine (55 mg/kg, subcutaneous, weekly), for five consecutive weeks. During induction, all groups received a standard Diet AIN-93 M. In the 6th to 15th weeks, the experimental groups were fed their respective diets. At the end of the 10th week, four animals from each group were euthanized to collect data referring to the preneoplastic period. The remaining animals were kept in the study until the end of the 15th week period, in which intestinal permeability was performed by collecting 24 h urine after administration of lactulose (100 mg/kg) and mannitol (50 mg/kg). Then, the animals were euthanized and blood collected for analysis of the pro- and anti-inflammatory cytokine profile and total antioxidant capacity (TAC); contents of the large intestine for analysis of intraluminal pH, short-chain fatty acids (SCFA), secretory immunoglobulin A (slgA), and macro and microscopic lesions of the colorectal mucosa. Kefir: reduced IL-6 and increased lactulose and acetic acid; Yacon: reduced intraluminal and IL-6 pH, and increased slgA, TAC and butyric acid; Yacon+Kefir: reduced intraluminal pH and IL-6, and increased slgA, TAC, acetic acid, aberrant crypt focus (ACF) < 3 and total ACF. The

results of the study suggest that the consumption of yacon and kefir, yacon+kefir did not reduce the risk and/or progression of colorectal cancer in colorectal cancer-induced animals in a 15-week experiment and yacon+kefir had no symbiotic action.

Keywords: probiotics, prebiotics, symbiotics, colorectal cancer, intestinal health, rats

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	16
2. OBJETIVOS	19
2.1. Objetivo geral	19
2.2. Objetivos específicos	19
3. HIPÓTESE	20
4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	21
4.1. Barreira intestinal	21
4.2. Câncer colorretal	23
4.3. Prebióticos e seus efeitos no organismo	27
4.3.1. <i>Yacon (Smallanthus sonchifolius)</i>	30
4.4. Probióticos e seus efeitos no organismo	34
4.4.1. <i>Kefir de leite</i>	39
4.4.2. <i>Kefir e sua relação com o câncer colorretal</i>	41
4.5. Simbiótico	43
5. MATERIAL E MÉTODOS	45
5.1. Delineamento Experimental	45
5.2. Elaboração da farinha de yacon	47
5.3. Determinação da composição química da farinha de yacon	49
5.4. Cultivos dos grãos de kefir	49
5.4.1. <i>pH e acidez titulável do kefir</i>	51
5.4.2. <i>Análise microbiológica do kefir</i>	51
5.5. Dietas experimentais	52
5.6. Consumo alimentar e ganho de peso	53
5.7. pH intraluminal do Colón	54
5.8. Condições cromatográficas	54
5.8.1. <i>Determinação da permeabilidade intestinal</i>	54
5.8.2. <i>Determinação de ácido graxo de cadeia curta</i>	55
5.9. Contagem dos focos de criptas aberrantes (FCA) e análise histopatológica das lesões em mucosa colorretal	56
5.10. Dosagem das citocinas	58
5.11. Capacidade antioxidante total do soro	59
5.12. Dosagem da imunoglobulina secretória A	59
5.13. Análise estatística	59

6. RESULTADOS	60
6.1. Análises dos grãos de kefir	60
6.2. Consumo alimentar e peso dos animais	60
6.3. pH intraluminal do Colón	62
6.4. Determinação de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) nas fezes	62
6.5. Determinação da permeabilidade intestinal	63
6.6. Contagem dos focos de criptas aberrantes (FCA) e análise histopatológica das lesões em mucosa colorretal	64
6.7. Dosagem da imunoglobulina secretória A	66
6.8. Dosagem das citocinas e capacidade antioxidante total (CAT) do soro	67
7. DISCUSSÃO	69
8. CONCLUSÃO	76
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	77

1. INTRODUÇÃO

Na atualidade, as doenças crônicas não transmissíveis (DCNTs) estão cada vez mais presentes em todo o mundo, sendo o câncer, um dos principais (BRAY et al., 2018). Em destaque temos o câncer colorretal (CCR), ocupando o segundo lugar na ocorrência de tumores e sendo um dos principais causadores de mortalidade por câncer no Brasil (INCA, 2020).

O CCR é a doença que se desenvolve na região do intestino grosso (cólon e o reto), se manifestando por meio da lesão intestinal promovida por esta patologia, juntamente com alterações na resposta imunológica do portador. Podem induzir danos na barreira intestinal e conseqüentemente a translocação bacteriana, podendo desencadear um processo infeccioso, a despeito do processo inflamatório pré-existente ao promover a ativação de componentes carcinogênicos e a produção de compostos mutagênicos, como os radicais livres (DENIPOTE; TRINDADE; BURINI, 2010; INCA, 2020).

Evidências indicam que alguns fatores de risco, como histórico familiar, doença inflamatória intestinal, consumo excessivo de álcool e fumo, alta ingestão de carne vermelha e processadas, ausência ou baixa atividade física, sobrepeso e obesidade e diabetes, estão associados à maior incidência do CCR (SONG; CHAN, 2019). Por outro lado, alterações na composição da microbiota intestinal vêm sendo altamente relacionadas em estudos como um fator essencial para o desenvolvimento desta patologia (TILG et al., 2018), um exemplo é a disbiose, que causa um desequilíbrio na microbiota intestinal ao reduzir a função e diversidade da microbiota benéfica e aumentando o número de bactérias patogênicas, permeabilidade intestinal e resposta imunológica desregulada (OLIVEIRA, 2022). Desta forma, dentre as abordagens para prevenção e tratamento do CCR, uma alternativa viável seria a modulação da microbiota intestinal por intermédio da administração de pró e prebióticos (DENIPOTE; TRINDADE; BURINI, 2010).

Os probióticos são microrganismos vivos capazes de auxiliar na redução da incidência de doenças principalmente gastrintestinais, atuado diretamente na integridade da barreira intestinal, um exemplo é o kefir (FARAG et al., 2020). Já os prebióticos são substratos utilizados pelos microrganismos do hospedeiro que conferem benefícios à saúde estimulam seletivamente a proliferação e/ou atividade de populações de bactérias desejáveis no cólon, um exemplo é a yacon (SAAD,

2006; MOHANTY et al., 2018). Simbióticos é a combinação de prebióticos e probióticos que atuam sinergicamente para promover bactérias gastrointestinais saudáveis (SWANSON et al., 2020).

O kefir é uma bebida fermentada rica em probióticos naturais (OLIVEIRA; DE ALMEIDA; BOMFIM, 2017; TORRES-FUENTES et al., 2017). O kefir é o resultado da atividade metabólica de uma mistura específica e complexa de um conjunto de bactérias e leveduras, que vivem em associação simbiótica nos grãos de kefir (FARAG et al., 2020). O estudo de Brasiel et al. (2020) demonstrou suprimir o número de tumor e reduzir a concentração de citocinas IL-1b, IL-6, TNF-a e óxido nítrico em modelo animal de carcinogênese colorretal alimentados com 1 mL de kefir diariamente.

A yacon (*Smallanthus sonchifolius*) é uma raiz tuberosa, considerada um alimento funcional rico em frutooligossacarídeos (FOS). Os FOS são carboidratos complexos resistentes à ação das enzimas digestivas, portanto, chegam intactos ao cólon, onde são fermentados por bifidobactérias, formando lactato, gases (dióxido de carbono e hidrogênio) e ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) (YAN et al., 2019). Possuem propriedades prebióticas que aumentam a absorção e biodisponibilidade dos minerais (cálcio, magnésio e ferro) (LOBO et al., 2014), regulação do apetite, aumento da atividade antioxidante, modulação positiva do sistema imune e efeito hipolipidêmico (YAN et al., 2019). O estudo de Grancier et al (2017) demonstrou que o consumo diário de farinha de yacon reduziu porcentagem de focos de cripta aberrante, permeabilidade intestinal e pH, e aumentou a formação de ácidos graxos de cadeia curta, profundidade e o número de criptas do cólon em modelo animal induzido ao CCR.

Não foram encontrados trabalhos que relatassem efeitos negativos referentes ao consumo de yacon ou kefir em ratos induzidos ao CCR. Em contrapartida, pesquisar como a de Grancier et al (2017) e Brasiel et al. (2020) demonstraram que a yacon e o kefir separadamente tem a capacidade de reduzir os FCA e tumores provenientes do CCR, portanto, a associação entre a yacon + kefir pode ter efeito prebiotico associado ao probiótico positivo sobre a doença, porém isso ainda não foi relatado na literatura, sendo inédito a pesquisa da associação da yacon + kefir em animais induzidos ao CCR.

Portanto, dado os impactos do câncer colorretal na incidência e mortalidade da população, mais estudos são necessários para elucidar o possível efeito prebiótico da yacon e do probiótico kefir, assim como a associação de ambos e possível ação simbiótica, se faz necessário, visto os efeitos benéficos à saúde do cólon e sua relação com a integridade da mucosa intestinal e o sistema imunológico, uma vez que, ambos estão diretamente relacionados à microbiota saudável, contribuindo assim, para a redução do risco e/ou progressão do CCR.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Avaliar o efeito prebiótico da yacon, probiótico do kefir, bem como suas associações na carcinogênese colorretal induzida em modelo animal

2.2. Objetivos específicos

Determinar a número de unidades formadoras de colônia (UFC) em amostras de kefir.

Avaliar o efeito do yacon, kefir e sua associação na carcinogênese colorretal, por meio das alterações morfofisiopatológicas da mucosa intestinal dos animais.

Avaliar o efeito do yacon, kefir e sua associação sobre o pH e conteúdo de ácidos graxos de cadeia curta do fluido intestinal dos animais com ou sem câncer colorretal induzido.

Analisar o efeito do do yacon, kefir e sua associação sobre a integridade da barreira intestinal de animais submetidos ou não à carcinogênese colorretal.

Verificar a atuação do yacon, kefir e sua associação na concentração de IgA secretora intestinal;

Avaliar o efeito do yacon, kefir e sua associação sobre a resposta inflamatória e oxidativa de animais submetidos ou não à carcinogênese colorretal.

3. HIPÓTESE

Nossa hipótese é que o prebiótico yacon e probiótico kefir, estaria associado a um menor risco e/ou progressão do câncer colorretal, visto os efeitos benéficos à saúde do cólon e sua relação com a integridade da mucosa intestinal e o sistema imunológico, uma vez que, ambos estão diretamente relacionados à microbiota saudável. Além disso, formulamos a hipótese de que a associação dos dois, yacon + kefir, teria um efeito simbiótico, protetor sobre o câncer colorretal.

4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

4.1. Barreira intestinal

A saúde do organismo depende de um trato gastrointestinal (TGI) saudável, uma vez que, é composto por uma extensa e diversa microbiota, com cerca de 100 trilhões de micro-organismos, sendo, portanto, um microecossistema cinético que possibilita o desempenho normal das funções fisiológicas do hospedeiro (SAAD, 2006). A microbiota que constitui o microecossistema variam ao longo do trato digestório e localizam-se entre a mucosa e o lúmen intestinal (BEDANI; ROSSI, 2009).

O TGI é composto pela boca, faringe, esôfago, estômago, intestino delgado e grosso, e órgãos anexos (fígado, pâncreas, vesícula biliar e glândulas salivares). O intestino é um importante órgão no sistema de defesa imunológica, pois diminui a proliferação de agentes patogênicos do meio externo, através de exclusão competitiva e função barreira contra a translocação bacteriana promovida pelos sítios de ligação celulares da mucosa que promove aderência e estimulação do sistema imune além de é responsável por recebe água, nutrientes e eletrólitos, (HALL; GUYTON, 2012).

O sistema de defesa da mucosa intestinal conta com uma microbiota ativa, que tende a desenvolver-se e constituir com o sistema imune, de forma a evitar o surgimento de doenças que envolvem desregulação ou interferem no desenvolvimento inicial da resposta imunológica (KIELA; GHISHAN, 2016).

O sistema imune intestinal se divide basicamente em inato e adaptativo, sendo o inato importante por exercer o equilíbrio entre a microbiota intestinal e o hospedeiro, através da defesa contra os patógenos por meio da imunidade inata e imunidade adquirida (CHOI; YERUVA; TURNER, 2017).

- **Imunidade inata** é formada por barreiras químicas e físicas, tais como: epitélio, acidez gástrica, camada de muco, microbiota intestinal, células fagocitárias (granulócitos, macrófagos, células NK) e citocinas. O Epitélio intestinal é uma barreira física, separando agentes altamente imunogênicos do lúmen intestinal de outros imunorreativos da submucosa. Possui múltiplos receptores que detectam a presença de bactérias patogênicas e produz moléculas antimicrobianas como alfa e beta defensivas e lecitinas. O epitélio

intestinal é composto por enterócitos, células caliciformes (regulam a produção de muco), células de Paneth (produção de peptídeos antimicrobianos) e células enteroendócrinas. Os enterócitos atuam na absorção e no processamento final dos nutrientes, na permeabilidade da barreira intestinal e no sistema imunológico, posto que sintetizam citocinas e quimiocinas, as quais participam na transdução de sinais inflamatórios.

- **Imunidade adaptativa** envolve os linfócitos Humoral (linfócitos B e anticorpos produzidos por eles) e linfócitos Celular (linfócitos T e citocinas). A resposta humoral do intestino caracteriza-se pela produção e secreção de imunoglobulina ou IgA sintetizada em resposta à ativação dos linfócitos T das placas de Peyer. Já a imunidade celular é mediada pelos linfócitos T (Th1 e Th2) e seus subprodutos. linfócitos Th1, caracteriza-se por inflamação transmural e granulomatosa, como no caso da Doença de Crohn, enquanto os linfócitos Th2 é caracterizada por inflamações superficiais com exsudato celular inflamatório agudo e edema da mucosa, como ocorre na colite ulcerativa.

Cada vez mais tem-se argumentado sobre a importância do TGI na conservação e qualidade da saúde humana, uma vez que, o mesmo está ligado a permeabilidade intestinal, cuja exerce função de barreira. Este permite a passagem de moléculas por meio do mecanismo de difusão não mediada e sem utilizar carreador bioquímico passivo ou ativo (THOO; NOTI; KREBS, 2019).

Para avaliar a permeabilidade intestinal utiliza-se a técnica de avaliação da excreção urinária de açúcares não metabolizados (lactulose e o manitol), administrados oralmente. Estes açúcares são utilizados devido à capacidade, dos mesmo de atravessar o epitélio e não serem metabolizados pelo organismo, possibilitando a obtenção do índice específico da permeabilidade intestinal. A lactulose é um dissacarídeo utilizado para avaliar a permeabilidade de moléculas maiores pois o mesmo é capaz de passar entre as junções paracelulares. Por outro lado, o manitol é monossacarídeo utilizado para medir a permeabilidade transcelular, já que o mesmo, é utilizado para avaliar a permeabilidade de moléculas menores. (BISCHOFF et al., 2014; TEIXEIRA et al. 2014).

Uma permeabilidade acentuada pode acontecer devido a estresse hiperosmolar, citocinas e hormônios, uso de drogas, dieta rica em gorduras e pobre

em fibras e doenças como disbiose. Esses fatos podem facilitar a passagem de antígenos pela mucosa, podendo dar início ou agravar um processo inflamatório. Em consequência, células relacionadas ao processo inflamatório, como linfócitos, neutrófilos e macrófagos, acumulam-se na mucosa intestinal liberando elevadas quantidades de espécies reativas de oxigênio (ERO), como peróxido de hidrogênio, radicais hidroxilo, ânions superóxido e peroxinitrito e espécies reativas de nitrogênio (ERN), como óxido nítrico (NO) (THOO; NOTI; KREBS, 2019; ZHU; LI, 2012).

Durante o processo de inflamação as células epiteliais sofreram mutações genéticas, perdendo sua função apresentadoras de antígeno (APC) na ativação da β -catenina e, conseqüentemente ocasionando carcinomas e adenomas. Em função da perda de função das células intestinais surgem alguns distúrbios como diarreias, obstipação crônica, colite pseudomembranosa, doença de Crohn, colite ulcerativa, síndrome do intestino irritável, câncer de cólon (CHOI; YERUVA; TURNER, 2017).

4.2. Câncer colorretal

Segundo dados da Organização Mundial da Saúde (OMS), em média 8,8 milhões de pessoas morrem de câncer a cada ano no mundo (BRASIL, 2017). O câncer de cólon ou câncer colorretal (CCR) é uma das neoplasias malignas mais comuns e é um grande problema de saúde pública devido à sua elevada frequência e mortalidade, cuja incidência vem aumentando continuamente (PONTO; TAIEB, 2017). O CCR ocupa a terceira posição no ranking dos cânceres mais comuns no mundo e segundo em mortalidade, com 95.520 novos casos e 50.260 mortes em 2017 nos EUA (SIEGEL et al., 2017). Segundo o Instituto Nacional de Câncer – INCA, o câncer colorretal é o segundo tumor mais incidente em mulheres e homens. São cerca de 41 mil novos casos e 20 mil óbitos anuais, somente no Brasil (INCA, 2020).

De acordo com o Instituto Nacional de Câncer - INCA (2020), no mundo, os tipos de câncer mais frequentes nos homens são de próstata (29,2 %), colorretal (9,1 %), traqueia, brônquio e pulmão (7,9 %) e estômago (5,9 %). Nas mulheres, os mais incidentes são câncer de mama (29,7 %), colorretal (9,2 %), colo do útero (7,5 %) e traqueia, brônquio e pulmão (5,6 %). Estes índices são principalmente

observados nas regiões mais desenvolvidas, porém a maioria das mortes por esse tipo de neoplasia acomete as regiões subdesenvolvidas (FERLAY et al 2013).

O câncer colorretal é o nome dado ao crescimento desordenado de células anormais com potencial invasivo, no intestino grosso (cólon e reto), cuja origem se dá por condições multifatoriais (INCA, 2020). As células do corpo dividem-se quando são expostas a hormônios e fatores de crescimento, entretanto, as células cancerosas não irão responder a estes comandos e perdendo assim, o controle sobre a divisão celular, dividindo-se descontroladamente, gerando grandes massas de células ou tumores (PRADO, 2014). O processo de carcinogênese é dividido em três estágios: iniciação, promoção e progressão, demonstrado na Figura 1.

No estágio de iniciação, os agentes cancerígenos vão agir nos genes, modificando-os e gerando células geneticamente alteradas. Nessa fase, ainda não é possível se detectar um tumor clinicamente, mas as células já se encontram "iniciadas" para a ação de um segundo grupo de agentes, os cancerígenos (oncopromotores) que atuarão no estágio de promoção. A célula iniciada se transforma em célula maligna, de forma lenta e gradual através de um longo e continuado contato com os oncopromotores, porém se suspender do contato com agentes promotores muitas vezes pode-se interromper o processo nesse estágio. No estágio de progressão, as células alteradas apresentam uma multiplicação descontrolada e irreversível ocasionando o câncer. O câncer já instalado, evolui até o surgimento das primeiras manifestações clínicas da doença (INCA, 2020).

Os tumores podem ser benignos ou malignos (Figura 2). Os benignos não são cânceres pois se assemelham ao tecido do qual eles se originaram, crescem lentamente e são fixos, no entanto, devem ser retirados, pois o aumento de volume pode interferir o fluxo do intestino, causando congestionamento. Já os malignos não se assemelham com seu tecido de origem e na maioria das vezes, apresentam estruturas irregulares podendo gerar o tumor, além de possuir alta capacidade de metástase (PRADO, 2014). Células cancerosas se diferem das células normais pois possuem alta taxa de divisão celular, altas taxas metabólicas e alta taxa de formação celular anormal, além de invadirem novos territórios celulares (GRIFFITHS, 2008).

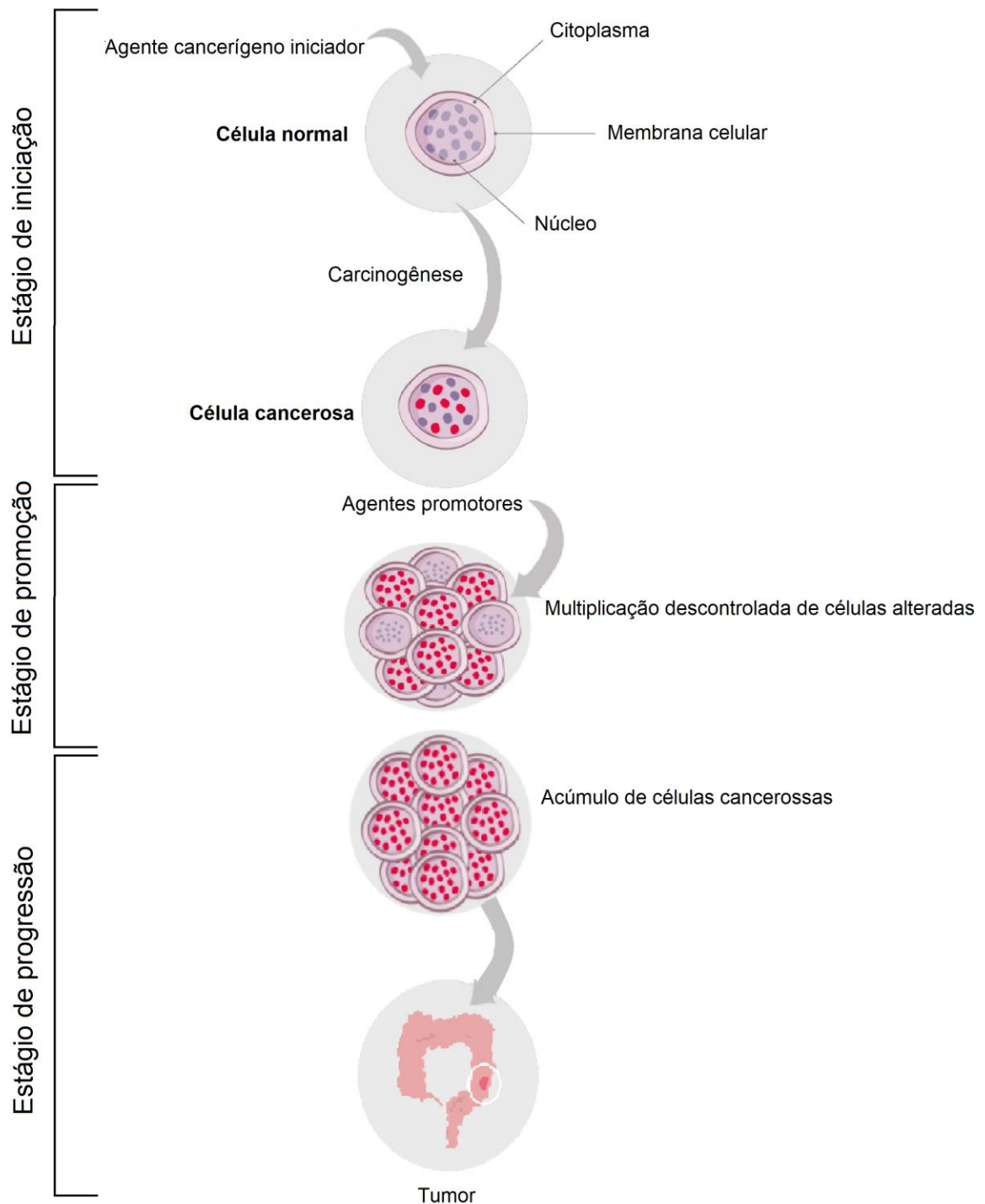


Figura 1. Etapas da carcinogênese. **Fonte:** Adaptado de INCA, 2020.

Os pólipos possuem crescimento benigno, porém dependendo do seu tipo podem iniciar ou não o processo de carcinogênese. Os pólipos que iniciam a carcinogênese são pólipos adenomatosos e displásicos, e os que não iniciam são pólipos hiperplásicos e inflamatórios. Os pólipos adenomatosos são lesões que podem crescer na parede interna do intestino grosso, conhecidas como focos de

criptas aberrantes (FCA) que são grupos de células alteradas, que possuem maior tamanho, aspecto mais corado, aberturas menos circulares e com tendência a se apresentarem alongadas, elípticas ou tortuosas (SANTOS; CARVALHO; SOUZA, 2013) (Figura 3). Os FCA são evoluções de uma cripta alterada. Nesse estágio, os FCA só podem ser observados e quantificados microscopicamente, sendo o resultado dessa contagem um indicador da carcinogênese de cólon. Uma complexa interação entre genética e meio ambiente pode induzir os pólipos adenomatosos dando origem a adenocarcinoma, lesões essas mais comuns no CCR (GUPTA; SCHOEN, 2009).

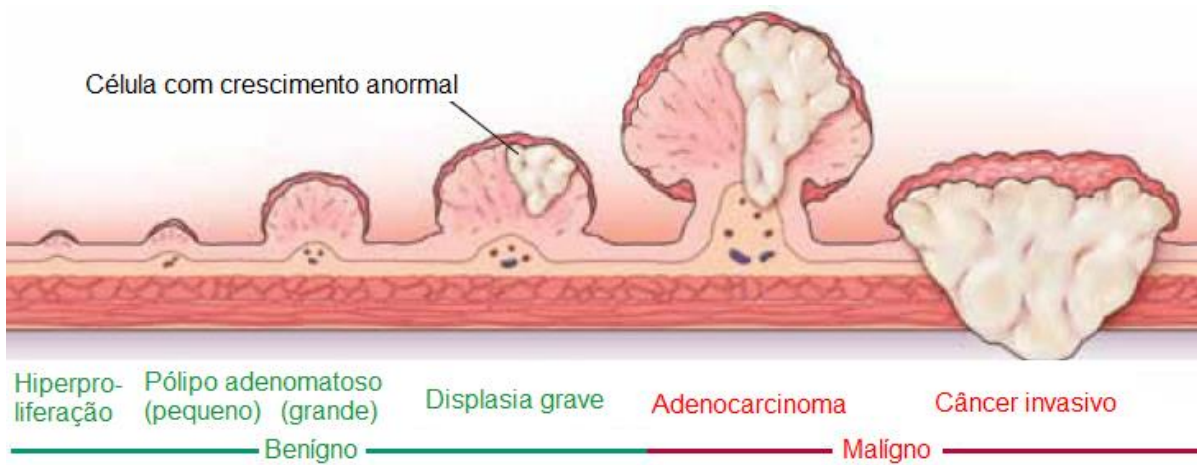


Figura 2. Representação ilustrativa das etapas do processo de carcinogênese do câncer colorretal. **Fonte:** Traduzido de Santos, 2016.

