

Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Faculdade de Medicina
Curso de Nutrição

Cláudia Belchior Cervi

EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE PROBIÓTICOS NA ESTRUTURA E
ENZIMAS HEPÁTICAS E PERFIS LIPÍDICO, GLICÊMICO E INFLAMATÓRIO NA
DOENÇA HEPÁTICA GORDUROSA NÃO ALCOÓLICA: UMA REVISÃO
SISTEMÁTICA

Porto Alegre, 2018

Cláudia Belchior Cervi

EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE PROBIÓTICOS NA ESTRUTURA E
ENZIMAS HEPÁTICAS E PERFIS LIPÍDICO, GLICÊMICO E INFLAMATÓRIO NA
DOENÇA HEPÁTICA GORDUROSA NÃO ALCOÓLICA: UMA REVISÃO
SISTEMÁTICA

Trabalho de Conclusão de Curso de
Graduação apresentado como requisito
parcial para a obtenção do grau de Bacharel
em Nutrição, à Universidade Federal do Rio
Grande do Sul, Departamento de Nutrição.

Orientadora: Profa Dra Valesca Dall'Alba
Co-orientadora: Bruna Cherubini Alves

Porto Alegre, 2018

CIP - Catalogação na Publicação

Cervi, Cláudia Belchior
EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE PROBIÓTICOS NA
ESTRUTURA E ENZIMAS HEPÁTICAS E PERFIS LIPÍDICO,
GLICÊMICO E INFLAMATÓRIO NA DOENÇA HEPÁTICA GORDUROSA
NÃO ALCOÓLICA: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA / Cláudia
Belchior Cervi. -- 2018.
64 f.
Orientadora: Valesca Dall'Alba.

Coorientadora: Bruna Cherubini Alves.

Trabalho de conclusão de curso (Graduação) --
Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade
de Medicina, Curso de Nutrição, Porto Alegre, BR-RS,
2018.

1. Doença Hepática Gordurosa Não Alcoólica . 2.
Probióticos . 3. Microbiota Intestinal. I. Dall'Alba,
Valesca, orient. II. Cherubini Alves, Bruna,
coorient. III. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Cláudia Belchior Cervi

EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE PROBIÓTICOS NA ESTRUTURA E ENZIMAS HEPÁTICAS E PERFIS LIPÍDICO, GLICÊMICO E INFLAMATÓRIO NA DOENÇA HEPÁTICA GORDUROSA NÃO ALCOÓLICA: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação apresentado como requisito parcial para a obtenção do grau de Bacharel em Nutrição, à Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Departamento de Nutrição.

Orientadora: Profa Dra Valesca Dall’Alba

Co-orientadora: Bruna Cherubini Alves

Porto Alegre, ____ de dezembro de 2018

A Comissão Examinadora, abaixo assinada, aprova o Trabalho de Conclusão de Curso intitulado “Efeitos Da Suplementação de Probióticos Na Estrutura e Enzimas Hepáticas e Perfis Lipídico, Glicêmico e Inflamatório na Doença Hepática Gordurosa Não Alcoólica: Uma Revisão Sistemática”, elaborado por Cláudia Belchior Cervi, como requisito parcial para obtenção do grau de Bacharel em Nutrição.

Comissão Examinadora:

Elis Forcellini Pedrollo

Thais Ortiz Hammes

Profa Dra Valesca Dall’Alba – UFRGS – Orientadora

AGRADECIMENTOS

Com muito amor, agradeço aos meus pais, Cláudio e Suzana, pelo apoio, carinho, confiança e a todas as oportunidades que me proporcionaram durante a minha vida inteira; ao meu namorado, por me ajudar e estar sempre ao meu lado, me incentivando e compreendendo a minha ausência pelo tempo dedicado aos estudos; aos meus amigos, colegas de curso e nutricionistas, os quais tornaram meus dias mais leves e tranquilos, me incentivaram e acompanharam o meu crescimento durante todo o período do curso de Nutrição; à Valesca Dall’Alba, minha professora orientadora, pela oportunidade de elaboração deste trabalho, pelo aprendizado, dedicação, confiança e paciência; à Bruna Cherubini Alves, pelo incentivo, contribuições valiosas e discussões enriquecedoras, assim como por estar sempre presente nos momentos de dúvidas e dificuldades; a todos os professores da Universidade Federal do Rio Grande do Sul que me proporcionaram todo o conhecimento e amor à nutrição; e, por fim, a todos que direta ou indiretamente fizeram parte da minha formação.

RESUMO

O conjunto de microrganismos, como bactérias, vírus e eucariotos unicelulares que habita o intestino é chamado de microbiota intestinal, que, em homeostase e juntamente com o sistema imunológico do hospedeiro, contribui para o bem estar e saúde em geral. A presença da disbiose pode estar associada tanto ao desenvolvimento quanto à progressão da Doença Hepática Gordurosa Não Alcoólica (DHGNA). Indivíduos com a doença hepática podem, através da microbiota, apresentar uma produção endógena de álcool e, conseqüentemente, aumentar o estresse oxidativo e a esteatose hepática, além de estimular maior síntese de LPS pelas bactérias intestinais e liberar citocinas pró inflamatórias. Atualmente, quanto ao manejo da DHGNA, recomenda-se modificação do estilo de vida através da prática de atividade física regular e de alimentação saudável, uma vez que ainda não existem drogas de efeito comprovado para o tratamento desta doença. Nesse sentido, há espaço para novas terapias, como a utilização de probióticos, os quais têm sido relacionados com a diminuição da permeabilidade intestinal e conseqüente redução da translocação bacteriana, além da modulação das vias inflamatórias. Neste contexto, esta revisão sistemática tem como objetivo verificar na literatura as evidências que suportam a indicação do uso de probióticos em pacientes com a DHGNA.

Palavras-chave: probióticos; doença hepática gordurosa não alcoólica; microbiota intestinal.

ABSTRACT

Microorganisms, such as bacteria, viruses and unicellular eukaryotes that inhabit the intestine is called the intestinal microbiota, which in homeostasis, together with the host's immune system, contributes to overall well-being and health. The presence of dysbiosis may be associated with the development and progression of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD). Individuals with liver disease can, through the microbiota, present endogenous production of alcohol and consequently increase oxidative stress, hepatic steatosis, besides stimulating the synthesis of LPS by the intestinal bacteria and releasing pro-inflammatory cytokines. The management of NALFD involves interventions such as the practice of regular physical activity and healthy eating, since there are still no drugs with proven effect for treatment. Hence, there is room for new therapies, such as the probiotic supplementation, which have been related to the reduction of intestinal permeability and consequent reduction of bacterial translocation, besides the modulation of inflammatory pathways. In this context, this systematic review aims to verify in the literature the evidences that support the indication of the use of probiotics in patients with NAFLD.

Key words: probiotics; nonalcoholic fat liver disease; gut microbiota.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Fluxograma de identificação e seleção de artigo.....	32
-----------------------------------------------------------------------	----

LISTA DE QUADROS

Quadro 1- Fórmulas para estimação de resistência insulínica.....	21
-------------------------------------------------------------------------	----

LISTA DE ABREVIATURAS

AGCC ácidos graxos de cadeia curta
ALP fosfatase alcalina
ALT alanina aminotransferase
AST aspartato aminotransferase
CC circunferência da cintura
CT colesterol total
DCNT doenças crônicas não transmissíveis
DCV doenças cardiovasculares
DHGNA Doença hepática gordurosa não alcoólica
DM II diabetes *mellitus* do tipo II
ECR ensaio clínico randomizado
EHNA esteatohepatite não alcoólica
ERK quinase regulada por sinal extracelular
FBG *fasting blood glucose* (glicemia de jejum)
FLI *fat liver index* (medida de esteatose hepática)
FOS frutooligossacarídeos
GGT gama-glutamiltanspeptidase
GLP-1 peptídeo semelhante ao glucagon
GOS galactooligossacarídeos
HDL colesterol de alta densidade
HELLP *Hemolysis, Elevated Liver enzymes, Low Platelet count*
HOMA-IR *homeostasis model assessment* (índice que avalia a resistência à insulina)
IHGT *intra hepatic triglyceride content* (conteúdo hepático de triglicerídeos)
IL interleucina
IMC índice de massa corporal
JNK quinase c-Jun N-terminal
LDL colesterol de baixa densidade
LPS lipopolissacarídeo
LS *liver stiffness* (rigidez hepática)
MAPK proteína quinase ativada por mitógeno
MRI ressonância magnética
NF-KB fator nuclear kappa B

NFS *NAFLD fibrosis score*

PA pressão arterial

PCR proteína C reativa

PYY peptídeo YY

QUICKI *quantitative insulin sensitivity check index*

RI resistência à insulina

SM síndrome metabólica

SOCS1 supressor de sinalização de citocinas 1

TG triglicerídeos

TGI trato gastrointestinal

TNF- α fator de necrose tumoral alfa

TRLs receptores Toll-like

TZDs tiazolidinendionas

UFC unidades formadoras de colônias

US ultrassonografia

VET valor energético total

VLDL lipoproteína de baixa densidade

SUMÁRIO

1	Referencial Teórico	13
1.1	Microbiota Intestinal	13
1.2	Probióticos	15
1.3	Prebióticos	18
1.5	Doença Hepática Gordurosa Não Alcoólica.....	20
1.6	Microbiota Intestinal e a DHGNA	23
1.7	DHGNA e Inflamação	24
1.8	Manejo da DHGNA	26
2	Justificativa.....	29
3	Hipótese.....	30
4	Objetivo.....	31
4.1	Objetivo Geral	31
4.2	Objetivos Específicos	31
5	Métodos	32
6	Resultados e Discussão.....	35
6.1	Alterações Hepáticas	36
6.2	Perfil Lipídico	38
6.3	Perfil Glicêmico	39
6.4	Perfil Inflamatório.....	40
6.5	Limitações.....	41
7	Conclusão	42
	Referências.....	43
	Apêndice 1 - Tabelas.....	48

1 REFERENCIAL TEÓRICO

1.1 MICROBIOTA INTESTINAL

O corpo humano é colonizado por diversos microrganismos, como bactérias, vírus e eucariotos unicelulares, os quais constituem a microbiota (SAAD, 2006; MILLION et al., 2013; YADAV; VERMA; CHAUHAN, 2017). No trato gastrointestinal (TGI) humano há trilhões de células bacterianas, aproximadamente dez vezes mais que o número de células e com 100 vezes mais conteúdo genômico, em relação ao genoma humano (LEY et al., 2006; THURSBY; JUGE, 2017). Os genes presentes na microbiota são responsáveis por diversas funções essenciais à sobrevivência do hospedeiro. Nos indivíduos adultos, a composição de bactérias é razoavelmente estável, sendo formada por autóctones (membros permanentes) e alóctones (membros transitórios adquiridos através de uma origem externa). A maior concentração de microrganismos e atividade metabólica ocorrem no intestino grosso e, a partir do íleo até o cólon, o número de bactérias cresce gradativamente (BEDANI, ROSSI, 2009). Sugere-se que a microbiota altera a sua composição e expressão gênica em resposta a mudanças nas condições ambientais, incluindo tipo de dieta, nível de estresse, estilo de vida, presença de doenças, uso de probióticos, de medicamentos e/ou de antibióticos e exposição a xenobióticos (WALSH et al., 2014). O estado alterado da ecologia microbiana é denominado disbiose, enquanto a interação normal entre as bactérias intestinais e seu hospedeiro é chamado simbiose.

O desenvolvimento da microbiota intestinal, desde o nascimento do indivíduo, pode ter importantes implicações a longo prazo, uma vez que o início da vida é um período crítico para as interações metabólicas do hospedeiro com os microrganismos. Cox et al. (2014) demonstraram, em camundongos, que o tipo de parto, o método de alimentação e a exposição a antibióticos na fase inicial da vida podem levar à modificação da microbiota e, conseqüentemente, a fenótipos metabólicos de longa duração, por vezes relacionados com obesidade e diabetes *melitus* do tipo II (DM II). Entretanto, ainda não é claro como e quando o intestino é inicialmente colonizado por bactérias. Estudos mais recentes sugerem que a colonização intestinal começaria desde o útero, ainda no período pré-natal, o que

desafia a noção atualmente aceita de que esse processo só inicia a partir do nascimento (WALKER et al., 2017).

A microbiota intestinal é diversa, ao passo que possui de 400 a 1000 espécies distintas de bactérias, sendo a maior parte formada por anaeróbicas estritas e, em menor parte, por aeróbicas (anaeróbicas facultativas). Essa diversidade poderia ser explicada pelo grande número de substratos fermentáveis disponíveis no intestino, provenientes, por exemplo, da dieta (BEDANI, ROSSI, 2009). Podem ser divididas em diferentes filos, sendo os gram-positivos os *Firmicutes* (maior filo do corpo humano) e Actinobactérias, e os gram-negativos os *Bacteroidetes*, *Proteobacteria* e *Verrucomicrobia* (LEUNG et al., 2016). Os gêneros anaeróbicos mais comuns em termos de concentração no TGI são *Bacteroidetes*, *Bifidobacterium*, *Eubacterium*, *Fusobacterium*, *Clostridium* e *Lactobacillus*. Entre os aeróbicos estão as bactérias Gram-negativas (*Escherichia coli* e *Salmonella* spp.) e os cocos Gram-positivos (*Enterococcus*, *Staphylococcus* e *Streptococcus*). Além de bactérias, espécies fúngicas aeróbicas, como a *Candida albicans*, também fazem parte da microbiota normal (NOVERR; HUFFNAGLE, 2004).

Um estudo realizado em humanos por Ley e colaboradores (2006), verificou que indivíduos obesos possuem maior concentração de *Firmicutes* e menor de *Bacteroidetes*, em relação a indivíduos com peso adequado. O mesmo estudo observou que a perda de peso levou à diminuição da concentração de *Firmicutes*. No mesmo ano, um estudo realizado em ratos verificou que a microbiota dos animais geneticamente obesos tem maior capacidade de armazenar energia (TURNBAUGH et al., 2006). Nesse contexto, a microbiota intestinal pode estar diretamente relacionada à regulação do peso corporal e ao desenvolvimento de doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) (SANZ; SANTACRUZ; DALMAU, 2009).

A microbiota intestinal desempenha funções nutricional, metabólica e endócrina, o que demonstra o seu impacto sobre a saúde (BEDANI, ROSSI, 2009). Uma das funções é o seu efeito de barreira, promovido pelos sítios de ligação celulares da mucosa, os quais promovem estímulo do sistema imunológico e aderência das células de defesa. Existem também outros sistemas de proteção adicionais, como a disputa por nutrientes disponíveis no meio, a produção de

substâncias restritivas ao crescimento de bactérias alóctones e a produção *in vivo* de substâncias com ação antimicrobiana (BRANDT, K.; SAMPAIO, M. M. S. C., MIUKI, C. J, 2006). Além disso, existe evidência de que a microbiota intestinal, a partir do eixo cérebro-intestino, influencia os sintomas relacionados ao estresse, ansiedade e tolerância à dor (WALSH et al., 2014).

A fermentação microbiana possui um papel essencial na transformação de carboidratos não digeríveis em ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), principalmente acetato, propionato e butirato, os quais são absorvidos por difusão passiva e servem como nutrientes para as células intestinais (SAVAGE, 1977; REYES et al., 2011). O butirato funciona como substrato energético do metabolismo celular do epitélio do cólon, enquanto o acetato e o propionato vão para o fígado e servem como substratos para gliconeogênese e lipogênese, fundamentais para a formação de glicose e ácidos graxos (SCOTT et al., 2013). Desta forma, a microbiota atua como formadora de nutrientes e contribui para o suprimento de vitaminas e regulação da lipogênese. Ainda, os AGCC desempenham um papel importante na determinação do ambiente intestinal, ao influenciar o pH, o trânsito intestinal, a absorção de nutrientes e o equilíbrio microbiano do intestino grosso (SLEETH et al., 2010). Além disso, tem sido proposto que o butirato reduz o risco de câncer de cólon em modelos animais e pode atuar como um fator trófico para células em tecidos intactos e inibir a expressão de citocinas pró inflamatórias, como TNF- α e IL-6 (BEDANI, ROSSI, 2009).

