



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

IGOR HENRIQUE RODRIGUES DE PAIVA

**ESTUDO DOS PREBIÓTICOS [FRUTOOLIGOSSACARÍDEO (FOS) E
GALACTOOLIGOSSACARÍDEO (GOS)] SOBRE AS VIAS DE SINALIZAÇÃO
DA NEUROINFLAMAÇÃO E COGNIÇÃO EM MODELO ANIMAL DE
OBESIDADE INDUZIDA POR DIETA**

RECIFE

2020

IGOR HENRIQUE RODRIGUES DE PAIVA

**ESTUDO DOS PREBIÓTICOS [FRUTOOLIGOSSACARÍDEO (FOS) E
GALACTOOLIGOSSACARÍDEO (GOS)] SOBRE AS VIAS DE SINALIZAÇÃO DA
NEUROINFLAMAÇÃO E COGNIÇÃO EM MODELO ANIMAL DE OBESIDADE
INDUZIDA POR DIETA**

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em
Ciências Biológicas da Universidade
Federal de Pernambuco, como
requisito parcial para a obtenção do
título de Mestre em Ciências
Biológicas. Área de concentração:
Biotecnologia

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Christina Alves Peixoto

Recife

2020

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com ISBD

Paiva, Igor Henrique Rodrigues

Estudo dos prebióticos [frutooligossacarídeo (FOS) e galactooligossacarídeo (GOS)] sobre as vias de sinalização da neuroinflamação e cognição em modelo animal de obesidade induzida por dieta/ Igor Henrique Rodrigues Paiva– 2020.

100 f. : il., fig., tab.

Orientadora: Christina Alves Peixoto

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Recife, 2020.

Inclui referências e anexos.

1. Obesidade 2. Prebióticos 3. Cognição I. Peixoto, Christina Alves (orient.) II. Título

616.398

CDD (22.ed.)

UFPE/CB – 2023 -186

IGOR HENRIQUE RODRIGUES DE PAIVA

**ESTUDO DOS PREBIÓTICOS (FRUTOOLIGOSSACARÍDEO [FOS] E
GALACTOOLIGOSSACARÍDEO [GOS]) SOBRE AS VIAS DE SINALIZAÇÃO
DA NEUROINFLAMAÇÃO E COGNIÇÃO EM MODELO ANIMAL DE
OBESIDADE INDUZIDA POR DIETA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas.

Aprovada em 30/10/2020

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Christina Alves Peixoto (Orientador)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof^a Dr^a Belmira Lara da Silveira Andrade da Costa (Examinadora
Externa)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof^a. Dr^a Teresinha Gonçalves Da Silva (Examinadora Interna)
Universidade Federal de Pernambuco

Dedico esse trabalho a minha família que sempre acreditou em mim independente de qualquer circunstância, em especial a Verônica.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por ter dado, durante essa caminhada, saúde física e mental para terminar o curso durante 2 anos, além de sabedoria e muita paciência para suportar todas as adversidades.

A minha mãe, Verônica, juntamente com meu namorado Rogério por me ajudar a encarar a vida como ela é e aprimorar a construção do meu caráter, e a minha família por cada atenção dada.

Aos meus co-orientadores no PIBIC/FIOCRUZ por todo conhecimento passado, em especial a Tiago por ter confiado em mim desde a seleção de mestrado e que ajudou no meu crescimento acadêmico.

A Emília Carolle pela tranquilidade quando me orientou e pelos conselhos dados. Agradeço muitíssimo a minha Orientadora por ter me aceitado e moldado meu conhecimento e minha prática de escrita acadêmica.

Sou grato pela maravilhosa equipe de trabalho do LabUltra, que me ajudou em todas as partes do meu experimento e foram sempre bons companheiros.

Por fim, agradeço ao Instituto Aggeu Magalhães/FIOCRUZ pela oportunidade de desenvolver esse projeto, bem como aos técnicos do Laboratório de Ultraestrutura.

Agradeço a todos que de modo direto e indireto contribuíram para que eu pudesse concluir esse trabalho, quer seja com ajuda prática ou motivacional.

É PROIBIDO

“É proibido chorar sem aprender,
Levantar-se um dia sem saber o que fazer
Ter medo de suas lembranças.
É proibido não rir dos problemas
Não lutar pelo que se quer,
Abandonar tudo por medo,
Não transformar sonhos em realidade.
É proibido não ser você mesmo diante das pessoas,
Fingir que elas não te importam [...]
Ser gentil só para que se lembrem de você,
Esquecer aqueles que gostam de você.

É proibido não fazer as coisas por si mesmo,
Não ter fé e fazer seu destino,
Ter medo da vida e de seus compromissos,
Não viver cada dia como se fosse um último suspiro.
É proibido sentir saudades de alguém sem se alegrar,
Esquecer seus olhos, seu sorriso, só porque seus caminhos se
desencontraram, esquecer seu passado e pagá-lo com seu presente.

É proibido não tentar compreender as pessoas,
Pensar que as vidas deles valem mais que a sua,
Não saber que cada um tem seu caminho e sua sorte.

É proibido não criar sua história,
Deixar de dar graças a Deus por sua vida,
É proibido não buscar a felicidade,
Não viver sua vida com uma atitude positiva,
Não pensar que podemos ser melhores,
Não sentir que sem você este mundo não seria igual.”

Alfredo Cuervo Barrero

RESUMO

O consumo de dietas hiperlipídicas (HFD) está associado com um processo neuroinflamatório crônico que, por sua vez, induz déficits de memória e aprendizado. Neste contexto, o eixo microbiota-intestino-cérebro desempenha um papel fundamental na regulação das funções cerebrais. O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos dos prebióticos FOS e GOS na modulação da neuroinflamação e cognição em modelo experimental de obesidade induzido por dieta em camundongos machos C57BL/6. Foram utilizados 45 camundongos machos C57BL/6, com 8-10 semanas, distribuídos em três grupos experimentais: controle, HFD, HFD tratado com Prebióticos (HFD +Prebiótico) na dose 0,3 g e 0,4 g/ animal/ dia de FOS e GOS respectivamente. A obesidade foi induzida com uma dieta constituída de 60% de gordura por 18 semanas e os prebióticos foram administrados na água de beber a partir da 13ª semana de dieta. Nesta semana foram realizados testes cognitivos para avaliar a memória de curto prazo (Labirinto T) e aprendizagem e memória de longo (Labirinto circular de Barnes). O teste de labirinto T demonstrou que o grupo HFD apresentou déficit de memória quando comparado com o grupo controle, por sua vez o grupo HFD+Prebiótico apresentou melhora significativa da memória de curto prazo. Em relação a avaliação da aprendizagem no labirinto de Barnes, os animais do grupo HFD não apresentaram redução da latência primária, entretanto, tais alterações foram revertidas pelo tratamento com FOS e GOS. Após a realização dos testes comportamentais, os animais foram eutanasiados, o sangue foi coletado e os cérebros dissecados para realização das análises histológicas, bioquímicas e de western blot. Os animais do grupo HFD + Prebióticos apresentaram redução significativa de peso, glicemia, colesterolemia e trigliceridemia quando comparados ao grupo HFD. A expressão proteica hipocampal de p-GR(S226), TNF- α , IBA-1, GFAP COX-2, TLR4 e CASPASE-3 aumentou significativamente no grupo HFD, enquanto os animais tratados com prebióticos apresentaram redução estatisticamente significativa desses marcadores de inflamação e apoptose. Além disso, nos animais obesos apresentaram redução da expressão proteica hipocampal de KI-67, BDNF e p-CREB, o que foi revertido pelo tratamento com FOS e GOS. Em conclusão, o tratamento com os FOS e GOS melhorou a cognição em camundongos obesos, reduziu a neuroinflamação e promoveu aumento de marcadores da neurogênese e plasticidade sináptica.

Palavras-chaves: Cognição; Obesidade; Neuroinflamação; Prebióticos

ABSTRACT

The consumption of high-fat diets (HFD) is associated with a chronic neuroinflammatory process that, in turn, induces memory and learning deficits. In this context, the microbiota-gut-brain axis plays a fundamental role in the regulation of brain functions. The study aimed to evaluate the effects of FOS and GOS prebiotics on the modulation of neuroinflammation and cognition in an experimental model of diet-induced obesity in male C57BL / 6 mice. 45 male C57BL / 6 mice, aged 8-10 weeks, were distributed in three experimental groups: Control, HFD and HFD treated with Prebiotics (HFD + Prebiotics) in the dose 0.3 g and 0.4 g / animal/day of FOS and GOS respectively. Obesity was induced with a proven 60% fat diet for 18 weeks. The prebiotics were administered in drinking water from the 13th week of the diet. This week cognitive tests were performed to assess short-term memory (Labyrinth T) and learning and long-term memory (Barnes circular labyrinth). The labyrinth test that the HFD group has memory deficit when compared to the control group, in turn, the HFD + Prebiotic group improves short-term memory improvement. Regarding the assessment of learning in the Barnes maze, the animals in the HFD group did not reduce the primary latency, however, such changes were reversed by treatment with FOS and GOS. After conducting the behavioral tests, the animals were euthanized, the blood was collected and the brains dissected for histological, biochemical, and western blot analysis. The animals in the HFD + Prebiotics group reduced weight reduction, glycemia, cholesterolemia, and triglyceridemia when compared to the HFD group. The hippocampal expression of p-GR(S226), TNF- α , IBA-1, GFAP COX-2, TLR4, and CASPASE-3 increased in the HFD group, while the animals treated with wasted prebiotics reduced statistically separate from these markers of inflammation and apoptosis. Also, in obese animals reduced hippocampal expression of KI-67, BDNF, and p-CREB, which was reversed by treatment with FOS and GOS. In conclusion, treatment with FOS and GOS improved cognition in obese mice, reduced neuroinflammation, and promoted an increase in neurogenesis and synaptic plasticity markers.

