



O USO DO KEFIR COMO UMA ABORDAGEM PROMISSORA PARA MINIMIZAR OS EFEITOS CAUSADOS PELA DISBIOSE GESTACIONAL SOBRE A PROLE

Palavras-Chave: MICROBIOTA INTESTINAL, DISBIOSE GESTACIONAL, KEFIR.

Autores(as):

Jéssica Alves Ribeiro, FCF - UNICAMP

Taise Fonseca Pedroso, IB - UNICAMP

Gabriel Da Silva Cordeiro, FCF - UNICAMP

Kênia Moreno De Oliveira, IB - UNICAMP

Lailson Oliveira De Sousa, FEA - UNICAMP

Mileane De Souza Busch, IBqM- UFRJ

Karoline Da Silva Farias, FCF - UNICAMP

Marco Aurélio Ramirez Vinolo, IB - UNICAMP

Everardo Magalhães Carneiro, IB - UNICAMP

Karina Cogo Müller, FCF - UNICAMP,

Débora Parra Baptista, FEA-UNICAMP

Georgia Correa Atella, IBqM - UFRJ

Liana Verinaud, IB - UNICAMP

Valquiria Aparecida Matheus (Co Orientadora), FCF - UNICAMP

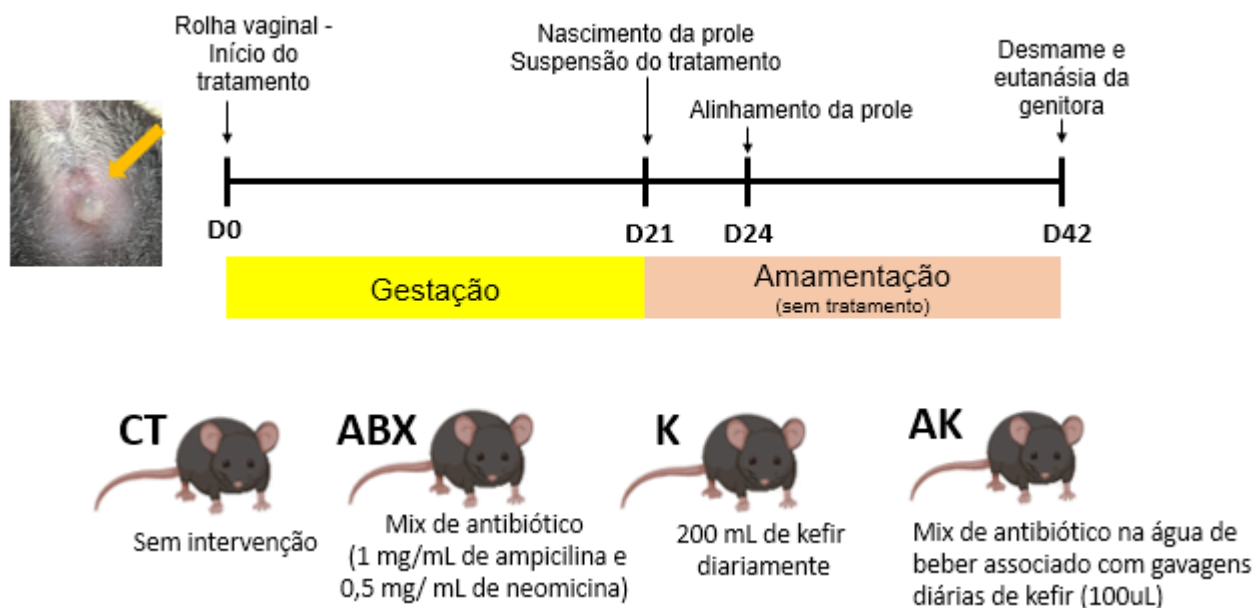
Catarina Raposo Dias Carneiro (Orientadora), FCF - UNICAMP

INTRODUÇÃO:

O lúmen intestinal é habitado por microrganismos (microbiota) que utilizam fibras alimentares não digeríveis pelo hospedeiro como fonte de energia, através da fermentação. O produto da fermentação são os ácidos graxos de cadeia curta (AGCC). Alteração na quantidade ou na proporção dos microrganismos que compõem a microbiota leva, por consequência, alteração na disponibilidade desses AGCC. [1] Proles geradas de indivíduos com desequilíbrio na microbiota intestinal, no período gestacional, são predispostas a distúrbios metabólicos, imunológicos e neurológicos. [2] O kefir possui a propriedade de modular a microbiota e a resposta imune, sendo considerado um bom probiótico para elevar os níveis de AGCC. [3] Este projeto hipotetiza que a predisposição aos distúrbios está relacionada à baixa disponibilidade de ácidos graxos de cadeia curta, e sugere o uso do kefir para restaurar esses níveis.