Devido à amplitude e à importância dos processos metabólicos, nutricionais e endócrinos realizados pela microbiota, ela foi chamada de “órgão oculto” (WALSH et al., 2014). Neste contexto, tem se tornado cada vez maior o interesse em manipular bactérias intestinais, com o objetivo de melhorar a saúde do hospedeiro (BEDANI, ROSSI, 2009).

1.2 PROBIÓTICOS

O termo “probiótico” provém do grego “pro bios”, que significa “para a vida”. São microorganismos vivos que, quando administrados em número suficiente para sobreviverem à passagem pelo TGI e proliferarem-se no intestino, são associados à efeitos benéficos em humanos e em animais (SOCCOL et al., 2013; WGO, 2017). O

objetivo final das intervenções por probióticos pode ser estabilizar ou melhorar a homeostase de microorganismos em uma área do corpo e reduzir a invasão e/ou a colonização por patógenos (VANDENPLAS; HUYS; DAUBE, 2015). Para promover um aumento na função da barreira intestinal, os probióticos podem aumentar a síntese de muco e reforçar as *tight junctions* existentes entre as células epiteliais, reduzindo a permeabilidade intestinal e a possibilidade de translocação bacteriana. Ainda, há relatos de que podem melhorar o trânsito gastrointestinal (HAMILTON-MILLER, 2004), reduzir inchaço ou formação de gases e melhorar a absorção de íons através dos enterócitos (BORTHAKUR et al., 2008).

De acordo com Saad (2006), os benefícios à saúde através da ingestão de probióticos são: controle da microbiota intestinal; estabilização da microbiota intestinal após o uso de antibióticos; promoção da resistência do TGI à colonização por patógenos; diminuição da concentração dos ácidos acético e láctico; melhora da digestão da lactose em indivíduos intolerantes à lactose; estímulo do sistema imune; redução de constipação e aumento da absorção de minerais e vitaminas.

Probióticos podem ser consumidos através dos alimentos, dos suplementos alimentares ou como parte de medicamentos registrados (VANDENPLAS; HUYS; DAUBE, 2015). Normalmente, os produtos probióticos fornecem entre 1 a 10 bilhões de unidades formadoras de colônias (UFC) por dose. Porém, a dose necessária varia conforme a cepa e o produto, pois alguns demonstraram ser eficazes em níveis mais baixos, enquanto outros requerem quantidades maiores. Nesse sentido, a dose geral necessária de probióticos deve ser baseada em estudos com seres humanos, o quais demonstram benefícios para a saúde (WGO, 2017).

Em 2002, a FAO/OMS criou as primeiras diretrizes para a avaliação dos probióticos dos alimentos. Foi reconhecido que devem existir condições determinadas para que seja reconhecido um probiótico. São estas: conhecimento da espécie de cada cepa através de metodologia atual e válida; realização de testes *in vitro* para determinar segurança, cepas, o mecanismo do efeito probiótico e os efeitos adversos possíveis; realização de testes *in vivo*, tanto em animais quanto em humanos; existência de Boas Práticas de Fabricação para os produtos probióticos comercializados e garantia de qualidade e de condições de vida de prateleira

(FAO/WHO, 2002). Em 2017, novas diretrizes mundiais da Organização Mundial de Gastroenterologia a respeito de probióticos e prebióticos foram publicadas (WGO, 2017). De acordo com as mesmas, as cepas de probióticos são identificadas segundo seu gênero, espécie, subespécie (se corresponder) e uma denominação alfanumérica que identifica uma cepa específica. A comunidade científica acordou uma nomenclatura para os microrganismos—por exemplo, *Lactobacillus casei* DN-114 001 ou *Lactobacillus rhamnosus* GG. Entretanto, os nomes comerciais são registrados pelos fabricantes de probióticos (WGO, 2017).

Na prática clínica, as recomendações para o uso de probióticos devem associar cepas específicas com os benefícios encontrados através de estudos realizados em seres humanos. Algumas cepas e conjuntos de cepas possuem propriedades únicas, as quais podem explicar atividades específicas neurológicas, imunológicas e/ou antimicrobianas (WGO, 2017). Os gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*, os quais são os mais utilizados e estão presentes em iogurtes, produtos lácteos fermentados e em suplementos alimentares (SOCCOL et al., 2013), têm histórico de segurança extenso e efeitos adversos pouco relatados (VANDENPLAS; HUYS; DAUBE, 2015). Alguns indivíduos podem sentir um discreto aumento na produção de gases, desconforto abdominal e/ou diarreia. Estes sintomas estão relacionados à morte de microorganismos indesejáveis no ambiente intestinal, os quais liberam produtos celulares tóxicos. Esta reação deve diminuir com a continuidade do uso de probióticos (GIBSON et al., 2017).

Bifidobacterium são normalmente caracterizadas como anaeróbicas, gram-positivas, não móveis e catalase negativas. Atualmente, 30 espécies estão incluídas no gênero, 10 das quais são de origem humana (cárie, fezes e vagina), 17 do TGI de animais ou rúmen, duas de águas residuárias e uma de leite fermentado (GOMES; MALCATA, 1999). São bactérias muito importantes para o ecossistema do TGI, cuja proporção é determinada principalmente pela idade e pela dieta do indivíduo. Quanto mais avançada a idade, menor o número de *Bifidobacterium* (SOCCOL et al., 2013). Os *Lactobacillus*, por sua vez, são caracterizados como bastonetes ou cocobacilos gram-positivos, não formadores de esporos e não flagelados, podendo ser aerotolerantes ou anaeróbicos. Gomes e Malcata (1999) relataram que 56 espécies do gênero *Lactobacillus* foram reconhecidas em 1999. Sua distribuição é afetada por

vários fatores ambientais, como pH, disponibilidade de oxigênio, nível de substratos específicos, presença de secreções e interações bacterianas. Raramente são associados a casos de infecção gastrointestinal e têm a reputação de promotores de saúde, especialmente nos tratos gastrintestinal e geniturinário humano (SALMINEN; ISOLAURI; SALMINEN, 1996). Ainda, outros microorganismos, como esporos de *Bacillus*, têm sido utilizados como probióticos há pelo menos 50 anos. Algumas espécies são: *Bacillus subtilis*, *Bacillus clausii*, *Bacillus cereus*, *Bacillus coagulans* e *Bacillus licheniformis*, os quais apresentam vantagens, como a resistência ao calor e a capacidade de atingir o intestino delgado, uma vez que sobrevivem ao pH gástrico do estômago (SALMINEN; ISOLAURI; SALMINEN, 1996).

1.3 PREBIÓTICOS

O conceito de prebióticos é mais recente do que o de probióticos e foi proposto inicialmente por Gibson e Roberfroid (1995). São definidos como ingredientes alimentares de origem vegetal, constituídos principalmente por polissacarídeos não amido e oligossacarídeos, não digeríveis, os quais são fermentados no intestino e modulam a microbiota de maneira benéfica para o hospedeiro (LAMBERT et al., 2015). São encontrados na cebola, chicória, alho, alcachofra, cereais, aspargos, raízes de almeirão, beterraba, banana verde, trigo e tomate, assim como podem estar presentes no mel, açúcar mascavo e em tubérculos, como yacon e bulbos (RAIZEL et al., 2011).

Os prebióticos servem como fonte de alimento para os membros benéficos da comunidade bacteriana comensal, promovendo a saúde (WGO, 2017). Há mais de 20 anos, os frutooligossacarídeos (FOS), inulina, lactulose e galactooligossacarídeos (GOS) são denominados como prebióticos, pois enriquecem *Lactobacillus* e/ou *Bifidobacterium*. Hoje, porém, o conceito de prebióticos expandiu-se devido aos avanços nas pesquisas envolvendo a microbiota, as quais possibilitaram a percepção de que uma gama mais ampla de microorganismos benéficos é afetada por prebióticos e também que estes podem agir em sítios extraintestinais, direta ou indiretamente (GIBSON et al., 2017).

Atualmente, os efeitos dos prebióticos para a saúde incluem benefícios para o TGI (por modificar a integridade da barreira intestinal e a translocação de lipopolissacarídeos (LPS), por inibir a proliferação de patógenos e por estimular o sistema imunológico), para o metabolismo cardiovascular (por reduzir os níveis de lipídios sanguíneos, com efeitos sobre a resistência à insulina (RI)), para a saúde mental (por estimular metabólitos que influenciam a função cerebral, energia e cognição) e para o metabolismo ósseo (GIBSON et al., 2017; LAMBERT et al., 2015). LPS são endotoxinas constituídas por lipídios e por polissacarídeos e componentes de muitas bactérias presentes na microbiota intestinal (TILG; MOSCHEN, 2010).

Existem diversos estudos em animais e em humanos que apontam o potencial dos prebióticos no tratamento da DHGNA, obesidade e RI. Aumentos nos hormônios da saciedade, incluindo peptídeo-1 semelhante ao glucagon (GLP-1) e peptídeo YY (PYY) e decréscimos no hormônio orexígeno grelina, contribuem para esse potencial (LAMBERT et al., 2015). Além disso, os benefícios metabólicos dos prebióticos foram avaliados em uma recente revisão sistemática com 26 ensaios clínicos randomizados, publicada em 2014, na qual os prebióticos mostraram aumentar a saciedade e melhorar os níveis de glicose pós-prandiais e de insulina em indivíduos obesos e eutróficos saudáveis (KELLOW; COUGHLAN; REID, 2014). Desta forma, podem melhorar a RI.

1.4 SIMBIÓTICOS

Como anteriormente mencionado, os probióticos são definidos como uma cultura de microrganismos vivos que podem ter benefícios para a saúde do hospedeiro, se consumidos em quantidades adequadas. Os prebióticos, por sua vez, contêm um grupo de fibras dietéticas fermentáveis que conferem benefício à saúde do hospedeiro, os quais estimulam o crescimento e a sobrevivência dos probióticos. Assim, o termo simbiótico refere-se à combinação de probiótico e prebiótico, em uma forma de sinergismo (HADI; VETTOR; ROSSATO, 2018).

Estudos anteriores e atuais relataram que os simbióticos possuem efeito potencialmente mais forte na modulação da microbiota intestinal, quando comparados aos probióticos ou os prebióticos isolados (EBRAHIMI et al., 2017; HADI; VETTOR;

ROSSATO, 2018; KHALESI et al., 2018; TABRIZI et al., 2017;). Ferolla et al. (2016) e Mofidi et al. (2017) sugerem que a suplementação simbiótica pode melhorar o metabolismo lipídico, a RI, os mediadores inflamatórios e os marcadores de enzimas hepáticas, ao modular e alterar a composição da microbiota intestinal. No entanto, as evidências existentes divergem sobre os possíveis efeitos da suplementação simbiótica no manejo clínico de pacientes com DHGNA.

1.5 DOENÇA HEPÁTICA GORDUROSA NÃO ALCOÓLICA

A DHGNA é atualmente a causa mais comum de doença hepática no mundo todo, tanto em adultos quanto em crianças e adolescentes (CHU; WILLIAMS; SCHNABL, 2018). A doença é caracterizada pelo acúmulo hepático de triglicerídeos (TG) e de ácidos graxos livres e ocorre na ausência da ingestão alcoólica excessiva (NASCIMBENI et al., 2013) e na ausência de hepatites virais crônicas, erros inatos do metabolismo, lipodistrofia, síndrome de Rye, HELLP (*Hemolysis, Elevated Liver enzymes, Low Platelet count*) síndrome, nutrição parenteral, abetalipoproteinemia, uso de medicamentos que possam induzir esteatose hepática (como amiodarona, tamoxifeno e anti-retrovirais) ou de outras de doenças do fígado, como a doença de Wilson (CHALASANI et al., 2012). Conforme as recomendações americanas (*American Association for the Study of Liver Diseases, American College of Gastroenterology e American Gastroenterological Association NAFLD Guideline*), considera-se o consumo seguro de álcool inferior a menos de 21 unidades de etanol na semana para homens e, para mulheres, menos de 14 (CHALASANI et al., 2012).

A DHGNA é definida como a presença de esteatose hepática maior ou igual a 5% e sem evidência de lesão hepatocelular. Engloba desde a esteatose simples até a progressão para esteatohepatite não alcoólica (EHNA), fibrose, cirrose e carcinoma hepatocelular (BENEDICT; ZHANG, 2017). A EHNA, por sua vez, é também definida como a presença de esteatose hepática maior ou igual a 5%, porém com inflamação e lesão de hepatócitos, com ou sem fibrose (CHALASANI et al., 2012). A inflamação desenvolve-se quando o influxo de ácidos graxos para o fígado supera os mecanismos fisiologicamente adaptativos, o que leva à formação de espécies reativas de oxigênio, estresse do retículo endoplasmático e disfunção e lesão hepatocelulares. A lesão celular leva à ativação da via imunológica e apoptótica, o que resulta em morte

celular e, à longo prazo, em fibrose e em desenvolvimento de cirrose (ARAB; ARRESE; TRAUNER, 2018).

Clinicamente, os pacientes com a DHGNA são normalmente assintomáticos e tendem a ser obesos, hipertensos, dislipidêmicos, hipertrigliciridêmicos, com RI e/ou com DM II. Estes se associam à hipertensão arterial (HAS) e à síndrome metabólica (SM), as quais são fatores de risco para doenças cardiovasculares (DCV) (VERNON; BARANOVA; YOUNOSSI, 2011; SOCIEDADE BRASILEIRA DE HEPATOLOGIA). As DCV, por sua vez, são a maior causa de morte em pacientes com DHGNA, independentemente de outras comorbidades metabólicas (CHALASANI et al., 2012). Ainda, as dietas que seguem um padrão ocidentalizado, como aquelas com alto consumo de carnes vermelhas, embutidos, grãos refinados, bolos e bebidas açucaradas, estão associadas a maior probabilidade de desenvolvimento de RI e de DHGNA (SATAPATHY; SANYAL, 2015). Por exemplo, o consumo diário de frutose, um dos principais constituintes de produtos industrializados, está associado com aumento da inflamação hepática e de fibrose em humanos (STANHOPE et al., 2009). Já a ingestão frequente de ácidos graxos trans, que teve o seu consumo aumentado drasticamente nas últimas décadas, foi associada ao desenvolvimento de lesões semelhantes às de RI e de EHNA nos fígados de camundongos (TETRI et al., 2008).

A prevalência da doença é alta mundialmente, sendo que em 2011 a taxa era entre 10 a 30% nos Estados Unidos e similar na Europa e na Ásia (VERNON; BARANOVA; YOUNOSSI, 2011). Ainda, estima-se que $\frac{1}{3}$ dos pacientes em estágio inicial da DHGNA irá progredir para os estágios 3 ou 4 de fibrose (cirrose) em um período de 5 a 10 anos. Em países do ocidente, 4 a 22% dos casos de carcinoma hepatocelular são atribuídos à DHGNA (MICHELOTTI; MACHADO; DIEHL, 2013). De fato, a doença foi projetada para se tornar, nos próximos 20 anos, a principal causa de morbidade e de mortalidade relacionada ao fígado, bem como uma indicação importante para o transplante de fígado (CALZADILLA BERTOT; ADAMS, 2016).