Keywords: Cognition; Obesity; Neuroinflammation; Prebiotics

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

| | |
|--|----|
| Figura 1 – Biossíntese do Triptofano..... | 19 |
| Figura 2 – Comparação entre a microbiota de um indivíduo saudável e obeso..... | 26 |

SUMÁRIO

| | | |
|-----------|--|------------|
| 1 | INTRODUÇÃO | 11 |
| 2 | OBJETIVOS | 13 |
| 2.1 | OBJETIVO GERAL | 13 |
| 2.2 | OBJETIVOS ESPECÍFICOS | 13 |
| 2.2.1 | Avaliar a ação dos prebióticos sobre o metabolismo lipídico | 13 |
| 2.2.2 | Caracterizar os efeitos dos prebióticos na formação da aprendizagem e memória espacial | 13 |
| 2.2.3 | Investigar a via de sinalização da inflamação após tratamento com prebióticos | 13 |
| 2.2.4 | Analisar a expressão de marcadores da plasticidade sináptica e inflamação no hipocampo e córtex pré-frontal | 13 |
| 3 | JUSTIFICATIVA | 14 |
| 4. | REFERENCIAL TEÓRICO | 15 |
| 4.1 | OBESIDADE: DEFINIÇÃO, COMORBIDADES E NEUROINFLAMAÇÃO | 15 |
| 4.2 | MICROBIOTA, OBESIDADE E NEUROINFLAMAÇÃO | 21 |
| 4.3 | PSICOBÍÓTICOS | 27 |
| 5 | RESULTADOS E DISCUSSÃO | 32 |
| 6 | CONSIDERAÇÕES FINAIS | 76 |
| 7 | SÚMULA CURRICULAR | 77 |
| | REFERÊNCIAS | 78 |
| | ANEXO 1 – ARTIGO DE REVISÃO ACEITO | 99 |
| | ANEXO 2 – APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA | 100 |

1. INTRODUÇÃO

A obesidade é uma desordem metabólica considerada epidêmica. Em 2016, mais de 1,9 bilhão de adultos acima de 18 anos apresentavam sobrepeso e 650 milhões eram obesos (WHO, 2017). No Brasil, 22 milhões de pessoas são obesas e 60 milhões apresentaram sobrepeso em 2010 (IBGE, 2010). Entre as comorbidades relacionadas com a obesidade se destacam a diabetes tipo 2, doenças coronarianas, câncer e aumento do risco de morte prematura (PREISS; BRENNAN; CLARKE, 2013).

Além dos fatores genéticos, o consumo de dieta rica em ácidos graxos saturados e pobre em fibras contribui para o desenvolvimento da obesidade (MOYER et al., 2016). Por sua vez, a obesidade encontra-se diretamente associada com um estado de inflamação crônica nos tecidos periféricos e na circulação sanguínea (GREGOR; HOTAMISLIGIL, 2011). O aumento de marcadores inflamatórios como TNF- α , IL-6 e IL-1 β têm sido observados em pacientes obesos e em modelos experimentais de obesidade (SELLBOM; GUNSTAD, 2012). Adicionalmente, estudos demonstram uma relação direta entre o aumento de citocinas pró-inflamatórias com a resistência à insulina, hiperlipidemia e hiperglicemia. Em contraposição, indivíduos saudáveis produzem citocinas anti-inflamatórias como adiponectina que aumentam a sensibilidade à insulina e protegem contra o desenvolvimento de diabetes tipo 2 e doenças cardiovasculares (SCHACHTER et al., 2018).

A neuroinflamação induzida pela obesidade está por sua vez, associada a alterações cognitivas (JOHNSON et al., 2016), e ao surgimento de sintomas depressivos (GUILLEMOT-LEGRIS; MUCCIOLI, 2017). Níveis aumentados de IFN, TNF- α e IL-6 levam à ativação excessiva do eixo Hipotálamo-Pituitária-Adrenal (HPA) culminando com a produção de elevados níveis de glicocorticoides (HARRISON et al., 2009). Além disso, a produção excessiva dessas citocinas pró-inflamatórias pode induzir alterações no metabolismo do triptofano através da ativação da enzima Indoleamina 2,3-dioxigenase (IDO), levando à produção de catabólitos do triptofano (TRYCATS) que por sua vez, apresentam ação neurotóxica (CHAVES FILHO et al., 2018).

A microbiota intestinal contribui para a regulação do eixo intestino-cérebro e para a manutenção da saúde, enquanto sua alteração (disbiose) devido a fatores de estilo de vida (dietas não saudáveis, estresse) está relacionada à obesidade e suas consequências adversas sobre humor e cognição (WANG; WANG, 2016). Crê-se que um padrão alimentar saudável (por exemplo, rico em fibras, vegetais, etc) aumenta a diversidade da microbiota intestinal e, desse modo, contribui para a integridade

epitelial do intestino, homeostase imunitária e função normal do cérebro através do eixo do intestino-cérebro. Por outro lado, os padrões alimentares ocidentais (ricos em açúcares simples e gorduras saturadas) parecem reduzir a diversidade microbiana, promover a inflamação e contribuir para a síndrome do intestino permeável; isso facilita a translocação de componentes de bactérias Gram-negativas, o que aumenta o perfil inflamatório periférico e produz neuroinflamação e alterações no SNC (AGUSTÍ et al., 2018).

Indivíduos obesos, bem como modelos experimentais de obesidade (high fat diet – HFD), apresentam alterações na composição da microbiota intestinal com aumento da relação *Firmicutes/Bacteroidetes* (SCHACHTER et al., 2018), favorecendo, portanto, o crescimento de bactérias patogênicas e tornando mais fácil a passagem de toxinas bacterianas como o Lipopolissacarídeo (LPS) para a circulação (MOREIRA et al., 2012). O LPS através da ativação de receptores Toll-like 4 (TLR4) induz um aumento de expressão de citocinas pró-inflamatórias no hipocampo e no hipotálamo (YEOP HAN et al., 2010). Portanto, a obesidade e a disbiose podem estar relacionadas a danos cognitivos e alterações de humor.

Os prebióticos são definidos como substâncias que induzem alterações na composição da microbiota gastrointestinal conferindo efeitos benéficos (ROBERFROID et al., 2010). Nesse contexto, prebióticos podem promover efeitos positivos na prevenção e/ou tratamento da obesidade e suas comorbidades. Frutooligossacarídeos (FOS) e Galactooligossacarídeos (GOS) são fibras solúveis usadas como prebióticos que são tradicionalmente associadas com a estimulação de bactérias benéficas como as bífidobactérias e lactobacilos, entre outros. Além de efeitos ansiolíticos e de regulação imune neural, os FOS e GOS podem induzir o aumento do fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) e de receptores de glutamato N-metil-D-aspartato (NMDAR) regulando, portanto, a neuroplasticidade sináptica (SAVIGNAC et al., 2013). Baseado nisso, os prebióticos apresentam um grande potencial de serem usados em doenças neuropsiquiátricas e neurodegenerativas por meio de modulação da microbiota.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Avaliar os efeitos dos prebióticos (fruto-oligossacarídeos e galactooligossacarídeos) na modulação da neuroinflamação e cognição em modelo experimental de obesidade induzido por dieta em camundongos C57BL/6 selvagem adultos.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

2.2.1. Avaliar a ação dos prebióticos sobre o metabolismo lipídico no soro.

2.2.2. Caracterizar os efeitos dos prebióticos na formação da aprendizagem e memória espacial.

2.2.3. Investigar a via de sinalização da inflamação hipocampal após tratamento com prebióticos.

2.2.4. Analisar a expressão de marcadores da plasticidade sináptica e inflamação no hipocampo e córtex pré-frontal.

3. JUSTIFICATIVA

A prevalência da obesidade aumentou em todo o mundo nas últimas décadas, principalmente devido a dietas hipercalóricas e estilos de vida sedentários (Burokas et al. 2018). A Organização Mundial de Saúde estima que 39% da população adulta humana está acima do peso e 13% é obesa (WHO, 2016). A obesidade não está associada apenas a doenças importantes, como diabetes mellitus tipo 2, doenças cardiovasculares, doença renal crônica e câncer, mas também reduz a longevidade e a qualidade de vida (ALBERTI et al., 2009).. Nesse contexto, vários estudos demonstram que existem evidências diretas relacionando o consumo de dietas hiperlipídicas (HFD) com déficits na memória/aprendizado dependentes do hipocampo e estados de humor (RAJAN; MENON, 2017)..