METODOLOGIA:

1. Fêmeas prenhas da linhagem C57BL6J foram divididas em três grupos: (a) CT - sem intervenção; (b) ABX - recebeu mix de antibióticos (1mg/ mL de ampicilina e 0,5 mg/mL de neomicina) na água de beber; (c) K - recebeu 200 uL de kefir diariamente por gavagem; (d) AK - recebeu mix de antibiótico na água de beber associado com gavagens diárias de kefir (100 uL). Seguindo o delineamento a seguir: (CEUA 6231-1/2023)



2. As proles não foram submetidas a quaisquer intervenções. Ao completarem 45 dias, as proles foram submetidas aos testes comportamentais de Campo Aberto e Reconhecimento de Objetos.



3. Foi realizada análise da composição e do valor nutricional do kefir.
4. Foram coletadas amostras de fezes das genitoras e da prole para avaliar os níveis de acetato.
5. Foram coletados fragmentos de cólon da prole para a análise da concentração e de expressão de IL-17.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

1. Composição do kefir

Foram realizados testes para analisar a composição do kefir utilizado nos experimentos, por meio da análise do gene marcador 16S rRNA observa-se presença majoritária de *Lactobacillus* (95,2%) e por meio da análise da região ITS1 e ITS2 constatou predominância de *Saccharomyces* (34,4%). A avaliação da composição nutricional está de acordo com as diretrizes. O teste foi realizado pela composição centesimal. [5]

2. Fenótipo da prole

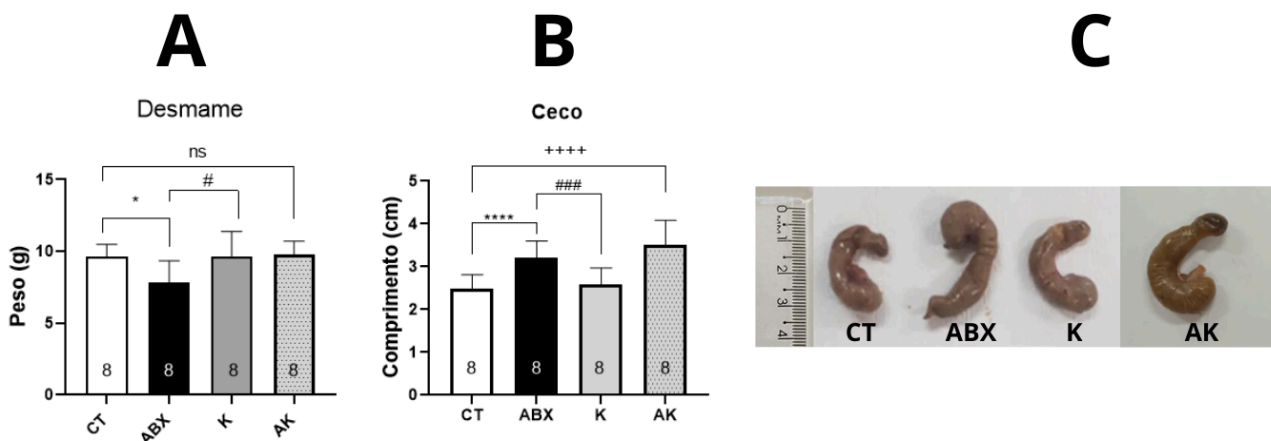


Figura 1 - Fenótipo da prole. A: Peso da prole no momento do desmame. B: Representação gráfica do comprimento do ceco da prole com 45 dias. C: Foto representativa de ceco dos diferentes grupos experimentais. CT=controle, ABX= mix de antibiótico, K=Kefir, AK=antibiótico mais kefir. n=8/grupo. Resultados apresentados como média ± erro padrão *p<0.05. *Comparado CT, #Comparado ABX, +Comparado AK One Way Anova.