Não existem muitos estudos epidemiológicos com a prevalência de DHGNA na América do Sul e no Brasil (SAYINER et al., 2016). A Monteiro et al. (2013) avaliaram a composição corporal e perfil metabólico de 190 jovens obesos (de 6 a 16 anos) em São Paulo. Foi concluído que 18,7% apresentavam SM, 25,7% apresentavam DHGNA

e 9,1% apresentavam tanto DHGNA quanto SM. Um outro estudo, realizado no Distrito Federal por Karnikowski et al. (2007), em uma população de 139 pacientes com mais de 55 anos, sendo a maioria dislipidêmica e diabética, mostrou prevalência de DHGNA de 35,2%. Feijó et al. (2013) analisaram 60 indivíduos adultos obesos submetidos à cirurgia bariátrica. A DHGNA foi diagnosticada em 95% dos pacientes, sendo que 42,1% tiveram grau de esteatose de moderado à severo e 66,6% preencheram todos os critérios histológicos para EHNA, conforme descrito por Brunt et al. (1999).

As alterações bioquímicas mais frequentes nos pacientes com a DHGNA são o aumento de alanina aminotransferase (ALT) e de aspartato aminotransferase (AST), assim como de fosfatase alcalina (ALP) e de gama-glutamiltranspeptidase (GGT) séricas (RATZIU et al., 2000). Outras alterações podem incluir hipoalbuminemia, tempo de pró-trombina prolongado e hiperbilirrubinemia. Entretanto, o teste diagnóstico considerado padrão-ouro para confirmar a suspeita clínica de DHGNA é a biópsia hepática, pois também revela informações quanto à evolução da patologia, severidade do dano hepático e grau de fibrose (VONTOBEL PADOIN, 2008). Outros exames de imagem não invasivos podem auxiliar e identificar pacientes com maior risco de apresentar as formas evolutivas da doença, como a ultrassonografia (US), especialmente quando a esteatose excede 30%, ou a ressonância magnética (MRI) com espectroscopia para esteatoses menos intensas (de 5 a 30%). Já a elastografia hepática foi o primeiro exame desenvolvido para medir a elasticidade do fígado como alternativa à biópsia (SOCIEDADE BRASILEIRA DE HEPATOLOGIA). Ainda, pode-se aplicar pontuações, como o *NAFLD fibrosis score* (NFS), que são fáceis de serem utilizadas e auxiliam no diagnóstico e estadiamento de pacientes. O NFS avalia seis variáveis: idade, hiperglicemia, índice de massa corporal (IMC), contagem de plaquetas, albumina e a razão AST/ASLT. A fórmula utilizada é igual a $-1,675 + 0,037 \times \text{idade (anos)} + 0,094 \times \text{IMC (kg/m}^2) + 1,13 \times \text{Pré-DM2 (sim=1; não=0)} + 0,99 \times \text{AST/ALT} - 0,013 \times (\text{plaquetas} \times 109/\text{L}) - 0,66 \times \text{albumina (g/dL)}$. Valores abaixo de -1,455 excluem fibrose avançada, valores de -1,455 a 0,676 apresentam probabilidade intermediária de fibrose avançada e valores acima de 0,676 indicam alta probabilidade de fibrose avançada. Já, para avaliar a RI, utilizam-se as fórmulas descritas no **quadro 1**.

Quadro 1 – fórmulas para estimação de RI

Nome	Fórmula	Nível que sugere resistência à insulina
HOMA-IR	$\text{Insulina de jejum (um/L)} \times \text{glicemia de jejum (mmol/L)} / 22.5$	> 1,8 a 2,0
QUICKI	$1 / \log (\text{insulina de jejum U/mL}) + \log (\text{glicose de jejum mg/dL})$	< 0,35
Estimativa grosseira	$\text{Insulina de jejum} \times \text{glicose de jejum}$	> 700

HOMA-IR: *homeostasis model assessment*; QUICKI: índice quantitativo de verificação da sensibilidade à insulina.

1.6 MICROBIOTA INTESTINAL E A DHGNA

A microbiota intestinal alterada está associada à promoção da DHGNA e também desempenha um papel na transição da doença moderada à doença mais grave (ou na progressão da DHGNA para EHNA) (CHASSAING; ETIENNE-MESMIN; GEWIRTZ, 2014). Em termos embriológicos, o intestino e o fígado estão intrinsecamente relacionados, uma vez que, durante o desenvolvimento embrionário, o fígado forma-se diretamente do intestino anterior. A veia porta forma um caminho entre o fígado e o intestino e, embora as bactérias intestinais estejam presentes no lúmen intestinal e na camada externa de muco, é possível imaginar que uma minoria possa, ocasionalmente, romper o epitélio intestinal e chegar ao fígado (CHASSAING; ETIENNE-MESMIN; GEWIRTZ, 2014).

Em 1998 foi proposta a teoria dos dois hits (ou etapas), em que o primeiro “hit” seria o desenvolvimento da esteatose hepática, enquanto o segundo “hit” seria a progressão para EHNA/fibrose, por meio de uma resposta inflamatória no fígado esteatótico (DAY; JAMES, 1998). Os LPS desempenham um papel central nas respostas imunes inatas e eram considerados o “segundo hit”. Entretanto, como a DHGNA sofre influência genética, comportamental e ambiental, a teoria dos múltiplos hits (ou etapas) tem sido proposta atualmente para explicar a fisiopatologia da doença (TILG; MOSCHEN, 2010).

Vários mecanismos podem levar à esteatose hepática: 1) o aumento do suprimento de ácidos graxos livres devido à lipólise de tecido adiposo e/ou pela alta ingestão de gordura proveniente da dieta; 2) a diminuição da oxidação de gordura livre; 3) o aumento da lipogênese hepática *de novo* (via enzimática de conversão de carboidratos a gordura) e 4) a diminuição da secreção hepática de lipoproteína de baixa densidade (VLDL). Importante expor que a RI piora a disfunção dos adipócitos, induz lipogênese hepática de novo e libera de adipocinas pró-inflamatórias, como IL-6, IL-1 β e TNF- α , que também exacerba o estado de RI (HADI; VETTOR; ROSSATO, 2018).

Alguns pacientes com EHNA podem apresentar elevada ou baixa esteatose, mas possuem mediadores pró inflamatórios elevados, sugerindo que a inflamação, a qual resulta em uma resposta ao estresse dos hepatócitos, pode preceder a esteatose em EHNA. Ainda, mesmo que a DHGNA esteja relacionada à obesidade, o excesso de massa de gordura isolado não é um requisito para o surgimento da doença, uma vez que pacientes com lipodistrofia, por exemplo, apresentam RI e comumente desenvolvem esteatose hepática e DM II, mesmo sem excesso de peso (TILG; MOSCHEN, 2010).

O aumento do conteúdo de TG intra-hepático, ainda, pode ser considerado uma resposta adaptativa e benéfica em situações em que os hepatócitos são expostos a metabólitos potencialmente tóxicos. Dessa forma, há evidências que o acúmulo de gordura no fígado pode não ser necessariamente uma doença ou uma causa da RI, mas sim um marcador, em resposta fisiológica a, por exemplo, o aumento do consumo calórico.

1.7 DHGNA E INFLAMAÇÃO

Embora a DHGNA e EHNA sejam complexas e multifatoriais, sabe-se que a inflamação desempenha um papel central nessas doenças. Os receptores Toll-like (TLRs) são uma família de proteínas transmembrana, fazem parte do sistema imunológico inato e reconhecem diferentes antígenos. Estão presentes na membrana plasmática de células imunes (monócitos, macrófagos, célula de Kupffer e pré-adipócitos) e não imunes (adipócitos, hepatócitos e células endoteliais) (CANI et al.,

2007) e podem responder a lipídios provenientes da dieta e ter um papel na patogênese da inflamação associada à obesidade e à RI (TILG; MOSCHEN, 2010). Quando a permeabilidade intestinal está aumentada devido, por exemplo, à disbiose intestinal, os níveis plasmáticos circulantes de LPS podem ser afetados. À circulação de LPS na corrente sanguínea é dado o nome de endotoxemia (GHANIM et al., 2009). Como os LPS são fortes ligantes dos TLR4, são desencadeadas diversas vias de sinalização que podem levar à inflamação, principalmente através do fator nuclear kappa B (NF- κ B) e da proteína quinase ativada por mitógeno (MAPK). A translocação do NF- κ B do citosol para o núcleo promove a ativação de genes que codificam proteínas como TNF- α e IL-6, enquanto a via de das MAPK inclui quinases como quinase c-Jun N-terminal (JNK) e quinase regulada por sinal extracelular (ERK) que podem levar a RI. Como a RI induz um processo de hiperglicemia, observa-se uma hiperinsulinemia compensatória, condição que assume papel importante nos distúrbios metabólicos associados à obesidade e DM II (MOREIRA, 2013). Um estudo demonstrou que camundongos deficientes em TLR4 foram protegidos da inflamação induzida por dieta hiperlipídica e protegidos da RI (TSUKUMO et al., 2007).

Ao mesmo tempo, as células de Kupffer do fígado são bastante sensíveis ao LPS, mesmo em baixa dosagem, o que está ligado à regulação positiva de CD12 por sinalização mediada por leptina (CHASSAING; ETIENNE-MESMIN; GEWIRTZ, 2014). Desta forma, a expressão de CD12 e a alta afinidade por LPS foram observadas nas células de Kupffer de camundongos com esteatose induzida por dieta, mas não em camundongos-controle alimentados com ração (IMAJO et al., 2012). Ainda, outras células hepáticas, como as estreladas, podem responder à produtos microbianos em baixas doses. Já o supressor de sinalização de citocinas 1 (SOCS1), responsável pelo feedback negativo na sinalização de citocinas induzido por estímulo de TLR, desempenha um papel protetor na lesão hepática (CHASSAING; ETIENNE-MESMIN; GEWIRTZ, 2014). Estudos demonstram que camundongos deficientes em SOCS1 apresentaram hepatite fulminante, caracterizada por inflamação hepática e necrose de hepatócitos (NAKA; FUJIMOTO, 2010; STARR et al., 1998). Nesse sentido, a hipótese de diversos autores é que os níveis aumentados de TLR pela microbiota intestinal podem desempenhar um papel na doença hepática inflamatória crônica (CHASSAING; ETIENNE-MESMIN; GEWIRTZ, 2014) e evidências de que a DHGNA é conduzida por respostas ao LPS e a outros produtos microbianos incluem

observações de que em camundongos livres de germes não há manifestação da SM de doenças do fígado induzida por dieta (CHASSAING; ETIENNE-MESMIN; GEWIRTZ, 2014).

De maneira geral, esses achados sugerem que o aumento da incidência de DHGNA pode, em parte, ser resultado do aumento do consumo de dietas ocidentais ricas em frutose e em gorduras trans, causando uma ativação do sinal pró-inflamatório de forma exacerbada devido ao aumento da permeabilidade intestinal e/ou alteração na composição da microbiota intestinal. Um dos efeitos disso no metabolismo é o controle desregulatório do apetite, o que amplia os eventos que podem conduzir a DHGNA e RI (CHASSAING; ETIENNE-MESMIN; GEWIRTZ, 2014).

Além disso, pacientes com a DHGNA podem, através da microbiota, produzir mais álcool (alcoolemia endógena) e, conseqüente, aumentar o estresse oxidativo e a esteatose hepática, assim como colaborar com a evolução da doença para EHNA. Alguns estudos sugerem que a produção do etanol endógeno pode estimular ainda mais a síntese de LPS pelas bactérias intestinais e liberar citocinas pró inflamatórias, como o TNF- α e a IL-6 (REVISTA SBH SAÚDE, CULTURA E ATUALIZAÇÕES, 2016).

1.8 MANEJO DA DHGNA

O manejo da DHGNA consiste em tratar as comorbidades metabólicas associadas, como obesidade, dislipidemia e DM II. Nesse sentido, é indicado modificar o estilo de vida através da prática de atividade física regular e de alimentação saudável, sendo a perda de peso a chave para melhorar as características histopatológicas da doença e diminuir o risco cardiovascular (CHALASANI et al., 2012). Estudos sugerem que a diminuição na ingestão calórica em pelo menos 30% do valor energético total (VET) ou em aproximadamente 750-1000 kcal/dia resulta em melhora na RI e na esteatose hepática (KIRK et al., 2009; HAUFE et al., 2011). Outra recomendação seria a dieta mediterrânea, que, quando foi comparada a uma dieta pobre em gordura e rica em carboidratos por 6 semanas, mostrou melhora significativa da esteatose hepática e da RI (RYAN et al., 2013).

Existem evidências de que alguns fármacos, como a Metformina e as tiazolidinodionas (TZDs), como rosiglitazona e pioglitazona, e antioxidantes, como a vitamina E, podem ser eficazes para melhorar alguns parâmetros da DHGNA e da EHNA. Estudos pilotos e ensaios clínicos demonstram melhora na histologia do fígado, nas enzimas hepáticas, na RI e/ou na esteatose hepática com o uso de Metformina em indivíduos com DHGNA (IDILMAN et al., 2008; GARINIS et al., 2010; BUGIANESI et al., 2005). Entretanto, uma revisão sistemática realizada em 2011, a qual considerou um período de 6 a 12 meses de terapia com Metformina, não demonstrou melhora significativa nas aminotransferases ou na histologia hepática, quando comparado à intervenção no estilo de vida isolada (VERNON; BARANOVA; YOUNOSSI, 2011). Ensaios clínicos randomizados (ECRs) demonstram que TZDs podem melhorar os escores inflamatórios e a esteatose, porém sem mudança significativa na fibrose (SANYAL et al., 2010; GASTALDELLI et al., 2009) e com efeitos colaterais e aumento da incidência de desfechos negativos (LINCOFF et al., 2015). ECRs também demonstram uma modesta melhora na bioquímica e histologia hepáticas com a administração de vitamina E (HADI; VETTOR; ROSSATO, 2018).

Sabendo que o aumento na ativação do sinal pró inflamatório desempenha um papel central na doença hepática, pode-se pensar que antagonizar diretamente alguns receptores, como os TLR4, ou reduzir a permeabilidade intestinal poderiam ser bons meios para tratar ou prevenir a DHGNA. Entretanto, uma importante advertência a ser considerada é que o antagonismo da sinalização imune inata pode resultar em maior disbiose bacteriana e, em última instância, impulsionar a expressão gênica pró-inflamatória por meio de outros receptores imunes inatos. Nesse contexto, parece ser mais eficaz alterar diretamente a microbiota intestinal e restaurá-la a um estado de simbiose, por meio da alimentação saudável, administração de prebióticos, probióticos e/ou antibióticos (como Polimixina B e neomicina) ou por transplante de microbiota (CHASSAING; ETIENNE-MESMIN; GEWIRTZ, 2014).

Conforme as Diretrizes Mundiais da Organização Mundial de Gastroenterologia a respeito de Probióticos e Prebióticos, de 2017, os probióticos podem contribuir para a melhora de HOMA-IR (*homeostasis model assessment*), colesterolemia e níveis de TNF- α , ALT e AST, com base em ECRs realizados em crianças e adultos com DHGNA e EHNA. Os estudos avaliados em relação à DHGNA são pertencentes aos autores:

Nabavi et al. (2016) (os quais utilizaram 300g/dia de iogurte enriquecido com *L. acidophilus* La5 e *Bifidobacterium lactis* Bb12), Eslamparast et al. (2014) e Shavakhi et al. (2013) (os quais utilizaram uma mistura de *Lactobacillus casei*, *L. rhamnosus*, *Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium breve*, *L. acidophilus*, *B. longum* e *L. bulgaricus* com FOS, pelo menos 107 UFC, duas vezes ao dia). Já os estudos avaliados em relação à EHNA são pertencentes aos autores: Aller et al. (2011) (os quais utilizaram um comprimido com 500 milhões de *Lactobacillus bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus* uma vez ao dia) e Malanguarnera et al. (2012) (os quais utilizaram 5 bilhões de *Bifidobacterium longum* W11 e FOS, uma vez ao dia). As diretrizes deixam claro que há a necessidade de confirmar os benefícios a longo prazo com estudos adicionais (WGO, 2017).