Possivelmente, essa relação direta entre consumo alimentar e alterações no sistema nervoso esteja relacionado ao aumento da inflamação crônica, causando neuroinflamação. Evidências crescentes sugerem que o eixo microbiota-intestino-cérebro desempenha um papel fundamental na regulação das funções cerebrais, particularmente no processamento emocional e no comportamento. De fato, a microbiota desempenha um papel importante no neurodesenvolvimento, levando a alterações na expressão gênica em regiões críticas do cérebro. Sendo assim, a utilização de prebióticos vem produzindo resultados importantes em modelos animais de depressão. Entretanto, ainda é pouco explorada a relação entre o consumo crônico com dieta HFD e a utilização de prebióticos na prevenção e/ou tratamento da neuroinflamação e cognição.

4. REFERENCIAL TEÓRICO

4.1 OBESIDADE: DEFINIÇÃO, COMORBIDADES E NEUROINFLAMAÇÃO

Doenças não transmissíveis (DNTs), tais como câncer, asma e diabetes, são responsáveis por mais de 70% das mortes precoces em todo mundo. Dentre elas, está a obesidade que leva a uma diminuição de 5 a 20 anos de vida (WHO, 2017). A Organização Mundial da Saúde (OMS) define obesidade e sobrepeso como sendo um acúmulo excessivo de gordura, que pode levar ao comprometimento da saúde física e psicossocial (WHO, 2019). Porém esta definição simples não abrange o fenótipo etiologicamente complexo da obesidade (HRUBY; HU, 2015).

Segundo a OMS, indivíduos adultos com o Índice de Massa Corporal (IMC) maior ou igual a 30 kg/m² são considerados obesos enquanto aqueles entre 25-30 kg/m² são classificados com sobrepesos. Em 2016, mais de 1,9 bilhão de adultos acima de 18 anos apresentavam sobrepeso e 650 milhões eram obesos (WHO, 2016). De 2006 até 2019, houve um aumento de 67,8% na prevalência da obesidade no Brasil e chegando a ser de 84% entre adultos de 25 a 34 anos (BRASIL, 2019). Se as estatísticas permanecerem como previsto, calcula-se que, em 2030, 38% indivíduos adultos em todo mundo estejam acima do peso e outros 20% sejam obesos (ALBERTI et al., 2009).

A obesidade é capaz de predispor o aparecimento de comorbidades tais como complicações respiratórias (PETERS et al., 2018; XANTHOPOULOS; TAPIA, 2017), hipertensão e outras doenças cardiovasculares (CSIGE et al., 2018; PICHÉ et al., 2018), diabetes mellitus tipo II (AL-GOBLAN; AL-ALFI; KHAN, 2014), câncer (IYENGAR et al., 2016) e desordens psiquiátricas (RAJAN; MENON, 2017).

O principal fundamento para o desenvolvimento da obesidade é desbalanço da quantidade excessiva de calorias consumidas e sua baixa utilização (BLÜHER, 2019). Fatores intrínsecos, como o genótipo do indivíduo, e fatores extrínsecos, como a dieta principalmente, podem levar ou contribuir para o desenvolvimento da obesidade. Diversos estudos clínicos e pré-clínicos identificaram formas monogênicas da obesidade. Hoje, evidencia-se que a obesidade pode ser desencadeada também por causas poligênicas (HINNEY; VOGEL; HEBEBRAND, 2010).

Um dos exemplos de alterações genéticas que levam a obesidade são modificações da expressão da leptina, hormônio responsável pelo controle do apetite (ZHANG et al., 1994), onde mutações neste gene (LEP) (WASIM et al., 2016) bem como do seu receptor (LEPR) (GHALANDARI; HOSSEINI-ESFAHANI; MIRMIRAN, 2015) estão diretamente relacionadas ao desenvolvimento de obesidade grave. Existem outros que, quando desregulados, interferem no sistema regulatório do apetite tais como pró-opiomelanocortina (POMC), Receptor de melanocortina 4 (MC4R), Carboxipeptidase (CPE) e Receptor Neurotrófico de Tirosina Quinase Tipo 2 e Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro (BDNF), além dos fatores epigenéticos (THAKER, 2017).

Além disso, vários fatores extrínsecos (ambiental e social) podem influenciar no balanço energético positivo como alimentação emocional (FRAYN; LIVSHITS; KNÄUPER, 2018), falta de sono (CHAPUT; DUTIL, 2016), medicamento (SCHWARTZ et al., 2004), estresse (RAZZOLI et al., 2017) e alimentação rica em gordura (MOYER et al., 2016). O aumento do consumo da dieta ocidental (rica em gordura saturada, e pobre em fibras) também é capaz levar ao desenvolvimento de outras morbidades como doenças cardiovasculares (DEHGHAN et al., 2017), diabetes tipo II (HEYDEMANN, 2016) e distúrbios cognitivos (GREENWOOD; WINOCUR, 2005).

O tecido adiposo é um dos alvos fundamentais dos estudos sobre obesidades principalmente pela compreensão da função deste tecido nas últimas décadas. Ele se localiza em várias regiões anatômicas e pode ser dividido em subcutâneo, visceral e alguns depósitos especializados como nos linfonodos. Além disso, o tecido adiposo apresenta dois citotipos: o tecido adiposo marrom (TAM) e o tecido adiposo branco (TAB). O TAM é principalmente encontrado em recém-nascidos e em mamíferos hibernantes e sua função é promover a manutenção da temperatura corporal (Junqueira., 2017). Atualmente já se sabe que o TAB não é apenas um tecido de armazenamento energético e protetor mecânico, mas importante regulador de vários processos fisiológicos e metabólicos (KERSHAW; FLIER, 2004; FAIN, 2010).

Além disso, o TAB secreta alguns hormônios específicos denominados de adipocinas, que apresentam funções metabólicas e de regulação imune (OUCHI et al., 2011). A partir disso, a obesidade não é somente uma doença metabólica, mas pode ser considerada uma doença inflamatória crônica de baixo grau (DE JONG et

al., 2014; TRAYHURN; WOOD, 2004). Embora não se saiba precisamente o gatilho da obesidade que dispara o processo inflamatório, a deposição excessiva de ácidos graxos leva a hipertrofia do TAB causando uma série de eventos que culminam em um estado pró-inflamatório.

A hipóxia e o estresse oxidativo no TAB parecem desencadear uma maior expressão de genes pró-inflamatórias como de Fator de Necrose Tumoral (TNF- α), Interleucina-6 (IL-6), Interleucina 1 beta (IL-1 β), e Proteína C Reativa (PCR) (LEE et al., 2014). Além do próprio tecido influenciar a resposta imunológica, ácidos graxos também podem regular a secreção de várias citocinas em células T (STENTZ; KITABCHI, 2006).

O recrutamento de macrófagos para o TAB, tanto em animais como em humanos obesos, que contribui para o aumento do estado inflamatório sistêmico (ROSENBAUM et al., 2008; ROSS et al., 2003). No tecido adiposo, se observa que os macrófagos mudam seu fenótipo M2 para M1, que é um perfil mais pró-inflamatório, secretando mais TNF- α durante a obesidade (LUMENG et al., 2007). Conseqüentemente, a soma de todos esses fatores resulta, ainda, em diminuição de adipocinas anti-inflamatórias produzidas pelo tecido adiposo branco como a adiponectina, importante adipocina que desenvolve um papel anorexígeno e anti-inflamatório (PYRZAK et al., 2010), o que contribui para a manutenção deste estado inflamatório.

De forma alarmante, esta condição inflamatória da obesidade está relacionada com aparecimento de várias comorbidades que diminuem a qualidade de vida e pioram o prognóstico dos pacientes obesos. O aumento das citocinas pró-inflamatórias já citadas anteriormente, levam ao desenvolvimento de diabetes tipo 2, câncer e doenças cardiovasculares (AL-GOBLAN; AL-ALFI; KHAN, 2014; CSIGE et al., 2018; IYENGAR et al., 2016). O TNF- α é capaz de interferir na sinalização da insulina, levando a resistência à insulina e por consequência, a diabetes tipo 2 (FERNÁNDEZ-REAL; RICART, 2003; RUAN; LODISH, 2003). Ele também é capaz de agilizar o processo de aterosclerose por aumentar a expressão de moléculas de adesão do endotélio (ANTUNA-PUENTE et al., 2008).

A IL-6 por sua vez também pode ser produzida no tecido adiposo branco e está relacionado como a resistência insulínica mediante a diminuição da produção de adiponectina e dos seus receptores (FANTUZZI, 2005). Ela ainda é capaz de estimular o crescimento de neoplasias. Por exemplo, foi relatado que a IL-6 é capaz de promover a ativação do receptor de androgênio e levar a sobrevivência e proliferação do tumor maligno de próstata (TINDALL; LONERGAN, 2011). Além disso, a IL-6 aumenta a produção da PCR no fígado, agravando ainda mais o estado inflamatório da obesidade (MEMOLI et al., 2007).