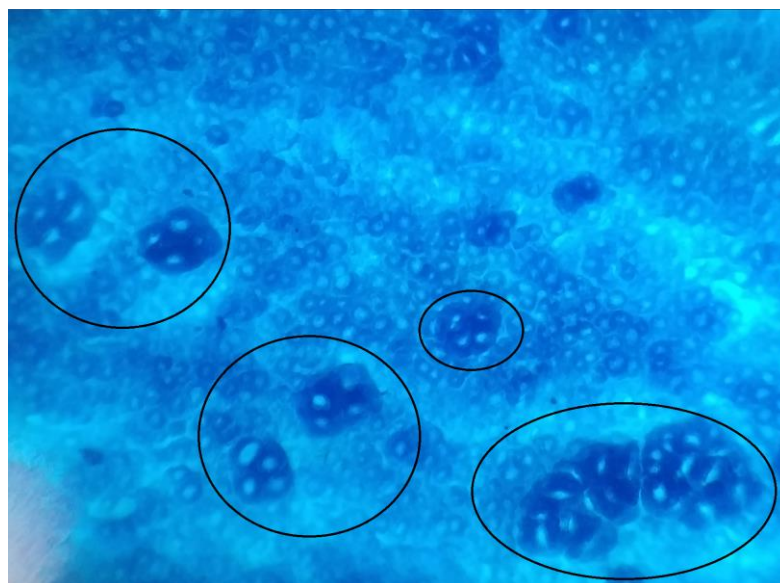


Figura 3. Mucosa de apresentando vários FCAs. **Fonte:** A autora

O CCR é resultado da interação entre fatores endógenos e ambientais, sendo considerado uma doença relacionada ao estilo de vida, uma vez que a sua incidência é maior em países com hábito alimentar que coincide com os fatores de risco da doença, tais como: consumo excessivo de carne vermelha, carnes processadas, gorduras saturadas, bebidas alcoólicas, baixa ingestão de frutas, legumes e verduras. Outros fatores de risco são alta prevalência de obesidade e sobrepeso, sedentarismo, tabagismo, inatividade física, idade igual ou acima de 50 anos, histórico familiar ou pessoal de câncer de intestino e doenças inflamatórias do intestino (retocolite ulcerativa crônica e doença de Crohn). Estudos apontam que a prática regular de atividade física e o consumo de alimentos ricos em fibras, como a yacon e derivados de leite, como o kefir são considerados fatores protetores mais importantes contra a CCR. Portanto, uma alimentação rica em fibras aliada a atividade física, juntamente com diagnóstico precoce do CCR, a sobrevida do paciente é aproximadamente de 49,8% (INCA; 2020).

4.3. Prebióticos e seus efeitos no organismo

Os prebióticos são substratos alimentares não digeríveis seletivamente utilizados pelos microrganismos do hospedeiro conferindo benefícios à saúde principalmente no intestino grosso, no entanto podem ter impacto no intestino delgado (GIBSON et al., 2017). Estimulam seletivamente a proliferação ou atividade de populações de bactérias desejáveis no cólon e a absorção de determinados nutrientes (SAAD, 2006).

Os prebióticos podem ser encontrados naturalmente em diversos alimentos, como chicória, banana, tomate, cebola, alho, cereais, alcachofra, yacon ou podem ser incorporados em alimentos (MOHANTY et al., 2018). Os Frutanos (inulina e FOS), galactooligossacarídeos, polidextrose e amido resistente são os principais prebióticos incorporados pelas indústrias alimentícias para melhorar as propriedades sensoriais, reológicas, físico-químicas e fisiológicas dos alimentos (MARCON et al., 2019).

A yacon é considerada prebiótica devido ao seu alto teor de FOS e inulina. FOS e inulina são oligômeros de frutose que não são hidrolisadas por enzimas digestivas humanas, permanecendo intactas no cólon. Por tanto, esses frutanos

servem como substratos fermentáveis para bactérias probióticas (MARCON et al., 2019).

Na literatura, o consumo de FOS oriundo da yacon tem sido utilizado para provocar um efeito bifidogênico por aumentar o número de bactérias benéficas, como *Bifidobacteria* e *Lactobacilli* por serem resistentes em meio ácido, e ao mesmo tempo, inibir o crescimento de bactérias patogênicas, como *Escherichia coli* e *Salmonella*, sensíveis à acidez (YAN et al., 2019).

As bactérias anaeróbicas probióticas residentes no intestino grosso fazem a conversão de carboidratos fermentáveis, ocasionando a produção de ácido láctico, ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), principalmente ácido acético, propiônico e butírico, e gases, como dióxido de carbono e hidrogênio. Conseqüentemente, geram aumento na biodisponibilidade mineral e diminuição do pH desse órgão, estimulando a proliferação de células epiteliais do cólon (MARCON et al., 2019), regulam a resposta imunológica intestinal, reduzindo a inflamação e o risco de câncer colorretal (GRANCIERI et al., 2017; VERIDIANO et al., 2020), inibem a multiplicação de patógenos e atuam como um sinal para a regulação genética da virulência em patógenos entéricos comuns (CAETANO et al., 2016). A ingestão do FOS melhora o trânsito intestinal, a saciedade e peso corporal. Além de diminuir o colesterol total e os níveis de triglicerídeos, melhora o nível de lipoproteína-colesterol de alta densidade (HDL-c), confere também propriedades antiobesidade por inibir a adipogênese (MARCON et al., 2019) (Figura 4).

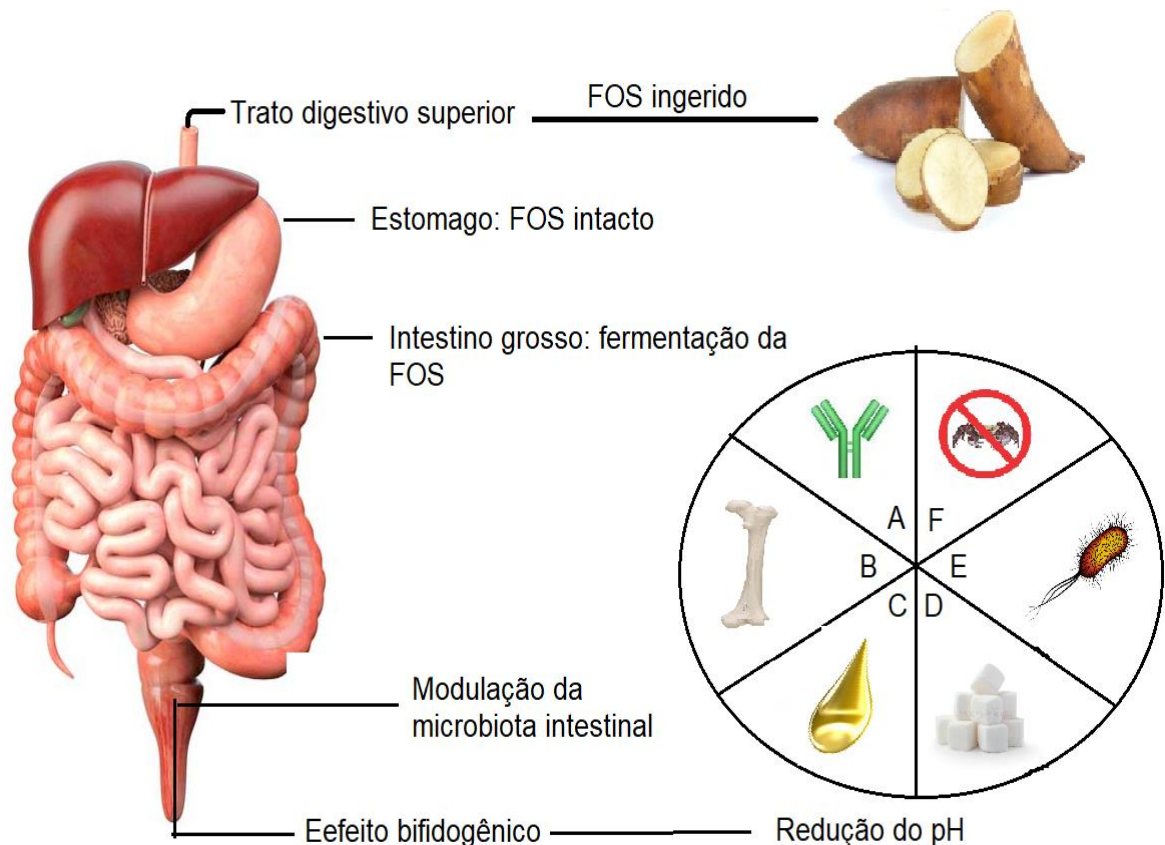


Figura 4. Consumo de yacón e os principais benefícios promotores de saúde. Ao ser ingerido, FOS chega ao cólon intacto, onde é fermentado liberando ácido orgânicos, ocasionando na redução de pH intraluminal promovendo: Imunomodulação (A); Absorção mineral (B); Metabolismo lipídico (C); Homeostase glicêmica (D); Inibição patogênica (E); Efeito anticarcinogenico (F). **Fonte:** A autora com base em Caetano et al., 2016.

Após serem consumidos, a inulina e os FOS chegam intactos ao cólon, onde são fermentados por bifidobactérias, promovendo mudanças benéficas na composição da microbiota (GIBSON et al., 2017). A farinha de yacón, quando fornecida em quantidade para prover 5 % de FOS na dieta, vem sendo o foco de muitas pesquisas, por mostrarem um crescimento de Bifidobactérias e Lactobacilos em modelo de cobaia e pH fecal mais baixo em indivíduos adultos com constipação (SANT'ANNA et al., 2015). Assim sendo, pacientes diagnosticados com CCR apresentaram pH mais elevado e redução de AGCC, deste modo, a consumo de prebióticos tendem a melhorar essas alterações causadas pela carcinogênese do cólon (YAN et al., 2019).

Com base nos benefícios da ingestão de yacón como fonte de FOS, foi possível identificar uma redução significativa no número e na multiplicidade de focos de criptas aberrantes e no número de adenocarcinomas invasivos, demonstrando

que a ingestão da yacon pode ter potencial como agente quimiopreventivo contra a carcinogênese do cólon induzida pela 1,2-dimetil-hidrazina (DMH) em 58 ratos Wistar machos (MOURA et al., 2012). Grancieri et al. (2017) conseguiram identificar uma redução percentual de criptas aberrantes, na permeabilidade intestinal e pH e aumento da formação de AGCC com a suplementação de farinha de yacon com FOS a 7,5 % em 46 ratos Wistar machos. Deste modo diversos estudos demonstraram o efeito positivo da yacon sobre o câncer colorretal (Tabela 1).

Tabela 1. Estudos que mostram a relação entre yacon e câncer colorretal em ratos wistar.

Alimento	Resultados	Referências
Farinha de yacon (FY) e FY + probiótico	- Redução no número e multiplicidade de FCA e no número de adenocarcinomas invasivos.	Moura (2012)
Yacon e Lactobacillus acidophilus CRL 1014	- Redução do dano ao DNA em leucócitos; - Diminuição da proliferação celular e aumentaram os índices de apoptose; - Potencial como agente quimiopreventivo.	Almeida et al. (2015)
Farinha de yacon (FY)	- Redução da permeabilidade intestinal, da porcentagem de FCA e pH; -Aumento da profundidade e o número de criptas do cólon e AGCC.	Grancieri et al. (2017)
Farinha de yacon	-Aumento dos níveis de TNF- α , IgA e AGCC; -Redução da CAT, pH intraluminal, razão lactulose / manitol, IL-10.	Verediano et al. (2020)
Farinha de yacon	-Redução IL-1 β em culturas de macrófagos; -Aumento dos níveis de IgA fecal.	Choque Delgado et al. (2012)

FCA: foco de criptas aberrantes; DNA: ácido desoxirribonucleico; TNF- α : Fator de necrose tumoral- α ; IgA: Imunoglobulina A; AGCC: ácido graxo de cadeia curta; CAT: capacidade antioxidante total; IL: Interleucina.

4.3.1. Yacon (*Smallanthus sonchifolius*)

Yacon é uma planta herbácea e perene que forma raízes tuberosas subterrâneas de sabor doce (KIM et al., 2019), é membro da família dos girassóis: Compositae ou Asteraceae (ADRIANO et al., 2019; CRUZ et al., 2019). Também

está relacionado à alcachofra de Jerusalém (*Helianthus tuberosus*). Seu nome científico é *Smallanthus sonchifolius* Poepp., anteriormente conhecido como *Polymnia sonchifolia* ou *Polymnia edulis* (KAMP et al., 2019) (Figura 4).

A yacon é uma planta nativa da região andina da América do Sul (Bolívia, Equador, Argentina e Peru) (Figura 5), contudo é cultivada em várias regiões do mundo como Brasil, Japão e Estados Unidos (DA SILVA et al., 2018; MARTINEZ-OLIVEIRA et al., 2018; MACHADO et al., 2019). As raízes variam em forma e tamanho, geralmente possuem de 15 a 20 cm de comprimento e 10 cm de espessura, as cores da casca e a poupa também variam de branco ou creme a amarelo, laranja, vermelho ou roxo, e suas folhas são verde-escuras em forma de flecha. Uma planta pode produzir de 2 a 10 kg de raízes (RAJCHL et al., 2018; KAMP et al., 2019). A yacon é uma planta que cresce sob condições quentes ou frias e não possui problemas com pragas ou doenças devido aos efeitos protetores de compostos como sesquiterpenos e disesquiterpenos (SOUSA et al., 2015b).



Figura 5. Raíz tuberosa yacon. **Fonte:** própria autoria.

Tanto a raiz, quanto a folha de yacon podem ser consumidos de formas variadas, a raiz pode ser consumida crua ou em formas processadas como xarope ou suco, secos como fatias ou lascas, e moídos como pó ou como vinagre, já as folhas de yacon são consumidas tradicionalmente como chá (MACHADO et al., 2019).

As raízes tuberosas de Yacon têm um baixo valor calórico, e são compostas, principalmente, de água (~70%) e carboidratos principalmente em

frutooligossacarídeos (FOS) e inulina (MACHADO et al. 2019) e outros compostos bioativos, como ácido clorogênico e outros componentes fenólicos, através de um processo que inclui maceração enzimática, seguida de microfiltração e concentração de vácuo (ADRIANO et al., 2019). A raiz é rica em fibras alimentares (~45 g em 100 g de matéria seca) principalmente FOS (ŽIAROVSKÁ et al., 2019), porém, esse alto teor de FOS depende da adesão, tempo de colheita e tratamento pós-colheita (OJANSIVU; FERREIRA; SALMINENA, 2011). A Tabela 2 descreve a composição da farinha de yacon. A maioria dos efeitos benéficos relatados pelo consumo desta planta tuberosa resulta da presença de tais compostos (RAJCHL et al., 2018).

Tabela 2. Parâmetros físico-químicos e composição de açúcares da farinha de yacon.

Componentes	(g/100g)
Umidade	6,97
Proteínas	3,18
Lipídios	0,78
Cinzas	5,96
Fibra alimentar solúvel (FS) ¹	9,24
Fibra alimentar insolúvel (FI) ¹	6,58
Carboidratos totais*	67,29
Glicose ²	8,64
Frutose ²	9,81
Sacarose ²	14,87
Oligofrutano ²	24,43
Inulina ²	7,52
FOS ²	19,39
Fibras probióticas ³	51,34
Valor calórico (kcal)	148,1

¹Determinados pelo método n°985.29 AOAC (1990); ²Determinados por HPLC; ³Soma de oligofrutano, inulina e FOS (valor utilizado para o cálculo da quantidade de farinha de yacon a ser adicionada na dieta; *Carboidratos totais = 100 – (umidade + lipídios + proteínas + cinzas + FS + FI).
Fonte: Gomes (2020).

O ácido clorogênico e L-triptofano são dois dos principais antioxidantes presentes na yacon. O ácido clorogênico e seus derivados são antioxidantes típicos em plantas terrestres, como batata, maçã e tomate. O L-triptofano é um aminoácido

essencial para animais e seres humanos, também conhecido como precursor da melatonina e serotonina (OJANSIVU; FERREIRA; SALMINENA, 2011).

Podem ser encontrados na raiz yacon cinco derivados diferentes de ácido cafeico. Dois deles são o ácido clorogênico (ácido 3-O-cafeoilquínico e ácido 3,5 dicafeoilquínico), e o restante ésteres do ácido cafeico com os grupos hidróxido ácido aldárico derivado da hexose. Todos esses compostos têm propriedades antioxidantes (OJANSIVU; FERREIRA; SALMINENA, 2011; SOUSA et al., 2015a).

Os principais compostos de armazenamento na yacon são frutanos com baixo teor de glicose. A estrutura dos frutanos é rica em compostos do tipo inulina e FOS, semelhante a outras espécies de *Asteraceae*, como a alcachofra de Jerusalém. Porém diferente da maioria das raízes comestíveis, a yacon armazena seus carboidratos na forma de FOS, e não na forma de amido (MARCON et al., 2019). Segundo HARTEMINK et al. (1997), FOS são oligossacarídeos (açúcares) presentes, naturalmente em, principalmente, produtos de origem vegetal, com a yacon famosa por ser rica deste composto. FOS são fibras solúveis constituídas por subunidades de frutose (2-16), ligadas entre si por ligações β (2 \rightarrow 1) (MARCON et al., 2019). Na Figura 6 temos as principais estruturas químicas dos FOS.

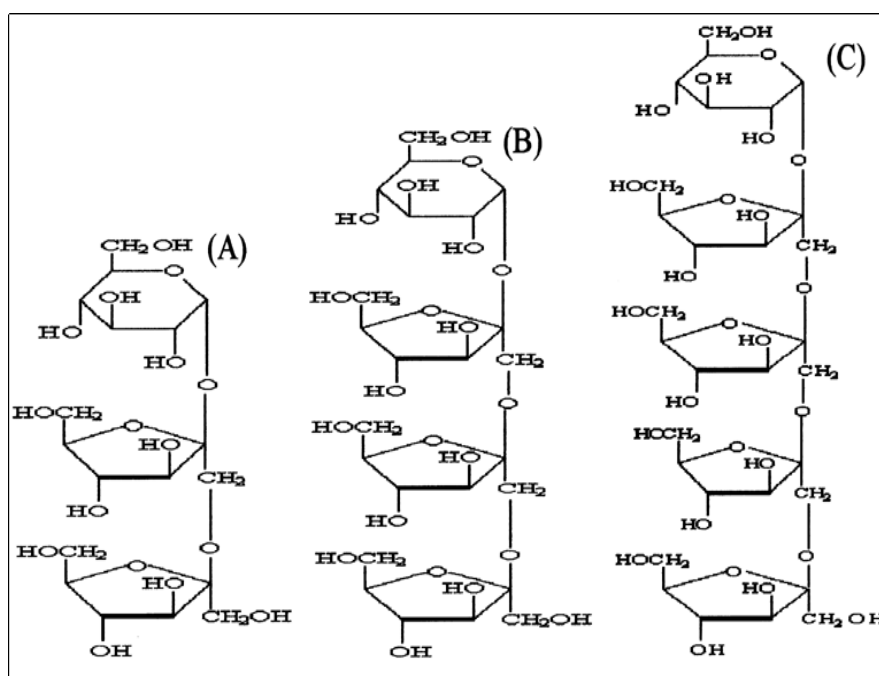


Figura 6. Estrutura química dos principais fructooligossacarídeos: I-kestose (A), nistose (B) e fructofuranosil nistose (C). **Fonte:** Sathler, 2013.

Os FOS são polímeros curtos de frutose com um grau de polimerização de 3 a 10 frutanos. Existem também açúcares simples (15 a 40 %), como sacarose, frutose e glicose e outros nutrientes. Os FOS em yacon representam principalmente oligossacarídeos. Sabe-se que esses oligossacarídeos são não tóxicos, não digeríveis e doces. Eles também são considerados benéficos para a saúde por várias razões (MACHADO et al., 2019).

Esses carboidratos são capazes de resistir à hidrólise de enzimas na parte superior do trato gastrointestinal humano (ALBUQUERQUE; ROLIM, 2011). Por esse motivo, eles têm um baixo valor calórico para os seres humanos (GENTA et al., 2009).

FOS presente na yacon é metabolizado no cólon por grupos específicos de bactérias benéficas (não patogênicas) que fazem parte da microbiota intestinal. Essas bactérias (especialmente dos gêneros *Bifidus* e *Lactobacillus*), proporcionam inúmeros benefícios locais e sistêmicos ao hospedeiro por melhorarem a função gastrointestinal ao prevenir e controlar a constipação, Além de reduzirem os níveis de lipídios e glicose no sangue em animais (MARCON et al., 2019).

4.4. Probióticos e seus efeitos no organismo

Inicialmente qualquer substância ou organismo que contribuía para manter o equilíbrio intestinal de animais era denominado probiótico, palavra esta de origem grega que significa “para a vida” ou “a favor da vida” (LILLY; STILLWELL, 1965). Uma das primeiras definições aceitas para probiótico foi “organismos e substâncias que contribuem para o equilíbrio microbiano intestinal”, porém esta definição se demonstrou inapropriada uma vez que a palavra “substância” pode incluir suplementos “contra a vida” (CARNICÉ, 2006; PARKER, 1974).

Na atualidade, a definição mais aceita é a da FAO/WHO (2001) que diz que probiótico são micro-organismos vivos que administrados em quantidades adequadas conferem benefícios à saúde do hospedeiro. No Brasil, a ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) determina que os probióticos, devem, obrigatoriamente, comprovar cientificamente ser seguro para uso por meio de estudos clínicos, randomizados, duplo-cego e placebo controlados cujos desfechos

demonstrem a relação proposta na alegação entre o consumo do produto e o efeito funcional, previamente à comercialização e deve comprovar seu efeito fisiológico ou metabólico específico, que deverá comunicado por meio de uma alegação de propriedade funcional ou de saúde (BRASIL, 2016).

Como descrito na legislação, os probióticos devem atender a alguns critérios, tais como não serem patogênicos e serem capazes de chegar intactos trato gastrointestinal. Portanto, devem resistir aos processamentos tecnológicos e as secreções gástricas, aderir-se ao epitélio intestinal, serem capazes de colonizar e produzir substâncias antimicrobianas no trato gastrointestinal, modular respostas imunes, exercer influência em algumas atividades metabólicas, como assimilação do colesterol, produção de vitaminas, etc (CARNICÉ, 2006; MORAES; COLLA, 2006).

As principais bactérias lácticas (BAL) probióticas, comuns adicionados aos alimentos pelas indústrias são pertencentes a várias espécies de lactobacilos e bifidobactérias, mas também leveduras, como a *Saccharomyces cerevisiae* (Tabela 3). Contudo, outros gêneros (*Enterococcus*, *Bacillus* e *Escherichia*) incluem cepas reconhecidos como probióticos (PRISCO; MURIELLO, 2016).

Os probióticos atuam no intestino somando à microbiota intestinal, ali se fixam desenvolvendo seus mecanismos de ação (Figura 7), que consiste, principalmente, em: formar uma barreira física contra as bactérias patogênicas através da competição por nutrientes e por sítios de ligação, ou seja, impedindo que as bactérias patogênicas se liguem aos receptores; estimular a resposta imune através do aumento da produção de anticorpos; ativação de macrófagos; proliferação das células T e produção de interferon e mudanças nas condições ambientais (VARAVALLO; THOMÉ; TESHIMA, 2008). A Tabela 5 descreve os mecanismos de ação dos prebióticos no intestino.

Tabela 2. Micro-organismos empregados como probióticos.