2 JUSTIFICATIVA

Sabe-se que a DHGNA é uma patologia emergente e fortemente associada à SM, obesidade, dislipidemia, hiperinsulinemia e RI. Atualmente, não há um tratamento específico da doença, sendo recomendado aos pacientes modificações no estilo de vida, como a prática de atividade física regular e de adoção de uma alimentação saudável, com a finalidade de redução de peso, melhora das características histopatológicas da doença e diminuição do risco cardiovascular associado. Entretanto, sabe-se que a maioria dos pacientes tem dificuldade em aderir a programas de redução de peso e as taxas de reganho são muito altas. Nesse sentido, há espaço para tratamentos adjuvantes, especialmente aqueles que apresentam poucos efeitos colaterais e que sejam de fácil adesão. Devido à recente descrição das interações entre o fígado e a microbiota intestinal, vem crescendo o número de ECRs com probióticos nessa população, o que revela a importância de avaliação da literatura científica nesta temática. Neste contexto, esta revisão sistemática consiste em avaliar a eficácia das terapias com probióticos na modulação da função hepática, metabolismo, RI e inflamação em indivíduos com a DHGNA.

3 HIPÓTESE

As evidências científicas demonstram que as intervenções com probióticos são efetivas para melhorar parâmetros bioquímicos e/ou histológicos de pacientes com DHGNA.

4 OBJETIVO

4.1 OBJETIVO GERAL

Verificar na literatura os possíveis efeitos da suplementação com probióticos e alterações em parâmetros bioquímicos e/ou histológicos em pacientes com DHGNA, envolvendo estrutura e enzimas hepáticas e os perfis lipídico, glicêmico e inflamatório.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Analisar o tempo de intervenção e relacionar aos desfechos;
- b) Analisar o tipo de probiótico e a forma de administração utilizados e relacionar aos desfechos.

5 MÉTODOS

Foi realizada uma revisão da literatura por meio de artigos selecionados em inglês, espanhol e português, nas bases de dados MEDLINE/Pubmed e Embase, com informações sobre DHGNA, microbiota e probióticos. Duas revisoras independentes, BCA e CBC, realizaram a busca e a seleção de artigos, publicados até Abril de 2018. Através dos títulos e resumos dos artigos foi determinada a leitura completa para inclusão no trabalho. A extração de dados foi realizada separadamente pelas revisoras. Divergências ou dúvidas, caso presentes, foram discutidas com uma revisora sênior, VDA. Esta revisão foi elaborada de acordo com as recomendações estabelecidas pelo PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analysis) (LIBERATI et al., 2009), descrito na **figura 1**.

Foram incluídos ensaios clínicos com participantes de qualquer idade, sexo ou etnia, diagnosticados com DHGNA ou EHNA, a partir de exames radiológicos, histológicos ou por US. Foram desconsiderados editoriais, cartas, resumos, revisões, estudos experimentais, artigos sem relação com a DHGNA e/ou com o uso de probióticos e com tempo de intervenção menor do que 4 semanas. Os desfechos de interesse foram as alterações hepáticas por meio de exames de imagem e/ou pelo menos um dos seguintes itens: ALT, AST, CT, LDL, HDL, TNF- α , HOMA-IR, níveis de ILs, FBG, GGT, QUICKI, leptina e insulina.

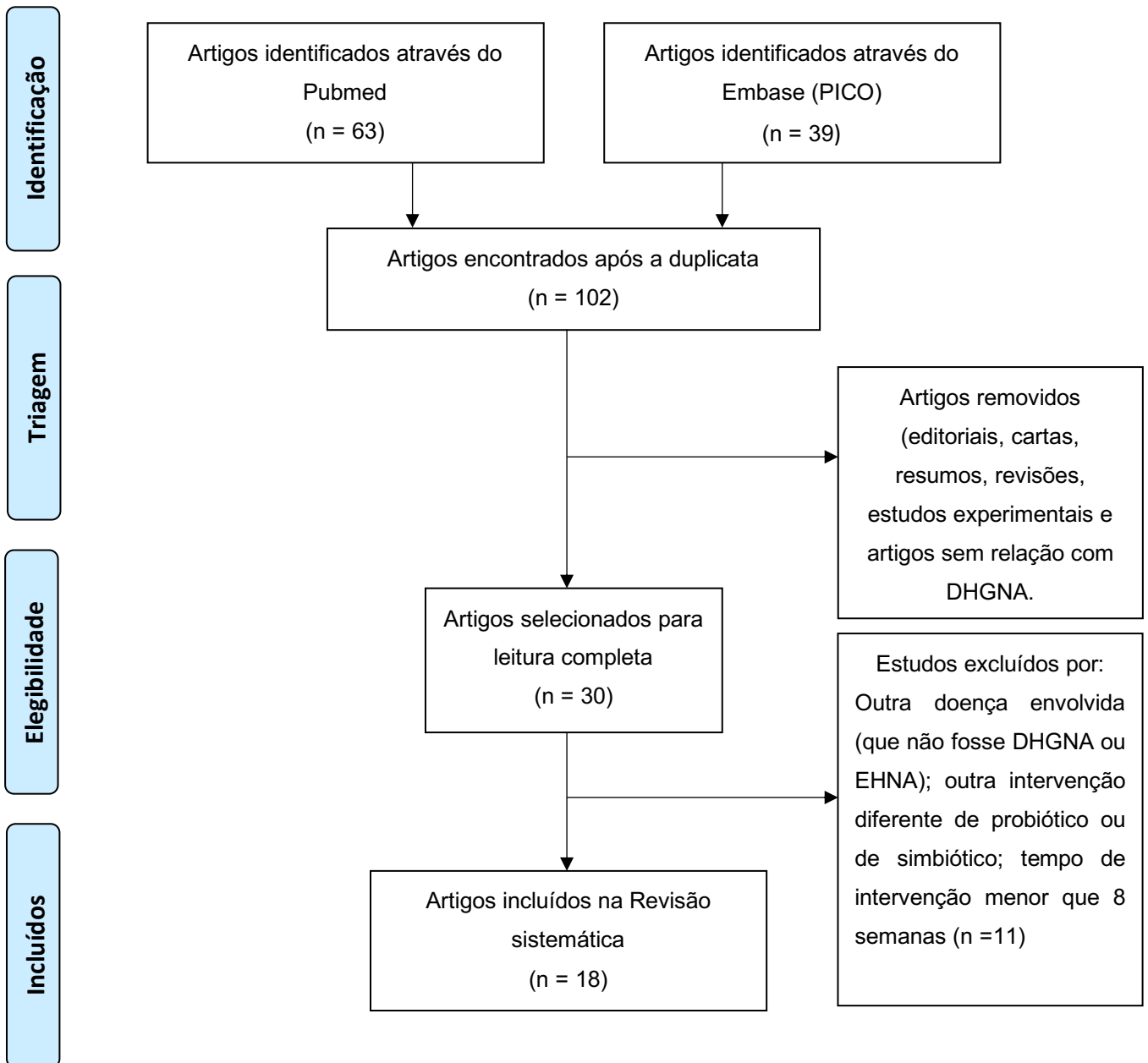
Para a pesquisa realizada no MEDLINE/Pubmed, foi utilizada a seguinte estratégia de busca: (((("Non-alcoholic Fatty Liver Disease"[Mesh] OR "Non alcoholic Fatty Liver Disease" OR "NAFLD" OR "Nonalcoholic Fatty Liver Disease" OR "Fatty Liver, Nonalcoholic" OR "Fatty Livers, Nonalcoholic" OR "Liver, Nonalcoholic Fatty" OR "Livers, Nonalcoholic Fatty" OR "Nonalcoholic Fatty Liver" OR "Nonalcoholic Fatty Livers" OR "Nonalcoholic Steatohepatitis" OR "Nonalcoholic Steatohepatitides" OR "Steatohepatitides, Nonalcoholic" OR "Steatohepatitis, Nonalcoholic")) AND ("Probiotics"[Mesh] OR "Probiotic")) AND (((randomized controlled trial[pt] OR controlled clinical trial[pt] OR randomized controlled trials[mh] OR random allocation[mh] OR double-blind method[mh] OR single-blind method[mh] OR clinical trial[pt] OR clinical trials[mh] OR ("clinical trial"[tw]) OR ((singl*[tw] OR doubl*[tw] OR trebl*[tw] OR tripl*[tw]) AND (mask*[tw] OR blind*[tw])) OR ("latin square"[tw]) OR

placebos[mh] OR placebo*[tw] OR random*[tw] OR research design[mh:noexp] OR follow-up studies[mh] OR prospective studies[mh] OR cross-over studies[mh] OR control*[tw] OR prospectiv*[tw] OR volunteer*[tw]) NOT (animal[mh] NOT human[mh])))). Com base nesta pesquisa, foram encontrados 63 artigos, de 2007 até 2018, e 11 ECRs foram selecionados.

Para a pesquisa realizada no Embase, foi utilizado o método PICO, com os seguintes termos e seus sinônimos: “Nonalcoholic Fatty Liver Disease” para população, “Probiotcs” para intervenção, “placebo” para comparação e “randomized controlled trial” para modelo de estudo. Não foi utilizado nenhum termo para “desfecho”. Com base nesta pesquisa, foram encontrados 39 artigos, entre os anos de 2008 e 2018, e 9 ECRs foram selecionados. PICO representa um acrônimo para paciente, intervenção, comparação e *outcomes* (desfechos) (DA COSTA SANTOS, DE MATTOS PIMENTA, 2007).

Os resultados foram compilados em tabelas, as quais relatam as características dos 18 estudos analisados, incluindo autor, ano de publicação, país de origem, intervenção, tempo, divisão de grupos, desfechos, resultados, limitação (ou viés) do estudos e os benefícios da suplementação com probióticos e simbióticos sobre a estrutura e enzimas hepáticas e perfis lipídico, glicêmico e inflamatório em pacientes com DHGNA ou EHNA. A qualidade metodológica e o risco de viés dos estudos incluídos foram avaliados independentemente por duas revisoras.

Figura 1 - Fluxograma de identificação e seleção de artigos



Fonte: (LIBERATI et al., 2009).

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados dos estudos incluídos nesta revisão sistemática estão apresentados nas tabelas 1 e 2. Foram encontrados dois artigos pertencentes ao mesmo ensaio clínico (ASGHARIAN et al., 2016; ASGHARIAN et al. 2017). Nesse sentido, os dados dos dois artigos foram agrupados e apresentados juntos, totalizando 18 artigos e 981 indivíduos com diagnóstico de DHGNA (67 %) ou de EHNA (33 %) analisados. Destes, oito avaliaram o uso de probióticos (sendo que um avaliou o modo de administração através de sachê, um através de iogurte e os demais através de cápsulas) (ALISI et al., 2014; ALLER at al., 2011; FAMOURI et al., 2017; KOBLYIAK et al., 2018; MONEM at al., 2017; NABAVI et al., 2016; SEPIDEH et al., 2016; VAJRO et al., 2011;); oito avaliaram o uso de simbióticos (sendo que cinco avaliaram o modo de administração através de cápsulas, um não especificou o modo e os demais através de sachê) (ASGHARIAN et al., 2017; EKLHASI et al., 2016; FEROLLA et al., 2016; MANZHALII et al., MALANGUARNERA et al., 2012; MOFIDI et al., 2017; SHAVAKHI et al. 2013; WONG et al., 2013); dois estudos utilizaram tanto probióticos quanto simbióticos como intervenção (BEHROUZ et al., 2017; JAVARDI, 2017). Sete estudos recomendaram a todos os participantes a prática de atividade física e alimentação balanceada (ALISI at al. 2014; BEHROUZ et al., 2017; FAMOURI et al., 2017; MALANGUARNERA et al. 2012; MANZHALII et al., 2017; MOFIDI et al., 2017; WONG at al., 2013), um associou com vitamina E (EKLHASI et al., 2016), um com Metformina (SHAVAKHI et al., 2013) e um com vitaminas do complexo B (MALANGUARNERA et al., 2012). Os autores Manzhali et al. (2017), Alisi at al. (2014) e Malanguamera et al. (2012) recomendaram dieta e planos de atividade física específicos, com tempo, tipo de atividade e distribuição da ingestão de nutrientes ao longo da intervenção. Ainda, dos 18 estudos analisados, três foram realizados em crianças e adolescentes (ALISI et al., 2014; FAMOURI et al., 2017; VAJRO et al., 2011) e os demais em adultos. A metade dos estudos foi feita no Iran e os demais na Ucrânia, Alemanha, Egito, Brasil, Coreia, Hong Kong, Itália e Espanha. Todos os pacientes incluídos nos estudos selecionados foram ambulatoriais e não necessitaram de internação hospitalar e nem apresentaram efeitos colaterais significantes.

Os tamanhos das amostras, tempo de intervenção, número de cepas e espécie de microorganismos suplementados foram variados entre os estudos. Espécies de

Lactobacillus, *Bifidobacterium*, *Propionibacterium*, *Acetobacter*, *Lactococcus* e *Streptococcus* foram utilizados, sendo que apenas 4 estudos utilizaram apenas uma cepa (*Lactobacillus GG*, *Bifidobacterium longum*, *Lactobacillus reuteri* ou *Lactobacillus acidophilus*) (FEROLLA et al., 2016; MALANGUARNERA et al., 2012; MONEM et al., 2017; VAJRO et al., 2011), dois estudos utilizaram duas cepas (ALLER et al., 2011; JAVARDI et al., 2017) e os demais fizeram intervenções com múltiplos organismos (de quatro a 14 cepas). Para o grupo de estudos que utilizou simbióticos, a principal fonte de prebióticos foi FOS e somente o estudo realizado no Brasil, por Ferolla et al. (2016), utilizou inulina e goma guar (Fiber Mais, Nestlé).

Dos 18 estudos analisados, apenas os autores Manzhali et al. (2017) analisaram a composição da microbiota nas fezes após a intervenção com simbióticos (5 cepas + FOS, em cápsulas), durante um período de intervenção de 12 semanas em indivíduos adultos com EHNA. No grupo controle, o espectro microbiano apresentou desvios significativos em relação à condição normal, sugerindo que o perfil bacteriano anormal na EHNA pode representar risco para a patogênese. Entretanto, a aplicação de simbióticos no grupo experimental reverteu essas alterações e estabilizou a composição microbiana, o que se correlacionou com a melhora das condições inflamatórias. Houve aumento significativo de *Bifidobacterium* e de *Lactobacillus* no grupo experimental, sem efeitos adversos. De acordo com a discussão realizada pelo próprio estudo, a restauração da estrutura microbiana ao estado normal também pode ser resultado da supressão de micróbios patogênicos pelas bactérias probióticas ingeridas (MANZHALLI et al., 2017).

6.1 ALTERAÇÕES HEPÁTICAS

Entre os 18 estudos analisados, 11 avaliaram alterações diretamente na estrutura hepática (ALISI et al., 2014; ASGHARIAN et al., 2017; FAMOURI et al., 2017; FEROLLA et al., 2016; KOBLYIAK et al., 2018; MALANGUARNERA et al., 2012; MANZHALLI et al., 2017; MOFIDI et al., 2017; MONEM et al., 2017; SHAVAKHI et al., 2013; WONG et al., 2013), e, destes, 10 encontraram benefícios a partir da suplementação com probióticos e simbióticos, principalmente em relação a esteatose hepática baseado majoritariamente em US (três utilizaram elastografia e um MRI). Ainda, 13 estudos avaliaram desfechos em relação às enzimas hepáticas (ALLER et

al., 2011; EKLHASI et al., 2016; FAMOURI et al., 2017; FEROLLA et al., 2016; KOBYLIAK et al. 2018; MANZHALII et al., 2018; MALANGUARNERA et al., 2012; MOFIDI et al., 2018, MONEM et al., 2017; NABAVI et al., 2014; SHAVAKHI et al., 2013; VEJRO et al., 2011; WONG at al., 2013) e apenas o estudo realizado por Ferolla et al. (2016) não encontrou resultado estatisticamente significativo para ALT, AST, ALP, GGT e bilirrubina. Todos os demais estudos, exceto o de Vajro et al (2011), obtiveram modificações positivas em AST, e oito estudos em ALT. Cinco estudos avaliaram o desfecho sobre GGT após o uso de probióticos e simbióticos e dois não encontraram resultados estatisticamente significativos.