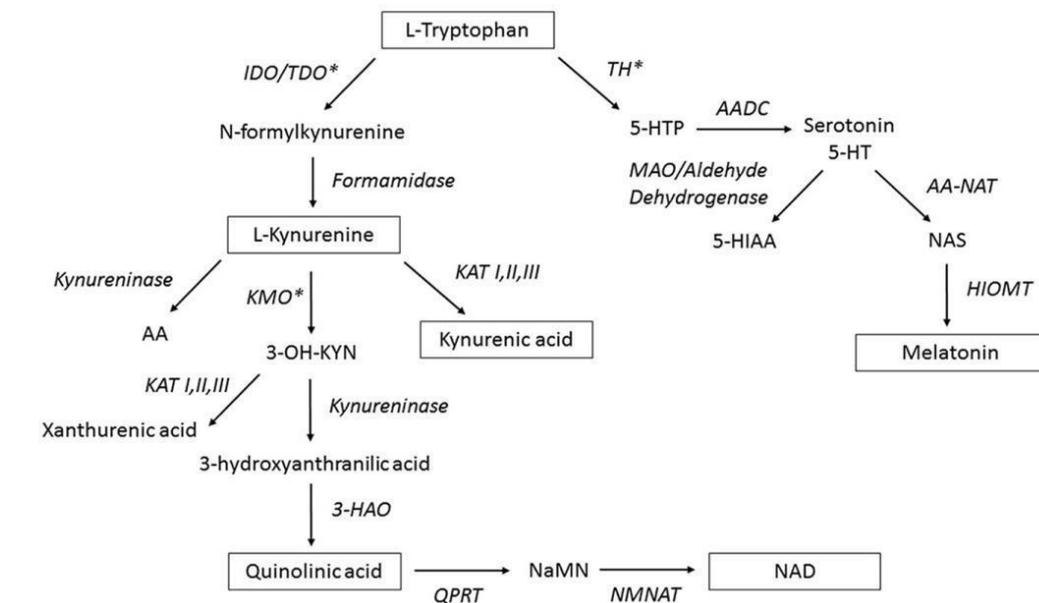
Além da obesidade levar a um processo inflamatório periférico, ela é capaz de influenciar esse mesmo estado no SNC. As citocinas pró-inflamatórias periféricas são capazes de atravessar o cérebro mediante a barreira hematoencefálica (BHE) ao redor do hipotálamo mediobasal, onde normalmente se encontram receptores para esses mediadores inflamatórios (CAI; LIU, 2012), além de estimular o NF- κ B no hipotálamo (ARAUJO et al., 2005). Esse processo contribui para uma maior permeabilidade da BHE, intensificando ainda mais a entrada de citocinas e células inflamatórias (LU et al., 2009). No tecido cerebral, as citocinas pró-inflamatórias estimulam vias neuroendócrinas (como o eixo Hipotálamo-Pituitária-Adrenal - HPA), desequilibram a função e o metabolismo de neurotransmissores e modifica a plasticidade neural (CAPURON; MILLER, 2011).

O aumento de citocinas pró-inflamatórias em animais obesos ou alimentados com uma dieta hiperlipídicas pode, ainda, acentuar a produção de mediadores inflamatórios pelas células gliais, principalmente pela micróglia. Estas células são macrófagos residentes do cérebro cuja principal função é a defesa imunitária. Em condições normais, a ativação microglial promove a ação protetora do seu ambiente circundante (NIMMERJAHN; KIRCHHOFF; HELMCHEN, 2005), a poda sináptica (STEVENS et al., 2007) e o recrutamento de monócitos circulantes no sangue para auxiliar a conter o dano tecidual e a inflamação local (GU et al., 2014). No entanto, a ativação crônica ou não regulada da micróglia pode ser deletéria (TREMBLAY et al., 2011).

Por fim, o excesso de citocinas pró-inflamatórias podem estimular a síntese daIDO em células do sistema imune como macrófagos e células dendríticas, alterando

significativamente a biossíntese das monoaminas (por exemplo, serotonina, dopamina) as quais estão envolvidas com o humor e na função cognitiva (XU et al., 2015). Além disso, a superexpressão da IDO desvia o triptofano (Try) da via biossintética da serotonina para a produção de outros catabólitos do triptofano (denominados de TRYCATs) que possuem propriedades neuroativas relacionadas com sintomas depressivos (RAISON et al., 2010). A figura 1 esquematiza os principais destinos do triptofano no cérebro.

Figura 1. Biossíntese do Triptofano



Nota: A depender da necessidade do organismo e do estado inflamatório este aminoácido pode seguir para síntese de serotonina que posteriormente pode ser metabolizada em melatonina. No entanto, uma vez que a IDO esteja superexpressa, o Try pode ser convertido em catabólitos, sendo alguns com efeitos neurotóxicos. IDO: indoleamina 2,3-dioxigenase; TDO: triptofano 2,3-dioxigenase; KAT: quinurenina aminotransferase; KMO: quinurenina 3-monooxigenase; 3-OH-KYN: 3-hidroxiquinurenina; 3-HAO: 3-ácido hidroxiantrânicooxigenase; QPRT: fosfolibosiltransferase de quinolinato; NaMN: mononucleotídeo de nicotinamida; NMNAT: nicotinamida mononucleotídicaadeniltransferase; NAD: Nicotinamida adenina dinucleótido; TH: triptofano-hidroxilase; 5-HTP: 5-hidroxi-L-triptofano; AADC: L-aminoácido aromáticodescarboxilase; 5-HT: 5-hidroxitriptamina; 5-HIAA: ácido 5-hidroxiindoleático; MAO: monoamina oxidase; AA-NAT: N-acetiltransferase de aralquilamina; NAS: N-acetilserotonina; HIOMT: hidroxindol O-metiltransferase.

Fonte: CHAVES FILHO et al., (2018)

O 3-hidroxiquinurenina e ácido quinolínico são dois exemplos de exemplos de TRYCATs que, quando em excesso, podem levar a morte de neurônios, como

observado em estudos de doenças neuropsiquiátricas ou neurodegenerativas (GULAJ et al., 2010; STONE et al., 2012). Interessantemente, GIBNEY et al., (2013) relataram que o processo neuroinflamatório foi capaz de induzir uma redução do BDNF, um aumento da expressão daIDO e a uma ativação microglial desregulada no hipocampo de camundongos. Em conjunto, esses resultados apontam para um papel central da ativação daIDO, particularmente no hipocampo, na mediação do humor induzido por citocinas e alterações cognitivas.

Outro componente que conecta tanto obesidade quanto a neuroinflamação pela via daIDO é o Lipopolissacarídeo (LPS), um componente da parede de bactérias gram negativas (CANI et al., 2007). A ingestão excessiva de uma dieta rica em gordura é capaz de elevar níveis sanguíneos de LPS e, já se foi relatado, que indivíduos obesos têm maiores concentração de lipopolissacarídeo do que aqueles que são magros (TRØSEID et al., 2013). Este aumento contribui para o estado inflamatório crônico da obesidade, o qual pode promover uma maior expressão daIDO e, por consequência, de um aumento na quantidade de TRYCATs (ANDRÉ et al., 2014; DINEL et al., 2014). Logo, é de se esperar que a presença sistêmica de LPS seja responsável pela deficiência cognitiva em animais e humanos (DENG et al., 2012; GRIGOLEIT et al., 2012; ZHU et al., 2014).

Todas essas modificações estão relacionadas a um amplo número de variações comportamentais conhecida como comportamento da doença (sickness behavior), o qual se manifesta por alguns sintomas tais como letargia, humor deprimido, exploração social reduzida, perda de apetite, sonolência e até mesmo distúrbios cognitivos leves como perda de memória (DANTZER et al., 2008). No caso de uma ativação inflamatória crônica como aquela observada na obesidade, o comportamento da doença pode progredir para sintomas neuropsiquiátricos como transtorno depressivo maior (TDM) e déficits cognitivos. Se entende por declínio cognitivo a deterioração no funcionamento da cognição marcado por uma grande dificuldade da memória, aprendizagem, linguagem e outras faculdades cognitivas (DAVIGLUS et al., 2010).

Baseado nesse entendimento, as concentrações elevadas de PCR e IL-6 presentes na obesidade estão relacionadas com o aparecimento de sintomas

depressivos em alguns indivíduos obesos (DIXON et al., 2008). DALY et al, (2013) relataram uma ligação os níveis de PCR e a performance reduzida em testes cognitivos em mulheres obesas. Em outros estudos na literatura, tanto em animais quanto em humanos, mostram que o aumento de citocina pró-inflamatória induzido pela obesidade, como IL-6, IL-1 β , PCR e TNF- α , está relacionado a danos cognitivos e que podem levar à evolução de sintomas neuropsiquiátricos (MILLER; SPENCER, 2014; SARTORI et al., 2012; SPYRIDAKI; AVGOUSTINAKI; MARGIORIS, 2016).