3. Testes comportamentais

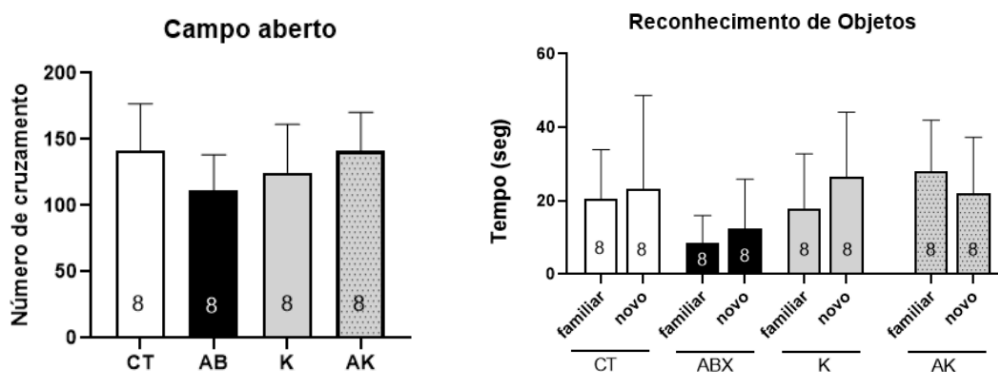


Figura 2 - Testes Comportamentais. Campo aberto: avaliação da atividade exploratória em machos. Reconhecimento de Objeto: avaliação da capacidade de memória do animal em machos. [4] n=8/ grupo. Resultados apresentados como média ± erro padrão *p<0.05 One Way Anova.

4. Expressão gênica e análise de citocina

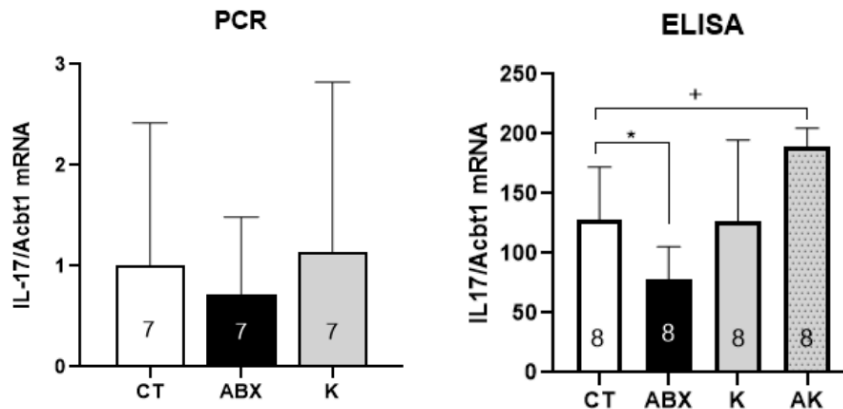


Figura 3 - Avaliação de IL-17. Análise da citocina IL-17/Acbt1 mRNA pelo método RT-qPCR. n=7/ grupo. Análise de IL-17 pelo método de Elisa (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*), valores brutos. n=8/ grupo. Resultados apresentados como média ± erro padrão *p<0.05 *Comparado CT, +Comparado AK One Way Anova.

5. Análise Ácidos Graxos de Cadeia Curta

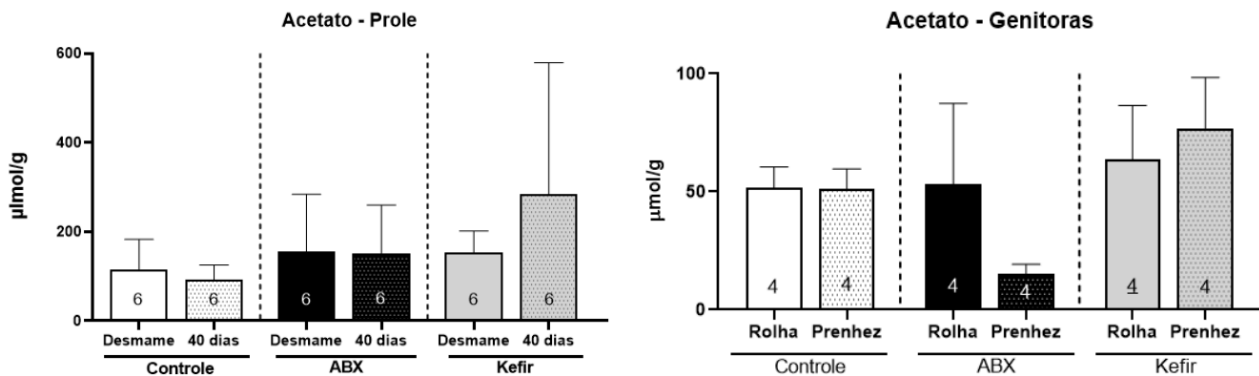


Figura 4 - Concentração de Acetato (ácido graxo de cadeia curta) Concentração de Acetato nas fezes da prole no momento do desmame e após 40 dias. n=6/ grupo. Concentração de acetato nas fezes das genitoras em dois tempos distintos: rolha e gravidez. n=4/ grupo. Resultados apresentados como média ± erro padrão *p<0.05 One Way Anova.