O estudo realizado por Ekhlas et al. (2016) associou o uso de probióticos com 400 UI de Vitamina E e obteve resultados mais significativos para ALT, AST e ALP com esta associação. Já o estudo realizado por Shavakhi et al. (2013) associou o uso de simbióticos com 500mg de Metformina e obteve resultados mais significativos para AST e ALT com a associação. Tanto o uso de probióticos quanto o uso de simbióticos foram capazes de reduzir a atividade das enzimas hepáticas.

Segundo o estudo de Wong et al. (2013), a suplementação com probióticos leva a diminuição significativa de conteúdo hepático de TG. Da mesma forma, Li et al. (2003) relataram que os probióticos melhoram a histologia hepática e reduzem o conteúdo hepático total de ácidos graxos, possivelmente por meio da diminuição da atividade hepática da JNK. Nesta revisão sistemática, 90% dos estudos que analisaram diretamente a estrutura hepática encontraram benefícios e, destes, 70% recomendaram a todos aos participantes a seguirem uma dieta balanceada e atividade física com frequência e um estudo associou o uso de simbióticos à Metformina. Como o atual manejo da DHGNA consiste em modificar o estilo de vida através da prática de atividade física regular e de alimentação saudável, pode ser que essa intervenção tenha afetado os resultados finais, os quais não poderiam ser atribuídos somente ao uso de probióticos. O estudo realizado por Monem et al., apesar de ter demonstrado alterações nas enzimas AST e ALT, foi o único estudo que não demonstrou alteração na estrutura hepática, possivelmente devido a utilização de somente uma cepa de microorganismos (*Lactobacillus acidophilous*) e com intervenção de apenas 4 semanas, sem associação a dieta ou atividade física.

A atividade de AST foi reduzida significativamente em praticamente todos os estudos, exceto pelo realizado por Vajro et al. (2011). Entretanto, 5 estudos não encontraram atividade reduzida de ALT. A regulação negativa da ALT poderia ser atribuída a produtos metabólitos gerados pelo microbioma reestruturado (em simbiose) após o uso de probióticos (MANZHALII et al., 2017), o que pode não ter acontecido em todos os estudos devido ao curto tempo de intervenção.

A redução da rigidez do fígado pode refletir em uma melhor elasticidade do tecido através da diminuição da inflamação. O mesmo não ocorre em relação a fibrose, pois esse resultado não pode ser esperado em um período curto de tratamento.

6.2 PERFIL LIPÍDICO

Dos 18 estudos analisados, 16 analisaram o perfil lipídico dos participantes antes e depois da intervenção (ALISI et al., 2014; ALLER et al., 2011; ASGHARIAN et al., 2017; EKLHASI et al., 2016; FAMOURI et al., 2017; FEROLLA et al., 2016; JAVARDI et al., 2017; KOBLYIAK et al., 2018; MANZHALII et al., 2017; BEHROUZ et al., 2017; MALANGUARNERA et al., 2012; MOFIDI et al., 2017; MONEM et al., 2017; NABAVI et al., 2014; SHAVAKHI et al., 2013; WONG et al., 2013). Onze autores encontraram benefícios após a suplementação com probióticos e simbióticos nos parâmetros: TG, VLDL, LDL, HDL, CT, apo B100 e apo A1 (ASGHARIAN et al., 2017; EKLHASI et al., 2016; FAMOURI et al., 2017; JAVARDI et al., 2017; KOBLYIAK et al., 2018; MANZHALII et al., 2017; BEHROUZ et al., 2017; MALANGUARNERA et al., 2012; MOFIDI et al., 2017; NABAVI et al., 2014; SHAVAKHI et al., 2013). Porém, apenas Javardi et al. (2017) encontraram aumento estatisticamente significativo no HDL e apenas Eklhasi et al. (2016) avaliaram apolipoproteínas. Os resultados de uma meta-análise, realizada em 2013 com indivíduos com DHGNA e o uso de probióticos, indicaram que os probióticos tinham um efeito na normalização do CT (MA, 2013), o que está de acordo com alguns resultados encontrados nesta revisão sistemática. Ainda, o mesmo autor sugere que é possível que a elevação de HDL exija tratamento de longo prazo.

Alguns estudos encontraram desfechos positivos no CT (ASGHARIAN et al., 2017; EKHLASI et al., 2016; FAMOURI et al., 2017; JAVARDI et al., 2017; KOBLYIAK et al., 2018; MALANGUARNERA et al., 2012; MANZHALII et al., 2017; MODIFI et al., 2017; NABAVI et al., 2014; SHAVAKHI et al., 2013) enquanto outros não (ALLER et al., 2011; FEROLLA et al., 2016; MONEM et al., 2017; WONG et al., 2013). O mesmo ocorre para TG. Esses achados conflitantes podem, em parte, ser devido a diferentes cepas e doses de probióticos, diferenças na duração dos períodos de tratamento, tamanho da amostra e características clínicas dos participantes. Ainda, os estudos que envolveram dieta e atividade física obtiveram resultados mais animadores, quando comparados aos estudos sem outras intervenções além de probióticos ou simbióticos.

6.3 PERFIL GLICÊMICO

Entre os 18 estudos, 14 avaliaram o perfil glicêmico dos participantes antes e depois da intervenção (ALISI et al., 2014; ALLER et al., 2011; ASGHARIAN et al., 2017; BEHROUZ et al., 2017; EKHLASI et al., 2016; FEROLLA et al., 2016; JAVARDI et al., 2017; MALANGUARNERA et al., 2012; MANZHALII et al., 2017; MODIFI et al., 2017; MONEM et al., 2017; NABAVI et al., 2016; SEPIDEH et al., 2016; SHAVAKHI et al., 2013). Sete autores encontraram benefícios estatisticamente significativos após a suplementação com probióticos e simbióticos nos parâmetros: insulina, HOMA-IR, QUICKI, leptina e FBG (ASGHARIAN et al., 2017; BEHROUZ et al., 2017; EKHLASI et al., 2016; MALANGUARNERA et al., 2012; MODIFI et al., 2017; SEPIDEH et al., 2016; SHAVAKHI et al., 2013). Destes sete, cinco utilizaram simbióticos (sendo que três interviram também com recomendações de alimentação saudável e atividade física para todos os indivíduos, um com vitamina E e um com Metformina) e dois utilizaram probióticos. Destes dois, no estudo de Spideh et al. (2016) não foi recomendado nenhuma mudança no estudo de vida, enquanto no estudo de Behouz et al. (2017) foi orientado aos participantes alimentação saudável e prática de atividade física. Uma hipótese possível para os estudos que não encontraram benefícios após a intervenção é o uso de apenas uma ou duas cepas, a não associação a prebióticos e/ou a falta de recomendações de alimentação balanceada e atividade física.

Como mencionado anteriormente, os simbióticos podem proporcionar terapias mais eficazes para a DHGNA quando comparadas ao uso de probióticos isolados, já que os prebióticos podem aumentar a proliferação de probióticos (HADI; VETTOR; ROSSATO, 2018). Os possíveis mecanismos pelos quais a ingestão de prebióticos pode melhorar o perfil glicêmico incluem o ajuste do metabolismo energético, controle da obesidade e aumento da produção de GLP-1 e GLP-2. O GLP-1 regula a secreção pancreática e plasmática de insulina, e o GLP-2 aumenta a sensibilidade à insulina no fígado, tecido adiposo e músculos (GARGARI et al., 2013). Os probióticos podem ser eficazes em melhorar a RI ao reduzir a concentração de endotoxina, aumentar o pH fecal e reduzir a produção e absorção de toxinas intestinais (ESLAMPARAST et al., 2014). Nesse contexto, de acordo com Behrouz et al. (2017), modular a microbiota intestinal através do uso de probióticos e de simbióticos pode ser eficaz na melhoria do estado glicêmico.

6.4 PERFIL INFLAMATÓRIO

Dos 18 estudos analisados, somente seis avaliaram alterações no perfil inflamatório (ALLER et al., 2011; KOBLYIAK et al., 2018; MALANGUARNERA et al., 2012; MOFIDI et al., 2017; SEPIDEH et al., 2016; VAJRO et al., 2011), e, destes, quatro encontraram benefícios a partir da suplementação com probióticos e simbióticos (KOBLYIAK et al., 2018; MALANGUARNERA et al., 2012; MOFIDI et al., 2017; SEPIDEH et al., 2016). Foram avaliados os parâmetros: PCR, TNF- α , IL-6, NF-Kb, IL-1b, IL-8, IFN-y, sendo que TNF- α foi reduzido significativamente em quatro estudos, PCR em dois, IL-6 em dois e NF-Kb em um. Os estudos que demonstraram benefício na inflamação também mostraram benefícios na estrutura hepática, exceto no de Sepideh et al. (2016), uma vez que não avaliaram este parâmetro. Destes quatro estudos, três incluíram recomendação de uma dieta balanceada e de atividade física, o que poderia influenciar no resultado final (KOBLYIAK et al., 2018; MALANGUARNERA et al., 2012; MOFIDI et al., 2017). Aller, R. et al. (2011) e Vajro et al. (2011) não encontraram benefícios estatisticamente significativos no perfil inflamatório após a intervenção. Uma hipótese para isto seria, respectivamente, o uso de apenas duas cepas por um tempo de intervenção curto de 12 semanas e o uso de apenas uma cepa por um tempo de intervenção de 8 semanas, sendo ambos os estudos sem recomendações de dieta ou de atividade física.

Como mencionado anteriormente, a permeabilidade intestinal aumentada devido à disbiose intestinal pode elevar os níveis plasmáticos circulantes de LPS, os quais ligam-se a TLR4 e desencadeiam diversas vias inflamatórias. Ainda, a produção de etanol endógeno pode estimular ainda mais a síntese de LPS e liberar citocinas pró inflamatórias, como o TNF- α e a IL-6, o que pode contribuir para o desenvolvimento de DHGNA e de EHNA. Nesse contexto, parece que os probióticos e simbióticos de cepas múltiplas, se utilizados por mais de 12 semanas e associados à atividade física e alimentação saudável, podem ser eficazes em alterar diretamente a microbiota intestinal e restaurá-la a um estado de simbiose, o que reduziria as citocinas pró inflamatórias.

6.5 LIMITAÇÕES

Os ECRs analisados exibem algumas limitações, como variação no tempo de intervenção e diferenças quanto ao tipo e a quantidade administrada de cepas probióticas. Além disto, nem todos os trabalhos realizaram avaliação histológica, pré e pós tratamento, o que provavelmente se deve ao curto espaço de tempo para justificar a realização de exames invasivos como o caso de biópsia hepática. avaliação

7 CONCLUSÃO

É possível afirmar, após analisados 18 ensaios clínicos em indivíduos com DHGNA ou EHNA, que as intervenções com probióticos e simbióticos apresentam repercussões animadoras. Foi possível observar benefício na estrutura hepática em dez estudos (sendo que, dos 18 analisados, sete não avaliaram esse parâmetro e apenas um não observou benefício); na redução das enzimas hepáticas em 12 estudos (sendo que, dos 18 analisados, cinco não avaliaram e apenas um não observou redução); na melhora do perfil lipídico em 11 estudos (sendo que, dos 18 analisados, dois não avaliaram e cinco não observaram melhora); no perfil glicêmico em sete estudos (sendo que, dos 18 analisados, quatro não avaliaram e sete não observaram melhora); e no perfil inflamatório em quatro estudos (sendo que, dos 18 analisados, 12 não avaliaram e apenas dois não observaram melhora). De acordo com os resultados, a suplementação com probióticos de múltiplas cepas, por um tempo de intervenção de 12 semana ou mais, acompanhada de prebióticos e associada a hábitos de vida saudáveis (dieta balanceada e atividade física regular) parece beneficiar mais significativamente os pacientes com DHGNA. Parece não haver nenhuma diferença entre a intervenção com cápsulas, sachê, iogurte ou tablete. Ainda, nenhum efeito adverso foi relatado com esta terapia em nenhum dos estudos.

Em conclusão, o tratamento com probióticos parece ser seguro, bem tolerado e apropriado como coadjuvante no tratamento da DHGNA ou EHNA. Metanalisar os dados dos estudos pode vir a trazer resultados mais consistentes. Além disso, novos ECRs precisam ser realizados para que se possa detalhar os mecanismos de ação envolvidos no eixo fígado-intestino com o uso de probióticos.

REFERÊNCIAS

- A MONTEIRO, Paula et al. Morphological and metabolic determinants of nonalcoholic fatty liver disease in obese youth: a pilot study. **Bmc Research Notes**, v. 6, n. 1, p.89-0, 2013.
- ABDEL MONEM, S. M. Probiotic Therapy in Patients with Nonalcoholic Steatohepatitis in Zagazig University Hospitals. **Euroasian journal of hepato-gastroenterology**, v. 7, n. 1, p. 101–106, 2017.
- ALLER, R. et al. Effect of a probiotic on liver aminotransferases in nonalcoholic fatty liver disease patients: a double blind randomized clinical trial. **Eur Rev Med Pharmacol Sci**, v. 15, n. 9, p. 1090-5, 2011.
- ALISI, A. et al. NIH Public Access. **Aliment Pharmacol Ther**, v. 39, n. 11, p. 1276–1285, 2014.
- ARAB, J. P.; ARRESE, M.; TRAUNER, M. Recent Insights into the Pathogenesis of Nonalcoholic Fatty Liver Disease. **Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease**, v. 13, n. 1, p. 321–350, 2018.
- ASGHARIAN, A. et al. The Effect of Synbiotic Supplementation on Body Composition and Lipid Profile in Patients with NAFLD: A Randomized, Double Blind, Placebo-Controlled Clinical Trial Study. **Iranian Red Crescent Medical Journal**, v. 19, n. 4, 2017.
- ASGHARIAN, A. et al. The effect of symbiotic Supplementation on Liver enzymes, C-reactive protein and Ultrasound Findings in Patients with Non-alcoholic fatty liver disease: A Clinical Trial. **International Journal Of Preventive Medicine**, v. 7, n. 1, 2016.
- BEDANI, R.; ROSSI, E. A. Microbiota intestinal e probióticos: implicações sobre o câncer de cólon. **Jornal Português de Gastreenterologia**, v. 16, n. 1, p. 19-28, 2009.
- BEHROUZ, V. et al. Effects of Probiotic and Prebiotic Supplementation on Leptin, Adiponectin, and Glycemic Parameters in Non-alcoholic Fatty Liver Disease: A Randomized Clinical Trial. **Middle East Journal of Digestive Diseases**, v. 9, n. 3, p. 150–157, 2017.
- BENEDICT, M.; ZHANG, X. Non-alcoholic fatty liver disease: An expanded review. **World Journal of Hepatology**, v. 9, n. 16, p. 715–732, 2017.
- BORTHAKUR, A. et al. The Probiotic *Lactobacillus acidophilus* stimulates chloride/hydroxyl exchange activity in human intestinal epithelial cells. **Journal of Nutrition**, v. 138, n. 7, p. 1355–1359, 2008.
- BRUNT, Elizabeth M. et al. Nonalcoholic steatohepatitis: a proposal for grading and staging the histological lesions. **The American journal of gastroenterology**, v. 94, n. 9, p. 2467, 1999.

BUGIANESI, E. et al. A randomized controlled trial of metformin versus vitamin E or prescriptive diet in nonalcoholic fatty liver disease. **American Journal of Gastroenterology**, v. 100, n. 5, p. 1082–1090, 2005.

CALZADILLA BERTOT, L.; ADAMS, L. A. The Natural Course of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. **International journal of molecular sciences**, v. 17, n. 5, 2016.

CANI, P. D. et al. Original Article. **Diabetes**, v. 56, n. July, p. 1761–1772, 2007.