4.2. MICROBIOTA, OBESIDADE E NEUROINFLAMAÇÃO

Os seres humanos abrigam milhões de populações de microrganismos tanto nas superfícies corporais quando nas cavidades com ou sem contato meio externo. Essa relação entre homem-microrganismo confere benefícios a ambos e, ecologicamente, é classificada como simbiose (MARTIN; SCHWAB, 2012). O trato respiratório, gastrointestinal e genital é colonizados por uma diversidade de comunidade microbiana, que possui funções e organizações especializadas (LOZUPONE et al., 2012). O termo preferencialmente usado para denominar essas comunidades é “Microbiota” já que a expressão “flora” ou “microflora” remete a uma classificação absoluta para bactérias e plantas (PACE, 2009)

A microbiota intestinal adulta é constituída por mais de 100 trilhões de micróbios, sendo a maioria delas pertencentes ao domínio das bactérias, colonizando principalmente o cólon (10^{11} - 10^{12} células / ml) (BERMON et al., 2015). O intestino é considerado a melhor parte do trato gastrointestinal para o desenvolvimento das espécies microbianas tendo em vista que no estômago e intestino delgado apresentam fatores que inibem o crescimento desses organismos como o suco gástrico e os sais biliares (F. GUARNER, 2007). Estima-se que a microbiota intestinal humana seja constituída por, pelo menos, 1000 diferentes espécies bacterianas já conhecidas, que codificam mais de 3 milhões de genes, 100 vezes mais genes que o nosso próprio genoma (BERMON et al., 2015; LEY et al., 2006a).

Por meio de estudos moleculares já se sabe que os principais táxons são *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Proteobacteria* e *Actinomycetes* que correspondem a 64%, 23%, 8% e 3% da microbiota intestinal de humanos e camundongos, respectivamente. Como já mostrado, mais de 90% dos táxons bacterianos estão dentro de dois grandes

filos: *Bacteroidetes* e *Firmicutes* (LEY et al., 2006b; ZUPANCIC et al., 2012). Os demais que foram descobertos em amostras fecais do intestino humano pertencem filogeneticamente ao filo *Archea* (por exemplo *Methanobrevibacter smithii*) (ARUMUGAM et al., 2011). Há organismos eucariotos como os fungos e até mesmo os vírus, o que constitui e proporciona uma microbiota bastante diversificada (QIN et al., 2010). A mudança desta composição está relacionada com alteração da função microbiana, que pode levar ao desenvolvimento de várias doenças como será mostrado mais adiante.

Por ser uma relação simbiótica, os micróbios se hospedam e recebem constantemente um suprimento de água e nutrientes e, em troca disso, o ser humano adquire vários benefícios à saúde (BÄCKHED et al., 2005). Esses benefícios, por exemplo, não são evidenciados em camundongos livres de micróbios, amplamente conhecidos como *germ-free*, os quais apresentam necessidades fisiológicas e estruturas anatômicas diferentes quando comparadas com animais normais, como maior necessidade nutricional, peso de alguns órgãos diferente (coração, por exemplo), menor espessura da parede intestinal, menor número de linfonodos, entre outras (BAMOLA et al., 2017; WOSTMANN, 1981). Mediante aos estudos com esses animais, foi constatado que os benefícios fornecidos estão agregados em três divisões, como funções metabólicas, protetoras e tróficas.

A microbiota intestinal é capaz de ajudar na metabolização de componentes não digeríveis como alguns polissacarídeos. No intestino distal, os microrganismos conseguem fermentar esses carboidratos em etanol, gases (como H₂, CO₂, CH₄) e, principalmente, em ácidos graxos de cadeia curta (também conhecidos como Short Chain Fatty Acids - SCFA) (MILLER; WOLIN, 1996; MORRISON; PRESTON, 2016; RÍOS-COVIÁN et al., 2016)

Os principais SCFA são o acetato (apresentando 2 carbonos), propionato (3 carbonos) e butirato (4 carbonos) que além de serem metabolizados pelo próprio colonócito exercem efeitos metabólicos importantes no organismo (BLOEMEN et al., 2009). Esses ácidos graxos são capazes de controlar o metabolismo hepático de lipídeos e da glicose (DEN BESTEN et al., 2015; NISHINA; FREEDLAND, 1990) bem como de diminuir os níveis de insulina por meio do Receptor de Ácidos Graxos Livres 2 (ou Free fatty acid receptor 2 - FFAR2) (MCNELIS et al., 2015; TANG et al., 2015).

Os SCFA também podem exercer efeitos neuroendócrinos ajudando a controlar o apetite e o consumo (BYRNE et al., 2015; CHAMBERS; MORRISON; FROST, 2015). Por fim, já se sabe que eles conseguem regular o sistema imune e a resposta inflamatória de diversas maneiras como a inibição da ativação do NF- κ B e da desacetilação das histonas (HDAC) (ARPAIA et al., 2013; LÜHRS et al., 2002).

A relação da microbiota na imunidade está bem esclarecida e possui vias importantes nessa sinalização. Além do SCFA comentado anteriormente, a microbiota impede a invasão de muitos agentes patogênicos como o *Clostridium difficile* (HOOPER; MACPHERSON, 2010; LAWLEY et al., 2009). Isso pode ser explicado pela disputa da região da borda em escova no intestino e pela oferta de nutrientes que é fornecida aos microrganismos. Bactérias também podem produzir substâncias antimicrobianas que impedem o crescimento de outros micróbios, como a bacteriocina (DOBSON et al., 2012).

Por fim, a microbiota intestinal é capaz de desempenhar um papel importante na proliferação de células epiteliais intestinais visto que em camundongos germ-free as criptas intestinais são menores e apresentam menos células-tronco em relação aos animais normais (SOMMER et al., 2015; VON FRIELING et al., 2018). Os microrganismos podem promover a regulação do desenvolvimento das células imunológicas T CD4+ a produzirem um perfil de citocinas Th17 nos folículos linfóides intestinais (IVANOV et al., 2008, 2009). Além disso, os órgãos linfóides dos animais germ-free são pouco desenvolvidos e isso os torna mais suscetível a infecções (FIEBIGER; BERESWILL; HEIMESAAT, 2016; INAGAKI et al., 1996; KENNEDY; KING; BALDRIDGE, 2018). Sucessivamente, metabólitos oriundos da microbiota, como os SCFA, ativam células neuroendócrinas intestinais que produzem o peptídeo 1 semelhante ao glucagon (GLP-1) e o peptídeo YY (PYY) envolvidos no controle do apetite (DE SILVA; BLOOM, 2012; ROOKS; GARRETT, 2016).

A microbiota intestinal pode influenciar na homeostase de outras regiões além do intestino, como no SNC e já há várias evidências de que ela pode modificar as funções cerebrais. O eixo intestino - cérebro é uma via de comunicação bidirecional bastante complexa entre esses dois órgãos que envolve vários intermediários como hormônios, citocinas imunológicas e, até mesmo, sinais neurais (RHEE; POTHOUKAKIS; MAYER, 2009). Esse eixo é composto por fibras e neurônios do Sistema Nervoso Autônomo (SNA), pelo Eixo HPA e a Microbiota intestinal. O nervo vago é o mediador entre as interações extrínsecas do intestino e o cérebro e, além

disto, ele encaminha fibras parassimpáticas para o trato gastrointestinal (BROWNING; TRAVAGLI, 2014; FOSTER; RINAMAN; CRYAN, 2017). O eixo HPA é bastante importante porque prepara fisiologicamente o organismo para uma situação de estresse. Entre várias funções, ele consegue influenciar a função do trato gastrointestinal, afetando a permeabilidade e inflamação intestinal (CZIMMER; MILLION; TACHÉ, 2006; ZHENG et al., 2013). No entanto, ativação excessiva deste eixo está relacionada a perturbação da microbiota (DE WEERTH, 2017) e alterações cerebrais (JACOBSON, 2014).

A microbiota, por sua vez, consegue auxiliar na regulação do eixo cérebro - intestino através do controle de citocinas inflamatórias (DESBONNET et al., 2008), sensibilização do nervo vago (BRAVO et al., 2011) e, como já foi citado, através da produção ou regulação de compostos neuroendócrinos (BUROKAS et al., 2017). Conseqüentemente, modificação da sinalização deste eixo está ligada a doenças metabólicas (DE LARTIGUE; DE LA SERRE; RAYBOULD, 2011; GRASSET et al., 2017) bem como transtornos neuropsiquiátricos (CRYAN; O'MAHONY, 2011; GRENHAM et al., 2011).

Disbiose é definida amplamente como uma modificação na estrutura das comunidades microbianas residentes, que é acompanhada por menor diversidade microbiana e aumento de microrganismos patogênicos em relação à microbiota de indivíduos saudáveis (PETERSEN; ROUND, 2014). Diversos estudos evidenciaram modificações da estrutura da microbiota tanto de humanos como de camundongos com doenças inflamatórias intestinais, como a colite ulcerativa (AAS; GESSERT; BAKKEN, 2003), diabetes (KARLSSON et al., 2013), asma (ABRAHAMSSON et al., 2014) e doenças neuropsiquiátricas como o autismo (GROCHOWSKA; WOJNAR; RADKOWSKI, 2018).