Gênero	Espécie
<i>Lactobacillus</i>	<i>L. acidophilus</i> <i>L. acidophilus</i> linhagens LC1, La5, La1, La7, Gilliland <i>L. brevis</i> <i>L. casei</i> <i>L. casei</i> linhagens Shirota, Imunitass, NCC208 <i>L. cellobiosus</i> <i>L. crispatus</i> <i>L. curvatus</i> <i>L. delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i> <i>L. farciminis</i> <i>L. fermentum</i> <i>L. gasseri</i> <i>L. helveticus</i> <i>L. johnsonii</i> <i>L. lactis</i> <i>L. paracasei</i> ssp. <i>paracasei</i> e ssp. <i>tolerans</i> <i>L. plantarum</i> <i>L. reuteri</i> <i>L. rhamnosus</i>
<i>Bifidobacterium</i>	<i>B. adolescentis</i> <i>B. animalis</i> <i>B. bifidum</i> <i>B. breve</i> <i>B. infantis</i> <i>B. lactis</i> <i>B. longum</i> <i>B. thermophilum</i>
Outras Bactérias ácido lácticas	<i>Lactococcus lactis</i> <i>Leuconostoc mesenteroides</i> <i>Pediococcus acidilacticis</i> <i>Streptococcus thermophilus</i> <i>Streptococcus diacetylactis</i> <i>Streptococcus intermedius</i>
Outros	<i>E. coli</i> strain Nissle <i>Saccharomyces cerevisiae</i> <i>Saccharomyces boulardii</i>

Fonte: Adaptado de Saad et al. (2013)

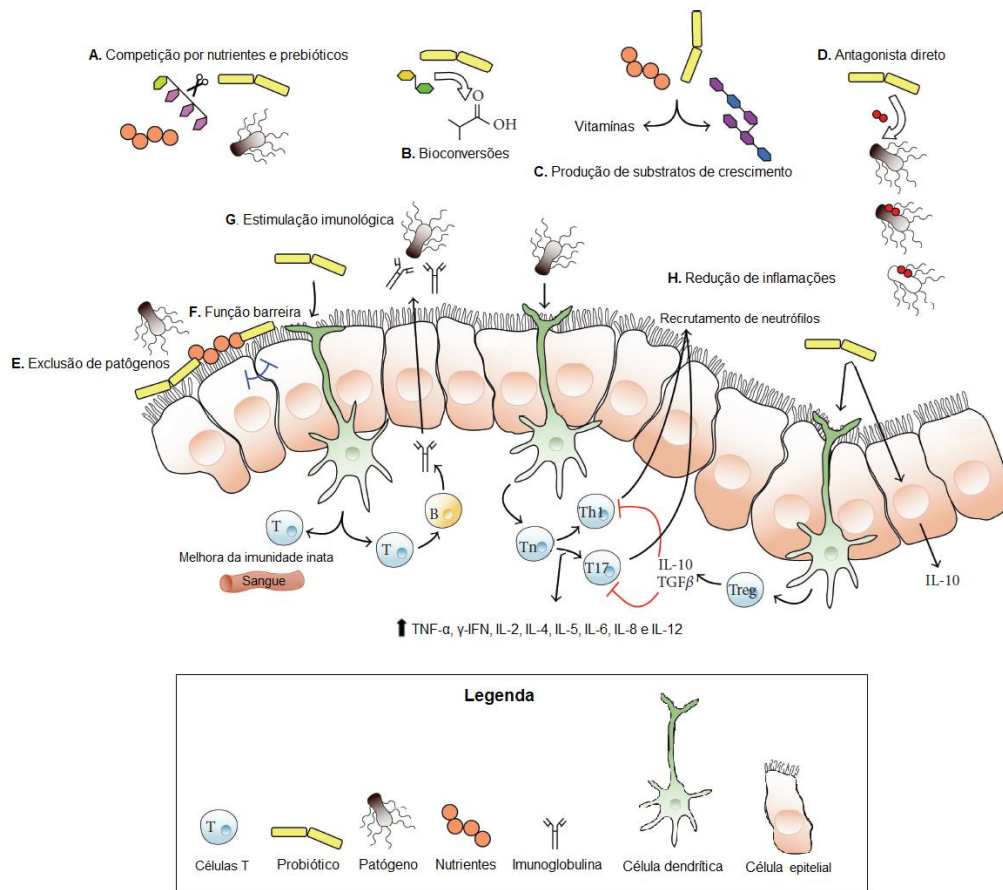


Figura 7. Diagrama esquemático dos mecanismos potenciais ou conhecidos pelos quais as bactérias probióticas podem atuar na microbiota. Competição por ingredientes usados como substratos de crescimento (A), bioconversão de açúcares em produtos de fermentação com propriedades inibitórias (B), produção de substratos de crescimento, por exemplo, EPS ou vitaminas, para outras bactérias (C), antagonismo direto por bacteriocinas (D), exclusão competitiva para sítios de ligação (E), melhora na função de barreira (F), estimulação da resposta imunológica inata (mecanismo subjacentes desconhecidos) (G), e redução da inflamação, facilitando a colonização e permanência (H). **Fonte:** Adaptado de SAAD et al., 2013 e Silva, 2017.

Estudos demonstram que os probióticos são benéficos para a saúde pois desempenham um papel importante na manutenção da microbiota intestinal, na proteção contra agentes patogênicos, na intolerância à lactose e na diarreia infantil, além de se destacar na redução do nível de colesterol sérico e da pressão arterial, redução da incidência de doenças urogenital e respiratórias e prevenção de alguns tipos de câncer (PRISCO; MURIELLO, 2016).

Tabela 3. Potenciais efeitos benéficos de probióticos e seus mecanismos.

Efeito benéfico	Mecanismos
Ação contra agentes patogênicos	Os probióticos podem produzir substâncias antimicrobianas específicas que inibem o crescimento e o desenvolvimento de patogênicos (<i>E. coli</i> , <i>Streptococcus</i> , <i>Clostridium</i> , <i>Helicobacter</i> e <i>Salmonella</i>). Estas substâncias inibitórias incluem ácidos orgânicos, peróxido de hidrogênio e bacteriocinas. As BAL são produtoras de ácidos orgânicos (ácido láctico e acético), que se difundem através das membranas celulares patogênicas acidificando o citoplasma das mesma e causando um colapso eletroquímico, resultando numa ação bacteriostática e eventual morte do patógeno.
Competição por nutrientes e prebióticos	Os nutrientes presentes em quantidade limitada no intestino, são utilizados pelos probióticos, impedindo que os agentes patogênicos os utilize para seu desenvolvimento, limitando assim a sua proliferação no hospedeiro.
Exclusão competitiva	A exclusão competitiva é um dos mecanismos mais usados pelos probióticos, consistindo na competição com os patógenos pelos sítios de aderência à membrana das células da mucosa do intestino. Esta inibição pode ocorrer por secreção de substâncias antimicrobianas que provocam um bloqueio específico ou não específico do receptor, por competição direta com o patógeno, o que promove uma barreira física na mucosa, impedindo os agentes patogênicos de se fixarem e de colonizarem o intestino. Em contraste, outros probióticos podem ligar-se diretamente aos patógenos devido a capacidade de co-agregação que algumas estirpes apresentam.
Função barreira	Os probióticos elevarem a produção de citocinas, que por sua vez, induzem a secreção de Imunoglobulina A (IgA) na mucosa intestinal, resultando na libertação de mucinas, que ao entrar em contato com a água, formam uma película que lubrifica e protege o epitélio intestinal contra os patógenos, formando uma barreira física entre o epitélio e o conteúdo do lúmen intestinal. Os probióticos podem também aumentar a capacidade das células de Paneth, existentes no intestino delgado, de produzir os peptídeos antibacterianos que previnem a aderência e a invasão bacteriana.

Estimulação imunológica	Os probióticos podem estimular tanto a resposta imune não-específica (inata) quanto a específica (adaptativa). A interação entre os probióticos e as células do sistema imune é mediada pela interação com receptores específicos, como os TLR (“Toll-like receptors”) no trato gastrointestinal. A ativação destes receptores inicia uma cascata de sinais imunes que conduzem a diferentes respostas. Exemplo disso é a maturação de células T, as quais permitem uma resposta apropriada a potenciais patógenos, e ainda a diferenciação de células B e produção de anticorpos, tais como IgA, secretados para o lúmen intestinal. A atividade de células fagocíticas (neutrófilos e macrófagos) e de células NK (“Natural Killer”), as quais fazem parte da resposta imune inata, é também modulada em animais e humanos por vários probióticos.
Redução da inflamação	A administração de estirpes probióticas específicas tem demonstrado estimular um aumento das citocinas anti-inflamatórias, tais como IL-10 e TGF- β , e uma diminuição na expressão de citocinas pro-inflamatórias, tais como TNF- α , INF- γ , IL-6 e IL-12. Estas alterações no equilíbrio das citocinas pode ser o mecanismo pelo qual os probióticos podem ser capazes de reduzir a inflamação.

Fonte: Silva, 2017

4.4.1. Kefir de leite

O kefir é originário da Europa Oriental e das montanhas do Tibete e da Mongólia. Legislação brasileira vigente segundo o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) define kefir como:

“produto resultante da fermentação do leite pasteurizado ou esterilizado, por cultivos ácido lácticos elaborados com grãos de kefir, *Lactobacillus kefir*, espécies dos gêneros *Leuconostoc*, *Lactococcus* e *Acetobacter* com produção de ácido láctico, etanol e dióxido de carbono. Os grãos de kefir são ainda constituídos por leveduras fermentadoras de lactose (*K. marxianus*) e leveduras não fermentadoras de lactose (*S. onisporus*, *S. cerevisiae* e *S. exiguus*), *Lactobacillus casei*, *Bifidobacterium spp.* E *Streptococcus salivarius ssp. thermophilus*” (BRASIL, 2007).

No Brasil, a Instrução Normativa de nº 46 do MAPA (BRASIL, 2007), estabelece que o kefir deve apresentar teor alcoólico entre 0,5 e 1,5 (%v/m), acidez

menor que 1,0 g de ácido láctico /100g, bactérias lácticas totais no mínimo 10^7 UFC/g e leveduras no mínimo 10^4 UFC/g. A Figura 8 mostra o grão de kefir.



Figura 8. Imagem dos grãos de kefir. **Fonte:** Caetano et al., 2016.

Dentre as características sensoriais do kefir destaca-se sua acidez, a qual é decorrente da produção dos ácidos láctico e acético pela microbiota presente em seus grãos (LOPITZ-OTSOA et al., 2006). O kefir é uma bebida fermentada de textura cremosa, ligeiramente carbonado, que possui pequenas quantidades de álcool em sua composição. É o resultado da atividade metabólica de uma mistura específica e complexa de um conjunto de diversas bactérias lácticas (LAB) e leveduras que vivem em associação simbiótica nos grãos de kefir, e este fato a difere dos outros alimentos fermentados, pois não é o resultado da atividade metabólica de apenas um ou poucos microrganismos (LEITE et al., 2013; LOPITZ-OTSOA et al., 2006).

Os grãos de kefir tem a faixa de diâmetro de 0,3–3,5 cm (CHENG et al., 2015; GARROTE; ABRAHAM; DE ANTONI, 2010). Os grãos de kefir são formados por microrganismos probióticos que existem em uma matriz complexa de proteínas e polissacarídeos (heteropolissacarídeo kefiran), e lipídeos (RADHOUANI et al.; 2018; BOURRIE; WILLING; COTTER, 2016). Os géneros mais comum de bactérias em grãos de kefir são *Lactococcus*, *Streptococcus* e *termófilos Streptococcus*, *Lactococcus lactis* subespécie *lactis*, *Lactobacillus delbrueckii* subespécie *bulgaricus*, *L. helveticus*, *L. casei* subespécie *pseudoplantarum*, *L. skefiri*, *L. kefir*, *L. brevis* e *Leuconostoc mesenteroides* e espécies de levedura (MIGUEL et al., 2010; CHEN; WANG; CHENG, 2008). Entre as características sensoriais do kefir destaca-

se sua acidez, a qual é decorrente da produção dos ácidos láctico e acético pela microbiota presente em seus grãos (LOPITZ-OTSOA et al., 2006).

O Kefir pode ser feito com leite ou água e sua composição vai depender disso. O kefir possui em sua composição (Tabela 4), minerais (cálcio, magnésio, potássio, sódio, zinco, cobre, ferro), carboidratos, proteínas e aminoácidos essenciais (serina, treonina, alanina, lisina, valina, isoleucina, metionina, fenilalanina e triptofano), vitaminas (B1, B2, B5 e C), peptídeos e metabólitos secundários (catequina, vanilina, ácido ferúlico e ácido salicílico) (ROCHA-GOMES et al., 2018).

Tabela 4. Composição do kefir a base de água e Leite cru, UHT e desnatado.

Análises	g/100 g			
	(SILVA, 2017)		(ROCHA-GOMES et al., 2018)	
	Leite cru	Leite UHT	Leite desnatado	Água + açúcar mascavo
Umidade	88,41	88,47	76,76	88,16
Carboidratos	5,67	5,99	19,05	10,88
Proteínas	2,60	2,83	3,06	0,27
Lipídeos	2,80	2,03	0,45	0,09
Cinzas	0,52	0,68	0,68	0,60

Devido seus componentes e mecanismo de ação, o kefir é considerado um probiótico. Estudos demonstram que o kefir possui vários benefícios à saúde, pois exerce papel importante na melhoria da imunomodulação, além de atuar como agente anti-inflamatório, inibindo a atividade de citocinas pró-inflamatórias, fator de necrose tumoral (TNF)- α e IL-6 (GUT et al., 2021; REIS et al., 2019). Ainda, exerce alívio da constipação e reversão de intolerância à lactose (GUT et al., 2021), parâmetros metabólicos, incluindo triglicerídeos plasmáticos e níveis de insulina (AKAR et al., 2021), melhora a obesidade, diabetes tipo 2, hiperlipidemia (TISS et al., 2020), eficaz para o tratamento da hipertensão (MONTEIRO et al., 2020), suprime o crescimento do tumor (REIS et al., 2019).

4.4.2. Kefir e sua relação com o câncer colorretal

Em 1908, Metchnikoff lançou a teoria sobre o prolongamento da vida por meio do consumo regular de leites fermentados, desde então os efeitos profiláticos e

terapêuticos das bactérias lácticas foram estudados por autores como Azizi et al. (2021). Várias pesquisas, assim como Farag et al. (2020) vêm confirmando que o consumo de micro-organismos probióticos melhora a modulação de enfermidades em diversos modelos experimentais.

Nesse sentido, estudos têm mostrado que o consumo regular de probióticos pode ser capaz de inibir o desenvolvimento de lesões pré-neoplásicas no cólon (ZHU et al., 2014). Essa possível capacidade está ligada a modulação da composição da microbiota intestinal e sua atividade metabólica, a ligação e degradação de compostos cancerígenos presente no lúmen intestinal, produção de compostos anticarcinogênicos, imunomodulação, inibição da proliferação e indução de apoptose de células neoplásicas (REIS et al., 2017). Deste modo, um dos possíveis mecanismos do kefir para inibir as células cancerosas seja através da parada do ciclo celular e da indução de apoptose por meio da regulação positiva de *BAX* e da regulação negativa de genes *BCL2* (AZIZI et al., 2021).

O efeito do consumo regular de kefir no desenvolvimento de lesões pré-cancerosas do cólon é desconhecido, mas existem trabalhos que tentam entender a relação entre o kefir e o câncer, como é demonstrado na Tabela 5.

Tabela 5. Estudos que mostram a relação entre kefir e câncer.

Tipo de câncer	Tipo de pesquisa	Resultados	Referências
Câncer de intestino	<i>Em vitro</i>	- Indução de apoptose induzida por dose em células de câncer gástrico.	Ghoneum e Felo (2015)
Câncer de mama	<i>Humanos</i>	- Redução do volume do tumor; - Aumento dos níveis de antígeno nuclear de proliferação celular e contagem de células apoptóticas.	Esener et al. (2018)
Câncer de mama e metástase pulmonar	<i>In vivo e in vitro</i>	- Redução significativa de marcadores pró-inflamatórios e pró-angiogênicos; - Desenvolvimento de células T auxiliares e células T citotóxicas; - Redução significativa de metástases no pulmão e medula óssea;	Zamberi et al. (2016)

Eritroleucemia aguda	<i>Em vitro</i>	- Indução de apoptose e necrose na linha KG-1; - Redução da proliferação.	Jalali, Sharifi e Salehi (2016)
Câncer colorretal	Humanos	- Redução na incidência de FCA; - Aumento na concentração de AGCC.	Reis et al. (2019)
	Ratos Wistar	- Supressão do número de tumor; - Redução da concentração de citocinas IL-1 b, IL-6, TNF-a e óxido nítrico.	Brasiel et al. (2020)

Hoje em dia, com o acesso a internet é possível encontrar diversos conteúdos sobre kefir, porém, estudos científicos que estudaram as propriedades funcionais do kefir sobre o câncer colorretal em animais e seres humanos ainda são escassos.

4.5. Simbiótico

Em 1995, pela primeira vez, foi apresentado o conceito simbiótico, descrito como “mistura de probióticos e prebióticos que afetam benéficamente o hospedeiro” (GIBSON; ROBERFROID, 1995). Porém a definição de simbiótico foi atualizada em maio de 2019 pela Associação Científica Internacional de Probióticos e Prebióticos - ISAPP (2019), para fornecer clareza e orientação sobre o uso adequado do termo 'simbiótico', agora definido como “uma mistura compreendendo microrganismos vivos e substrato (s) utilizado (s) seletivamente por microrganismos hospedeiros que confere um benefício à saúde do hospedeiro” (SWANSON et al., 2020).

Os prebióticos e probióticos são complementares e sinérgicos, apresentando assim fator multiplicador sobre suas ações isoladas (Figura 9). Os complementares são simbióticos compostos de um probiótico combinado com um prebiótico, projetado para atingir microrganismos autóctones, sendo necessário atender aos critérios mínimos para o probiótico e prebiótico existentes. Já o sinérgico é um simbiótico no qual o substrato é projetado para ser utilizado seletivamente pelo (s) micro-organismo (s) coadministrado (s), não sendo necessário atender mínimos estipulados anteriormente para probióticos e prebióticos (SWANSON et al., 2020).

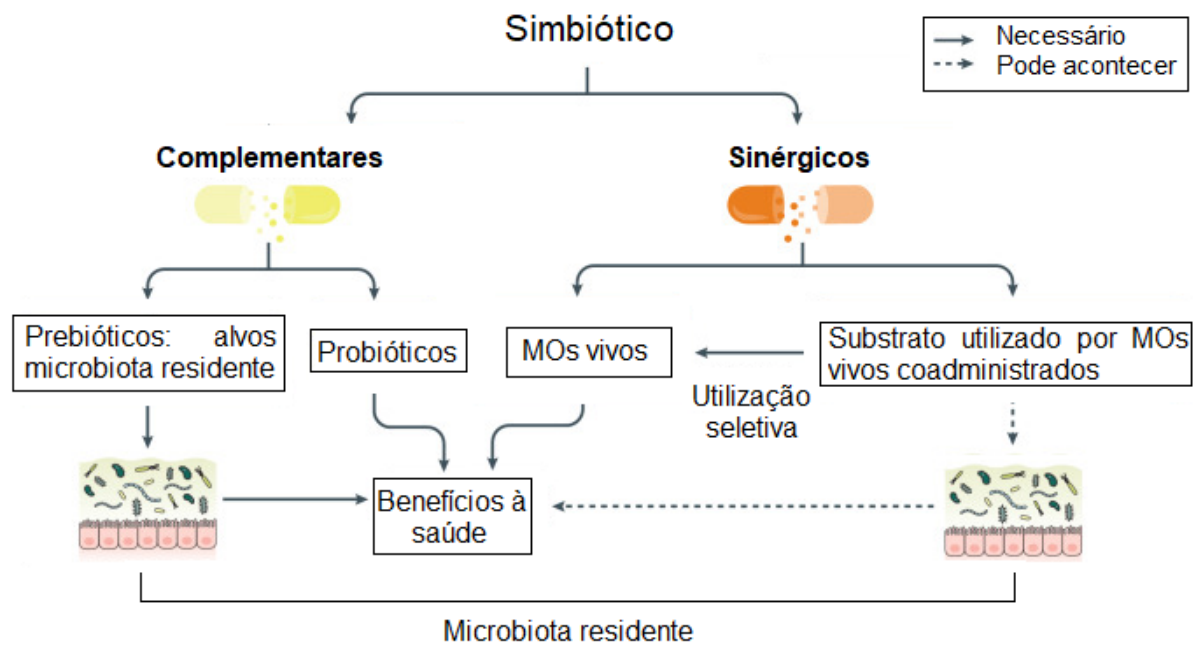


Figura 9. Desenho e mecanismos de ação de simbióticos complementares e sinérgicos. MOs: Micro-organismo. **Fonte:** Traduzido de Swanson et al., (2020).

Portanto, uma hipótese provável é que o uso do prebiótico associado ao probiótico regularmente, poderia promover o aumento das bifidobactérias, controle glicêmico, redução da taxa de colesterol sanguíneo, balanceamento da microbiota intestinal, melhoria da permeabilidade intestinal e estimulação do sistema imunológico. Deste modo, espera-se um efeito anticarcinogênico do yacon + kefir, uma vez que a yacon (MARCON et al., 2019) e o kefir (BRASIEL et al., 2020) isoladamente apresentarem este efeito.

5. MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi desenvolvido nos Laboratórios de Nutrição Experimental e Fisiologia Humana, Central Analítica, Operações Unitárias, Microbiologia de Alimentos e Química de Alimentos da Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, ES.

O estudo foi previamente aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais, Campus Alegre, o Comitê de Ética da Universidade Federal do Espírito Santo, campus Sul, sob número 032/2019.

O projeto foi financiado pelo CNPq Nº 28/2018, Processo: 406304/2018-1 e Edital CNPq/FAPES Nº 24/2018 - Programa de Apoio a Núcleos de Excelência – PRONEX.

5.1. Delineamento Experimental

Foram utilizados 60 ratos machos, adultos, com cerca de 100 - 150 g de peso corporal (7 a 8 semanas), da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus albinus*), provenientes do biotério da Universidade Federal do Espírito Santo. Os animais foram mantidos em gaiolas individuais de aço inoxidável, com controle da iluminação (ciclo de 12 horas de luz claro/escuro) e temperatura ambiente de 23 ± 2 °C. Os animais receberam dieta AIN-93M durante as 5 primeiras semanas e água *ad libitum* durante todo o experimento.

Os animais foram divididos de acordo com o peso em dois grupos, os com indução e os sem indução (Grupo C). Após o término da indução, os animais desse grupo foram divididos em Grupo T, Y, K e YK:

- I. **Grupo C** (Saudável: grupo controle, sem indução de câncer de cólon e sem tratamento com yacon ou kefir);
- II. **Grupo T** (grupo com indução de câncer e sem tratamento com yacon ou kefir);
- III. **Grupo Y** (grupo com indução de câncer e tratamento com yacon);
- IV. **Grupo K** (grupo com indução de câncer e tratamento com kefir);
- V. **Grupo YK** (grupo com indução de câncer e tratamento com yacon e kefir).

As dietas foram fornecidas em forma de palets. Os animais do grupo C e T receberam a dieta AIN-93M (REEVES; NIELSEN; FAHEY, 1993). Os animais do

grupo Y receberam farinha de yacon adicionada à dieta AIN-93M na quantidade suficiente para fornecer 5 % de FOS (CAMPOS et al., 2012), metodologia adaptada. Os animais do grupo K receberam uma dose diária de 1 mL de kefir contendo 10^8 UFC misturado com a dieta AIN-93M e os do grupo YK receberam a mesma dieta do grupo Y, porém adicionada de 1 mL de kefir contendo 10^8 UFC.

A carcinogênese foi induzida nos grupos *T*, *Y*, *K* e *YK*, com 55 mg/kg de DMH-Sigma® (1,2-dimetilhidrazina, subcutânea, semanalmente), durante cinco semanas consecutivas. O DMH foi dissolvido em uma solução veículo de 0,9 % de NaCl contendo 1,5 % de EDTA (ácido etilenodiamino tetra-acético), com pH final ajustado para 6,0. Durante a indução, todos os grupos receberam dieta padrão AIN-93 M.

Nas 6^a a 15^a semanas, os grupos experimentais foram alimentados com suas respectivas dietas. Ao final da 10^a semana, quatro animais de cada grupo foram para gaiola metabólica para coleta de urina para análise de permeabilidade intestinal e eutanasiados posteriormente para coleta de dados referentes ao período pré-neoplásico (pH, ácido graxo de cadeia curta e quantificação e categorização dos focos de criptas aberrantes) e para verificar a influência do prébiotico, probiótico e prebiótico associado ao probiótico no desenvolvimento dessas lesões.

Os animais restantes permaneceram no estudo até o final da 15^a semana, quando os animais foram transferidos para as gaiolas metabólicas para coleta de urina para análises da permeabilidade intestinal. Em seguida, os animais foram submetidos a eutanásia por meio de administração de 0,375 ml/animal de cetamina e 0,25 ml/ animal de xilasina, administrados por via intraperitoneal e posteriormente aprofundar a anestesia até a eutanásia (SEQUETTO, 2008) por punção cardíaca. O sangue foi coletado em tubos heparinizados e centrifugados (3000 g, 10 minutos, 4 °C) para obtenção do soro para análise do perfil de citocinas pró e anti-inflamatórias e capacidade antioxidante total (CAT). O intestino grosso foi coletado e colocado em solução formalina 10 % para análise das lesões macro e microscópicas da mucosa colorretal. O conteúdo luminal foi armazenado para posterior determinação do pH intraluminal, ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) e imunoglobulina A secretória (sIgA). Na Figura 10, temos o desenho experimental.

Para dosagem das citocinas (TNF- α , IL-6, IL-10 e IL-12), as amostras de sangue coletadas por punção cardíaca e acondicionadas em tubos sem

anticoagulante foram centrifugadas (Hermle, modelo Z326K, Alemanha) durante 10 minutos a 3000 g a 4 °C e o soro obtido congelado a -80 °C até o uso.