CHALASANI, N. et al. Erratum: The diagnosis and management of non-alcoholic fatty liver disease: Practice guideline by the american association for the study of liver diseases, American College of Gastroenterology, and the American Gastroenterological Association American Jo. **American Journal of Gastroenterology**, v. 107, n. 10, p. 1598, 2012.

CHASSAING, Benoit; ETIENNE-MESMIN, Lucie; GEWIRTZ, Andrew T. Microbiota-liver axis in hepatic disease. **Hepatology**, v. 59, n. 1, p. 328-339, 2014.

CHU, H.; WILLIAMS, B.; SCHNABL, B. Gut microbiota, fatty liver disease, and hepatocellular carcinoma. **Liver Research**, v. 2, n. 1, p. 43–51, 2018.

COX, Laura m. et al. Altering the Intestinal Microbiota during a Critical Developmental Window Has Lasting Metabolic Consequences. **Cell**, v. 158, n. 4, p.705-721, ago. 2014.

DA COSTA SANTOS, Cristina Mamédio; DE MATTOS PIMENTA, Cibele Andrucio; NOBRE, Moacyr Roberto Cuce. A estratégia PICO para a construção da pergunta de pesquisa e busca de evidências. **Revista Latino-Americana de Enfermagem**, v. 15, n. 3, p. 508-511, 2007.

DAY, C. P. Genetic and environmental susceptibility to non-alcoholic fatty liver disease. **Digestive Diseases**, v. 28, n. 1, p. 255–260, 2010.

DAY, Christopher P.; JAMES, Oliver F.w.. Steatohepatitis: A tale of two “hits”?. **Gastroenterology**, [s.l.], v. 114, n. 4, p.842-845, abr. 1998.

EBRAHIMI, Zarin Sadat et al. Effect of symbiotic supplementation on glycemic control, lipid profiles and microalbuminuria in patients with non-obese type 2 diabetes: a randomized, double-blind, clinical trial. **Journal Of Diabetes & Metabolic Disorders**, [s.l.], v. 16, n. 1, 2 jun. 2017.

EKHLASI, Golnaz et al. Do symbiotic and Vitamin E supplementation have favorite effects in nonalcoholic fatty liver disease? A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. **Journal of research in medical sciences: the official journal of Isfahan University of Medical Sciences**, v. 21, 2016.

EL HADI, Hamza; VETTOR, Roberto; ROSSATO, Marco. Vitamin E as a Treatment for Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Reality or Myth?. **Antioxidants**, v. 7, n. 1, 2018.

ESLAMPARAST, T. et al. Synbiotic supplementation in nonalcoholic fatty liver disease : **American journal of clinical nutrition**, n. 1, p. 535–542, 2014.

FAMOURI, F. et al. Effects of probiotics on nonalcoholic fatty liver disease in obese children and adolescents. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, v. 64, n. 3, p. 413–417, 2017.

FAO/WHO. **Guidelines for the evaluation of probiotics in food**. Geneva: Food and Agriculture Organization of the United Nations and World Health Organization Working Group Report. Accessed in <ftp://ftp.fao.org/es/esn/food/wgreport2.pdf>. p. 1–11, 2002.

FEIJÓ, Suerda Guiomar et al. The spectrum of non alcoholic fatty liver disease in morbidly obese patients: prevalence and associate risk factors. **Acta cirurgica brasileira**, v. 28, n. 11, p. 788-793, 2013.

FEROLLA, Silvia Marinho et al. Probiotics as a complementary therapeutic approach in nonalcoholic fatty liver disease. **World journal of hepatology**, v. 7, n. 3, p. 559, 2015.

GARGARI, B. P. et al. Effects of high performance inulin supplementation on glycemic control and antioxidant status in women with type 2 diabetes. **Diabetes and Metabolism Journal**, v. 37, n. 2, p. 140–148, 2013.

GARINIS, G. A. et al. Metformin versus dietary treatment in nonalcoholic hepatic steatosis: A randomized study. **International Journal of Obesity**, v. 34, n. 8, p. 1255–1264, 2010.

GASTALDELLI, A. et al. Importance of changes in adipose tissue insulin resistance to histological response during thiazolidinedione treatment of patients with nonalcoholic steatohepatitis. **Hepatology**, v. 50, n. 4, p. 1087–1093, 2009.

GHANIM, H. et al. Increase in plasma endotoxin concentrations and the expression of Toll-like receptors and suppressor of cytokine signaling-3 in mononuclear cells after a high-fat, high-carbohydrate meal: implications for insulin resistance. **Diabetes Care**; 32 (12): 2281-7, 2009

GIBSON, Glenn R. et al. Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. **Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology**, 14 jun. 2017.

GIBSON, Glenn R; ROBERFROID, MB. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of probiotics. **The Journal of Nutrition**, v. 125, p. 1401-1412, 1995.

GOMES, Ana MP; MALCATA, F. Xavier. Bifidobacterium spp. and Lactobacillus acidophilus: biological, biochemical, technological and therapeutical properties relevant for use as probiotics. **Trends in Food Science & Technology**, v. 10, n. 4-5, p. 139-157, 1999.

HAMILTON-MILLER, J. M. T. Probiotics and prebiotics in the elderly. **Postgraduate Medical Journal**, v. 80, n. 946, p. 447–451, 2004.

HAUFE, S. et al. Randomized comparison of reduced fat and reduced carbohydrate hypocaloric diets on intrahepatic fat in overweight and obese human subjects. **Hepatology**, v. 53, n. 5, p. 1504–1514, 2011.

IDILMAN, R. et al. Clinical trial: Insulin-sensitizing agents may reduce consequences of insulin resistance in individuals with non-alcoholic steatohepatitis. **Alimentary Pharmacology and Therapeutics**, v. 28, n. 2, p. 200–208, 2008.

IMAJO, K. et al. Hyperresponsivity to low-dose endotoxin during progression to nonalcoholic steatohepatitis is regulated by leptin-mediated signaling. **Cell Metabolism**, v. 16, n. 1, p. 44–54, 2012.

JAVADI, L. et al. The Effect of Probiotic and/or Prebiotic on Liver Function Tests in Patients with Nonalcoholic Fatty Liver Disease: A Double Blind Randomized Clinical Trial. **Iranian Red Crescent Medical Journal**, v. 19, n. 4, p. 131–138, 2017.

Junli; ZHOU, Qihang; LI, Houkai. Gut microbiota and nonalcoholic fatty liver disease: insights on mechanisms and therapy. **Nutrients**, v. 9, n. 10, p. 1124, 2017

KARNIKOWSKI, Mauro et al. Non-alcoholic fatty liver disease and metabolic syndrome in Brazilian middle-aged and older adults. **Sao Paulo Medical Journal**, v. 125, n. 6, p.333-337, nov. 2007.

KELLOW, N. J.; COUGHLAN, M. T.; REID, C. M. Metabolic benefits of dietary prebiotics in human subjects: A systematic review of randomised controlled trials. **British Journal of Nutrition**, v. 111, n. 7, p. 1147–1161, 2014.

KHALESİ, S. et al. Effect of probiotics and synbiotics consumption on serum concentrations of liver function test enzymes: a systematic review and meta-analysis. **European Journal of Nutrition**, v. 57, n. 6, p. 2037–2053, 2018.

KIRK, Erik et al. Dietary Fat and Carbohydrates Differentially Alter Insulin Sensitivity During Caloric Restriction. **Gastroenterology**, v. 136, n. 5, p.1552-1560, maio 2009.

KOBYLIAK, N. et al. A multi-strain probiotic reduces the fatty liver index, cytokines and aminotransferase levels in NAFLD patients: Evidence from a randomized clinical trial. **Journal of Gastrointestinal and Liver Diseases**, v. 27, n. 1, p. 41–49, 2018.

LAMBERT, J. E. et al. Gut microbiota manipulation with prebiotics in patients with non-alcoholic fatty liver disease: A randomized controlled trial protocol. **BMC Gastroenterology**, v. 15, n. 1, p. 1–13, 2015.

LEUNG, Christopher et al. The role of the gut microbiota in NAFLD. **Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology**, [s.l.], v. 13, n. 7, p.412-425, 8 jun. 2016.

LI, Zhiping et al. Probiotics and antibodies to TNF inhibit inflammatory activity and improve nonalcoholic fatty liver disease. **Hepatology**, v. 37, n. 2, p. 343-350, 2003.

LIBERATI, Alessandro et al. The PRISMA Statement for Reporting Systematic Reviews and Meta-Analyses of Studies That Evaluate Health Care Interventions: Explanation and Elaboration. **Plos Medicine**, v. 6, n. 7, p.1000100-1, 21 jul. 2009.

LINCOFF, A. M. et al. Pioglitazone and Risk of Cardiovascular Events in Patients With Type 2 Diabetes Mellitus A Meta-analysis of Randomized Trials. v. 298, n. 10, 2015.

MA, Yan-yan. Effects of probiotics on nonalcoholic fatty liver disease: A meta-analysis. **World Journal Of Gastroenterology**, v. 19, n. 40, p.6911-1, 2013.

MALAGUARNERA, M. et al. Bifidobacterium longum with fructo-oligosaccharides in patients with non alcoholic steatohepatitis. **Digestive Diseases and Sciences**, v. 57, n. 2, p. 545–553, 2012.

MALAGUARNERA, Michele et al. Bifidobacterium longum with fructo-oligosaccharides in patients with non alcoholic steatohepatitis. **Digestive diseases and sciences**, v. 57, n. 2, p. 545-553, 2012.

MICHELOTTI, G. A.; MACHADO, M. V.; DIEHL, A. M. NAFLD, NASH and liver cancer. **Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology**, v. 10, n. 11, p. 656–665, 2013.

MILLION, M. et al. Gut bacterial microbiota and obesity. **Clinical Microbiology And Infection**, [s.l.], v. 19, n. 4, p.305-313, abr. 2013.

MOFIDI, F. et al. Synbiotic supplementation in lean patients with non-alcoholic fatty liver disease: A pilot, randomised, double-blind, placebo-controlled, clinical trial. **British Journal of Nutrition**, v. 117, n. 5, p. 662–668, 2017.

MOREIRA, A. P. B. Influência da dieta na endotoxemia metabólica. **HU Revista**, v. 40, n. 3 e 4, p. 203–208, 2013.

NABAVI, S. et al. The effects of probiotic yogurt on metabolic factors in nonalcoholic fatty liver disease. **Scientific Journal of Kurdistan University of Medical Sciences**, v. 20, n. 6, p. 12–25, 2016.

NAKA, T.; FUJIMOTO, M. SOCS1, a negative regulator of cytokine signals and TLR responses, in human liver diseases. **Gastroenterology Research and Practice**, v. 2010, n. Figure 1, 2010.

NASCIMBENI, F. et al. From NAFLD in clinical practice to answers from guidelines. **Journal of Hepatology**, v. 59, n. 4, p. 859–871, 2013.

NOVERR, Mairi C.; HUFFNAGLE, Gary B.. Does the microbiota regulate immune responses outside the gut? **Trends In Microbiology**, v. 12, n. 12, p.562-568, dez. 2004.

RAIZEL, R. et al. Efeitos do consumo de probióticos, prebióticos e simbióticos para o organismo humano. **Ciência & Saúde**, v. 4, n. 2, p. 66–74, 2011.

RATZIU, V. et al. Liver fibrosis in overweight patients. **Gastroenterology**, v. 118, n. 6,

p. 1117–1123, 2000.

Revista SBH Saúde, cultura e atualizações, ano 3, n 1, 2016

REYES, A. et al. Mothers. **Nature**, v. 466, n. 7304, p. 334–338, 2011.

SALMINEN, S.; ISOLAURI, E.; SALMINEN, E. Clinical uses of probiotics for stabilizing the gut mucosal barrier: successful strains and future challenges. **Antonie Van Leeuwenhoek**, v. 70, n. 2-4, p. 347-358, 1996.

RYAN, Marno C. et al. The Mediterranean diet improves hepatic steatosis and insulin sensitivity in individuals with non-alcoholic fatty liver disease. **Journal Of Hepatology**, v. 59, n. 1, p.138-143, jul. 2013.

SAAD, Susana Marta Isay. Probióticos e prebióticos: o estado da arte. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 42, n. 1, p.1-16, mar. 2006.

SANYAL, Arun J. et al. Pioglitazone, Vitamin E, or Placebo for Nonalcoholic Steatohepatitis. **New England Journal Of Medicine**, v. 362, n. 18, p.1675-1685, 6 maio 2010.

SANZ, Y.; SANTACRUZ, A.; DALMAU, J. Influencia de la microbiota intestinal en la obesidad y las alteraciones del metabolismo. **Acta Pediatrica Espanola**, v. 67, n. 9, p. 437–442, 2009.

SAVAGE, D. C. Microbial Ecology of the Gastrointestinal Tract. **Annual Review of Microbiology**, v. 31, n. 1, p. 107–133, 1977.

SAYINER, Mehmet et al. Epidemiology of Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Nonalcoholic Steatohepatitis in the United States and the Rest of the World. **Clinics In Liver Disease**, v. 20, n. 2, p.205-214, maio 2016.

SCOTT, K. P. et al. The influence of diet on the gut microbiota. **Pharmacological Research**, v. 69, n. 1, p. 52–60, mar. 2013.

SEPIDEH, A. et al. Effects of Multistrain Probiotic Supplementation on Glycemic and Inflammatory Indices in Patients with Nonalcoholic Fatty Liver Disease: A Double-Blind Randomized Clinical Trial. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 35, n. 6, p. 500–505, 2016.

SHAVAKHI, Ahmad et al. Effect of a probiotic and metformin on liver aminotransferases in non-alcoholic steatohepatitis: a double blind randomized clinical trial. **International journal of preventive medicine**, v. 4, n. 5, p. 531, 2013.

SLEETH, M. L. et al. Free fatty acid receptor 2 and nutrient sensing: A proposed role for fibre, fermentable carbohydrates and short-chain fatty acids in appetite regulation. **Nutrition Research Reviews**, v. 23, n. 1, p. 135–145, 2010.

SOCCOL, Carlos Ricardo et al. The potential of probiotics: a review. **Food Technology and Biotechnology**, v. 48, n. 4, p. 413-434, 2010.

STANHOPE, K. L. et al. Consuming fructose-sweetened, not glucose-sweetened, beverages increases visceral adiposity and lipids and decreases insulin sensitivity in overweight/obese humans. **Journal of Clinical Investigation**, v. 119, n. 5, p. 1322–1334, 2009.

STARR, R. et al. Liver degeneration and lymphoid deficiencies in mice lacking suppressor of cytokine signaling-1. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 95, n. 24, p. 14395–14399, 1998.

TABRIZI, R. et al. The Effects of Selenium Supplementation on Glucose Metabolism and Lipid Profiles Among Patients with Metabolic Diseases: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. **Hormone and metabolic research = Hormon- und Stoffwechselforschung = Hormones et métabolisme**, v. 49, n. 11, p. 826–830, 2017.

TETRI, L. H. et al. Severe NAFLD with hepatic necroinflammatory changes in mice fed trans fats and a high-fructose corn syrup equivalent. **AJP: Gastrointestinal and Liver Physiology**, v. 295, n. 5, p. G987–G995, 2008.

THURSBY, Elizabeth; JUGE, Nathalie. Introduction to the human gut microbiota. **Biochemical Journal**, [s.l.], v. 474, n. 11, p.1823-1836, 16 maio 2017.

TILG, H.; MOSCHEN, A. R. Evolution of inflammation in nonalcoholic fatty liver disease: The multiple parallel hits hypothesis. **Hepatology**, v. 52, n. 5, p. 1836–1846, 2010.

TSUKUMO, Daniela M.I. et al. Loss-of-Function Mutation in Toll-Like Receptor 4 Prevents Diet-Induced Obesity and Insulin Resistance. **Diabetes**, [s.l.], v. 56, n. 8, p.1986-1998, 22 maio 2007.