Há diversos fatores que podem levar à alteração da microbiota como genética do indivíduo, infecções, terapias medicamentosas (principalmente com antibióticos) e a dieta (JUMPERTZ et al., 2011; KAU et al., 2011; PENDERS et al., 2006). Já se sabe que a administração de dietas ricas em gorduras pode modificar a estrutura da microbiota intestinal tanto em humanos quanto em modelo experimental. Um exemplo

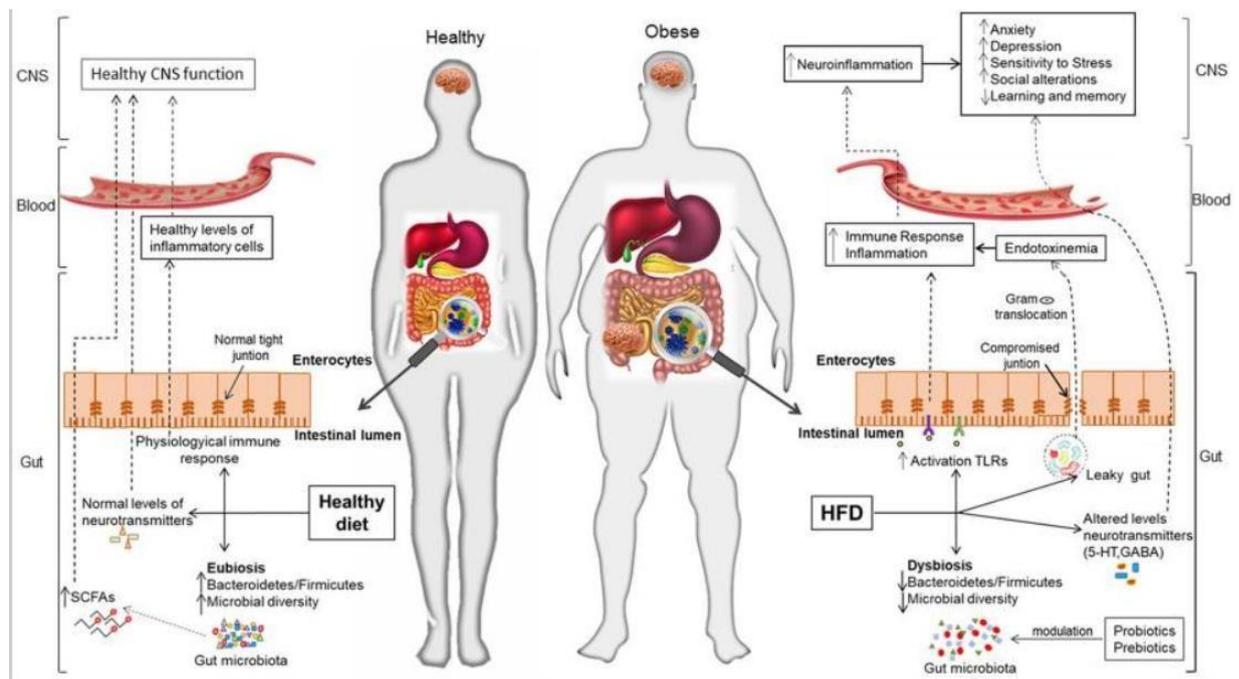
disso é alteração da proporção entre o filo *Firmicutes* e *Bacteroidetes*. Por exemplo, foi documentado que uma dieta hiperlipídica (35% e 45% de gordura) levava uma diminuição de *Bacteroidetes* e um crescimento no *Firmicutes* (HILDEBRANDT et al., 2009; ZHANG et al., 2012). Além disso, dietas lipídicas diminuem a diversidade microbiana quando comparadas com animais que recebem dietas normais (PARKS et al., 2013). Em humanos, a composição dietética também é capaz de modificar a estrutura microbiana aumentando a razão *Firmicutes/Bacteroidetes* e a diversidade (DAVID et al., 2014; DE FILIPPO et al., 2010).

Além dessas modificações, dietas ocidentais são capazes de levar ao aumento da permeabilidade intestinal por alguns mecanismos já descritos na literatura. LAM et al., (2012) relatou que a administração de uma dieta rica em gordura em camundongos C57BL6 levava a uma diminuição da expressão das proteínas zonas de oclusão no cólon proximal. Semelhantemente, CANI et al., (2008) mostrou que dietas obesogênicas levavam a diminuição das proteínas da zona de oclusão e “tight junctions”. A redução dessas proteínas pode ser regida por um processo de feedback negativo relacionado com o aumento de citocinas pró-inflamatórias aumentadas na disbiose (AL-SADI et al., 2010; YE; MA; MA, 2006).

Em virtude do impacto da dieta hiperlipídicas no desenvolvimento de bactérias Gram negativa, se observa um aumento de LPS no plasma de animais obesos (KIM et al., 2012). O LPS pode ser facilmente translocado para a circulação sistêmica e ser reconhecido por receptores toll-like 4 (TLR-4) que induz ativação da via de sinalização NF- κ B, responsável pela síntese de citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias (HAWKESWORTH et al., 2013). Os níveis aumentados de LPS tem um papel chave no desenvolvimento de doenças crônicas, condição conhecida como endotoxemia metabólica (CANI et al., 2008; GHANIM et al., 2009). O TLR-4 também é expresso na micróglia no SNC e quando ativado leva a produção de citocinas pró-inflamatórias como o TNF- α e IL-1 β , o que leva a efeitos deletérios já citados anteriormente (BEUTLER, 2000; MRAK; GRIFFIN, 2005). Essa inflamação causada pelo LPS está diretamente relacionada aos danos cognitivos (CHOI et al., 2012; SHAW; COMMINS; O'MARA, 2001) e a transtornos neuropsiquiátricos como a depressão (ANDRÉ et al., 2014; LEE et al., 2018)

Em resumo, a microbiota intestinal contribui para a regulação do eixo intestino-cérebro e para a manutenção da saúde, enquanto sua alteração (disbiose) devido a fatores de estilo de vida (dietas não saudáveis, estresse) está relacionada à obesidade e suas consequências adversas sobre humor e cognição. Um padrão alimentar saudável (por exemplo, rico em fibras, vegetais etc.) aumenta a diversidade da microbiota intestinal e, desse modo, contribui para a integridade epitelial do intestino, homeostase imunitária e função normal do SNC através do eixo do intestino-cérebro. Pelo contrário, os padrões alimentares ocidentais (ricos em açúcares simples e gorduras saturadas) parecem reduzir a diversidade microbiana, promover a inflamação e contribuir para a síndrome do intestino permeável; isso facilita a translocação de componentes de bactérias Gram-negativas, o que aumenta o nível inflamatório periférico e produz neuroinflamação e alterações no SNC conforme exemplifica a figura 2.

Figura 2. Comparação entre a microbiota de um indivíduo saudável e obeso.



Nota: A microbiota intestinal contribui para a modulação do eixo intestino-cerebral e para a saúde humana. No entanto, a disbiose relacionada, por exemplo, a dietas não saudáveis está associada à obesidade e seu efeito danoso sobre humor e cognição. A dieta hiperlipídica reduz a diversidade microbiana, induz inflamação mediante a ativação do TLR-4 e diminui a integridade epitelial do intestino, facilitando a translocação de toxinas bacterianas como o LPS. Consequentemente, há uma intensificação ainda mais do estado inflamatório

proporcionado pela obesidade, levando à neuroinflamação e alterações cognitivas. Indivíduos que se alimentam de dietas ricas em fibras tem uma diversidade da microbiota intestinal e, assim, colabora para a integridade do epitélio intestinal, imunidade normal e a homeostasia SNC. Activation= Ativação; Altered levels of neurotransmitters = Níveis alterados de neurotransmissores; Dysbiosis =Disbiose; Enterocytes= Enterócitos; Eubiosis = Eubiose; GABA= Ácido gama-aminobutírico; Gut microbiota = Microbiota intestinal; Healthy CNS Function= Função saudável do SNC; Healthy levels of inflammatory cells = Níveis saudáveis de células inflamatórias; Healthy diet = Dieta Saudável; Intestinal lumen= Lúmen intestinal; Microbial diversity= Diversidade microbiana; Modulation= Modulação Normal tight junction= Tight junction normal; Normal levels of neurotransmitters = Níveis normais de neurotransmissores; Physiologycal imune response= Resposta imune fisiológica; Prebiotics= Prebióticos, Probiotics= Probióticos; SCFA (Short Chain Fat Acids) = Ácidos graxos de cadeia curta; 5-HT = 5-hidroxitriptamina,

Fonte: AGUSTÍ, A. et al. 2018

Em conjunto, a dieta hiperlipídica está associada ao desenvolvimento da obesidade quanto da disbiose e, ambos, estão associados ao aumento dos processos inflamatórios sistêmicos. Como já mostrado, existe uma conexão entre o intestino e o cérebro mediante as vias neurais, endócrinas e imunológicas, que uma vez desregulada perturba o humor e a cognição. Nesse contexto, a manipulação da microbiota alterada, através de intervenções não farmacológicas como estratégia para reduzir a inflamação, pode auxiliar na prevenção e no tratamento de disfunções cognitivas e outras comorbidades associadas à obesidade. Particularmente, devem ser levados em consideração elementos nutricionais que exibam propriedades imunorreguladoras.

4.3. PSICOBÍÓTICOS

A regulação da imunidade pela microbiota é capaz de elucidar a etiopatogenia ou, até mesmo, a sintomatologia clássica de doenças neurodegenerativas e comportamentais como ansiedade, depressão, doença de Alzheimer (DA) e entre outras (COLLINS; SURETTE; BERCIK, 2012). Além do mais, existem diferentes tipos de microrganismos encontrados nos diversos produtos alimentícios capazes de interagir com o microbioma e as células do organismo exercendo efeitos maléficos quanto benéficos (ARORA; SINGH; SHARMA, 2013). Vários microrganismos exercem

efeitos positivos nos hospedeiros e são amplamente conhecidos como probióticos. A definição mais correta para os probióticos, segundo a Associação Científica Internacional para Probióticos e Prebióticos (ISAPP), é que são microrganismos vivos que, ao ser administrados em doses apropriadas, fornecem algum efeito favorável à saúde do hospedeiro (GIBSON et al., 2017). Esta descrição foi baseada nas observações feitas por Élie Metchnikoff em 1907, a qual dizia que a ingestão de produtos lácteos fermentados se relacionava como a melhoria da saúde em indivíduos de aldeias búlgaras (MACKOWIAK, 2013).