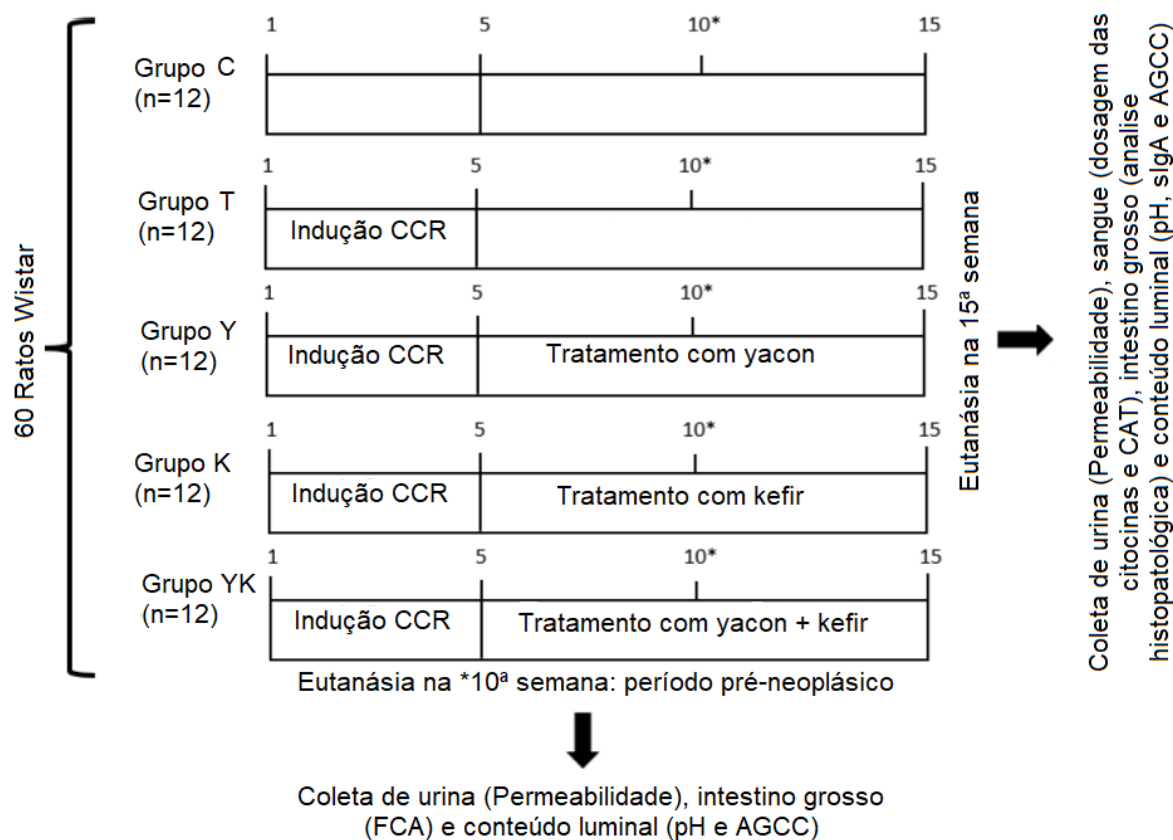


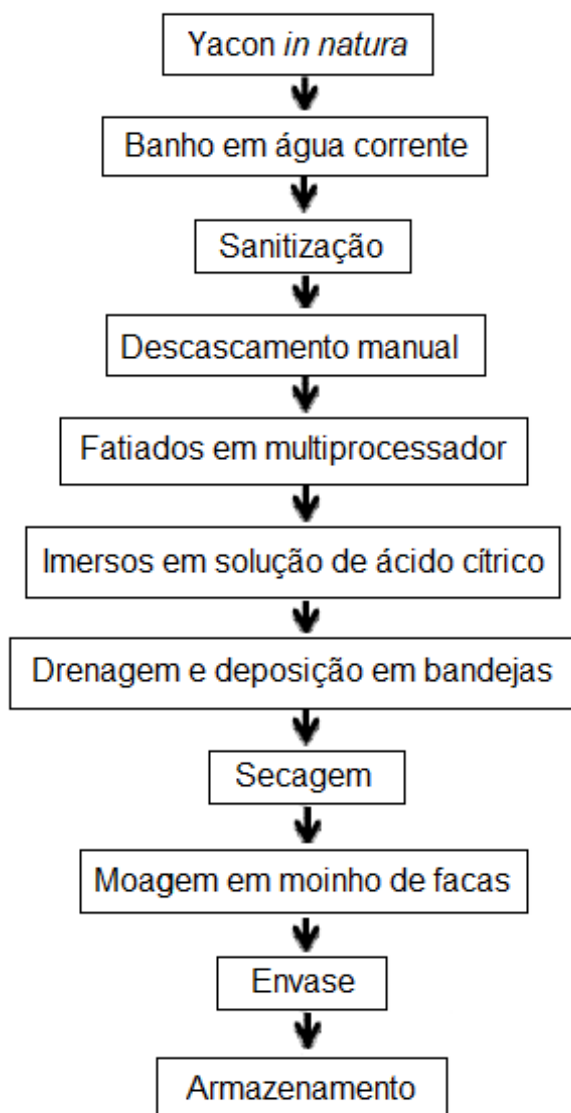
Figura 10. Esquema do desenho experimental. C: grupo sem indução de CCR e sem yacon ou kefir; T: grupo com indução de CCR e sem yacon; Y: grupo com indução de CCR e com yacon; K: grupo com indução de CCR e com kefir; YK: grupo com indução de CCR e com yacon e kefir; CCR: câncer colorretal; CAT: Capacidade Antioxidante total; slgA: imunoglobulina secretória A; AGCC: ácido graxo de cadeia curta; FCA: foco de cripta aberrante.

5.2. Elaboração da farinha de yacon

A yacon (*Smallanthus sonchifolius*) foi adquirida diretamente de um produtor da cidade de Santa Maria de Jetibá/ES (Latitude: 20ª 1' 35" Sul, Longitude: 40ª 44' 27" Oeste) e o processamento da farinha foi realizado no Laboratório de Operações Unitárias do Departamento de Engenharia de Alimentos da Universidade Federal do Espírito Santo-UFES, segundo a metodologia adaptada de Marangoni (2007).

Para a elaboração da farinha, utilizou-se 60 kg da yacon *in natura*, que foram pré-higienizadas em água corrente e sanitizados por imersão em solução de hipoclorito de sódio a 200 ppm, por 15 minutos. Em seguida, os tubérculos foram

descascados manualmente com auxílio de facas inox, fatiados em multiprocessador e imersos em solução contendo 1 % de ácido cítrico por 20 segundos. Após drenados, colocou-se as fatias de yacon em secador de bandejas com circulação de ar (Polidryer®, Brasil), a 60 °C por 72 horas e posteriormente triturados em moinho de facas. Ao final do processo a farinha foi armazenada em sacos plásticos transparentes à temperatura de 4 °C. A Figura 11 mostra o fluxograma da elaboração da farinha de yacon.



A)

B)



C)





Figura 11. Fluxograma de obtenção da farinha de yacon. Fluxograma (A), yacon in natura (B); drenagem e deposição em bandejas (C); Secagem (D); farinha de yacon (E).

5.3. Determinação da composição química da farinha de yacon

As análises referentes a composição do yacon foram estimadas com base no trabalho de Gomes (2020), onde a amostra foi diluída, colocada em banho-maria a 45 °C durante 30 minutos em agitação, centrifugada a 12000 rpm durante 10 minutos e filtrada em membrana (Millipore) com 0,22 µm de porosidade e 13 mm de diâmetro. Em seguida, as amostras foram injetadas em Cromatógrafo líquido de alta eficiência (HPLC) e os picos obtidos foram comparados com as curvas pré-definidas no equipamento.

A quantificação dos açúcares (glicose, frutose e sacarose), oligofrutanos e inulina da yacon foi feita em função da porcentagem de área dos oligofrutanos em comparação à área total dos açúcares.

Os resultados obtidos foram 7,52 % de inulina, 19,39 % de FOS e 24,43 % de oligofrutanos, totalizando 51,34 % de compostos com propriedades prebióticas na farinha de yacon.

5.4. Cultivos dos grãos de kefir

Os grãos de kefir foram adquiridos por meio de doação. O kefir foi cultivado na proporção 1/3 de grão de kefir e 2/3 de leite UHT integral em um béquer de vidro estéril tampado com material que permitia a circulação de ar e mantido em ambiente escuro, para a maturação e o crescimento dos grãos. O leite fermentado (kefir) foi obtido por meio de fermentação durante 24 horas a 23 ± 2 °C e sem agitação. Após as 24 horas, o fermentado foi separado dos grãos com auxílio de uma peneira e em seguida, os grãos foram submetidos a um novo processo de fermentação, em leite integral UHT para dar continuidade à produção, este processo foi realizado diariamente até o fim do experimento. A Figura 12 Mostra as etapas da fermentação do kefir.

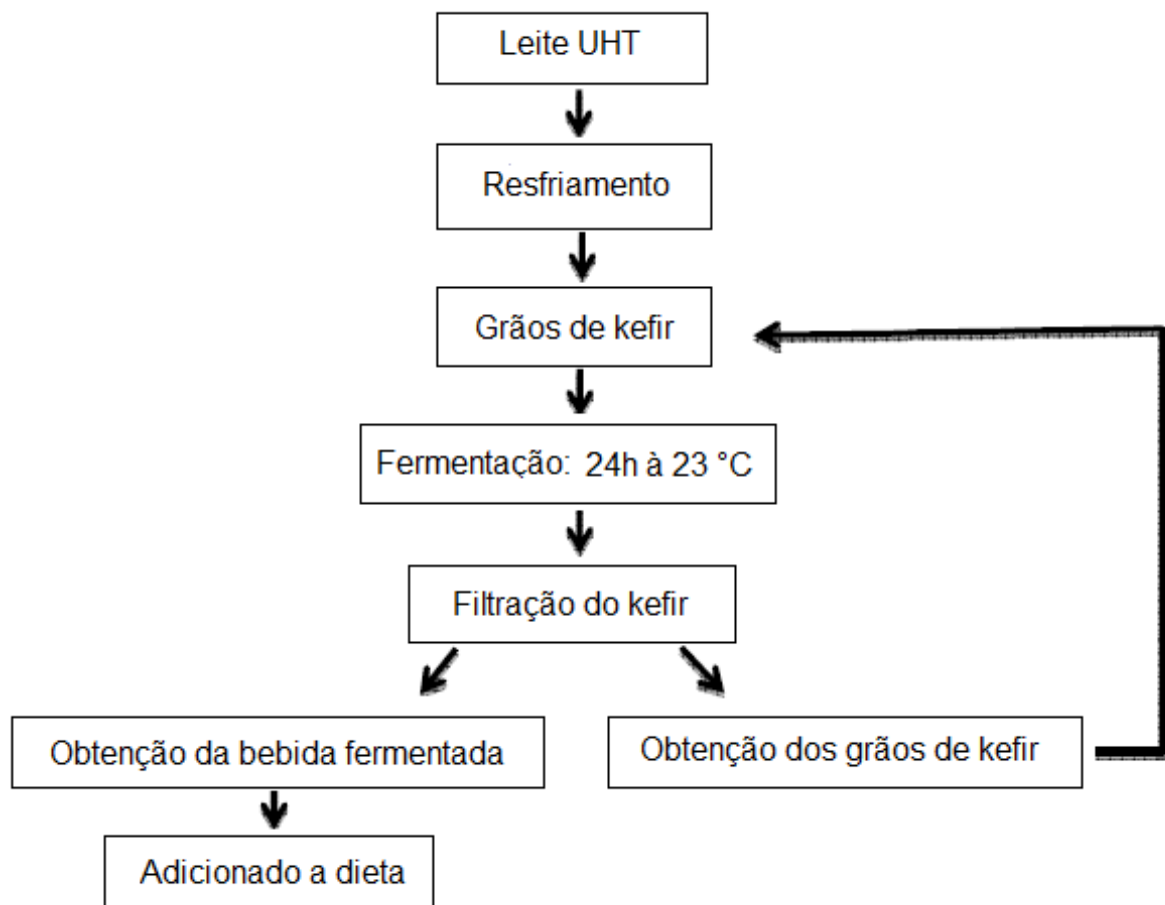


Figura 12. Etapas da fermentação do kefir.

5.4.1. pH e acidez titulável do kefir

O potencial hidrogeniônico (pH) do kefir foi medido por meio da inserção do eletrodo diretamente em 10 mL de amostra em pHmetro digital de bancada (Kasvi, modelo K39-2014B, China) previamente calibrado em temperatura ambiente (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

A acidez foi determinada de acordo com o método de acidez titulável (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008). Em Erlenmeyer, foi adicionando 50 mL de água destilada em 5 g de kefir. Em seguida, foram adicionadas 3 gotas de indicador solução alcoólica de fenolftaleína a 1 % e titulado com hidróxido de sódio (NaOH) 0,1 M. A titulação foi realizada sob agitação contínua, até o ponto de viragem. Após, a acidez titulável foi calculada e os resultados obtidos foram expressos em porcentagem de ácido láctico/mL de kefir.

Para o cálculo da acidez titulável utilizou-se a equação:

$$\frac{(V \times f \times 0,9)}{M}$$

Onde:

V: volume de solução de NaOH 0,1 N gasto na titulação (mL);

f: fator de correção da solução de NaOH 0,1 N;

M: volume da amostra (mL).

5.4.2. Análise microbiológica do kefir

Segundo a legislação vigente, a bebida láctea fermentada de kefir deve apresentar contagem mínima de 10^8 a 10^9 UFC/mL de bactérias lácticas totais no produto final (BRASIL, 2007). A contagem total de bactérias ácido-láticas foi realizada por meio de diluições decimais até 10^{-8} seguido de plaqueamento em profundidade e sobrecamada de diluições seriadas (10^{-8}) em meio Agar de De Man, Rogosa e Sharp, MRS (1960) (Acumedia®, Estados Unidos da América - EUA) (Figura 13). As placas foram incubadas em Demanda Bioquímica de Oxigênio - BOD (modelo Marconi - MA 415, Brasil) a 35 °C por 48 horas para a contagem de unidades formadoras de colônia (UFC), segundo metodologia proposta por Silva et al. (2010). A análise foi realizada nas dependências do Laboratório de Microbiologia de Alimentos da UFES-Alegre.

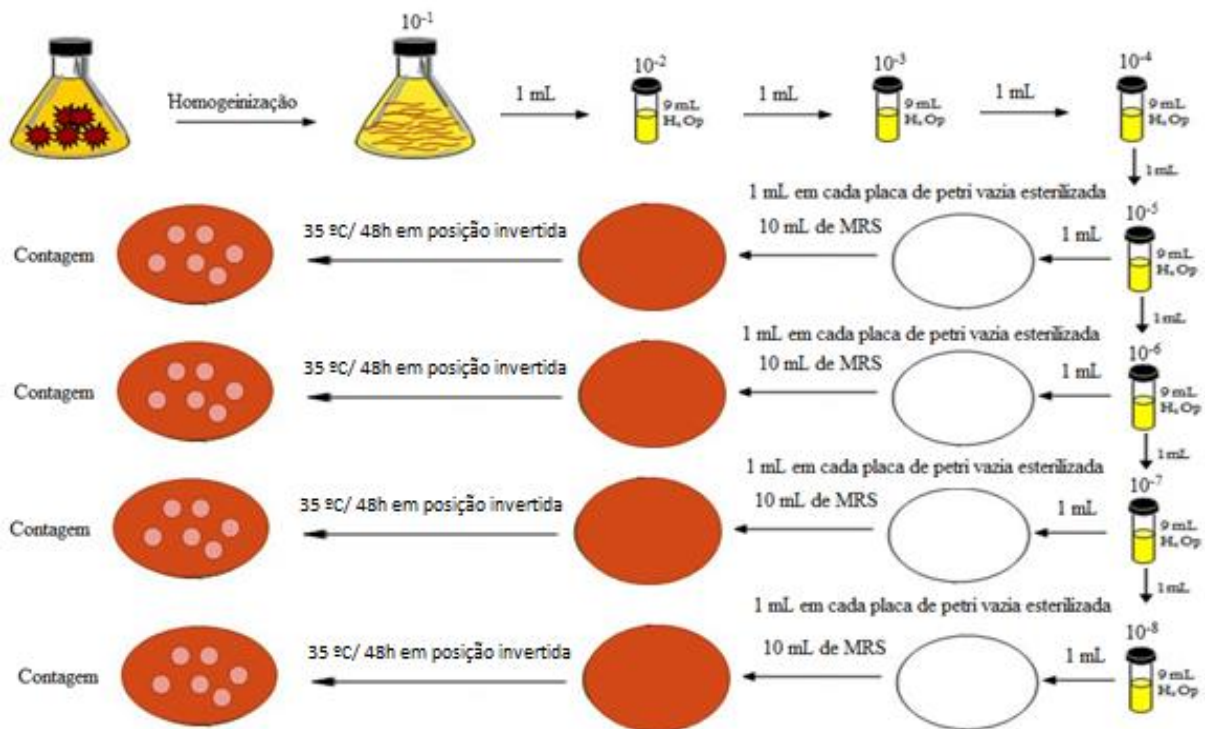


Figura 13. *Plaqueamento sobrecamada.*

5.5. Dietas experimentais

As dietas experimentais foram elaboradas manualmente e os ingredientes adicionados em quantidades determinadas, seguindo as recomendações do *American Institute of Nutrition* (REEVES; NIELSEN; FAHEY, 1993), de acordo com o protocolo AIN-93 M (dieta para manutenção de animais adultos) (Tabela 6).

As dietas foram elaboradas para serem isocalóricas. Todas as dietas apresentaram o mesmo teor de fibras. Para os grupos C, T e K foi utilizada a celulose como fonte de fibras, já para os grupos Y e YK, as fibras foram provenientes da yacon, totalizando 5 % de fibras. Sacarose também foi reduzida nos grupos que receberam yacon, em função da composição de açúcares simples presentes na farinha.

Tabela 6. Composição da dieta AIN- 93 M e dieta AIN- 93 M com farinha de yacon.

INGREDIENTES g/100g	Grupo C e T	Grupo Y	Grupo K	Grupo Y
Amido de milho	46,60	45,15	46,60	45,15
Amido dextrinizado	15,50	15,50	15,50	15,50
Albumina	14,00	14,00	14,00	14,00
Sacarose	10,00	6,80	10,00	6,80
Yacon	0	9,80*	0	9,80*
Celulose	5,00	0	5,00	0
Óleo de soja (mL)	4,00	4,00	4,00	4,00
Mix de minerais	3,50	3,50	3,50	3,50
Mix de vitaminas	1,00	1,00	1,00	1,00
Bitartarato de Colina	0,25	0,25	0,25	0,25
L-cistina	0,18	0,18	0,18	0,18
Kefir (mL)	0	0	1,00	1,00
Kcal	380,4	371,6	380,4	371,6

*Quantidade suficiente para fornecer 5 % do FOS (7,52 % de inulina + 19,39 % de FOS + 24,43 % de oligofrutanos = 51,34 g FOS + inulina em 100 g de yacon). C: grupo sem indução de CCR e sem yacon (n=12); T: grupo com indução de CCR e sem yacon (n=11); Y: grupo com indução de CCR e com yacon (n=12); K: grupo com indução de CCR e com kefir (n=12); YK: grupo com indução de CCR e com farinha de yacon e kefir (n=12); CCR: câncer colorretal.

5.6. Consumo alimentar e ganho de peso

Foi realizado o monitoramento semanal da ingestão alimentar e avaliação do ganho de peso corporal dos animais. O consumo alimentar foi avaliado por meio da diferença entre peso da ração ofertada e a quantidade restante não consumida somada às sobras do fundo da gaiola. O ganho de peso foi calculado pelo peso final menos o peso inicial.

O peso da ração, da sobra e dos animais foi aferido em balança semi analítica (precisão 0,001 g) (Radwag®).

O Coeficiente de Eficiência Alimentar (CEA) foi determinado por meio do ganho de peso do animal (g), pela diferença entre o peso final do inicial, dividido pelo consumo de dieta em cada grupo experimental.

5.7. pH intraluminal do Colón

Após remoção do intestino grosso dos animais, o conteúdo luminal do ceco foi retirado, pesado, diluído na proporção 1:10 em solução salina (0,9 %) e homogeneizado em vórtex modelo AP-56 (Phoenix Luterco, Araraquara, São Paulo, Brasil). Posteriormente, a leitura do pH foi realizada por meio de pHmetro de bancada da marca Kasvi®.

5.8. Condições cromatográficas

Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC). O sistema de cromatografia consiste de: desgaseificador (Modelo DGU-20A), bomba (Modelo LC-20AT), injetor automático (modelo SIL-20A), forno de coluna (Modelo CTO-10AS) e detector de índice de refração (modelo RID-10A). A coluna analítica utilizada foi a Aminex HPX-87H (300 cm x 8,7 mm) da marca BIO-RAD (Califórnia, EUA). As análises por HPLC foram realizadas a 55 °C, numa pressão de 120 kgf, sob condições isocráticas. A fase móvel empregada foi água em 0,005 mol/L de ácido sulfúrico, fluxo da fase móvel: 0,6 mL/min com volume de injeção da amostra de 20 µL (SÁ et al., 2011).

5.8.1. Determinação da permeabilidade intestinal

A determinação da permeabilidade intestinal foi realizada na 15ª semana do experimento. Para esta análise, os animais foram mantidos em jejum de 12 horas. Ao fim das 12 horas receberam 1 mL/kg de peso corporal de uma solução contendo 100 mg de lactulose e 50 mg de manitol por gavagem. Após a administração, os animais foram alocados para a gaiola metabólica e permaneceram por 5 horas em jejum, e posteriormente, voltaram a receber a dieta habitual e água *ad libitum*. Foi realizada a coleta de urina de 24 horas, com auxílio de funil e bquer, sendo o volume medido, registrado e armazenado a -80 °C até a análise laboratorial (SONG et al., 2011).

Para determinação das concentrações de lactulose e manitol, a urina coletada foi centrifugada (Hermle, modelo Z326K, Alemanha) durante 10 minutos a 3000 g a 4 °C e o sobrenadante coletado foi filtrado em filtros Millipore de 0,45 milímetros (São

Paulo, Brasil) e cerca de 1,5 mL colocados em vials para Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC) da marca Shimadzu (Kyoto, Japão).

Para a padronização do teste, as concentrações crescentes de manitol (Sigma®) (0,01 a 0,5 mol/L) e de lactulose (Sigma®) (0,003 a 0,125 mol/L) foram avaliadas separadamente, com a finalidade de se compor a curva de calibração dos compostos analisados ($y=ax + b$).

As áreas sob a curva indicam os valores de y em Mol/L e, uma vez aplicada a equação da reta, foram determinados os valores de x . Esse valor foi transformado para g/L para o cálculo das porcentagens de excreção da lactulose e do manitol pelos cálculos:

$$\frac{(x * \text{volume de urina excretada em 12 h}) \times 100}{0,05 \text{ g manitol ingerido}} \quad (1)$$

$$\frac{(x * \text{volume de urina excretada em 12 h}) \times 100}{0,1 \text{ g lactulose ingerida}} \quad (2)$$

Para se calcular a relação entre os mesmos, divide-se a taxa de excreção da lactulose pela taxa de excreção do manitol.

Os valores de R^2 da curva padrão de lactulose e manitol foram respectivamente, 0,9884 e 0,9946.

5.8.2. Determinação de ácido graxo de cadeia curta

O conteúdo fecal foi homogeneizado e 100 mg do mesmo foi diluído em 2 mL de solução ácida de perclórico (10 %). Após a incubação em temperatura ambiente por 30 minutos, as amostras foram misturadas em vórtex modelo AP-56 (Phoenix Luterco, Araraquara, São Paulo, Brasil) por 5 minutos, centrifugada (3000 g, 10 minutos a 4 °C) (Hermle, modelo Z326K, Alemanha) e o sobrenadante foi retirado e filtrado através de um filtro de membrana de 0,45 µm. Então, o conteúdo filtrado foi transferido para microtubos e congelados a -80 °C. Os ácidos butírico, propiônico e acético foram analisados por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência – HPLC marca Shimadzu (Kyoto, Japão). Foi utilizando como padrão interno os ácidos Acetic acid®, Butyric acid® e Propionic acid® (Sigma-Aldrich, São Paulo / SP, Brasil).

Os valores de R_2 da curva padrão foram 0,9816 para acetato, 0,9965 para propionato e 0,9989 para butirato.

5.9. Contagem dos focos de criptas aberrantes (FCA) e análise histopatológica das lesões em mucosa colorretal

O intestino grosso removido foi aberto longitudinalmente na inserção do mesentério, sendo enxaguado em solução salina para eliminar o conteúdo intestinal residual.

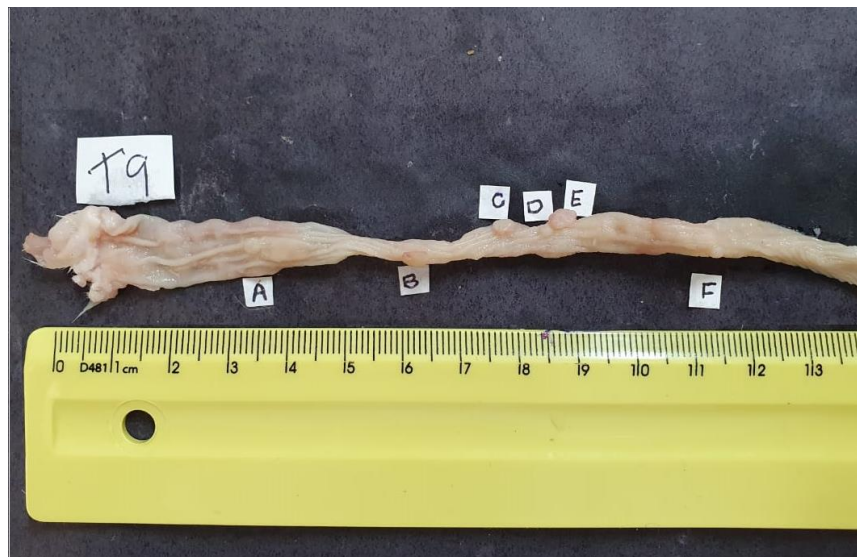
No primeiro momento de avaliação (10ª semana), todo o segmento do intestino foi fixado em formalina tamponada a 10 % durante 48 horas a 23 °C (Figura 14), seguido da coloração com 0,1 % de azul de metileno dissolvido em solução salina tamponada com fosfato (PBS) durante 20 minutos para contagem de FCA. Após este tempo, foi realizada análise microscópica de toda a extensão da superfície da mucosa com um microscópio de luz (4x) (Haven, São Paulo). O número de FCA foi determinado e a identificação ocorreu de acordo com os critérios de Bird (BIRD; GOOD, 2000). A categorização dos FCA foi realizada com base no número de criptas aberrantes por foco, sendo focos com até três ou menos criptas ($FCA \leq 3$) e focos com mais de três criptas ($FCA > 3$), foi registrado também o número de FCAs totais.