TURNBAUGH, P. J. et al. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. **Nature**, v. 444, n. 7122, p. 1027–1031, 2006.

VAJRO, P. et al. Effects of lactobacillus rhamnosus strain gg in pediatric obesity-related liver disease. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, v. 52, n. 6, p. 740–743, 2011.

VANDENPLAS, Yvan; HUYS, Geert; DAUBE, Georges. Probiotics: an update. **Jornal de Pediatria**, v. 91, n. 1, p.6-21, jan. 2015. Elsevier BV.

VERNON, G.; BARANOVA, A.; YOUNOSSI, Z. M. Systematic review: The epidemiology and natural history of non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis in adults. **Alimentary Pharmacology and Therapeutics**, v. 34, n. 3, p. 274–285, 2011.

WALKER, R. W. et al. The prenatal gut microbiome: are we colonized with bacteria in utero?. **Pediatric Obesity**, v. 12, p.3-17, 26 abr. 2017. Wiley.

WALSH, C. J. et al. Beneficial modulation of the gut microbiota. **FEBS Letters**, v. 588, n. 22, p. 4120–4130, 2014.

WGO. World Gastroenterology Organization Global Guidelines: Probiotics and prebiotics. Accessed in <http://www.worldgastroenterology.org/guidelines/global-guidelines/probiotics-and-prebiotics/probiotics-and-prebiotics-english>, 2017.

WINTERS, M. et al. Stylistics. **Target**, v. 1, n. 1, p. 161–166, 2012.

WONG, V. W. S. et al. Treatment of nonalcoholic steatohepatitis with probiotics. A proof-of-concept study. **Annals of Hepatology**, v. 12, n. 2, p. 256–262, 2013.

YADAV, Monika; VERMA, Manoj Kumar; CHAUHAN, Nar Singh. A review of metabolic potential of human gut microbiome in human nutrition. **Archives Of Microbiology**, v. 200, n. 2, p.203-217, 29 nov. 2017.

APÊNDICE 1 – Tabelas

Tabela 1 - Características dos Ensaios Clínicos incluídos na revisão sistemática

Autor, ano e país	População em estudo	Intervenção e tempo	Grupos	Desfechos	Resultado	Limitação do estudo (ou viés)
Kobyliak at al., 2018, Ucrânia	n = 58 (idade: 18-65) - DMII IMC ≥25 kg/m ² - DHGNA, por US	Probiótico “Symbiter”, (<i>Lactobacillus</i> + <i>Lactococcus</i> (6×10 ¹⁰ UFC/g), <i>Bifidobacterium</i> (1×10 ¹⁰ UFC/g), <i>Propionibacterium</i> (3×10 ¹⁰ UFC/g), <i>Acetobacter</i> (1×10 ⁶ UFC/g), em sachê Placebo: 1 sachê (10g) 1x/dia +Indicação de atividade física e dieta para todos os indivíduos 8 semanas	Grupo “Symbiter” (n = 28): Grupo placebo (n = 30)	Desfecho primário: FLI e LS, por elastografia. Desfechos secundário: atividade de aminotransferases, lipídeos séricos e nível de citocinas (TNF-α, IL-1β, IL-6, IL-8 e IFN-γ).	Probiótico: ↓ FLI ↓ AST ↓ GGT ↓ TNF-α ↓ IL-6 ↓ TG ↓ VLDL ↓ LDL ↓ CT	Sem biópsia Número amostral pequeno Tempo de estudo limitado Alguns pacientes em uso de metformina Não traz o número de homens e de mulheres Não especifica a composição do placebo utilizado

<p>Manzhali i, 2017, Alemanha</p>	<p>n =75, (idade 30-60), 27♂ e 48♀ - IMC < 30 kg/m² - EHNA baseada em US e elastografia hepática + GGT e ALT</p>	<p>Simbióticos LBSF, 5 cepas (<i>L. casei</i>, <i>L. rhamnosus</i>, <i>L. bulgaris</i>, <i>L. longum</i> and <i>L. Thermophilus</i> (10⁸ UFC) +FOS, em cápsula 1x/dia + dieta baixa em gorduras e em calorias (1800 kcal e 30 a 90g de lipídeos por dia) para todos os indivíduos; <u>12 semanas</u></p>	<p>Grupo experimental: LBSF (n = 38) Grupo controle (n = 37)</p>	<p>Desfechos primários: Supressão de ALT e de GGT Desfechos secundários: glicose, TG, CT, HDL, IMC, mudanças na composição da microbiota intestinal</p>	<p>Grupo experimental: ↓ ALT ↓ AST ↓ IMC ↓ CT ↓ LS ↑ bifidobacteria and lactobacilli</p>	<p>Diagnóstico de EHNA sem biópsia Sem cegamento Número amostral pequeno Faltam informações sobre os indivíduos Não deixa claro em que momento foram coletadas as fezes Não foi controlado por placebo</p>
<p>Behrouz et al., 2017</p>	<p>n = 89 (idade 20-60), 63♂ e 36♀ (no início do estudo) - IMC: ≥ 25 kg/m² e ≤ 40 kg/m² - DHGNA baseada em US e ALT</p>	<p>Probióticos: 5 bilhões, 5 cepas (<i>Lactobacillus casei</i>, <i>Lactobacillus rhamnosus</i>, <i>Lactobacillus acidophilus</i>, <i>Bifidobacterium longum</i>, and <i>Bifidobacterium breve</i>), em cápsula Prebióticos: 8g FOS (sachê) Placebo: 8 g maltodextrina (sachê) e cápsula idêntica ao probiótico</p>	<p>Grupo probiótico (n = 30): probiótico + prebiótico placebo Grupo probiótico (n = 29): probióticos + prebiótico placebo Grupo controle (n = 30): probiótico placebo + prebiótico placebo</p>	<p>Níveis de adiponectina e de leptina + parâmetros glicêmicos (glicose em jejum, insulina, HOMA-IR, QUICKI)</p>	<p>Grupo probiótico e prebiótico: ↓Leptina ↓insulina ↓HOMA-IR ↑QUICKI ↑ Adiponectina Grupo prebiótico ↓FBG ↑ Adiponectina</p>	<p>Não específica as indicações de hábitos saudáveis Sem avaliação de antropometria, ALT, AST e alterações hepáticas Número amostral pequeno Sem biópsia</p>

		2x/dia +indicação de hábitos saudáveis para todos os indivíduos <u>12 semanas</u>				
Javadi et al. 2017 (Iran)	n= 84, (idade 20-60); 63♂ e 36♀; - DHGNA baseada em US, ALT e AST	Probiótico: 2 cepas (<i>Bifidobacterium longum</i> e <i>Lactobacillus acidophilus</i> : 2x10 ⁷ UFC) 250 mg; em cápsulas Prebiótico: inulina HP, 10 g, em sachê Placebo de probiótico: cápsulas idênticas aos probióticos (sem lactose) Placebo de prebióticos: maltodextrina, em sachê 2x/dia (manhã e noite) <u>12 semanas</u>	Probiótico (n=20) + placebo de probiótico Prebiótico (n=19) + placebo de probiótico Simbiótico (n=17): probiótico + simbiótico Placebo (n=19): placebo de probiótico + placebo de prebiótico	Desfecho primário: HOMA-IR Desfecho secundário: glicose, insulina, CT, HDL, LDL, TG, peso e IMC	Grupo probiótico: ↓peso ↓IMC ↑HDL ↓LDL Grupo prebiótico: ↓peso ↓IMC Grupo simbiótico: ↓peso ↓IMC ↓CT ↑HDL ↓LDL ↓CT	Não especifica como foram monitorados os pacientes durante o estudo Sem avaliação de enzimas hepáticas Sem biópsia Não especifica quantidade do placebo Número amostral pequeno
Asgharian, 2017, Iran	n = 74 (idade 18-60), 19♂ e 55♀ - IMC entre 30 e 35 kg/m ² obesos -	Simbióticos: 7 cepas (<i>Lactobacillus casei</i> , <i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Lactobacillus rhamnosus</i> , <i>Lactobacillus bulgaricus</i> , <i>Bifidobacterium breve</i> , <i>Bifidobacterium longum</i> , <i>Streptococcus thermophilus</i>)	Simbiótico (n=38) Placebo (n=36)	Avaliar enzimas hepáticas, PCR, IMC, grau de esteatose hepática e perfil lipídico.	Grupo simbiótico: ↓CT ↓LDL ↓peso ↓gordura corporal	As cápsulas de placebo e de simbióticos distribuídas entre os grupos eram parecidas, mas não idênticas Todas as medidas foram feitas somente por uma pessoa

	DHGNA baseada em US, ALT e AST	+ FOS, em cápsula Placebo: 120 mg amido de milho, em cápsula 1x/dia (após o jantar) <u>8 semanas</u>				Número amostral pequeno Tempo de estudo limitado Outros possíveis alimentos probióticos, como iogurtes, não foram controlados durante o estudo Sem avaliação de enzimas hepáticas Sem biópsia
Mofidi et al. 2017, Iran	n = 42 (≥18 anos), 23♂ e 19♀ - IMC ≤ 25 kg/m ² (eutróficos) - DHGNA baseada em elastografia e ALT	Simbióticos: 7 cepas, 200 milhões: <i>lactobacillus casei</i> , <i>lactobacillus acidophilous</i> , <i>lactobacillus rhamnosus</i> , <i>lactobacillus bulgaricus</i> , <i>bifidobacteriu mbreve</i> , <i>bifidobacteriu mlongun</i> , <i>streptococcus thermophiles</i>) + 125 mg FOS em cápsula Placebo: maltodextrina (em cápsula) 2x/dia + dieta balanceada em calorias e atividade física para todos os indivíduos <u>28 semanas</u>	Simbiótico (n = 21) Placebo (n = 21)	Desfecho primário: esteatose hepática (utilizando CAP escore/elastografia hepática) Desfechos secundários: Fibrose hepática, enzimas hepáticas, perfil glicídico, perfil lipídico, perfil inflamatório e variáveis antropométricas	Simbiótico : ↓ esteatose hepática ↓ fibrose hepática ↓AST ↓ALT ↓GGT ↓FBS ↓LDL ↓CT ↓TG ↓ PCR ↓TNF-α ↓NF-KB	Sem biópsia Número amostral pequeno

<p>Famouri, 2017, Iran</p>	<p>n= 64 (idade 10-18) 43.8 %♂</p> <p>-</p> <p>IMC ≥ percentil 85 obesos</p> <p>-</p> <p>DHGNA baseada em US</p>	<p>Probiótico: 4 cepas <i>Lactobacillus acidophilus</i> ATCC B3208, 3x10⁹ UFC, <i>Bifidobacterium lactis</i> DSMZ 32269, 6x10⁹ UFC; <i>Bifidobacterium bifidum</i> ATCC SD6576, 2x10⁹ UFC; <i>Lactobacillus rhamnosus</i> DSMZ 21690, 2x10⁹ UFC. Em cápsula.</p> <p>Placebo: cápsula (sem especificação)</p> <p>1x/dia</p> <p><u>12 semanas</u></p>	<p>Probiótico (n=32)</p> <p>Placebo (n=32)</p>	<p>Avaliação de US e exames bioquímicos após o uso de probióticos</p>	<p>Grupo prebiótico ↓ ALT ↓ AST ↓ CC ↑ frequência de fígado normal (baseado em US) ↓ CT ↓ LDL ↓ TG</p>	<p>Não especifica desfechos primários e secundários de interesse</p> <p>Sem heterogeneidade entre os grupos (exemplo: CT significativamente maior no grupo recebendo probióticos no começo do estudo)</p> <p>Número amostral pequeno</p> <p>Sem biópsia</p> <p>Não especifica a composição do placebo utilizado</p>
<p>Monem, 2017, Egito</p>	<p>n=30 (idade media: 44 anos), 17♂ e 13♀</p> <p>-</p> <p>IMC de 30 a 35 kg/m² obesos</p> <p>-</p> <p>EHNA baseada em US + ALT + AST e biópsia</p>	<p>Probióticos: <i>Lactobacillus acidophilus</i> (2 bilhões + farinha de arroz + gelatina + estearato de magnésio) em cápsula</p> <p>Placebo: cápsula (sem especificação)</p> <p>30 minutos antes das refeições, 3x/dia</p> <p><u>4 semanas</u></p>	<p>Grupo probiótico (n= 15)</p> <p>Grupo placebo (n = 15)</p>	<p>Achados laboratoriais e através de US</p>	<p>Grupo probiótico: ↓ ALT ↓ AST ↓ plaquetas</p>	<p>Não indica como os resultados foram analisados</p> <p>Não indica como os pacientes foram alocados em seus grupos e nem como foi o cegamento</p> <p>Não indica qual o objetivo principal do estudo</p> <p>Não especifica a composição do placebo utilizado</p>

						Tempo de estudo limitado Número amostral pequeno
Ferolla et al., 2016, Brasil	n= 50, (idade 25-74), 22♂ e 38♀ - EHNA por biópsia	Simbiótico: 5 g de Fiber Mais Flora®, Nestlé Health Science (inulina e goma guar) e 1 x 10 ⁸ UFC de <i>L. reuteri</i> Placebo: sem especificação 2x/dia + Instruções para seguir dieta balanceada (baseada do Guia Alimentar para a População brasileira) para todos os indivíduos <u>12 semanas</u>	Simbiótico (n = 27) Placebo (n = 23)	Desfechos primários: efeito de simbióticos no fígado esteatótico (baseado em MRI-PDFF), grau de permeabilidade intestinal, hiper crescimento bacteriano intestinal, concentração de LPS circulante Desfechos secundários: ALT, AST, ALP, GGT, albumina, bilirrubina, plaquetas, CC, IMC, % gordura corporal, ferritina, glicose, CT, LDL, HDL, VLDL, TG, ácido úrico	Grupo Simbiótico ↓ esteatose hepática (por MRI-PDFF) ↓ grau de esteatose 2-3 ↑ grau de esteatose 0-1 ↓ peso ↓ IMC ↓ CC ↓ ácido úrico ↑ LPS	Não especifica a composição do placebo utilizado Não especifica forma de administração do simbiótico (cápsula ou sachê) Sem biópsia ao final do estudo Sem avaliação da microbiota intestinal Falta de homogeneidade entre os indivíduos (exemplo: alguns possuíam RI, DM II e SM) Sem medida de LPS nos indivíduos saudáveis Falta de investigação de outros fatores da vida dos indivíduos Número amostral pequeno