Várias espécies de bactérias e fungos são usados como probiótico, entre as mais comuns estão aquelas do gênero *Bifidobacterium* (RAY; ALPINI; GLASER, 2014) e *Lactobacillus* (SHOKRYAZDAN et al., 2014) e, como representante das leveduras, têm-se o *Saccharomyces boulardii* (KELESIDIS; POTHOUKAKIS, 2012). Na literatura, há diversos registros de efeitos benéficos dos probióticos como na diminuição da intolerância a lactose (OAK; JHA, 2019), asma (MENNINI et al., 2017), controle da disbiose (DUCATELLE et al., 2015) e doenças crônicas como diabetes e obesidade podendo envolver até mecanismos epigenéticos (SUN; BUYS, 2016; TONUCCI et al., 2017; VÄHÄMIKO et al., 2019).

Semelhantemente aos probióticos, a definição de prebióticos foi inicialmente estabelecida por Gibson e Roberfroid no final do século passado como sendo componentes alimentares que não eram digeríveis pelo homem, mas que eram capazes de fornecer benefícios quando metabolizado por determinadas bactérias do cólon (GIBSON; ROBERFROID, 1995). GIBSON et al., em 2004, estabeleceu 3 critérios indispensáveis para um componente ter efeito prebiótico como, por exemplo, ser resistente à acidez gástrica, à hidrólise enzimática humana e não ser absorvida. Além disso, eles deveriam ser fermentados pela microbiota e estimular, sucessivamente, o crescimento e/ou a atividade de bactérias benéficas ao organismo. Adiante, foi visto que eles podem ser aplicados diretamente em outras regiões do corpo como pele ou vagina exercendo efeitos benéficos (OUWEHAND; TIIHONEN; LAHTINEN, 2010; REID, 2012).

Em 2017, a ISAPP sugeriu um novo conceito para prebióticos como sendo “um substrato que é usado seletivamente por microrganismos hospedeiros que conferem

um benefício à saúde” (GIBSON et al., 2017). Os prebióticos que se destacam são os mananoligossacarídeos (MOS), xiloligossacarídeos (XOS), inulina, oligossacarídeos do leite humano (HMO), e, em destaque, os frutooligossacarídeos (FOS) e galactooligossacarídeos (GOS) (GIBSON et al., 2017).

A maioria dos prebióticos é de origem natural sendo encontrados em frutas, legumes e vegetais como alho, banana, aspargos, chicória, alcachofra de Jerusalém, cebola e trigo (CAMPBELL et al., 1997). No entanto é necessário ingerir grandes quantidades desses alimentos diariamente para que se tenha efeito benéficos no organismo. Por isso, a indústria alimentícia já consegue produzir e vender a forma isolada de alguns prebiótico, como o GOS que é patenteado pela Bimuno[®], a fim de que possam ser incluídos em alimentos como iogurte, pães, cereais e bebidas (GRIMALDI et al., 2016). Por que usar um prebiótico e não o probiótico? A vantagem da administração de prebióticos que é eles promovem o crescimento de mais de um microrganismo benéfico uma vez que na disbiose mais de uma espécie pode estar em desequilíbrio (GIBSON et al., 2004).

O FOS e GOS são considerados prebióticos bifidogênicos por promoverem o crescimento, tanto em humanos quanto em animais, de bactérias anaeróbias do gênero *Bifidobacterium* (LIU et al., 2017; MAO et al., 2018; MARTINEZ et al., 2013; WINGEN; KUYPERS; RAMAEKERS, 2007). Eles também são capazes estimular o crescimento de bactérias gram positivas do ácido láctico: *Lactobacillus spp* (GODERSKA; NOWAK; CZARNECKI, 2008). A fermentação desses prebióticos por bactérias pertencentes a esses gêneros diminui o pH do cólon, desfavorecendo o crescimento de bactérias patogênicas (ARBOLEYA et al., 2016; ORRHAGE; NORD, 2000). No geral, esses prebióticos mostraram ter efeitos positivos além dos sistema gastrointestinal, bem como no sistema imunológico, metabolismo ósseo e lipídico (REID et al., 2017; SAVIGNAC et al., 2016; SOLEIMANI et al., 2012; VULEVIC et al., 2015; WEAVER et al., 2011)

Além de terem o efeito periférico, os probióticos podem exercer efeito benéfico no SNC. Sendo assim, DINAN; STANTON; CRYAN, (2013) definiram como psicobióticos, probióticos que produziam efeitos positivos na saúde mental. Os prebióticos, por sua vez, são capazes promover o crescimento de bactérias

simbióticas com propriedades psicofisiológicas, tal como os probióticos, sendo incluídos também nessa definição (SARKAR et al., 2016). A literatura cita vários prebióticos com atividade psicobiótica tais a inulina (SMITH; SUTHERLAND; HEWLETT, 2015), XOS (CHUNCHAI et al., 2018), oligossacarídeos de leite humano como a sialilactose (OLIVEROS et al., 2018; SAKAI et al., 2006) e principalmente, FOS e GOS, embora os mecanismos moleculares que justificam esses efeitos ainda não são muito bem elucidados.

Interessantemente, a administração de prebióticos nas fases iniciais do crescimento foi relacionada com efeitos neurológicos positivos na vida adulta. Recentes revisões relatam que esses efeitos foram mediante tanto da redução do perfil pró-inflamatório quanto por uma ação direta no SNC. Por exemplo, um estudo conduzido por WILLIAMS et al., (2016) mostrou que ratos neonatais com B-GOS no período de 19 a 53 dias apresentavam a subunidade N2A do receptor N-metil-D-aspartato (NMDAR), BDNF e sinaptofisina (SYN) mais expressas no hipocampo desses ratos tratados com relação ao controle, refletindo na melhora da neurotransmissão e plasticidade sináptica. Resultados semelhantes foram observados por SAVIGNAC et al., (2013), que alimentou camundongos com FOS e GOS por 5 semanas. Esses animais apresentaram uma expressão mais alta de subunidades BDNF, NMDAR (NR1 e NR2) no hipocampo e córtex frontal. Além disso, a administração de GOS em ratos aumentou a circulação concentrações do hormônio intestinal PYY, sugerindo que a expressão elevada de BDNF no cérebro após ingestão de GOS, pode ter sido mediada pelo PYY plasmático. Recentemente, GRONIER et al., (2018) relataram que a ingestão de GOS por três semanas por ratos Sprague-Dawley aumentou as respostas neuronais ao NMDA e atenuou os danos causados pelo HA-966 (antagonista farmacológico do receptor NMDA), promovendo um efeito pró-cognitivo relacionado ao NMDA.

Cresce o número de estudos que avaliam o efeito da administração do FOS e GOS na cognição em doenças neuropsiquiátricas e neurodegenerativas. CHEN et al., (2017) mostrou que o FOS aumentava as concentrações de acetilcolina, serotonina e adrenalina além de atenuar os danos na região CA1 do hipocampo, diminuindo os déficits cognitivos em modelo animal de doença de Alzheimer (DA). Em outro modelo de DA, o tratamento com FOS por 6 semanas foi suficiente para melhorar a cognição

em camundongos APP/ PS1(SUN et al., 2019). Nestes animais, a melhora da cognição, relatada pelo melhor desempenho em testes cognitivos como Labirinto aquático de Morris, foi relacionada com os níveis aumentados de sinaptofisina e proteína 95 ligada à membrana pós-sináptica (PSD-95), associadas com o aumento da plasticidade sináptica.

Em camundongos Balb/C com DA induzida por D-galactose, o FOS foi capaz de diminuir os níveis das placas β amiloide por meio da diminuição da β -secretase (YEN et al., 2017). Por fim, Burokas et al., (2017) evidenciou que animais C57BL/6 quando tratados com FOS + GOS apresentavam reversão do comportamento depressivo já que o tratamento diminuiu os níveis plasmáticos de corticosterona, seguido por um aumento do receptor de BDNF, GABA (B1) e expressão do gene GABA (B2) no hipocampo. Nesses animais, os prebióticos levaram à diminuição da expressão gênica do receptor glicocorticoide no hipotálamo, enquanto no córtex pré-frontal (CPF) reduziram os níveis plasmáticos de triptofano e aumentaram os níveis de serotonina.

Sendo assim, tendo em vista que o FOS e GOS são capazes de reduzir os efeitos deletérios na cognição observados em doenças neurodegenerativas, a sua utilização poderia ter um potencial efeito terapêutico como tratamento auxiliar da obesidade e comorbidades cognitivas. Além disso, poderiam também melhorar a disbiose, por meio da restauração de bactérias benéficas como *Lactobacilos* e *Bífidobactérias*, contribuindo para diminuição da inflamação sistêmica e central como já mostrados anteriormente.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados dessa dissertação estão apresentados na forma de artigo.