Figura 14. Intestino grosso fixado com auxílio de alfinetes em isopor.

No segundo momento de avaliação (15ª semana), foram coletadas da mucosa colorretal todas as lesões acima de 0,1 centímetro em sua maior porção (Figura 15).

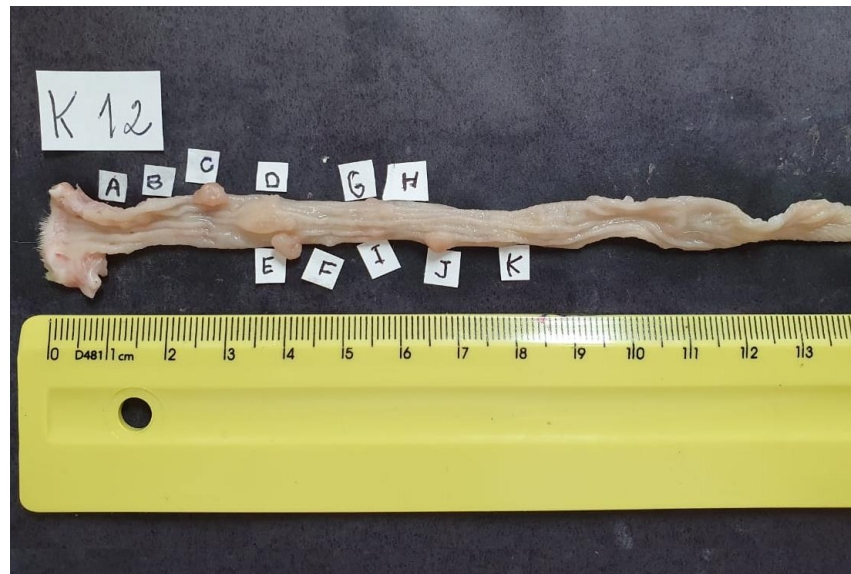
Essas foram fixados em formalina 10 % tamponada e submetidos ao processamento rotineiro de inclusão em parafina. Posteriormente, foram realizados cortes histológicos de 3 µm de espessura e dispostos em lâminas histológicas e coradas com hematoxilina e eosina. Todas as amostras dos grupos experimentais, com exceção do grupo C sem indução (intestinos normais), foram diagnosticadas de acordo com Perse e Cerar (2011), onde as lesões macroscópicas foram classificadas como alterações neoplásicas e de crescimento.



A)



B)



C)



D)

Figura 15. Lesões induzidas por 1,2-dimetilhidrazina na mucosa colorretal de ratos, na 15ª semana de experimento. Intestino grosso aberto longitudinalmente: grupo T(A), grupo Y (B), grupo K (C) e YK (D). T: grupo com indução de CCR e sem yacon; Y: grupo com indução de CCR e com yacon; K: grupo com indução de CCR e com kefir; YK: grupo com indução de CCR e com yacon e Kefir; CCR: câncer colorretal.

5.10. Dosagem das citocinas

A dosagem de citocinas foi realizada por kit comercial específico Milliplex® Map (Millipore, St Charles-Missouri-USA, Lote: 3590924), com a plataforma de tecnologia Luminex® citocinas *Multiple Analyte Profiling*. A leitura das amostras foi efetuada em leitor Luminex 200 - Software xPonent/Analyst versão 4.2, sendo os resultados expressos em pg/mL.

5.11. Capacidade antioxidante total do soro

O soro obtido pela centrifugação do sangue (3000 g, 10 minutos, 4 °C) (Hermle, modelo Z326K, Alemanha) foi congelado a -80 °C. A análise da capacidade antioxidante total do soro foi realizada por meio de ensaio colorimétrico utilizando o kit “Antioxidant Assay Kit” (Bio Assay, Hayard, USA, Lote CAIOA16) que quantifica tanto compostos antioxidantes hidrossolúveis quanto lipossolúveis. A leitura das amostras foi efetuada em leitor de microplaca, Stat Fax modelo 2100 da marca Awareness Technology, em comprimento de onda de 750 nm e os resultados foram expressos como milimolar (mM) de Trolox equivalente (TE).

5.12. Dosagem da imunoglobulina secretória A

Para análise da imunoglobulina secretória A (sIgA), foram coletadas amostras do conteúdo do ceco dos animais da 15ª semana pelo corte nas junções gastroduodenal e ileocecal. O conteúdo retirado foi pesado e diluído com solução tampão fosfato (PBS) pH 7,2, na proporção de 100 mg do conteúdo: 1 mL de PBS e então, foi centrifugado (3000 g, 10 minutos, 20 °C) (Hermle, modelo Z326K, Alemanha). Em seguida, o sobrenadante foi coletado e congelado a -80 °C, para posterior dosagem da imunoglobulina secretória A, pelo método de ELISA, utilizando o kit comercial específico *Rat sIgA (Secretory Immunoglobulin A)* (Elabscience, Biotechnology Inc., EUA, Lote: P2D24D4SRH), seguindo as recomendações do fabricante. A leitura das amostras foi efetuada em leitor de microplaca Thermo Scientific®, modelo Multiskan GO, em comprimento de onda de 420 nm. Os resultados foram expressos em ng/mL.

5.13. Análise estatística

As variáveis relacionadas aos ensaios biológicos e à integridade intestinal foram comparadas usando a análise de variância (ANOVA), seguida pelo Tukey ($p > 0,05$). As variáveis composição química da farinha de yacon, análise microbiológica, pH e acidez do kefir, foram expressas como média \pm desvio padrão (DP). As análises estatísticas foram realizadas utilizando o programa estatística GraphPad Prism 8.0.1.

6. RESULTADOS

6.1. Análises dos grãos de kefir

O kefir preparado em nosso estudo apresentou em média o pH de $3,96 \pm 0,1$ e acidez de $0,98 \pm 0,04$ % de ácido láctico/mL, demonstrando que o kefir atende as exigências do *Codex Alimentarius* (FAO/WHO) e da legislação brasileira no que diz respeito à acidez (BRASIL, 2007).

O kefir de leite integral preparado em nosso estudo apresentou contagem aproximada de $1,47 \times 10^8$ UFC/mL de bactérias lácticas totais (BAL) no produto final, demonstrando estar de acordo com a Instrução Normativa de nº 46 do MAPA (BRASIL, 2007).

6.2. Consumo alimentar e peso dos animais

O grupo YK se diferenciou significativamente ($p > 0,05$) do grupo C e K, mas não se diferenciou significativamente ($p > 0,05$) dos demais grupos na 10ª semana para coeficiente de eficiência alimentar (CEA). Em contra partida, o peso inicial, peso final, consumo alimentar e ganho de peso, não se diferenciou significativamente ($p > 0,05$) entre os grupos na 10ª semana (Tabela 7).

Não foi observada diferença significativa ($p > 0,05$) entre os grupos quanto ao peso inicial, peso final, consumo alimentar, ganho de peso e coeficiente de eficiência alimentar (CEA), na 15ª semana (Tabela 8).

Tabela 7. Médias e desvio padrão do peso inicial, peso final, consumo final, ganho de peso dos grupos e coeficiente de eficiência alimentar na 10ª semana em modelo animal induzidos a carcinogênese por 1,2-dimethylhidrazina.

Variáveis	Tratamentos				
	C	T	Y	K	YK
Peso inicial (g)	167,70 ± 22,42 ^a	190,50 ± 6,19 ^a	173,20 ± 14,62 ^a	183,60 ± 11,97 ^a	173,10 ± 2,79 ^a
Peso final (g)	382,00 ± 38,71 ^a	411,70 ± 23,24 ^a	395,80 ± 20,91 ^a	409,60 ± 25,41 ^a	393,70 ± 26,12 ^a
Consumo alimentar (g)	690,48 ± 66,61 ^a	558,20 ± 20,47 ^a	754,68 ± 32,64 ^a	751,55 ± 3,63 ^a	756,33 ± 21,67 ^a
Ganho de peso (g)	214,30 ± 18,84 ^a	221,20 ± 19,89 ^a	222,60 ± 22,57 ^a	226,00 ± 13,53 ^a	220,60 ± 27,69 ^a
Coeficiente de eficiência alimentar (%)	31,07 ± 1,31 ^b	29,69 ± 2,25 ^{ab}	29,50 ± 2,85 ^{ab}	30,06 ± 1,83 ^b	29,16 ± 3,44 ^a

Valores expressos em média ± desvio padrão. Letras iguais na mesma linha são semelhantes entre si (p>0,05). C: grupo sem indução de CCR e sem yacon ou kefir; T: grupo com indução de CCR e sem yacon; Y: grupo com indução de CCR e com yacon; K: grupo com indução de CCR e com kefir; YK: grupo com indução de CCR e com yacon e Kefir; CCR: câncer colorretal.

Tabela 8. Médias e desvio padrão do peso inicial, peso final, consumo final, ganho de peso e Coeficiente de eficiência alimentar na 15ª semana em modelo animal induzidos a carcinogênese por 1,2-dimethylhidrazina.

Variáveis	Tratamentos				
	C	T	Y	K	YK
Peso inicial (g)	167,20 ± 16,38 ^a	182,50 ± 14,72 ^a	178,80 ± 18,20 ^a	183,20 ± 26,33 ^a	177,60 ± 21,41 ^a
Peso final (g)	448,10 ± 38,29 ^a	470,40 ± 21,62 ^a	463,80 ± 23,14 ^a	477,00 ± 30,05 ^a	461,40 ± 109,20 ^a
Consumo alimentar (g)	1304,48 ± 109,20 ^a	1373,44 ± 117,43 ^a	1424,46 ± 51,09 ^a	1436,83 ± 44,75 ^a	1415,53 ± 34,77 ^a
Ganho de peso (g)	280,86 ± 35,13 ^a	277,76 ± 28,63 ^a	284,98 ± 21,79 ^a	293,76 ± 32,70 ^a	283,85 ± 21,60 ^a
CEA (%)	21,54 ± 2,12 ^a	20,37 ± 1,91 ^a	20,02 ± 1,64 ^a	20,41 ± 1,80 ^a	20,05 ± 1,23 ^a

Valores expressos em média ± desvio padrão. Letras iguais na mesma linha: grupos semelhantes entre si (p>0,05). C: grupo sem indução de CCR e sem yacon ou kefir; T: grupo com indução de CCR e sem yacon; Y: grupo com indução de CCR e com yacon; K: grupo com indução de CCR e com kefir; YK: grupo com indução de CCR e com yacon e Kefir; CCR: câncer colorretal.

6.3. pH intraluminal do Colón

Na 10^a semana, os valores de pH não diferenciaram significativamente ($p>0,05$) entre os grupos.

Entretanto, na 15^a semana, os grupos que receberam yacon (Y e YK) apresentaram valores significativamente ($p<0,05$) inferiores ao grupo C, porém não se diferenciou do grupo K e T (Tabela 9).

Tabela 9. Médias e desvio padrão do pH do conteúdo cecal em modelo animal induzidos a carcinogênese por 1,2-dimethylhidrazina na 10^a e 15^a semana de experimento.

	C	T	Y	K	YK
10 semanas (n=4)	7,68 ± 0,12 ^a	7,64 ± 0,26 ^{a*}	7,19 ± 0,73 ^a	7,68 ± 0,18 ^a	7,64 ± 0,18 ^a
15 semanas (n=8)	7,87 ± 0,23 ^b	7,73 ± 0,14 ^{ab}	7,47 ± 0,20 ^a	7,69 ± 0,22 ^{ab}	7,49 ± 0,05 ^a

* grupo com n=3; Valores expressos em média ± desvio padrão. Letras iguais na mesma linha: grupos semelhantes entre si ($p>0,05$). C: grupo sem indução de CCR e sem yacon ou kefir; T: grupo com indução de CCR e sem yacon; Y: grupo com indução de CCR e com yacon; K: grupo com indução de CCR e com kefir; YK: grupo com indução de CCR e com yacon e Kefir; CCR: câncer colorretal.

6.4. Determinação de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) nas fezes

A Tabela 10 mostra os valores de AGCC na 10^a e 15^a semana.

Para a 10^a semana, não foi encontrada diferença estatística ($p>0,05$) para o propionato, acetato e soma dos AGCC, já para o butirato, o grupo K teve o maior valor ($p<0,05$) em comparação ao grupo T e Y, no entanto, não se diferenciou significativamente ($p>0,05$) dos grupos C e YK.

Para a 15^a semana, não foi encontrada diferença estatística ($p>0,05$) para o propionato. No entanto, para acetato os grupos T, K e YK tiveram maior valor ($p<0,05$) de excreção em comparação ao grupo C e para o butirato, o grupo Y teve o maior valor ($p<0,05$) em comparação ao grupo C, no entanto, não se diferenciou significativamente ($p>0,05$) dos grupos T, K e YK. Já para soma dos AGCC, os grupos T, Y, K e YK tiveram maior valor ($p<0,05$) em comparação ao grupo C.

Tabela 10. Determinação de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) nas fezes em modelo animal induzidos a carcinogênese por 1,2-dimethylhidrazina.

	Grupos	Acetato	Propionato	Butirato	Soma
10ª semana	C (n=4)	11,30 ± 5,51 ^a	11,90 ± 17,35 ^a	12,94 ± 13,48 ^{ab}	12,05 ± 11,85 ^a
	T (n=3)	15,03 ± 5,95 ^a	9,72 ± 3,64 ^a	7,77 ± 7,21 ^a	10,84 ± 6,14 ^a
	Y (n=4)	14,18 ± 21,34 ^a	18,61 ± 26,60 ^a	3,42 ± 5,10 ^a	12,07 ± 19,20 ^a
	K (n=4)	11,47 ± 9,64 ^a	4,51 ± 4,94 ^a	21,97 ± 34,94 ^b	12,65 ± 20,52 ^a
	YK (n=4)	11,28 ± 12,63 ^a	15,03 ± 31,58 ^a	19,31 ± 20,79 ^{ab}	15,20 ± 21,09 ^a
15ª semana	C (n=8)	16,23 ± 9,89 ^a	15,97 ± 9,54 ^a	2,78 ± 2,61 ^a	11,66 ± 10,03 ^a
	T (n=8)	27,22 ± 12,68 ^b	16,46 ± 20,19 ^a	21,99 ± 51,29 ^{ab}	21,89 ± 31,53 ^b
	Y (n=8)	21,12 ± 8,77 ^{ab}	16,24 ± 9,60 ^a	24,90 ± 26,00 ^b	20,76 ± 16,44 ^b
	K (n=8)	26,28 ± 8,31 ^b	17,87 ± 12,38 ^a	18,56 ± 20,30 ^{ab}	20,91 ± 14,42 ^b
	YK (n=8)	28,69 ± 8,01 ^b	25,32 ± 11,17 ^a	17,83 ± 25,70 ^{ab}	23,95 ± 16,74 ^b

Valores expressos em média ± desvio padrão. Letras diferentes na mesma coluna são significativamente diferentes pelo teste de Tukey ($p > 0,05$). C: grupo sem indução de CCR e sem yacon ou kefir; T: grupo com indução de CCR e sem yacon; Y: grupo com indução de CCR e com yacon; K: grupo com indução de CCR e com kefir; YK: grupo com indução de CCR e com yacon e Kefir; CCR: câncer colorretal.

6.5. Determinação da permeabilidade intestinal

Na 10ª semana, o grupo K e T se diferenciou significativamente ($p < 0,05$) dos grupos C e YK, mas não se diferenciou do grupo Y em relação a excreção urinária de lactulose. A excreção urinária de manitol não apresentou diferença significativa ($p > 0,05$) entre os grupos. O grupo C e YK se diferenciaram significativamente ($p < 0,05$) do grupo K, mas não se diferenciaram do grupo Y para a excreção urinária da relação lactulose / manitol (L / M).

Na 15ª semana, o grupo K e T se diferenciou significativamente ($p < 0,05$) dos grupos C e YK, mas não se diferenciou do grupo Y em relação a excreção urinária de lactulose. A excreção urinária de manitol e relação lactulose / manitol (L / M), não apresentou diferença significativa ($p > 0,05$) entre os grupos.

Os resultados de de lactulose, manitol e relação lactulose / manitol (L / M) estão expressos na Tabela 11.

Tabela 11. Excreção urinária de lactulose, manitol e a relação entre eles em modelo animal induzidos a carcinogênese por 1,2-dimethylhidrazina na 10^a e 15^a semana de experimento.

Tratamentos (g/L)	Lactulose		Manitol		Relação L/M	
	10	15	10	15	10	15
	semanas (n=4)	semanas (n=8)	semanas (n=4)	semanas (n=8)	semanas (n=4)	semanas (n=8)
C	3,08 ± 2,16 ^a	5,49 ± 2,33 ^a	1,18 ± 0,69 ^a	1,82 ± 0,94 ^a	1,64 ± 0,91 ^a	2,72 ± 1,55 ^a
T	5,50 ± 3,72 ^{ab*}	8,33 ± 3,03 ^b	1,63 ± 1,13 ^{a*}	2,82 ± 1,95 ^a	2,98 ± 0,64 ^{ab*}	4,22 ± 2,90 ^a
Y	3,79 ± 1,45 ^{ab}	6,88 ± 2,81 ^{ab}	2,47 ± 1,19 ^a	2,46 ± 1,82 ^a	1,25 ± 0,28 ^b	3,55 ± 2,87 ^a
K	7,77 ± 1,14 ^b	7,57 ± 2,13 ^b	1,44 ± 0,37 ^a	2,57 ± 1,19 ^a	4,78 ± 0,91 ^b	2,77 ± 0,89 ^a
YK	4,45 ± 1,47 ^{ab}	4,90 ± 3,73 ^a	0,84 ± 0,31 ^a	1,85 ± 1,65 ^a	1,28 ± 1,67 ^a	2,21 ± 1,31 ^a

* grupo com n=3; Valores expressos em média ± desvio padrão. Letras minúscula na mesma coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey (p>0,05); C: grupo sem indução de CCR e sem yacon ou kefir; T: grupo com indução de CCR e sem yacon; Y: grupo com indução de CCR e com yacon; K: grupo com indução de CCR e com kefir; YK: grupo com indução de CCR e com yacon e Kefir; CCR: câncer colorretal; L/M: Lactulose/Manitol.

6.6. Contagem dos focos de criptas aberrantes (FCA) e análise histopatológica das lesões em mucosa colorretal

A indução do CCR nos animais foi bem-sucedida, uma vez que os animais dos grupos T, Y, K e YK desenvolveram as lesões pré-neoplásicas (FCA) na 10^a semana e neoplásicas na 15^a semana.

No segmento do colón dos animais da 10^a semana, os FCA >3 e total de FCA foram significativamente (p<0,05) maiores no grupo YK quando comparado ao grupo T, porém não diferenciou significativamente (p>0,05) dos grupos Y e K. Em relação os FCA <3 os grupos não se diferenciaram significativamente (p>0,05) (Tabela 12).

Tabela 12. Contagem dos focos de criptas aberrantes (FCA) em modelo animal induzidos a carcinogênese por 1,2-dimetilhidrazina na mucosa colorretal na 10ª semana.

FCA	C (n=4)	T (n=3)	Y (n=4)	K (n=4)	YK (n=4)
≤ 3	0	162 ± 87 ^a	260 ± 147 ^{ab}	316 ± 46 ^{ab}	379 ± 48 ^b
> 3	0	83 ± 50 ^a	80 ± 36 ^a	92 ± 43 ^a	123 ± 50 ^a
Total	0	245 ± 125 ^a	340 ± 159 ^{ab}	408 ± 85 ^{ab}	502 ± 83 ^b

Valores expressos em média ± desvio padrão. Letras minúscula na mesma linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). C: grupo sem indução de CCR e sem yacon ou kefir; T: grupo com indução de CCR e sem yacon; Y: grupo com indução de CCR e com yacon; K: grupo com indução de CCR e com kefir; YK: grupo com indução de CCR e com yacon e Kefir; CCR: câncer colorretal.

No segmento do colón dos animais da 15ª semana, no grupo T foram encontradas 19 lesões e no grupo Y 18 lesões, com média de 2,37 lesões por animal, e número mínimo de uma lesão e máximo de seis, em ambos os grupos. No Grupo K foram encontradas 30 lesões, com média de 3,75 lesões por animal, e número mínimo de uma lesão e máximo de onze. No Grupo YK foram encontradas 27 lesões, com média de 3,50 lesões por animal, e número mínimo de uma lesão e máximo de sete. O número de lesões nos quatro grupos avaliados não apresentou diferença significativa ($p > 0,05$). Os animais dos grupos T e Y apresentaram menor número de lesões macroscópicas, menor quantidade de alterações neoplásicas malignas e menor alterações de crescimento (hiperplasias e displasias). A Tabela 13 mostra o aspecto macroscópico das lesões encontradas em cada grupo.

No grupo T foram encontradas 3 lesões benignas e 6 lesões malignas, 3 hiperplasias linfócitas e 7 displasias. As lesões malignas corresponderam a adenocarcinoma tubular e carcinoma *in situ*. Para o grupo Y foram encontradas 2 lesões benignas e 10 lesões malignas, 2 hiperplasias linfócitas e 4 displasias. As lesões malignas corresponderam a adenocarcinoma anel em sinete, adenocarcinoma mucinoso, adenocarcinoma tubular e carcinoma *in situ*. No grupo K, foram encontradas 14 lesões malignas e 13 displasias, porém, apenas 2 lesões benignas e 1 hiperplasias linfócitas. As lesões malignas corresponderam a adenocarcinoma anel em sinete, adenocarcinoma tubular e carcinoma *in situ*. Apenas uma lesão benigna foi encontrada no grupo YK, no entanto, 15 das lesões foram classificadas como malignas, 5 como hiperplasias linfócitas e 6 como displasias. As lesões malignas corresponderam a adenocarcinoma tubular e carcinoma *in situ* (Tabela 13).

Tabela 13. Descritivo em número e percentual das características histopatológicas das lesões macroscópicas em modelo animal induzidos a carcinogênese por 1,2-dimethylhidrazina na mucosa colorretal.

Grupos		T (n=6)*	Y (n=6)*	K (n=8)	YK (n=8)
Lesões Macroscópicas		19	18	30	27
Maligno:					
Alterações Neoplásicas	Adenocarcinoma anel em sinete	-	1 (5,55 %)	2 (6,66 %)	-
	Adenocarcinoma mucinoso	-	1 (5,55 %)	-	-
	Adenocarcinoma tubular	3 (15,78 %)	7 (38,95 %)	6 (20,00 %)	13 (48,17 %)
	Carcinoma <i>in situ</i>	3 (15,78 %)	1 (5,55 %)	6 (20,00 %)	2 (7,40 %)
Benigno:					
	Adenoma	3 (15,78 %)	2 (11,10 %)	2 (6,66 %)	1 (3,70 %)
Alterações de crescimento	Hiperplasias linfócitas	3 (15,78 %)	2 (11,10 %)	1 (3,33 %)	5 (18,51 %)
	Displasia	7 (36,88 %)	4 (22,20 %)	13 (43,35 %)	6 (22,22 %)

* dois animais não apresentaram tumores; T: grupo com indução de CCR e sem yacon; Y: grupo com indução de CCR e com yacon; K: grupo com indução de CCR e com kefir; YK: grupo com indução de CCR e com yacon e Kefir; CCR: câncer colorretal.

6.7. Dosagem da imunoglobulina secretória A

Os grupos YK, Y e T apresentaram os maiores valores significativos ($p < 0,05$) entre os grupos, 20,27, 19,64 e 18,41, respectivamente. Os grupos C e K foram similares entre si e apresentaram menores valores de sIgA comparados aos demais grupos (Figura 16).

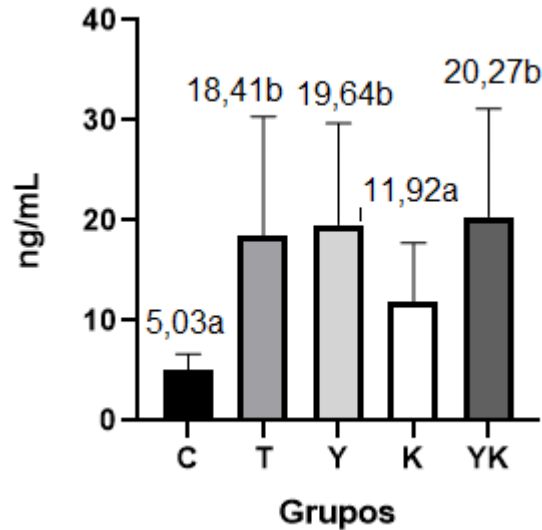


Figura 16. Nível de imunoglobulina secretória A (sIgA) em modelo animal induzido a carcinogênese por 1,2-dimetilhidrazina. Valores expressos como média e desvio padrão. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$) ($n = 8$). 05 C: grupo sem indução de CCR e sem yacon ou kefir; T: grupo com indução de CCR e sem yacon; Y: grupo com indução de CCR e com yacon; K: grupo com indução de CCR e com kefir; YK: grupo com indução de CCR e com yacon e Kefir; CCR: câncer colorretal.

6.8. Dosagem das citocinas e capacidade antioxidante total (CAT) do soro

Não se observou diferença significativa ($p > 0,05$) entre os tratamentos para, IL-10 (Figura 16A), IL-12 (Figura 17B), relação IL-12/IL-10 (Figura 17C) e TNF- α (Figura 17E).

Os animais do grupo C apresentaram menor valor significativo ($p < 0,05$) de CAT (397,75 U/mL) (Figura 17F) e maior valor significativo ($p < 0,05$) de IL-6 (1687,63 pg/mL) (Figura 17D) em comparação aos demais grupos.