						Tempo de estudo limitado
Eklhasi, 2016, Iran	<p>n = 60 (25-64 anos), 48♂ e 12♀</p> <p>-</p> <p>IMC entre 25 e 35 kg/m²</p> <p>-</p> <p>DHGNA baseada em US + ALT</p>	<p>Simbiótico: Protexin; 7 cepas, <i>Lactobacillus casei</i>, <i>Lactobacillus rhamnosus</i>, <i>Streptococcus thermophilus</i>, <i>Bifidobacterium breve</i>, <i>Lactobacillus acidophilus</i>, <i>Bifidobacterium longum</i>, <i>Lactobacillus bulgaricus</i>, FOS, estearato de magnésio. Cada cepa com concentração de 2x10⁸ UFC/g; em cápsula.</p> <p>Placebo de simbiótico: amido de milho (em cápsula)</p> <p>Vitamina E: 400 UI (em cápsula)</p> <p>Placebo de vitamina E: em cápsula</p> <p>2x/dia (após as refeições)</p> <p><u>8 semanas</u></p>	<p>Grupo simbiótico : simbiótico + placebo de vitamina E (n=15):</p> <p>Grupo Vitamina E: placebo de simbiótico + vitamina E (n=15):</p> <p>Grupo simbiótico + vitamina E (n=15)</p> <p>Grupo controle Placebo de simbiótico + vitamina E placebo: (n=15)</p>	<p>Enzimas hepáticas, perfis lipídico e glicêmico e leptina</p>	<p>Grupo simbiótico:</p> <p>↓ALT ↓AST ↓ALP ↓FBS ↓insulina ↓Leptina ↓TG ↓CT ↓LDL ↑apoA-1* ↓apoB-100 ↓apoB-100/A-1*</p> <p>Grupo vitamina E:</p> <p>↓AST ↓ALP ↓FBS ↓LDL ↓apoB-100 ↓apoB-100/A-1</p> <p>Grupo Simbiótico + vitamina E:</p> <p>↓ALT* ↓AST* ↓ALP* ↓FBS* ↓insulina* ↓Leptina* ↓TG ↓CT ↓LDL* ↑apoA-1</p> <p>*alterações mais significativas, quando comparad</p>	<p>Número amostral pequeno</p> <p>Sem biópsia</p> <p>Tempo de estudo limitado</p>

					o ao grupo controle	
Sepideh, 2016, Iran	n = 42 (idade 18-65), 28♂ e 14♀ - DHGNA baseada em US, ALT e AST	Lactocare (probiótico): 7 cepas, <i>Lactobacillus casei</i> 3x10 ⁹ UFC/g, <i>Lactobacillus acidophilus</i> 3x10 ¹⁰ UFC/ g, <i>Lactobacillus rhamnosus</i> 7x10 ⁹ UFC/g, <i>Lactobacillus bulgaricus</i> 5x10 ⁸ CFU/g, <i>Bifidobacterium breve</i> 2x10 ¹⁰ UFC/ g, <i>Bifidobacterium longum</i> 1x10 ¹⁰ UFC/g, e <i>Streptococcus thermophilus</i> 3x10 ⁸ UFC/g, em cápsula Placebo: maltodextrina, lactose e estearato de magnésio 1x/dia <u>8 semanas</u>	Grupo probiótico (n= 15) Grupo placebo (n = 15)	Perfis glicêmico e inflamatório	Grupo probiótico: ↓FBS ↓insulina ↓HOMA-IR ↓IL-6 ↓TNF-α	Não específica como foi realizada a randomização e a distribuição de cápsulas Sem dados para níveis de atividade física, índices antropométricos e VET dos indivíduos Sem medidas de AST e ALT após a intervenção Sem biópsia Tempo de estudo limitado Número amostral pequeno
Alisi, 2014, Korea	n = 44 24♂ e 20♀ crianças - IMC > percentil 85 obesas -	Probióticos, VSL#3, 8 cepas (<i>Streptococcus thermophilus</i> , <i>bifidobacteria</i> [<i>B. breve</i> , <i>B. infantis</i> , <i>B. longum</i>], <i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>L. paracasei</i> , e <i>L. delbrueckii</i>)	VSL#3 (probiótico) (n = 22) Placebo (n= 22)	Desfecho primário: grau de esteatose hepática Desfechos secundário: TG, ALT, IMC, HOMA-IR, GLP-1 e aGLP-1.	Grupo VSL#3: ↓ BMI ↑ GLP-1 ↑ a-GLP-1 ↑ probabilidade de baixa a nenhuma esteatose hepática	

	DHGNA baseada em US e ALT	<p><i>subsp. Bulgaricus</i>, em sachê</p> <p>1 sachê/dia para menores de 10 anos; para maiores: 2 sachês/dia.</p> <p>+ Dieta baixa em calorias para todos os participantes (CHO 50-60%, LIP 23-3-% e PTN 15-20%, total de 25-30 kcal/kg/dia + programa de exercício aeróbico moderado (30-45 min pelo menos 3x/sem)</p> <p><u>16 semanas</u></p>				
Nabavi, 2014, Iran	<p>n = 72 (idade 23-63), 35 ♂ e 37 ♀</p> <p>-</p> <p>DHGNA baseada em US</p>	<p>logurte enriquecido com probióticos: <i>L. bulgaricus</i> + <i>S. thermophilus</i> + <i>B. lactis Bb12</i> + <i>L. acidophilus La5</i></p> <p>logurte convencional, : apenas <i>L. bulgaricus</i> + <i>L. thermophilus</i></p> <p><u>8 semanas</u></p>	<p>logurte probiótico (n = 36)</p> <p>logurte convencional (n = 36)</p>	Enzimas hepáticas, FBG e perfil lipídico	<p>Grupo iogurte probiótico:</p> <p>↓Peso ↓IMC ↓ALT ↓AST ↓CT ↓LDL</p>	Sem biópsia Falta de um terceiro grupo que não consumiu iogurte
Shavakhi et al., 2013, Iran	<p>n = 63 (idade 18-75), 32 ♂ e 31 ♀</p> <p>-</p> <p>EHNA baseada</p>	<p>Simbiótico; Protexin. 7 cepas: <i>Lactobacillus acidophilus</i> 1 × 10 UFC, <i>Lactobacillus casei</i> 5 × 10 UFC,</p>	Grupo 1 (dois tabletes 500mg de metformina/dia + 2 cápsulas/dia de simbióticos (n= 34)	<p>Desfecho primário: ALT, AST e grau de EHNA por US</p> <p>Desfechos secundários: IMC, CT, FBG e TG</p>	<p>Grupo 1:</p> <p>↓ ALT* ↓AST* ↓grau de EHNA ↓IMC* ↓CT* ↓TG* ↓FBS</p>	<p>Sem avaliação de um grupo sem metformina</p> <p>Não específica as recomendaç</p>

	em ALT e biópsia	<p><i>Lactobacillus rhamnosus</i> 7.5 × 10 UFC, <i>Lactobacillus bulgaricus</i> 1.5 × 10 UFC, <i>Bifidobacterium breve</i> 5 × 10 CFU, <i>Bifidobacterium longum</i> 2.5 × 10 UFC, <i>Streptococcus thermophilus</i> 5 × 10 UFC + FOS 350 mg, em cápsula</p> <p>Placebo: 120 mg de amido (em cápsula) Metformina: 500 mg (em tablete)</p> <p>2x/dia</p> <p>Os indivíduos receberam recomendações de uma dieta baixa em gordura e exercícios físicos regulares (sem especificações)</p> <p><u>24 semanas</u></p>	Grupo 2: dois tabletes 500mg de metformina/dia + 2 cápsulas de placebo de simbiótico (n = 36)		<p>Grupo 2: ↓ Grau de EHNA ↓AST ↓IMC ↓FBS</p> <p>*alterações mais significativas, quando comparado ao grupo 2</p>	<p>ões de dieta e de atividade física</p> <p>Falta de informações a respeito dos pacientes no início do estudo (não se pode dizer se os grupos são homogêneos)</p> <p>Não especifica o monitoramento dos indivíduos durante o estudo</p>
Wong, 2013, Hong Kong	<p>n = 20 (idade 18-70), 13♂ e 7♀</p> <p>-</p> <p>EHNA baseada em US</p>	<p>Simbiótico; 5 cepas, <i>Lepicol: L. plantarum, L. delbrueckii spp. bulgaricus, L. acidophilus, L. rhamnosus, B. bifidum</i> – 200 milhões + 3 g FOS + celulose + estearato de magnésio + leite + sílica; Em sachê (10g)</p>	<p>Simbiótico (n=10)</p> <p>Placebo: (n=10)</p>	<p>Desfecho primário: esteatose hepática por MRI</p> <p>Desfechos secundários: ALT, AST, IMC, lipídeos, elastografia</p>	<p>Grupo simbiótico: ↓ esteatose hepática ↓AST</p>	<p>Open-label</p> <p>A certeza de uso de simbiótico/placebo foi dada somente por cálculo de sachês não utilizados (sem mais acompanhamentos)</p> <p>Estudo refere “probiótico”,</p>

		<p>Placebo: sem especificação</p> <p>2x/dia</p> <p>+</p> <p>Recomendação o perda de peso, redução do consumo de lipídeos e prática de atividade física pelo menos 3x/sem</p> <p><u>24 semanas</u></p>				<p>ao invés de simbiótico</p> <p>Número amostral pequeno</p> <p>Não específica a composição do placebo utilizado</p>
<p>Malanguarnera et al., 2012, Itália</p>	<p>n = 66 (idade 30-65), 33♂ e 33♀</p> <p>-</p> <p>EHNA baseada em biópsia</p>	<p>Simbiótico: <i>Bifidobacterium longum</i> + FOS (em sachê) + 2.5 g, vitamina B1 (1.4 mg), vitamina B2 (1.6 mg), vitamina B6 (2.0 mg) e vitamina B12 (1.0 mg).</p> <p>Placebo: não especificado</p> <p>+ dieta instruída por nutricionista, conforme classificada pelo NCEP (1600 calorias) e plano de exercícios prescritos + rotina de alongamento de todo o corpo (3 min/3x semana) para todos os indivíduos</p> <p><u>24 semanas</u></p>	<p>Grupo A (simbiótico) (n= 34)</p> <p>Grupo B (placebo) (n = 32)</p>	<p>Desfechos primários: histologia do fígado (textura), esteatose hepática e atividade de EHNA</p> <p>Desfechos secundários: AST, ALT, LDL, CT, HDL, TG, PCR, FBS, HOMA-IR, endotoxinas séricas.</p>	<p>Grupo A:</p> <p>↓IMC ↓AST ↓ALT ↓CT ↓LDL ↓TG ↓FBS ↓insulina ↓PCR ↓TNF-α ↓HOMA-IR ↓endotoxinas séricas ↓esteatos e hepática ↑melhorou histologia do fígado (textura) ↓Atividade de EHNA*</p>	<p>Não específica a composição do placebo utilizado</p> <p>Número amostral pequeno</p>

<p>Aller et al, 2011, Espanha</p>	<p>N = 28, 20 ♂ e 8 ♀</p> <p>-</p> <p>DHGNA baseada em biópsia</p>	<p>Probiótico: 2 cepas. 500 milhões de <i>Lactobacillus bulgaricus</i> e <i>Streptococcus thermophilus</i> (em tablete)</p> <p>Placebo: tablete de 120 mg de amido</p> <p><u>12 semanas</u></p>	<p>Probiótico (n = 14)</p> <p>Placebo (n = 14)</p>	<p>Peso, PA, FBS, ALT, AST, GGT, insulín, HOMA-IR, TC, LDL, HDL, TG, IL-6, TNF-α</p>	<p>Probiótico: ↓AST ↓ALT ↓GGT</p>	<p>Estudo piloto</p> <p>Não específica o objetivo principal do estudo (desfechos primários e secundários)</p> <p>Não específica como ocorreu o monitoramento dos indivíduos durante o estudo</p> <p>Não especificidade dos indivíduos</p> <p>Tempo de estudo limitado</p> <p>Número amostral pequeno</p>
<p>Vajro et al, 2011, Italia</p>	<p>n = 20, crianças, 18 ♂ e 2 ♀</p> <p>IMC > percentil 95 obesos</p> <p>DHGNA baseada em US e ALT</p>	<p>Probiótico: <i>Lactobacillus GG</i> (12 Bilhões UFC/dia), em cápsula</p> <p>Placebo: sem especificação</p> <p><u>8 semanas</u></p>	<p>Grupo probiótico (n=10)</p> <p>Placebo (n=10)</p>	<p>Desfecho primário: ALT</p> <p>Desfecho secundário: ecogenicidade hepática, TNF-α, marcadores intestinais (anticorpos H2BT e PG-PS)</p>	<p>Probiótico: ↓ALT ↓PG-PS IgA</p>	<p>Estudo piloto</p> <p>Não específica a composição do placebo utilizado</p> <p>Falta de análise de outros parâmetros bioquímicos</p> <p>Número amostral pequeno</p> <p>Tempo de estudo limitado</p>

ALP: fosfatase alcalina; ALT: aminotransferase; AST: aspartato aminotransferase; CC: circunferência da cintura; CHO: carboidratos; CT: colesterol total; DHGNA: Doença hepática gordurosa não alcoólica; DM II: diabetes melitus do tipo II; ECR: ensaio clínico randomizado; EHNA: esteatohepatite não alcoólica; FBG: fasting blood glucose (glicemia de jejum); FLI: *fat liver index* (medida de esteatose hepática); FOS: frutooligossacarídeos; GGT: gama-glutamiltanspeptidase; GLP-1: peptídeo semelhante ao glucagon; HDL: colesterol de alta densidade; HOMA-IR: *homeostasis model assessment* (exame de sangue para avaliação da resistência à insulina); IHGT: intra hepatic trygliceride content (conteúdo hepático de triglicerídeos); IL: interleucina; IMC: índice de massa corporal; LDL: colesterol de baixa densidade; LIP: lipídeos; LPS: lipopolissacarídeo; LS: liver stiffness (rigidez hepática); MRI (ou MRD-PDFF): ressonância magnética; NF-KB: fator nuclear kappa B; NFS: *NAFLD fibrosis score*; PCR: proteína C reativa; PTN: proteína; QUICKI: *quantitative insulin sensitivity check index*; RI: resistência à insulina; SM: síndrome metabólica; TG: triglicerídeos; TNF- α : fator de necrose tumoral alfa; UFC: unidades formadoras de colônia; US: ultrassonografia; VET: valor energético total; VLDL: lipoproteína de baixa densidade

Tabela 2 - Benefícios da suplementação com probióticos e simbióticos sobre a estrutura e enzimas hepáticas e perfis lipídio, glicêmico e inflamatório em pacientes com DHGNA ou EHNA.

Autor, ano, país	Intervenção	Benefício na estrutura hepática	Redução de enzimas hepáticas	Melhora do perfil lipídico	Melhora do perfil glicêmico	Melhora do perfil inflamatório
<i>Kobyliak et al. 2018, Ucrânia</i>	Probiótico	Sim	Sim	Sim	NA	Sim
<i>Manzhalli et al. 2017, Alemanha</i>	Simbiótico + dieta de baixa caloria/gordura	Sim	Sim	Sim	Não	NA
<i>Behrouz et al. 2017, Iran</i>	Probiótico e prebióticos + recomendações de hábitos saudáveis	NA	NA	Sim	Sim	NA
<i>Javardi et al. 2017, Iran</i>	Probiótico (associado ou não a prebiótico)	NA	NA	Sim para os grupos probiótico e simbiótico	Não para todos os grupos	NA
<i>Asgharian et al. 2017, Iran</i>	Simbiótico	Sim	NA	Sim	Sim	NA
<i>Mofidi et al. 2017, Iran</i>	Simbiótico + recomendações de alimentação saudável e atividade física	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim

Famouri et al., 2017, Iran	Probióticos + recomendações de hábitos saudáveis (alimentação+ atividade física)	Sim	Sim	Sim	NA	NA
Monem et al., 2017, Egito	Probiótico	Não	Sim	Não	Não	NA
Ferolla et al., 2016, Brasil	Simbióticos	Sim	Não	Não	Não	NA
Ekhlasi et al., 2016, Iran	Simbiótico, associado ou não a vitamina E	NA	Sim para todos os grupos	Sim, para todos os grupos	Sim, para todos os grupos	NA
Sepideh et al., 2016, Iran	Probiótico	NA	NA	NA	Sim	Sim
Nabavi et al., 2014, Iran	logurte enriquecido com probióticos	NA	Sim	Sim	Não	NA
Alisi et al., 2014, Korea	Probiótico + dieta + programa de exercício aeróbico moderado	Sim	NA	Não	Não	NA
Shavakhi et al., 2013, Iran	Simbiótico associado a metformina	Sim	Sim	Sim	Sim	NA
Wong et al. 2013, Hong Kong	Simbiótico + Recomendação de perda de peso, redução do consumo de lipídeos e prática de atividade física	Sim	Sim	Não	NA	NA

<i>Malanguarnera et al., 2012, Itália</i>	Simbiótico + vitaminas do complexo B + dieta de 1600 kcal + plano de exercícios físicos	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
<i>Aller et al., 2011, Espanha</i>	Probiótico	NA	Sim	Não	Não	Não
<i>Vajro et al., 2011, Italia</i>	Probiótico	NA	Sim	NA	NA	Não

NA: não se aplica.