Foi possível observar que filhotes das proles K e AK, no momento do desmame, apresentaram peso semelhante ao da prole (CT). Nos testes comportamentais, foi observado que os grupos K e AK obtiveram comportamento de exploração similar no teste de Campo Aberto. Já o controle negativo (ABX), quando comparado aos demais grupos, apresentou menor atividade exploratória. Nos testes de reconhecimento de objetos, o grupo AK demonstrou menor interação com o novo objeto em relação aos demais grupos, sugerindo possível déficit de memória. No entanto, foi o grupo com maior interação geral com ambos os objetos.

A IL-17 é uma citocina pró-inflamatória produzida principalmente por células Th17, envolvida na defesa imunológica e na manutenção da homeostase intestinal. Pela análise de Elisa, foi observado que a prole K mantém os níveis de IL-17 próximos à prole CT, ou seja, próximos ao nível basal, enquanto

a prole ABX apresenta nível de IL-17 abaixo do CT, o que pode sugerir um comprometimento na defesa contra infecções e na integridade da barreira intestinal. O aumento do nível de IL-17 em prole AK ao mesmo tempo que pode melhorar a defesa imunológica, também pode contribuir para uma inflamação exacerbada. Levando em conta que a prole não foi submetida a nenhum desafio, pode-se sugerir que a prole AK possui maior capacidade de defesa imunológica. Os resultados de expressão de IL-17, por RT-qPCR não foram conclusivos, sendo necessária a repetição do teste.

Ao analisar a concentração de acetato (ácido graxo de cadeia curta) em amostras fecais das genitoras nos momentos de 0,5 e 14,5 dias de gestação, verificou-se que as genitoras submetidas ao tratamento com kefir apresentaram aumento nos níveis de concentração de acetato, comparada ao grupo CT, enquanto o grupo ABX demonstrou redução na concentração de acetato após administração do mix. Esses resultados indicam que a administração de kefir tem a capacidade de aumentar a produção de acetato.

Vale destacar que os resultados de níveis de ácidos graxos de cadeia curta e de RT-qPCR relacionados ao grupo AK estão sendo processados e por este motivo não foram colocados nesse resumo.

CONCLUSÕES:

O kefir demonstrou ser um probiótico seguro e promissor para a saúde materna, não induzindo disbiose nem apresentando efeitos adversos quando administrado isoladamente. No entanto, quando administrado concomitantemente com mix de antibióticos, os resultados foram conflitantes. Embora tenha sido observado aumento no tamanho do ceco em comparação com o grupo controle (indicativo de disbiose), o grupo AK apresentou maior concentração de IL-17. No teste de reconhecimento de objeto, apesar de menor interação com o objeto novo, foi o grupo que apresentou maior interatividade com ambos os objetos comparado aos demais grupos.

BIBLIOGRAFIA

- [1] THOMSON, C., GARCIA, A. & EDWARDS, C. (2021) **Interações entre fibra dietética e microbiota intestinal.** *Proceedings of the Nutrition Society*, 80 (4), 398-408. doi:10.1017/S0029665121002834
- [2] AL RUBAYE H, ADAMSON CC, JADAVJI NM. **The role of maternal diet on offspring gut microbiota development: A review.** *J Neurosci Res.* 2021 Jan;99(1):284-293. doi: 10.1002/jnr.24605. Epub 2020 Feb 28. PMID: 32112450.
- [3] BRIANDA D. GONZÁLEZ-OROZCO, et. al., **Invited review: Milk kefir microbiota—Direct and indirect antimicrobial effects,** *Journal of Dairy Science*, Volume 105, Issue 5, 2022, Pages 3703-3715, ISSN 0022-0302, <https://doi.org/10.3168/jds.2021-21382>.
- [4] WALSH, R. N., & CUMMINS, R. A. **Behavioral Test Read Article.** *Animal Behavior Journal*, São Paulo, v. 5, n. 2, p. 45-62, July 2022.
- [5] AOAC International. **Official methods of analysis of AOAC International.** Gaithersburg, MD, USA: AOAC International, 2006.