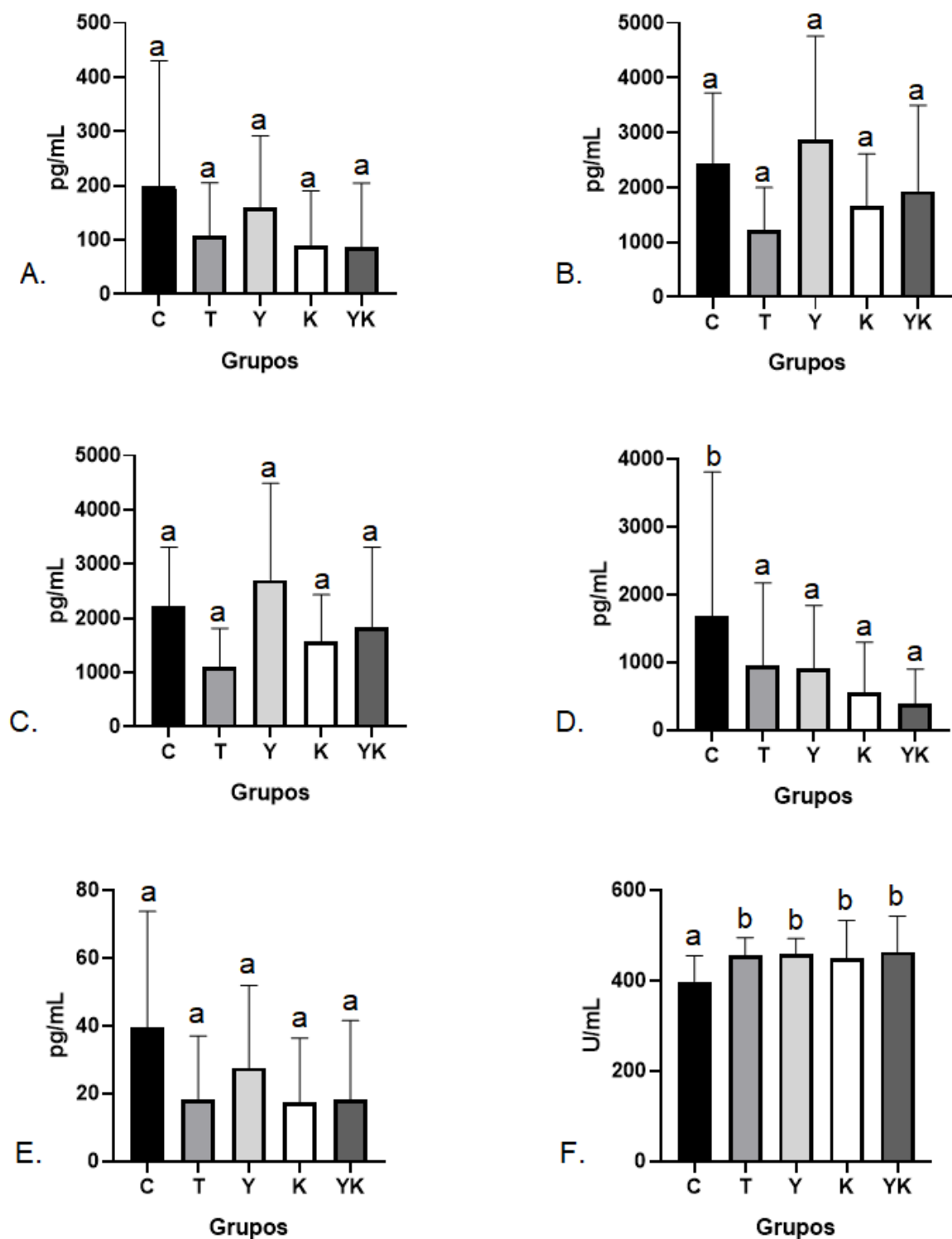


Figura 17. Níveis de citocinas e capacidade antioxidante total do soro em modelo animal induzidos a carcinogênese por 1,2-dimetilhidrazina. Teste de Tukey ($p > 0,05$) ($n = 8$); CAT: capacidade antioxidante total; 05 C: grupo sem indução de CCR e sem yacon ou kefir; T: grupo com indução de CCR e sem yacon; Y: grupo com indução de CCR e com yacon; K: grupo com indução de CCR e com kefir; YK: grupo com indução de CCR e com yacon e Kefir; CCR: câncer colorretal.

7. DISCUSSÃO

A yacon e o kefir são considerados alimentos funcionais por conferirem benefício à saúde (ROSA et al., 2017). A yacon destaca-se por ser uma raiz tuberosa que armazena seus carboidratos na forma de FOS, atuando diretamente na saúde intestinal (MARTINO; KOLBA; TAKO, 2020). O Kefir é composto pelo leite fermentado e grãos que compreendem uma mistura complexa de bactérias e leveduras que vivem em associação. Essa bebida quando consumida regularmente, tem sido associada a um efeito antibacteriano, hipocolesterolemia e anti-inflamatório, bem como atividade antioxidante e anti-carcinogênica (AÇIK et al., 2020; ROSA et al., 2017). Considerando as características citadas, este estudo avaliou o potencial efeito das propriedades prebióticas do yacon, probióticas do kefir e simbiótica da associação entre eles sobre o câncer de cólon em modelo experimental de carcinogênese colorretal.

No presente estudo, o consumo diário da farinha de yacon, kefir e farinha de yacon + kefir não alterou o consumo final, ganho de peso e o CEA dos animais ao final do experimento. Moura et al. (2012) obtiveram o mesmo resultado em ratos *Wistar* com indução de CCR tratados com farinha de yacon e farinha de yacon combinada com probiótico. Assim como Almeida et al. (2015) também não observaram significância nos valores de consumo e ganho de peso dos animais. Tais resultados são plausíveis, pois de acordo com a literatura, não é frequente a desnutrição em animais com CCR (FORTES, 2007), assim como o ganho de peso não é comum em portadores de câncer (PEREIRA; NUNES; DUARTE, 2015). A ausência da desnutrição em indivíduos com CCR se deve ao menor comprometimento da ingestão alimentar, ausência de distúrbios nutricionais absorptivos, alterações metabólicas mínimas e inexistência de fatores obstrutivos (FORTES, 2007). Já o ganho ou perda de peso está relacionada ao tipo e estágio do câncer, assim como, os órgãos envolvidos e tipos de terapias utilizadas (PEREIRA; NUNES; DUARTE, 2015).

As fibras solúveis presentes da yacon (FOS) são fermentadas pela microbiota intestinal produzindo ácidos graxos de cadeia curta (AGCC). As bactérias lácticas presentes no kefir fermentam as fibras, produzindo AGCC. A associação de yacon + kefir, atuam com complemento um do outro, os prebióticos são fermentados por Bifidobactérias e Lactobacilos (prebióticos) produzindo AGCC, como acetato,

propionato e butirato, que têm potencial para reduzir o pH intraluminal (OJANSIVU; FERREIRA; SALMINEN, 2011; MACFARLANE; MACFARLANE, 2011), que inibe a proliferação de bactérias patogênicas e a atividade de enzimas envolvidas na produção de componentes carcinogênicos (OHIGASHI et al., 2013).

No presente trabalho, os valores de pH cecal apresentaram redução do pH luminal de forma que os animais dos grupos tratados com yacon e yacon + kefir apresentaram valor de pH inferior aos animais dos grupos C, T e K. A redução do pH já era esperada nos grupos alimentados com a farinha de yacon devido a presença da FOS. Grancieri et al. (2017) em estudo com ratos Wistar com CCR induzido e tratados com farinha de yacon, observaram uma redução do pH, resultado similar ao obtido no presente estudo, evidenciando que a administração das dietas com yacon levou a redução dos valores de pH, tal resultado condiz com o esperado, uma vez que a yacon possui carboidratos não digeríveis fermentados por bactérias anaeróbicas do cólon que geram ácidos graxos de cadeia curta, o que acarreta em redução do pH do lúmen (SAAD, 2006).

A redução do pH tem relação com AGCC, uma vez que, quanto maior a concentração de AGCC menor será o pH. É através da concentração fecal de AGCC, sendo os ácidos acético, butírico e propiônico os principais que desempenham papéis importantes na mediação do transporte de sódio, servindo como a principal fonte de energia das células epiteliais intestinais e modulando a transcrição gênica via inibição da atividade da histona desacetilase (KIELA; GHISHAN, 2016).

Estudos sugerem que o ácido propiônico é capaz de estimular a apoptose e inibir a proliferação de células neoplásicas, além de equivaler-se ao ácido butírico no que diz respeito à atividade anti-inflamatória, que exerce grande influência na progressão do desenvolvimento tumoral (HOSSEINI; AHMAD; LAI, 2011). O ácido butírico se destaca entre os AGCC por ser a principal fonte de energia para os colonócitos, além de inibir o crescimento e a proliferação de células tumorais (GONÇALVES; MARTEL, 2016; SERBAN, 2014) e inibir a motilidade do cólon células cancerosas, reduzindo a metástase (LI et al., 2017).

Neste estudo ao final do experimento os animais alimentados com kefir e yacon + kefir tiveram um aumento na produção de acetato e os animais alimentados com yacon tiveram um aumento na produção de Butirato, no entanto, não foi

observada alteração do ácido propiônico. Resultados semelhantes foram encontrados por Campos et al. (2012) e Moura et al. (2012), que observaram aumento nos níveis de AGCC após a ingestão da farinha de yacon. O mesmo foi visto por Reis et al. (2019) em relação ao propionato, porém o acetato e o butirato não se alteraram, resultado diferente ao presente estudo. Uma hipótese que justifica a ausência do aumento da concentração do butirato no kefir é citada por Hijova e Chmelarova (2007), diz que BAL não produzem ácido butírico, portanto, considerando a contagem expressiva dessas bactérias no kefir do presente estudo, então os resultados encontrados para este AGCC são justificados.

O CCR está associado ao desequilíbrio entre microrganismos benéficos e patogênicos, ocasionando no comprometimento da integridade da barreira intestinal (BORGES-CANHA et al., 2015). A disbiose é uma alteração na microbiota intestinal que causa o comprometimento da integridade da barreira intestinal, aumentando assim a permeabilidade intestinal, que ao ser aumentada facilita a entrada de antígenos externos, o que leva ao aumento de processo inflamatório e maior ativação do sistema imunológico para tentar combater os corpos estranhos e durante esse processo podem promover a ativação de componentes carcinogênicos e a produção de compostos mutagênicos, como os radicais livres (CLARK, ROBIEN, SLAVIN, 2012).

Os probióticos e prebióticos são capazes de modular a permeabilidade intestinal por melhorarem a integridade do epitélio intestinal, uma vez que permeabilidade intestinal está intimamente ligada à microbiota intestinal, bem como aos elementos do sistema imunológico da mucosa (BISCHOFF et al., 2014; EVERALD et al., 2011). O dissacarídeo lactulose e o monossacarídeo manitol são usados como marcadores da permeabilidade intestinal. A lactulose marca a via paracelular e o manitol marca a via transcelular (TEIXEIRA et al. 2014).

Neste estudo, a ingestão de kefir foi capaz de alterar a excreção de lactulose na urina ao final do experimento, no entanto a ingestão de yacon e de yacon + kefir não foram capazes de alterar o manitol e relação L / M na urina ao final do experimento. Resultados diferentes são relatados na literatura, como no estudo de Reis et al. (2019), que avaliaram o efeito do consumo regular de kefir de leite no desenvolvimento de doenças pré-neoplásicas em ratos Wistar induzidos com DMH, no qual foi observada uma redução nos níveis razão lactulose/manitol. Assim como

no estudo com ratos de Verediano et al. (2020) e Grancieri et al., (2017), os animais com CCR foram induzidos com DMH e alimentados com farinha de yacon, no qual foi observada redução nos níveis razão lactulose/manitol, levando a uma menor permeabilidade intestinal. Ávila et al. (2017) também obtiveram um efeito positivo sobre a permeabilidade intestinal em seu estudo com ratos *Wistar* tratados com simbiótico. Estes estudos mostram que os tratamentos foram capazes de reduzir a permeabilidade intestinal em animais induzidos ao CCR, impedindo o comprometimento da função de barreira. Desse modo, pode proporcionar benefícios clínicos no tratamento de doenças intestinais, como o CCR (VILELA, 2005).

O consumo regular de probióticos, prebióticos e associação dos dois, pode influenciar a modulação do sistema imunológico (CARVALHO et al., 2021). Uma das hipóteses dos mecanismos de atuação dos probióticos é que os mesmos podem aumentar os níveis de anticorpos, como a sIgA e aumentar da atividade dos macrófagos (SAAD, 2006). A imunoglobulina secretória A (sIgA) é a primeira linha de defesa na proteção do epitélio contra patógenos e toxinas, pois impede a proliferação de bactérias patogênicas no intestino e sua passagem pela mucosa (PABST, 2012). Desta forma, os probióticos, prebióticos e simbióticos exibem efeitos benéficos na imunidade da mucosa intestinal (PESHEV; VAN DEN ENDE, 2014; PABST, 2012). Neste experimento, os animais que receberam a farinha de yacon e farinha de yacon e kefir tiveram um aumento da sIgA, corroborando outros estudos em modelos animais (CHOQUE DELGADO et al., 2012) e em pré-escolares (VAZ-TOSTES et al., 2014), em que a presença do FOS aumentou os níveis de sIgA. Por outro lado, os animais que receberam kefir não demonstraram alteração na sIgA.

Os FCA encontrados nos grupos Y, K e YK induzidos com DMH, comprovam a eficácia do modelo de carcinogênese descrito por Bird (1987). Acredita-se que os prebióticos, probióticos e simbióticos possam reduzir o processo de carcinogênese por induzirem modificação na microbiota intestinal ao aumentar o número de bifidobactérias, portanto tendem a reduzir a formação das FCAs, marcador este que precede o processo de CCR, demonstrando ter potencial para suprimir tal neoplasia por meio da modificação da microbiota do cólon (MARQUES, WAITZBERG, 2000).

Porém, neste estudo, não foi observada redução no número de FCA totais, comparando-se o grupo Y, K e YK com o grupo T. Resultados diferentes foram relatados na literatura, Reis et al. (2019), em sua pesquisa observaram que o kefir

demonstrou reduzir 36,55 % dos FCA em ratos adultos, por outro lado, Grancieri et al. (2017) não observaram alteração no total de FCA em ratos que consumiram farinha de yacon. Entretanto, quando se considera as lesões macroscópicas, o grupo yacon apresentou redução de 5,26 % em relação ao grupo T. Em contrapartida, os animais do grupo K e YK apresentaram aumento de 57,89 % e 42,11 %, respectivamente. Resultados semelhantes foram relatados na literatura em relação ao consumo de probióticos e a progressão do desenvolvimento de FCA (WALIA et al., 2015). A redução de FCA em animais alimentados com farinha de yacon pode estar relacionado a fermentação do FOS, que produz AGCC, dos quais butirato se destaca ao demonstrar inibir a proliferação celular e angiogênese, além de induzir a apoptose (DAVIS; MILNER, 2009; POOL-ZOBEL; SAUER, 2007).

Uma microbiota adequada e uma barreira intestinal íntegra são importantes para o organismo de indivíduos saudáveis, por permitem a formação de resposta imunológica a partir da exposição do trato intestinal à microrganismos presentes no lúmen. Entretanto, quando ocorre uma perturbação nesse sistema, a produção de citocinas pró inflamatórias é ativada (SAAD, 2006).

O CCR ocasiona vários processos inflamatórios, como a inflamação crônica do epitélio (SUN; KATO, 2016). Uma das citocinas pró-inflamatória relacionada à inflamação dos tecidos é o fator de necrose tumoral- α (TNF- α), também definida como “citocina de alarme”, pois é um marcador de atividade inflamatória, por participar do processo de sinalização, comunicação, diferenciação e morte celular, por tanto, é uma citocina que permite ao sistema imunológico permanecer em estado de vigilância, estando pronto para agir e eliminar a causa da inflamação (ANNIBALDI; MEIER, 2018). Neste estudo, os animais não apresentaram alteração nos níveis de TNF- α . Em outros estudos como no de Reis et al. (2019) com probióticos e Verediano et al. (2020) com prebióticos, foi observado um aumento dos níveis de TNF- α devido à presença do CCR. O mesmo não foi observado neste estudo, quando se compara os animais saudáveis com os que foram induzidos ao câncer.

Outra citocina importante e presente em muitos processos fundamentais para a vida e que desempenha diversas funções no processo inflamatório é a Interleucina-6 (IL-6) (HIRANO, 2021). A IL-6 é uma das citocinas inflamatórias que exerce papéis importantes na defesa do hospedeiro, inflamação, câncer, bem como

no crescimento e hipertrofia celular, além contribui para o estresse oxidativo por afetar a expressão e a atividade da NADPH oxidase, e influenciar nos níveis de NO e superóxido (DIDION, 2017). O nível de IL-6 reduziu após a suplementação com yacon, kefir e yacon + kefir. Resultados similares foram encontrados por Brasiel et al. (2020), em ratos Wistar alimentados com probiótico, verificaram uma redução da citocina IL-6.

Temos também, a citocina IL-10 que é um mediador anti-inflamatório de proteção para o hospedeiro contra patógenos e microbiota, além de desempenha papéis importantes, como cicatrização de feridas, autoimunidade, câncer e homeostase (SARAIVA; VIEIRA; O'GARRA, 2020). Em contrapartida, temos a IL-12, citocina pró-inflamatória produzida em resposta a patógenos microbianos. A IL-12 tem função de induzir a diferenciação de células Th1, aumentar a ativação e as capacidades citotóxicas das células T e NK e inibir ou reprogramar células imunossupressoras, tais como macrófagos associados a tumores e células supressoras derivadas de mieloides (NGUYEN et al., 2020).

Os níveis de IL-10 e IL-12 não se alteraram após a suplementação com yacon, kefir e yacon + kefir. Resultados similares foram encontrados referente a IL-10 e IL-12 por Choque Delgado et al. (2012) em animais e Vaz-Tostes et al. (2014) em humanos após a ingestão de yacon. Esperava-se que a IL-10 apresentasse efeito na imunorregulação e inibisse os mediadores inflamatórios, como a IL-12, que suprime o crescimento tumoral (TENG; DARCY; SMYTH, 2011), entretanto, estatisticamente não foi observado este efeito.

Sabe-se que o câncer é uma doença com características altamente oxidativas, uma vez que espécies reativas de oxigênio causam danos celulares e impulsionam a mutação, deste modo células cancerígenas estão constantemente sob estresse oxidativo (VEREDIANO et al., 2020). No presente estudo, não foi observada alteração na concentração da capacidade antioxidante total no soro dos animais que consumiram yacon, kefir e yacon e kefir em comparação ao grupo controle T, mostrando que dietas não foram capazes de alterar o CAT em animais induzidos ao CCR. Resultados diferentes foram encontrados por Reis et al. (2019) e Mohania et al. (2013) em estudos com probióticos e Jimenez, Rossi e Sammán (2015) em estudo com prebiótico, uma vez que nesses estudos foi visto um aumento da concentração de CAT em animais induzidos CCR.

Não foram encontrados trabalhos que investigam o yacon e o kefir de forma simbiótica sobre o câncer de cólon. Ainda, considerando o vasto número de interações entre dieta, microbiota, resposta metabólica, sistema imune e barreira intestinal, estudos mais detalhados a nível metabólico são necessários a fim de se estabelecer mecanismos de ação dos probióticos, prebióticos e simbióticos na carcinogênese de cólon. Estudos com animais de diferentes idades, sexo, estado de saúde e tempos de intervenção e indução diferentes são necessários para afirmar os achados deste estudo, bem como estudo com humanos e *in vitro*.

8. CONCLUSÃO

Os resultados do trabalho sugerem que o consumo de yacon e de kefir, de maneira isolada e associada não reduziram o risco e/ou progressão do câncer colorretal em animais induzidos ao câncer colorretal em experimento de 15 semanas. Ao contrário, os animais apresentaram uma piora no quadro do câncer quando observamos os números de lesões macroscópicas malignas, pois podem ter fornecido substratos para o crescimento do câncer, como os AGCC. Observamos também que a associação yacon + kefir não teve ação simbiótica, uma vez que não teve um efeito protetor ou benéfico a saúde dos animais induzidos ao câncer colorretal. Com tudo, considerando que outros estudos sinalizam para uma relação positiva entre o câncer colorretal e o perfil imunológico, estudos mais aprofundados são necessários a fim de explicar a atuação da yacon e do kefir.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADRIANO, L. S.; DIONÍSIO, A. P.; DE ABREU, F. A. P.; CARIOCA, A. A. F.; ZOCCOLO, G. J.; WURLITZER, N. J.; PINTO, C. O.; DE OLIVEIRA, A. C.; SAMPAIO, H. A. C. Yacon syrup reduces postprandial glycemc response to breakfast: A randomized, crossover, double-blind clinical trial. **Food Research International**, v. 126, p. 1-8, dez., 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108682>

AKAR, F.; SUMLU, E.; ALÇIĞIR, M. E.; BOSTANCI, A.; SADI, G. Potenciais vias mecanísticas subjacentes aos efeitos intestinais e hepáticos do kefir em ratos alimentados com alto teor de frutose. **Food Research International**, v. 143, p. 110287, maio, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110287>

ALBUQUERQUE, E. N.; ROLIM, P. M. Potencialidades do yacon (*Smallanthus sonchifolius*) no diabetes Mellitus. **Revista de Ciências Médicas**, Campinas, v. 20, n. 3-4, p. 99-108, maio/ago., 2011. DOI: [10.24220/2318-0897V20N3/4A584](https://doi.org/10.24220/2318-0897V20N3/4A584)

ALMEIDA, A. P. S.; AVI, C. M.; BARBISAN, L. F.; MOURA, N. A.; CAETANO, B. F. R.; ROMUALDO, G. R.; SIVIERI, K. Yacon (*Smallanthus sonchifolius*) and *Lactobacillus acidophilus* CRL 1014 reduce the early phases of colon carcinogenesis in male Wistar rats. **Food Research International**, [s.l.], v. 74, p. 48-54, ago., 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.04.034>

ANNIBALDI, A.; MEIER, P. Checkpoints in TNF-induced cell death: implications in inflammation and cancer. **Trends in Molecular Medicine: Cell Press**, v. 24, n. 1, p. 49–65, jan., 2018. DOI: [10.1016/j.molmed.2017.11.002](https://doi.org/10.1016/j.molmed.2017.11.002)

ÁVILA, P. R. M. **Avaliação dos simbióticos em modelo animal de sepse pediátrica**. 126 p. 2017. Tese (doutorado em Pós-Graduação em Ciências da Saúde) - Universidade do Extremo Sul Catarinense. Criciúma - SC, 2017.

AZIZI, N. F.; KUMAR, M. R.; YEAP, S. K.; ABDULLAH, J. O.; KHALID, M.; OMAR, A. R.; OSMAN, M. A.; MORTADZA, S. A. S.; ALITHEEN, N. B. Kefir and Its Biological Activities. **Foods**. v. 10, n. 6, p. 1210, jun., 2021. DOI: [10.3390 / foods10061210](https://doi.org/10.3390/foods10061210)

BEDANI, R.; ROSSI, E. A. Intestinal microbiota and probiotics: implications for colon cancer. **Jornal Português de Gastreenterologia**. v. 16, n. 1, p. 19-28. jan./fev., 2009. Disponível em: file:///C:/Users/Keila%20Zanardi/Downloads/Microbiota_intestinal_e_probioticos_Impl icacoes_so.pdf. Acesso em: 02 agosto 2019.

BIRD, R. P. Observation and quantification of aberrant crypts in the murine colon treated with a colon carcinogen: preliminary findings. **Cancer Letters**, v. 37, n. 2, p. 147- 151, out., 1987. DOI: [10.1016/0304-3835\(87\)90157-1](https://doi.org/10.1016/0304-3835(87)90157-1)

BIRD, R. P.; GOOD, CAROLYN K. The significance of aberrant crypt foci in understanding the pathogenesis of colon cancer. **Toxicology letters**, v. 112, p. 395-402, mar., 2000. DOI: [10.1016/s0378-4274\(99\)00261-1](https://doi.org/10.1016/s0378-4274(99)00261-1)

BISCHOFF, S. C.; BARBARA, G.; BUURMAN, W.; OCKHUIZEN, T.; SCHULZKE, J.; SERINO, M.; TILG, H.; WATSON, A.; WELLS, J. M. Intestinal permeability a new target for disease prevention and therapy. **BMC Gastroenterology**, v. 14, p. 189, nov., 2014. DOI:10.1186/s12876-014-0189-7

BORGES-CANHA, M.; PORTELA-CIDADE, J. P.; DINIS-RIBEIRO, M.; LEITE-MOREIRA, A. F.; PIMENTEL-NUNES, P. Role of Colonic Microbiota in Colorectal Carcinogenesis: A Systematic Review. **Revista Espanola de Enfermedades Digestivas**, v. 107, n. 11, p. 659–671, nov., 2015. DOI: 10.17235/reed.2015.3830/2015

BOURRIE, B. C.; WILLING, B. P.; COTTER, P. D. The microbiota and health promoting characteristics of the fermented beverage kefir. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, p. 647, maio, 2016. DOI: 10.3389 / fmicb.2016.00647

BRASIEL, P. G.; DE ALMEIDA, T. C.; DE ANDRADE, N. L.; CORGUINHA, B. R.; DA SILVA, E. S. F.; ALPINO, M. C. A. A.; FERNANDES, E. C.; DOS SANTOS, F.; LUQUETTI, S. C. P. D. Kefir reduces pro-inflammatory cytokines and colorectal cancer in adult wistar rat offspring programmed by Overfeeding. **Clinical Nutrition**, v. 40, p. 690, dez., 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.clnesp.2020.09.782>

BRASIL. Organização Mundial da Saúde – OMS. **OMS: câncer mata 8,8 milhões de pessoas anualmente no mundo**. 2017. Disponível em: <<https://nacoesunidas.org/oms-cancer-mata-88-milhoes-de-pessoas-anualmente-no-mundo/>>. Acesso em: 12 set 2019.

BRASIL, Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Alimentos com Alegações de Propriedades Funcionais e ou de Saúde**. Atualizado em dezembro/2016. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/alimentos/alegacoes>>. Acesso em: 10 mar. 2021.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Nº 46, de 23 de outubro de 2007. Adota o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados, anexo à presente Instrução Normativa. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 23 out. 2007. Seção 1, p. 5, 2007. Disponível em: <http://www.lex.com.br/doc_1206402_INSTRUCAO_NORMATIVA_N_46_DE_23_DE_OUTUBRO_DE_2007.aspx>. Acesso em: 10 set 2019.

BRAY, F.; FERLA, J.; SOERJOMATARAM, I.; SIEGEL, R. L.; TORRE, L. A.; JEMAL, A. Global Cancer Statistics 2018: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. **CA Cancer Journal Clin**, v. 68, n. 6, p. 394-424, nov., 2018. DOI: 10.3322/caac.21492

CAETANO, B. F. R.; DE MOURA, N. A.; ALMEIDA, A. P. S.; DIAS, M. C.; SIVIERI, K.; BARBISAN, L. F. Yacon (*Smallanthus sonchifolius*) as a food supplement: Health-promoting benefits of fructooligosaccharides. **Nutrients**, v. 8, n. 7, p. 436, 2016. DOI: <https://doi.org/10.3390/nu8070436>

CAMPOS, D.; BETALLELUZ-PALLARDEL, I.; CHIRINOS, R.; AGUILAR-GALVEZ, A.; NORATTO, G.; PEDRESCHI, R. Prebiotic effects of yacon (*Smallanthus sonchifolius* Poepp. & Endl), a source of fructooligosaccharides and phenolic compounds with antioxidant activity. **Food Chemistry**, v. 135, n. 3, p. 1592–1599, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.05.088>

CARNICÉ, R. T. Probióticos. Concepto y mecanismos de acción. **Anales de Pediatría**, Barcelona, v. 4, n. 1, p. 30-41, ago., 2006. Disponível em: <<https://www.analesdepediatria.org/es-pdf-13092364>>.

CASTRO, A.; CÉSPEDES, G.; CARBALLO, S.; BERGENSTÅHL, B.; TORNBERG, E. Dietary fiber, fructooligosaccharides, and physicochemical properties of homogenized aqueous suspensions of yacon (*Smallanthus sonchifolius*). **Food Research International**, [s.l.], v. 50, n. 1, p. 392–400, jan., 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.10.048>

CHANG J.; SCHWER, B.; SHUMAN, S. Structure-function analysis and genetic interactions of the yeast branchpoint binding protein Msl5. **Nucleic Acids Research**, [s.l.], v. 40, n. 10, p. 4539-4552, mai., 2012. DOI: <https://doi.org/10.1093/nar/gks049>

CHEN, H. C.; WANG, S. Y.; CHEN, M. J. Microbiological study of lactic acid bacteria in kefir grains by culture-dependent and culture-independent methods. **Food Microbiology**, [s.l.], v. 25, n. 3, p. 492-501, mai., 2008. DOI: [10.1016/j.fm.2008.01.003](https://doi.org/10.1016/j.fm.2008.01.003)

CHENG, Z.; SHI, J.; YANG, X.; LIU, Y.; WANG, Z. Chemical and physical characteristics and antioxidant activities of the exopolysaccharide produced by Tibetan kefir grains during milk fermentation. **International Dairy Journal**, [s.l.], v. 43, p. 15-21, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2014.10.004>

CHOI, W.; YERUVA, S.; TURNER, J. R. Contributions of intestinal epithelial barriers to health and disease. **Experimental Cell Research**, v. 358, n. 1, p. 71–77, set., 2017. DOI: [10.1016 / j.yexcr.2017.03.036](https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2017.03.036)

CHOQUE DELGADO, G. T.; THOMÉ, R.; GABRIEL, D. L.; TAMASHIRO, W. M. D. C.; PASTORE, G. M. Yacon (*Smallanthus sonchifolius*) derived fructooligosaccharides improves the immune parameters in the mouse. **Nutrition Research**, [s.l.], v. 32, n. 11, p. 884-892, nov., 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.nutres.2012.09.012>

CLARK, M. J.; ROBIEN, K.; SLAVIN, J. L. Effect of prebiotics on biomarkers of colorectal cancer in humans: a systematic review. **Nutrition Reviews**, [s.l.], v. 70, n. 8, p. 436–443, ago., 2012. DOI: [10.1111/j.1753-4887.2012.00495.x](https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.2012.00495.x)

COSTA, N. M. B.; ROSA, C. O. B. **Alimentos Funcionais**: Componentes bioativos e efeitos fisiológicos. 2 ed. Rio de Janeiro: Rubio, 2016. 504 p.

CRUZ, P. N.; FETZER, D. L.; DO AMARAL, W.; DE ANDRADE, E. F.; CORAZZÁ, M. L.; MASSON, M. L. Antioxidant activity and fatty acid profile of yacon leaves extracts obtained by supercritical CO₂ + ethanol solvent. **The Journal of Supercritical**

Fluids, [s.l.], v. 146, p. 55–64, abr., 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2019.01.007>

DA SILVA, M. F. G.; DIONÍSIO, A. P.; CARIOCA, A. A. F.; ADRIANO, L. S.; PINTO, C. O.; DE ABREU, F. A. P.; WURLITZER, N. J.; ARAÚJO, I. M.; GARRUTI, D. S.; PONTES, D. F. Yacon syrup: Food applications and impact on satiety in healthy volunteers. **Food Research International**, [s.l.], v. 100, n. 1, p. 460-467, out. 2017. DOI: <https://doi-org.ez43.periodicos.capes.gov.br/10.1016/j.foodres.2017.07.035>

DA SILVA, M. F. G.; DIONÍSIO, A. P.; DE ABREU, F. A. P.; DE BRITO, E. S.; WURLITZER, N. J.; ALEXANDRE-SILVA, L. M.; RIBEIRO, P. R. V.; RODRIGUES, S.; TANIGUCHI, C. A. K.; PONTES, D. F. Evaluation of nutritional and chemical composition of yacon syrup using H NMR and UPLC-ESI-Q-TOF-MS. **Food Chemistry**, [s.l.], v. 245, p. 1239–1247, abr., 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.11.092>

DAVIS, C. D.; MILNER, J. A. Gastrointestinal microflora, food components and colon cancer prevention. **Journal of Nutritional Biochemistry**, [s.l.], v. 20, n. 10, p. 743–752, out., 2009. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2009.06.001>

DE MAN, J. C.; ROGOSA, de M; SHARPE, M. A medium for the cultivation of lactobacilli. **Journal of Applied Bacteriology**, [s.l.], v. 23, n. 1, p. 130-135, abr. 1960. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1960.tb00188.x>

DE MOURA, N. A.; CAETANO, B. F. R.; SIVIERI, K.; URBANO, L. H.; CABELLO, C.; RODRIGUES, M. A. M.; BARBISAN, L. F. Protective effects of yacon (*Smallanthus sonchifolius*) intake on experimental colon carcinogenesis. **Food and Chemical Toxicology**, [s.l.], v. 50, n. 8, p. 2902–2910, ago. 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2012.05.006>

DENIPOTE, F. G.; TRINDADE, E. B. S. M.; BURINI, R. C. Probiotics and prebiotics in primary care for colon cancer. **Gastroenterology Archives**, São Paulo, v. 47, n. 1, jan./mar., 2010. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0004-28032010000100016>

DIDION, S. P. Cellular and Oxidative Mechanisms Associated with Interleukin-6 Signaling in the Vasculature. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 18, n. 12, p. 2563, dez., 2017. DOI: 10.3390/ijms18122563

EVERALD, A; LAZAREVIC, V.; DERRIEN, M.; GIRARD, M.; MUCCIOLI, G. G; NEYRINCK, A. M.; POSSEMIERS, S.; HOLLE, A. V.; FRANÇOIS, P.; DE VOS, W. M.; DELZENNE, N. M.; SCHRENZEL, J.; CANI, P. D. Responses of gut microbiota and glucose and lipid metabolism to prebiotics in genetic obese and diet-induced leptin-resistant mice. **Diabetes**, v. 60, n. 11, p. 2775-86, nov., 2011. DOI: 10.2337/db11-0227

FAO/WHO, Food and Agriculture Organization, World Health Organization. **Joint FAO/WHO expert consultation on evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria**. FAO/WHO; 2001. Disponível em: <<http://www.fao.org/3/a-a0512e.pdf>>. Acesso em: 10 set 2019.

FARAG, M. A.; JOMAA, S. A.; EL-WAHED, A. A.; EL-SEEDI, H. R. The Many Faces of Kefir Fermented Dairy Products: Quality Characteristics, Flavour Chemistry, Nutritional Value, Health Benefits, and Safety. **Nutrients**. v. 12, n. 2, p. 346. fev., 2020. DOI: 10.3390/nu12020346

FERLAY, J.; SOERJOMATARAM, I.; DIKSHIT, R.; ESER, S.; MATHERS, C.; REBELO, R.; PARKIN, D. M.; FORMAN, D.; BRAY, F. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. **International Agency for Research on Cancer**, Lyon, v. 136, n. 6, p. 359-386, mar., 2015. DOI: 10.1002/ijc.29210

FIOCCHI, C. Microbial factors in the pathogenesis of IBD. **Bioscience and microflora**, Cleveland, v. 22, n. 1, p. 5-14, nov., 2003. Disponível em: <https://www.jstage.jst.go.jp/article/bifidus1996/22/1/22_1_5/_pdf>. Acesso em: 10 set 2019.

FIORAMONTI, J.; THEODOROU, V.; BUENO, L. Probiotics: what are they? What are their effects on gut physiology. **Best Practice & Research Clinical Gastroenterology**, v. 17, n. 5, p. 711-724, out., 2003. DOI: 10.1016/s1521-6918(03)00075-1

FORTES, R. C.; RECÔVA, V. L.; MELO, A. L.; NOVAES, M. R. C. Dietary habits of patients with postoperative colorectal cancer. **Revista Brasileira de Cancerologia**, Brasília, v. 53, n. 3, p. 277-89, jun./set., 2007. http://www1.inca.gov.br/rbc/n_53/v03/pdf/artigo1.pdf

GARROTE, G. L.; ABRAHAM, A. G.; DE ANTONI, G. L. Microbial interactions in Kefir: a natural probiotic drink. **Biotechnology of Lactic Acid Bacteria: Novel Applications**, [s.l.], p. 327, mar., 2010. DOI: 10.1002 / 9780813820866.ch18

GENTA, S.; CABRERA, W.; HABIB, N.; PONS, J.; CARILLO, I. M.; GRAU, A.; SÁNCHEZ, S. Yacon syrup: Beneficial effects on obesity and insulin resistance in humans. **Clinical Nutrition**, [s.l.], v. 28, n. 2, p. 182–187, abr., 2009. DOI: <https://doi-org.ez43.periodicos.capes.gov.br/10.1016/j.clnu.2009.01.013>

GIBSON, G. R.; HUTKINS, R.; SANDERS, M. E.; PRESCOTT, S. L.; REIMER, R. A.; SALMINEN, S. J.; SCOTT, K.; STANTON, C.; SWANSON, K. S.; CANI, P. D.; VERBEKE, K.; GREGOR REID, G. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. **Nature Reviews: Gastroenterology and Hepatology**, [s.l.], v. 14, n. 8, p. 491–502, jun., 2017. <https://www.nature.com/articles/nrgastro.2017.75>

GIBSON, G. R.; ROBERFROID, M. B. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. **The Journal of Nutrition**, 1995 Jun; v. 125, n. 6, p. 1401-12, jun., 1995. DOI: 10.1093/jn/125.6.1401

GILL, J. G.; PISKOUNOVA, E. L.; MORRISON, S. J. Cancer, Oxidative Stress, and Metastasis. **Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology**, [s.l.], v. 81, 163–175, jan., 2016. DOI: 10.1101/sqb.2016.81.030791

GOMES, A. F. **Avaliação dos efeitos do consumo de yacon (*smallanthus sonchifolius*), kefir e yacon associado com kefir sobre a saúde intestinal e óssea em ratos**. 2020. 62 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre – ES.

GONÇALVES, P.; MARTEL, F. Regulation of colonic epithelial butyrate transport: Focus on colorectal cancer. **Porto Biomedical Journal**, [s.l.], v. 1, n. 3, p. 83–91, jul./ago., 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pbj.2016.04.004>

GRANCIERI, M.; COSTA, N. M. B.; VAZ TOSTES, M. G.; OLIVEIRA, D. S.; NUMES, L. C.; MARCON, L. N.; VERIDIANO, T. A.; VIANA, M. L. Yacon flour (*Smallanthus sonchifolius*) attenuates intestinal morbidity in rats with colon cancer. **Journal of Functional Foods**, [s.l.], v. 37, p. 666-675, out., 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.08.039>

GRIFFITHS, A. J. F. WESSLER, S. R.; CARROLL, S. B.; DOEBLEY, J. **Introdução a genética**. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 9 ed., 2008, 780 p.

GUARNER, F.; KHAN, A. G.; GARISCH, J.; ELIAKIM, R.; GANGL, A.; THOMSON, A.; KRABSHUIS, J.; LEMAIR, T.; KAUFMANN, P.; DE PAULA, J. A.; FEDORAK, R.; SHANAHAN, F.; SANDERS, M. E.; SZAJEWSKA, H.; RAMAKRISHNA, B. S.; KARAKAN, T.; KIM, N. World gastroenterology organisation global guidelines: probiotics and prebiotics october 2011. **Journal of Clinical Gastroenterology**, [s.l.], v. 46, n. 6, p. 468-481, jul., 2012. DOI: 10.1097 / MCG.0b013e3182549092

GUPTA, V.; GARG, R. Probiotics. **Indian Journal of Medical Microbiology**, [s.l.], v. 27, n. 3, p. 202-209, jul./set., 2009. DOI: 10.4103/0255-0857.53201

GUT, A. M.; VASILJEVIC, T.; YEAGER, T.; DONKOR, O. N. Kefir characteristics and antibacterial properties - Potential applications in control of enteric bacterial infection. **International Dairy Journal**, [s.l.], v. 118, p. 105021, jul., 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2021.105021>

HABIB, N. C.; HONORÉ, S. M.; GENTA, S. B.; SÁNCHEZ, S. S. Hypolipidemic effect of *Smallanthus sonchifolius* (yacon) roots on diabetic rats: Biochemical approach. **Chemico-Biological Interactions**, [s.l.], v. 194, n. 1, p. 31–39, out., 2011. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2011.08.009>

HARTEMINK, R.; VANLAERE, K. M. J.; ROMBOUTS, F. M. Growth of enterobacteria on fructo-oligosaccharides. **Journal of Applied Microbiology**, Wageningen, v. 383, n. 3, p.367-374, set.,1997. DOI: 10.1046/j.1365-2672.1997.00239.x

HALL, J. E. **Guyton e Hall Fundamentos de Fisiologia**. 12^a ed. Elsevier: Brasil, 2012. Disponível em: <https://cssjd.org.br/imagens/editor/files/2019/Abril/Tratado%20de%20Fisiologia%20M%C3%A9dica.pdf>. Acesso em: 10 set 2019.

HILL, C.; GUARNER, F.; GREGOR REID, G.; GIBSON, G. R.; MERENSTEIN, D. J.; POT, B.; MORELLI, L.; CANANI, R. B.; FLINT, H. J.; SALMINEN, S.; CALDER, P. C.;

SANDERS, M. E. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. **Nature reviews Gastroenterology & Hepatology**, [s.l.], v. 11, n. 8, p. 506-514, ago., 2014. DOI: 10.1038/nrgastro.2014.66

HIJOVA, E.; CHMELAROVA, A. Short Chain Fatty Acids and Colonic Health. **Bratislavske Lekarske Listy**, [s.l.], v. 108, n. 8, p. 354-358, 2007.

HIRANO, T. IL-6 in inflammation, autoimmunity and câncer. **International Immunology**, v. 33, n. 3, p. 127–148, dez., 2020. DOI: 10.1093 / intimm / dxaa078

HOSSEINI, S. M.; AHMAD, Z.; LAI, Y. W. The Role of Macroeconomic Variables on Stock Market Index in China and India. **International Journal of Economics and Finance**, [s.l.], v. 3, n. 6, p. 233-244, out., 2011. DOI:10.5539/ijef.v3n6p233

INCA. Instituto Nacional do Câncer. **Estimativa 2018**: Incidência de câncer no Brasil. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. Coordenação de Prevenção e Vigilância. - Rio de Janeiro, INCA, 2018. Disponível em: <<https://www.inca.gov.br/numeros-de-cancer>>. Acesso em: 10 set 2019.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físicos-químicos para análise de alimentos**. 4. ed. São Paulo: IMESP, v. 1, 2008, p. 1020.

JIMENEZ, M. E.; ROSSI, A.; SAMMÁN, N. Health Properties of Oca (Oxalis Tuberosa) and Yacon (Smallanthus Sonchifolius). **Food & Function**, [s.l.], v. 6, n. 10, p. 3266–74, out., 2015. DOI: 10.1039 / c5fo00174a

KAMP, L.; HARTUNG, J.; MAST, B.; GRAEFF-HÖNNINGER, S. Plant growth, tuber yield formation and costs of three different propagation methods of yacon (Smallanthus sonchifolius). **Industrial Crops and Products**, [s.l.], v. 132, p. 1-11, jun., 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.02.006>

KIELA, P. R.; GHISHAN, F. K. Physiology of Intestinal Absorption and Secretion. **Best practice & research: Clinical gastroenterology**, v. 30, n. 2, p. 145–159. abr., 2016. DOI: 10.1016 / j.bpg.2016.02.007

KIM, D. H.; JEONG, C. H.; CHANG, W. N.; KNON, H. C.; KIM, D. H.; SEO, K.; CHOI, Y.; HAN, S. G. Effects of kefir on doxorubicin-induced multidrug resistance in human colorectal cancer cells. **Journal of Functional Foods**, [s.l.], v. 78, p. 104371, mar., 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jff.2021.104371>

KIM, J.; LEE, K. W.; JEONG, H. S.; ANSARY, M. W. R.; KIM, H. S.; KIM, T.; KWON, M.; CHO, S. H. Oral administration effect of yacon, ginger and blueberry on the growth, body composition and plasma chemistry of juvenile olive flounder (Paralichthys olivaceus) and immunity test against Streptococcus iniae compared to a commercial probiotic, Lactobacillus fermentum. **Aquaculture Reports**, [s.l.], v. 15, p. 1-7, nov., 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2019.100212>

LEITE, A. M. O.; MIGUEL, M. A. L.; PEIXOTO, R. S.; ROSADO, A. S.; SILVA, J. T.; PASCHOALIN, V. M. F. Microbiological, technological and therapeutic properties of

kefir: A natural probiotic beverage. **Brazilian Journal of Microbiology**, [s.l.], v. 44, n. 2, p. 341–349, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1517-83822013000200001>

LI, Q.; DING, C.; MENG, T.; LU, W.; LIU, W.; HAO, H.; CAO, L. Butyrate suppresses motility of colorectal cancer cells via deactivating Akt / ERK signaling in histone deacetylase dependent manner. **Journal of Pharmacological Science**, [s.l.], v. 135, n. 4, p. 148–155, dez., 2017. DOI: [10.1016/j.jphs.2017.11.004](https://doi.org/10.1016/j.jphs.2017.11.004)

LILLY, D. M.; STILLWELL, R. H. Probiotics: Growth-Promoting Factors Produced by Microorganisms. **Science**, [s.l.], v. 147, p. 747-748, fev., 1965. DOI: [10.1126/science.147.3659.747](https://doi.org/10.1126/science.147.3659.747)

LOBO, A. R.; GAIEVSKI, E. H.; DE CARLI, E.; ALVARES, C. Fructo-oligosaccharides and iron bioavailability in anaemic rats: the effects on iron species distribution, ferroportin-1 expression, crypt bifurcation and crypt cell proliferation in the caecum. **British Journal of Nutrition**, v. 112, n. 8, p. 1286-1295, out. 2014. DOI: <https://doi.org/10.1017/S0007114514002165>

LOBO, A. R.; COCATO, M. L.; BORELLI, P.; GAIEVSKI, E. H. S.; CRISMA, A. R.; NAKAJIMA, K.; NAKANO, E. Y.; COLLI, C. Iron bioavailability from ferric pyrophosphate in rats fed with fructan-containing yacon (*Smallanthus sonchifolius*) flour. **Food Chemistry**, [s.l.], v. 126, n. 3, p. 885-891, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.11.067>

LÓPEZ-LÁZARO, M. Stem cell division theory of cancer. **Critical Reviews in Oncology / Hematology**, [s.l.], v. 123, n. 3, p. 95-113, jul., 2018. DOI: [10.20944 / preprints201707.0074.v1](https://doi.org/10.20944/preprints201707.0074.v1)

LOPITZ-OTSOA, F.; REMENTERIA, A.; ELGUEZAVAL, N.; GARAIZAR, J. Kefir: A symbiotic yeasts-bacteria community with alleged healthy capabilities. **Revista Iberoamericana de Micología**, [s.l.], v. 23, n. 2, p. 67-74, jun., 2006. DOI: [10.1016/s1130-1406\(06\)70016-x](https://doi.org/10.1016/s1130-1406(06)70016-x)

MACHADO, A. M.; SILVA, N. B. M. de; CHAVES, J. B. P.; ALFENAS, R. C. G. Consumption of yacon flour improves body composition and intestinal function in overweight adults: A randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. **Clinical Nutrition ESPEN**, [s.l.], v. 29, p. 22-29. fev., 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.clnesp.2018.12.082>

MARANGONI, A. L. **Potencialidade de aplicação de farinha de yacon (*Polymnia sonchifolia*) em produtos à base de cereais**. 2007. 125 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2007. Disponível em: http://repositorio.unicamp.br/bitstream/REPOSIP/256347/1/Marangoni_AndreLuis_M.pdf. Acesso em: 10 set 2019.

MARCON, L. N.; MORAES, L. F. S.; CRUZ, B. C. S.; TEIXEIRA, M. D. O.; BRUNO, T. C. V.; RIBEIRO, I. E.; MESSIAS, A. C.; FERREIRA, C. L. L. F.; DE OLIVEIRA, L. L.; PELUZIOA, M. C. G. Yacon (*Smallanthus sonchifolius*) based product increases fecal short-chain fatty acids and enhances regulatory T cells by downregulating

RORyt in the colon of BALB/c mice. **Journal of Functional Foods**, [s.l.], v. 55, p. 333–342, abr., 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.02.039>

MARQUES, C. G.; WAITZBERG, D. L. Fibras alimentares e cancer. In: WAITZBERG, D.L. ed. **Nutrição oral, enteral e parenteral na prática clínica**. 3 ed. São Paulo: Atheneu, 2000.

MARTINEZ-OLIVEIRA, P.; OLIVEIRA, M. F. de; ALVES, N.; COELHO, R. P.; PILAR, B. C.; GÜLLICH, A. A.; STRÖHER, D. J.; BOLIGON, A.; PICCOLI, J. C. E.; MELLO-CARPES, P. B.; MANFREDINIA, V. Yacon leaf extract supplementation demonstrates neuroprotective effect against memory deficit related to β -amyloid-induced neurotoxicity. **Journal of Functional Foods**, [s.l.], v. 48, p. 665–675, set., 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.08.004>

MARTINS, J. F. L.; RAFAEL, V. C.; FILOMENA, E. A.; RODRIGUES, F. C.; SARTORI, S. S. R.; FERREIRA, C. L. L. F. Product based yacon and modulation of microbiota, fatty acid profile and lipid in ovariectomized female rats. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 29, n. 5, p. 709-719, set./out., 2016. DOI: <https://doi.org/10.1590/1678-98652016000500009>

MATTILA-SANDHOLM, T.; MYLLÄRINEN, P.; CRITTENDEN, R.; MOGENSEN, G.; FONDÉN, R.; SAARELA, M. Technological challenges for future probiotic foods. **International Dairy Journal**, [s.l.], v. 12, n. 2, p. 173-182, 2002. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(01\)00099-1](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(01)00099-1)

MCLOUGHLIN, R. F., BERTHON, B. S., JENSEN, M. E., BAINES, K. J., & WOOD, L. G. Short-chain fatty acids, prebiotics, synbiotics, and systemic inflammation: a systematic review and meta-analysis. **The American Journal of Clinical Nutrition**, [s.l.], v. 106, n. 1, p. 930–945, set., 2017. DOI: [10.3945/ajcn.117.156265](https://doi.org/10.3945/ajcn.117.156265)

METCHNIKOFF, E. The prolongation of life: optimistic studies. **English trans Mitchell PC.GP Putnam's Sons**, New York, 1908.

MGDCP, M.; CARDOSO, P. G.; LAGO, L. A.; SCHWAN, R. F. Diversity of bacteria present in milk kefir grains using culture-dependent and culture-independent methods. **Food Research International**, [s.l.], v. 43, n. 5, p. 1523-1528, jun., 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.04.031>

MIGUEL, M. G., NUNES, S., DANDLEN, S. A., CAVACO, A. M., ANTUNES, M. D. Phenols and antioxidant activity of hydro-alcoholic extracts of própolis from Algarve, South of Portugal. **Food and Chemical Toxicology**, [s.l.], v. 48, p. 3418-3423, 2010. PMID:20849908. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2010.09.014>

MOHANIA, D.; KANSAL, V. K.; SAGWAL, R.; SHAH, D. Anticarcinogenic effect of probiotic dahi and piroxicam on DMH-induced colorectal carcinogenesis in wistar rats. **American Journals of Cancer Therapy and Pharmacology**, [s.l.], v. 1, n. 1, p. 1–17, 2013. <https://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.887.7203&rep=rep1&type=pdf>

MOHANTY, D.; MISRA, S.; MOHAPATRA, S.; SAHU, P. M. Prebiotics and synbiotics: Recent concepts in nutrition. **Food Bioscience**, [s.l.], v. 26, p. 152–160, dez., 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2018.10.008>

MONTEIRO, B. L.; DIAS, A. T.; WANDERKOKE, S. C.; YOKOTA, R.; CASARINI, D. E.; LEAL, M. A. S.; NOGUEIRA, B. V.; MEYRELLES, S. S.; CAMPOS-TOIMIL, M.; CAMPAGNARO, B. P.; CAMPOS, R. R.; PEREIRA, T. M. C.; VASQUEZ, E. C. Protective effects of kefir in the angiotensin II-dependent hypertension. **Journal of Functional Foods**, [s.l.], v. 75, p. 1042-1060, dez., 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jff.2020.104260>

MORAES, F. P. Functional and nutraceutical foods: definitions, legislation and health benefits. **Revista Eletrônica de Farmácia**, Goiânia, v. 3, n. 2, p. 109-122, nov., 2006. DOI: <https://doi.org/10.5216/ref.v3i2.2082>

MOURA, N. A.; CAETANO, B. F. R.; SILVIERI, K.; URBANO, L. H.; CABELLO, C.; RODRIGUES, M. A. M.; BARBISAN, L. F. Protective effects of yacon (*Smallanthus sonchifolius*) intake on experimental colon carcinogenesis. **Food and Chemical Toxicology**, [s.l.], v. 50, n. 8, p. 2902-2910, ago., 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2012.05.006>

NGUYEN, K. G.; VRABEL, M. R.; MANTOOTH, S. M.; HOPKINS, J. J.; WAGNER, E. S.; GABALDON, T. A.; ZAHAROFF, D. A. Localized Interleukin-12 for Cancer Immunotherapy. **Frontiers in Immunology**, v. 11, p. 575597, out., 2020. DOI: 10.3389 / fimmu.2020.575597

NKONDJOCK, A.; SHATENSTEIN, B.; MAISONNEUVE, P.; GHADIRIAN, P. Specific fatty acids and human colorectal cancer: an overview. **Cancer detection and prevention**, [s.l.], v. 27, n. 1, p. 55-66, 2003. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0361-090X\(02\)00179-4](https://doi.org/10.1016/S0361-090X(02)00179-4)

OHIGASHI, S.; SUDO, K.; KOBAYASHI, D.; TAKAHASHI, O.; TAKAHASHI, T.; ASAHARA, T.; NOMOTO, K.; ONODERA, H. Changes of the Intestinal Microbiota, Short Chain Fatty Acids, and Fecal pH in Patients with Colorectal Cancer. **Digestive Diseases and Sciences**, [s.l.], v. 58, n. 6, p. 1717–1726, jun., 2013. DOI: 10.1007/s10620-012-2526-4

OJANSIVU, I.; FERREIRA, C. L.; SALMINENA, S. Yacon, a new source of prebiotic oligosaccharides with a history of safe use. **Trends in Food Science & Technology**, [s.l.], v. 22, n. 1, p. 40-46, jan., 2011. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2010.11.005>

OLIVEIRA, J. L.; DE ALMEIDA, C.; BOMFIM, N. S. The importance of using probiotics in human health. **Unoesc & Ciência-ACBS**, v. 8, n. 1, p. 7-12, jan./jul., 2017. Disponível em: <https://pdfs.semanticscholar.org/d21f/47781563268023981b780007f060ae19509e.pdf>. Acesso em: 12 set 2019.

PABST, O. New concepts in the generation and functions of IgA. **Nature Reviews Immunology**, [s.l.], v. 12, n. 12, p. 821-832, dez., 2012. DOI: 10.1038/nri3322

PEREIRA, J. A. R.; BARCELOS, M.D. F. P.; FERREIRA, E.; PEREIRA, R. C.; ANGELIS-PEREIRA, M. C. De. Changes in glucose levels and fecal excretion of lipids due to consumption of yacon flour. **Nutrition & Food Science**, [s.l.], v. 46, n. 6, p. 791-802, nov., 2016. DOI: 10.1108 / NFS-12-2015-0159

PARKER, C. A. The new scope of counseling. **The Personnel and Guidance Journal**, [s.l.], v. 52, n. 6, p. 348, fev., 1974. DOI: <https://doi.org/10.1002/j.2164-4918.1974.tb04040.x>

PEREIRA, P. L.; NUNES, A. L. S.; DUARTE, S. F. P. Qualidade de Vida e Consumo Alimentar de Pacientes Oncológicos. **Revista Brasileira de Cancerologia**, [s.l.], v. 61, n. 3, p. 243-251, set., 2015. DOI: 10.32635/2176-9745.RBC.2015v61n3.254

PESHEV, D.; VAN DEN ENDE, W. Fructans: Prebiotics and immunomodulators. **Journal of Functional Foods**, [s.l.], v. 8, n. 1, p. 348–357, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jff.2014.04.005>

PONTO, A. L.; TAIEB, J. Colon cancer. **EMC - Tratado de Medicina**, [s.l.], v. 21, n. 1, p. 1-7, mar., 2017. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1636-5410\(16\)81792-4](https://doi.org/10.1016/S1636-5410(16)81792-4)

POOL-ZOBEL, B. L.; SAUER, J. Overview of experimental data on reduction of colorectal cancer risk by inulin-type fructans. **Nutrition**, Philadelphia, v. 137, n. 11, p. 2580–2584, nov., 2007. DOI: <https://doi.org/10.1093/jn/137.11.2580S>

POOL-ZOBEL, B. L. Inulin-type fructans and reduction in colon cancer risk: review of experimental and human data. **Bristh Journal of Nutrition**, [s.l.], v. 93, n. 1, p. 73–90, mar., 2005. DOI: 10.1079/BJN20041349

PRADO, B. B. F. Influence of lifestyle habits on cancer development. **Ciência e Cultura**, São Paulo, v. 66, n. 1, p. 21-24, 2014. DOI: <http://dx.doi.org/10.21800/S0009-67252014000100011>

PRISCO, A.; MURIELLO, G. Probiotication of foods: A focus on microencapsulation tool. **Trends in Food Science & Technology**, [s.l.], v. 48, p. 27-39, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2015.11.009>

RADHOUANI, H.; GONCALVES, C.; MAIA, F. R.; OLIVEIRA, J. M.; REIS, R. L. Biological performance of a promising Kefiran-biopolymer with potential in regenerative medicine applications: a comparative study with hyaluronic acid. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, [s.l.], v. 29, n. 8, p. 124, jul., 2018. DOI: 0.1007/s10856-018-6132-7

RAJCHL, A.; CUSIMAMANI, E. F.; PRCHALOVÁ, J.; SEVCÍK, R.; CÍZKOVÁ, H.; ZIAROVSKÁ, J.; HRDLICKOVÁ, M. Characterisation of yacon tuberous roots and leaves by DART-TOF/MS. **International Journal of Mass Spectrometry**, [s.l.], v. 424, p. 27–34, jan., 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijms.2017.11.005>

REEVES, P. G.; NIELSEN, F. H., FAHEY, G. C. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on

the reformulation of the AIN-76A rodent diet. **Journal Nutrition**, [s.l.], v. 123, n. 11, p. 1939-1951, nov., 1993. DOI: <https://doi.org/10.1093/jn/123.11.1939>

REIS, S. A.; CONCEIÇÃO, L. L.; DIAS, M. M.; SIQUEIRA, N. P.; ROSA, D. D.; OLIVEIRA, L. L. MATTÁ, S. L. P.; PELUZIO, M. D. C. G. Kefir reduces the incidence of pre-neoplastic lesions in an animal model for colorectal cancer. **Journal of Functional Foods**, [s.l.], v. 53, p. 1–6, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.nutres.2016.11.009>.

ROCHA-GOMES, A.; ESCOBAR, A.; SOARES, J. S.; SILVA, A. A.; DESSIMONI-PINTO, N. A. V.; RIUL, T. R. Hemical composition and hypocholesterolemic effect of milk kefir and water kefir in Wistar rats. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 31, n. 2, p. 137-145, mar./abr., 2018. DOI: <https://doi.org/10.1590/1678-98652018000200001>

RODRÍGUEZ-CABEZAS, M. E.; CAMUESCO, D.; ARRIBAS, B.; GARRIDO-MESA, N.; COMALADA, M.; BAILÓN, E.; CUETO-SOLA, M.; UTRILLA, P.; GUERRA-HERNÁNDEZ, E.; PÉREZ-ROCA, C.; GÁLVEZ, J.; ZARZUELO, A. The combination of fructooligosaccharides and resistant starch shows prebiotic additive effects in rats. **Clinical Nutrition**, [s.l.], v. 29, n. 6, p. 832-839, dez., 2010. DOI: [10.1016/j.clnu.2010.05.005](https://doi.org/10.1016/j.clnu.2010.05.005)

ROSA, D. D.; DIAS, M. M. S.; GRZES'KOWIAK, L. M.; REIS, S. A.; CONCEIÇÃO, L. L.; PELUZIO, M. D. C. G. Milk kefir: Nutritional, microbiological and health benefits. **Nutrition Research Reviews**, [s.l.], v. 30, n. 1, p. 82–96, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1017/S0954422416000275>.

ROWLAND, O.; ZHENG, H. HEPWORTH, S. R.; PATRICIA LAM, P.; JETTER, R.; KUNST, L. CER4 encodes an alcohol-forming fatty acyl-coenzyme A reductase involved in cuticular wax production in Arabidopsis. **Plant Physiology**, [s.l.], v. 142, n. 3, p. 866-877, nov., 2006. DOI: <https://doi.org/10.1104/pp.106.086785>

SAAD, S. M. I. Probiotics and prebiotics: the state of the art. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, [s.l.], v. 42, n. 1, p. 1-16, jan./mar., 2006. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-93322006000100002>.

SÁ, L. R. V.; OLIVEIRA, M. A. L. de.; CAMMARATA, M. C. C.; MATOS, A.; FERREIRA-LAITÃO, V. S. Simultaneous analysis of carbohydrates and volatile fatty acids by HPLC for monitoring fermentative biohydrogen production. **International Journal of Hydrogen Energy**, [s.l.], v. 36, n. 23, p. 15177–15186, nov., 2011. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2011.08.056>

SÁNCHEZ, B.; DELGADO, S.; BLANCO-MÍGUEZ, A.; LOURENÇO, A.; GUEIMONDE, M.; MARGOLLES, A. Probiotics, gut microbiota, and their influence on host health and disease. **Molecular Nutrition & Food Research**, [s.l.], v. 61, n. 1, p. 1600240, ago., 2017. DOI: <https://doi.org/10.1002/mnfr.201600240>

SANT'ANNA, M. S. L.; RODRIGUES, V. C.; ARAÚJO, T. F.; OLIVEIRA, T. T.; PELUZIO, M. C. G.; FERREIRA, C. L. L. F. Yacon-Based Product in the Modulation of Intestinal Constipation. **Journal of Medicinal Food**, [s.l.], v. 18, n. 9, p. 980–986, set., 2015. DOI: [10.1089/jmf.2014.0115](https://doi.org/10.1089/jmf.2014.0115)

SANTOS, T. P.; CARVALHO, L. P.; SOUZA, E. C. R. Knowledge about colorectal cancer and its prevention among users of public health services. **Revista da AMRIGS**, [s.l.], v. 57, n. 1, p. 31-38, mar., 2013.

SARAIVA, M.; VIEIRA, P.; O'GARRA, A. Biology and therapeutic potential of interleukin-10. **Journal of Experimental Medicine**. v. 217, n. 1, p. e20190418, jan., 2020. DOI: 10.1084 / jem.20190418

SATIR, G.; GUZEL-SEYDİM, Z. B. How kefir fermentation can affect product composition? **Small Ruminant Research**, [s.l.], v. 134, p. 1-7, jan., 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2015.10.022>

SEQUETTO, P. L. **Efeitos de alendronato de sódio, sinvastatina, crisina e tintura de *Camellia sinensis* na osteoporose induzida por dexametasona em ratos**. 220 f. 2008. Dissertação (Mestrado em Bioquímica Agrícola) - Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, Minas Gerais. 2008. Disponível em: <file:///C:/Users/Keila%20Zanardi/Documents/texto%20completo.pdf>. Acesso em: 10 set 2019.

SERBAN, D. E. Gastrointestinal cancers: Influence of gut microbiota, probiotics and prebiotics. **Cancer Letters**, [s.l.], v. 345, p. 258–270, abr., 2014. DOI: 10.1016/j.canlet.2013.08.013

SIEGEL, R. L.; MILLER, K. D.; FEDEWA, S. A.; AHNEN, D. J.; MEESTER, R. G. S.; BARZI, A.; JEMAL, A. D. V. M. Colorectal cancer statistics, 2017. CA: **A Cancer Journal for Clinicians**, [s.l.], v. 67, n. 3, p. 177-193, mai./jun., 2017. DOI: <https://doi.org/10.3322/caac.21395>

SILVA, M., F., G.; DIONÍSIOB, A. P.; CARIOCA, A. A. F. ADRIANOC, L. S.; PINTOB, C. O.; ABREUB, F. A. P. de; WURLITZERB, N. J.; ARAÚJOB, I. M.; GARRUTIB, D. S.; PONTESA, D. F. Yacon syrup: Food applications and impact on satiety in healthy volunteers. **Food Research International**, [s.l.], v. 100, p. 460-467, jul., 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2017.07.035>

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, M. H.; GOMES, R. A. R.; OKAZAKI, M. M. **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos**. 4 ed. São Paulo: Editora Varela, 2010. 632 p.

SMIRICKY-TJARDES, M. R.; GRIESHOP, C. P.; FLICKINGER, E. A.; BAUER, L. L.; FAHEY, J.C. Dietary galatooligosaccharides affect ileal and totaltract nutrient digestibility, ileal and fecal bacterial concentrations, and ileal fermentative characteristics of growing pigs. **Journal of Animal Science**, [s.l.], v. 81, n. 10, p. 2535–2545, jun., 2003. DOI: 10.2527 / 2003.81102535x

SOINI, Y.; KAHLOS, K.; PUHAKKA, A.; LAKARI, E.; SÄILY, M.; PÄÄKKÖ, P.; KINNULA, V. Expression of inducible nitric oxide synthase in healthy pleura and in malignant mesothelioma. **British Journal of Cancer**, [s.l.], v. 83, n. 7, p. 880-886, out., 2000. DOI: 10.1054/bjoc.2000.1384

SONG, M.; CHAN, A. T. Environmental factors, gut microbiota, and colorectal cancer prevention. **Clinical Gastroenterology and Hepatology**, [s.l.], v. 17, n. 2, p. 275-289, jan., 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2018.07.012>

SONG, P.; ZHANG, R.; WANG, X.; TAN, L.; MA, X. Dietary grape-seed procyanidins decreased postweaning diarrhea by modulating intestinal permeability and suppressing oxidative. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [s.l.], v. 59, n. 11, p. 6227-6232, jun., 2011. DOI: [10.1021 / jf200120y](https://doi.org/10.1021/jf200120y)

a SOUSA, S.; PINTO, J.; RODRIGUES, C.; GIÃO, M.; PEREIRA, C.; TAVARIA, F.; MALCATA, F. X.; GOMES, A.; PACHECO, M. T. B.; PINTADO, M. Antioxidant properties of sterilized yacon (*Smallanthus sonchifolius*) tuber flour. **Food Chemistry**, [s.l.], v. 188, p. 504–509, dez., 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.04.047>

b SOUSA, S.; PINTO, J.; PEREIRA, C.; MALCATA, F. X.; PACHECO, M. T. B.; GOMES, A. M.; PINTADO, M. In vitro evaluation of yacon (*Smallanthus sonchifolius*) tuber flour prebiotic potential. **Food and bioproducts processing**, [s.l.], v. 95, p. 96–105, jul., 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2015.04.003>

SUN; JUN; IKUKO KATO. Gut Microbiota, Inflammation and Colorectal Cancer. **Genes and Diseases**, Elsevier Ltd, v. 3, n. 2. p. 130–143, 2016. DOI: [doi:10.1016/j.gendis.2016.03.004](https://doi.org/10.1016/j.gendis.2016.03.004).

SWANSON, K. S.; GIBSON, G. R.; HUTKINS, R.; REIMER, R. A.; REID, G.; VERBEKE, K.; SCOTT, K. P.; HOLSCHER, H. D.; AZAD, M. B.; DELZENNE, N. M.; SANDERS, M. E. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of synbiotics. **Nature Reviews: Gastroenterology and Hepatology**, v. 17, n. 11, p. 687–701, ago., 2020. DOI: [10.1038 / s41575-020-0344-2](https://doi.org/10.1038/s41575-020-0344-2)

TEDELIND, S. WESTBERG, F.; KJERRULF, M.; VIDAL, A. Anti-inflammatory properties of the short-chain fatty acids acetate and propionate: a study with relevance to inflammatory bowel disease. **World Journal of Gastroenterology**, [s.l.], v. 13, n. 20, p. 2826-2832, mai., 2007. DOI: [10.3748/wjg.v13.i20.2826](https://doi.org/10.3748/wjg.v13.i20.2826)

TEIXEIRA, T. F. S.; MOREIRA, A. P. B.; SOUZA, N. C. S.; FRIAS, R.; PELUZIO, M. C. G. Intestinal permeability measurements: General aspects and possible pitfalls. **Nutrición Hospitalaria**, [s.l.], v. 29, n. 2, p. 269–281, fev., 2014. DOI: [10.3305/nh.2014.29.2.7076](https://doi.org/10.3305/nh.2014.29.2.7076)

TENG, M. W. L.; DARCY, P. K.; SMYTH, M. J. Stable IL-10: a new therapeutic that promotes tumor immunity. **Cancer Cell Previews**, [s.l.], v. 20, n. 6, p. 691-693, dez., 2011. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2011.11.020>

THOO, L.; NOTI, M.; KREBS, P. Keep calm: the intestinal barrier at the interface of peace and war. **Cell Death & Disease**, v. 10, n. 11, p. 849, nov., 2019. DOI: [10.1038 / s41419-019-2086-z](https://doi.org/10.1038/s41419-019-2086-z)

TILG, H.; ADOLPH, T. E.; GERNER, R. R.; MOSCHEN, A. R. The intestinal microbiota in colorectal cancer. **Cancer Cell**, [s.l.], v. 33, n. 6, p. 954-964, abr., 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2018.03.004>

TISS, M.; SOUIY, Z.; ABDELJELIL, N. B.; NJIMA, M.; ACHOUR, L.; HAMDEN, K. Fermented soy milk prepared using kefir grains prevents and ameliorates obesity, type 2 diabetes, hyperlipidemia and Liver-Kidney toxicities in HFFD-rats. **Journal of Functional Foods**, [s.l.], v. 67, p. 103869, abr., 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jff.2020.103869>

TOLOUDI, M.; APOSTOLOU, P.; CHATZIOANNOU, M.; ELENI, K.; IOANNA, V.; GEORGIA, M.; PAPASOTIRIOU, I. A possible clinical benefit of the identification and characterization of colon cancer stem cells. **Asian Pacific Journal of Tropical Disease**, [s.l.], v. 5, n. 1, p. 22-27, jan., 2015. DOI: [https://doi.org/10.1016/S2222-1808\(14\)60621-6](https://doi.org/10.1016/S2222-1808(14)60621-6)

TORRES-FUENTES, C.; SCHELLEKENS, H.; DINAN, T. D.; CRYAN, J. R. The microbiota–gut–brain axis in obesity. **The lancet Gastroenterology & Hepatology**, [s.l.], v. 2, n. 10, p. 747-756, ago., 2017. DOI: [https://doi.org/10.1016/S2468-1253\(17\)30147-4](https://doi.org/10.1016/S2468-1253(17)30147-4)

VARAVALLO, M. A.; THOMÉ, J. N.; TESHIMA, E. Application of probiotic bacteria for the prophylaxis and treatment of gastrointestinal diseases. **Semina Ciências Biológicas e da Saúde**, [s.l.], v. 29, n. 1, jul., 2008. DOI: [10.5433/1679-0367.2008v29n1p83](https://doi.org/10.5433/1679-0367.2008v29n1p83)

VAZ-TOSTES, M. G.; VIANA, M. L.; GRANCIERI, M.; LUZ, T. C. S.; PAULA, H.; PEDROSA, R. G.; COSTA, N. M. B. Yacon effects in immune response and nutritional status of iron and zinc in preschool children. **Nutrition**, [s.l.], v. 30, n. 6, p. 666-672, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.nut.2013.10.016>

VEREDIANO, T. A.; VIANA, M. L.; VAZ TOSTES, M. G.; OLIVEIRA, D. S.; NUNES, L. C.; COSTA, N. M. B. Yacón (*Smallanthus sonchifolius*) prevented inflammation, oxidative stress, and intestinal alterations in an animal model of colorectal carcinogenesis. **Journal Science Food Agricolgy**, [s.l.], v. 100, n. 15, p. 5442-5449, jun., 2020. DOI: <https://doi.org/10.1002/jsfa.10595>

VERMA, A.; SHUKLA, G. Probiotics *Lactobacillus rhamnosus* GG, *Lactobacillus acidophilus* suppresses DMH-induced procarcinogenic fecal enzymes and preneoplastic aberrant crypt foci in early colon carcinogenesis in Sprague Dawley rats. **Nutrition and Cancer**, [s.l.], v. 65, n. 1, p. 84–91, 2013. DOI: [10.1080/01635581.2013.741746](https://doi.org/10.1080/01635581.2013.741746)

VILELA, E. G. **A influência do *Saccharomyces boulardii* na permeabilidade intestinal de pacientes com doença de Crohn em fase de remissão**. 2005. 131 f. Tese (Doutorado em Medicina), Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2005.

VORONOV, E., APTE, R. N. IL-1 in colon inflammation, colon carcinogenesis and invasiveness of colon cancer. **Cancer Microenvironment**, [s.l.], v. 8, n. 3, p. 187-200, dez., 2015. DOI: 10.1007/s12307-015-0177-7

WALIA, S.; KAMAL, R.; KANWAR, S. S.; DHAWAN, D. K. Cyclooxygenase as a target in chemoprevention by probiotics during 1,2-dimethylhydrazine induced colon carcinogenesis in rats. **Nutrition and Cancer**, [s.l.], v. 67, n. 4, p. 603-611, mar., 2015. DOI: 10.1080/01635581.2015.1011788

WIEST, R.; RATH, H. C. Bacterial translocation in the gut. **Best Practice Research Clinical Gastroenterology**, [s.l.], v. 17, n. 3, p. 397-425, jun., 2003. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1521-6918\(03\)00024-6](https://doi.org/10.1016/S1521-6918(03)00024-6)

YAN, M. R.; WELCH, R.; RUSH, E. C.; XIANG, X.; WANG, X. A Sustainable Wholesome Foodstuff; Health Effects and Potential Dietotherapy Applications of Yacon. **Nutrients**. v. 11, n. 11, p. 2632, nov., 2019. DOI: 10.3390/nu11112632

ŽIAROVSKÁ, J.; PADILLA-GONZÁLEZ, G. F.; VIEHMANNOVÁ, I.; FERNÁNDEZ, E. Genetic and chemical diversity among yacon [*Smallanthus sonchifolius* (Poepp. et Endl.) H. Robinson] accessions based on iPBS markers and metabolomic fingerprinting. **Plant Physiology and Biochemistry**, [s.l.], v. 141, p. 183–192, ago., 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2019.05.020>

ZHU, H.; LI, Y. R. Oxidative stress and redox signaling mechanisms of inflammatory bowel disease: updated experimental and clinical evidence. **Experimental Biology and Medicine**, v. 237, n. 5, p. 474-480, mai., 2012. DOI: 10.1258 / ebm.2011.011358

ZHU, Q.; JIN, Z.; WU, W.; GAO, R.; GUO, B.; GAO, Z.; YANG, Y.; QIN, H. Analysis of the Intestinal Lumen Microbiota in an Animal Model of Colorectal Cancer. **PLoS ONE**, [s.l.], v. 9, n. 3, p. 1–10, mar., 2014. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0090849>



CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada **"Efeito do extrato de café verde (*Coffea canephora*), do yacon (*Smallanthus sonchifolius*), do kefir e da associação entre yacon e kefir nas alterações locais e sistêmicas resultantes da carcinogênese colorretal em ratos"**

Registrada sob o n.º **032/2019**, sob a responsabilidade de **Dr. André Gustavo Vasconcelos Costa**, que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto n.167 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS – CAMPUS DE ALEGRE (CEUA-ALEGRE) do Centro de Ciências Exatas, Naturais e da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo (Ufes).

Vigência da autorização: 01/02/2020 a 01/03/2021

Finalidade: Pesquisa

Espécie(s): *Rattus norvegicus*

Linhagem(ns)/raça(s): Wistar

Peso: 150 g

Idade: 45 dias

Sexo: Macho

Número de animais: 84

Origem: Biotério Central da UFES, Centro de Ciências da Saúde, campus Maruipé, Vitória - ES

Alegre-ES, 11/12/2019

Prof. Dr. Leonardo Oliveira Trivillin

Coordenador da CEUA-ALEGRE