ARTIGO 1 – EFEITOS DOS PREBIÓTICOS (FRUTOOLIGOSSACARÍDEOS E GALACTOOLIGOSACARÍDEOS) NA NEUROINFLAMAÇÃO E COGNIÇÃO EM CAMUNDONGOS OBESOS INDUZIDOS POR DIETA

Autores: Igor Henrique Rodrigues de Paiva¹, Rodrigo Soares e Silva ¹, Alice Chevrollier Oriá², Ingrid Prata Mendonça¹, Michel Melo Eduardo Duarte-Silva¹, Michel Gomes de Melo¹, Wilma Helena Oliveira¹, Christina Alves Peixoto¹

¹ Laboratório de Ultraestrutura, Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães (CPqAM), PE, Brasil

² Universidade Federal de Pernambuco - UFPE, PE, Brasil

Autor correspondente: endereço de e-mail igorhenriqueigor231@gmail.com

Resumo

Justificativa e objetivo: A utilização de prebióticos vem produzindo resultados importantes em modelos animais de doenças neuropsiquiátricas. Entretanto, ainda é pouco explorada a relação entre o consumo crônico com dieta hiperlipídicas e a utilização de prebióticos na prevenção e/ou tratamento da neuroinflamação e cognição. O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos dos prebióticos FOS e GOS na modulação da neuroinflamação e cognição em modelo experimental de obesidade induzido por dieta em camundongos machos C57BL/6. **Metodologia:** Camundongos machos C57BL/6 foram alimentados com uma dieta hiperlipídica por 18 semanas ao final os animais foram submetidos aos testes cognitivos. Análises bioquímicas e moleculares foram realizadas para avaliar a neuroinflamação, neurogênese e plasticidade sináptica. **Resultados:** Animais obesos não tratados apresentaram maior glicemia, trigliceridemia e colestelemia, e mostraram aprendizagem, memória espacial reduzidas e uma maior ativação de micróglia e astrócitos. Além disso, esses animais apresentaram uma maior expressão proteica marcadores neuroinflamatório e de apoptose, como TNF- α , TLR4, COX-2, p-GR(S226) e Caspase-3. Os animais obesos apresentaram maior expressão proteica de receptor de glicocorticoides e menores marcadores de neurogênese e plasticidade sináptica como Neu-N, NGF, KI-67, CREB-p e BDNF. O tratamento com os prebióticos melhorou o perfil bioquímico do soro, regulou a neuroinflamação, restaurando o aprendizado, a memória espacial e os marcadores de plasticidade sináptica. **Conclusão:** Frutooligosacarídeos e Galactooligosacarídeos diminuíram significativamente a neuroinflamação, promoveu neuroproteção e neuroplasticidade, restaurando a capacidade de aprendizagem espacial e a memória.

Palavras-chaves: Cognição; Obesidade; Neuroinflamação; Prebióticos.

1. INTRODUÇÃO

A Organização Mundial da Saúde (OMS) define obesidade e sobrepeso como sendo um acúmulo excessivo de gordura, que pode levar ao comprometimento da saúde física e psicossocial (WHO, 2020). Sua prevalência aumentou em todo o mundo nas últimas décadas, principalmente devido a dietas hipercalóricas e estilos de vida sedentários. Em 2016, mais de 1,9 bilhão de adultos acima de 18 anos apresentavam sobrepeso e 650 milhões eram obesos (WHO, 2016). De 2006 até 2019, houve um aumento de 67,8% na prevalência da obesidade no Brasil e chegando a ser de 84% entre adultos de 25 a 34 anos (BRASIL, 2019). Se as estatísticas permanecerem como previsto, calcula-se que, em 2030, 38% indivíduos adultos em todo mundo estejam acima do peso e outros 20% sejam obesos (ALBERTI et al., 2009).

A obesidade não está associada apenas a doenças importantes, como diabetes mellitus tipo 2, doenças cardiovasculares, doença renal crônica e câncer, mas também reduz a longevidade e a qualidade de vida (AL-GOBLAN; AL-ALFI; KHAN, 2014; CSIGE et al., 2018; PETERS et al., 2018). Nesse contexto, vários estudos demonstram evidências diretas relacionando o consumo de dietas hiperlipídicas (HFD) com déficits na memória/aprendizado dependentes do hipocampo e estados de humor (RAJAN; MENON, 2017).

Possivelmente, a relação direta entre consumo alimentar e alterações no sistema nervoso esteja relacionado ao aumento da inflamação crônica, causando neuroinflamação (JOHNSON et al., 2016). Níveis aumentados de IFN, TNF- α e IL-6 levam à ativação excessiva do eixo Hipotálamo-Pituitária-Adrenal (HPA) com a produção de elevados níveis de glicocorticoides (HARRISON et al., 2009). Além disso, a produção excessiva dessas citocinas pró-inflamatórias podem induzir a ativação excessiva da micróglia e dos astrócitos podendo levar ao desenvolvimento de distúrbios cognitivos e de humor (GU et al., 2014). Dietas ricas em gorduras saturadas e carboidratos diminuem a sobrevivência neural e a plasticidade sináptica. (SEO et al., 2020).

Diversos estudos têm demonstrado que alterações na microbiota intestinal (disbiose) estão associadas a doenças metabólicas (obesidade, diabetes tipo 2), à

artrite autoimune e doenças neuropsiquiátricas (WANG; WANG, 2016). Indivíduos obesos, bem como modelos experimentais de obesidade (high fat diet – HFD), apresentam alterações na composição da microbiota intestinal com aumento da relação *Firmicutes/Bacteroidetes* (DA SILVA; MONTEIL; DAVIS, 2020).

Conseqüentemente isso favorece o crescimento de bactérias patogênicas e tornando mais fácil a passagem de toxinas bacterianas como o Lipopolissacarídeo (LPS) para a circulação. O LPS através da ativação de receptores Toll-like 4 (TLR4), induzem um aumento de expressão de citocinas pró- inflamatórias no hipocampo e no hipotálamo. Portanto, a obesidade e a disbiose podem estar relacionadas a alterações de humor (AGUSTÍ et al., 2018a).

Evidências crescentes sugerem que o eixo microbiota-intestino-cérebro desempenhe um papel fundamental na regulação das funções cerebrais, particularmente no processamento emocional e no comportamento (NOVOTNÝ; KLIMOVA; VALIS, 2019). Neste contexto, estudos recentes mostraram que a administração de prebióticos, substâncias que induzem alterações na composição da microbiota gastrointestinal conferindo efeitos benéficos, têm promovido efeitos positivos na prevenção e/ou tratamento da obesidade e suas comorbidades (GIBSON et al., 2017; XAVIER-SANTOS et al., 2020).

Os Frutooligossacarídeos (FOS) e Galactooligossacarídeos (GOS) são fibras solúveis que se destacam como prebióticos e que são tradicionalmente associadas com a estimulação de bactérias benéficas como as bífidobactérias e lactobacilos (BÚRIGO et al., 2007; DOS SANTOS; SIMIQUELI; PASTORE, 2009). Além de efeitos ansiolíticos e de regulação imune neural, os FOS e GOS podem induzir o aumento do fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) e de receptores de glutamato (NMDA) regulando, portanto, a neuroplasticidade sináptica (SAVIGNAC et al., 2013a , BUROKAS et al., 2017a;). Entretanto, ainda é pouco explorada a relação entre o consumo crônico com dieta hiperlipídica e a utilização de prebióticos na prevenção e/ou tratamento da neuroinflamação e cognição. Sendo assim, o presente artigo tem por objetivo avaliar os efeitos dos prebióticos (FOS e GOS) na modulação da neuroinflamação e cognição em modelo experimental de obesidade induzido por dieta.

2. METODOLOGIA

2.1 DESENHO EXPERIMENTAL

Neste estudo, camundongos machos C57BL / 6 tipo selvagem, (n = 45; Recife, Pernambuco, BR), adultos jovens (8-10 semanas) e pesando 20 g foram distribuídos aleatoriamente nos seguintes grupos (n = 15): **Controle** - O grupo recebeu por 18 semanas uma dieta padrão fornecida pela PragSolucões® (www.pragsolucoes.com.br), Jaú SP, Brasil, de acordo com as recomendações do Instituto Americano de Nutrição (AIN-93G) (REEVES; NIELSEN; FAHEY, 1993). **HFD** - O grupo recebeu durante 18 semanas uma dieta hiperlipídica (dieta rica em 60% de gordura) produzida pela PragSolucões®, de acordo com as recomendações da AIN-93M. A partir da 12ª, foram considerados apenas os camundongos que apresentavam massa corpórea acima de 30g. **HFD + Prebióticos** - O grupo recebeu dieta hiperlipídica por 18 semanas e, a partir da 13ª semana, uma combinação de FOS (Fosvitta®, Araçoiaba da Serra, BR) e GOS (Bimuno®, Thames Valley, UK) dissolvidos em água destilada por 0,3- 0,4 g / animal / dia respectivamente segundo Burokas et al., (2017).

Os camundongos foram mantidos em microisoladores em condições padrão (12 h de ciclo claro / escuro, 21° ± 2° C, umidade 60 ± 10%) e tiveram livre acesso a água e comida. Cada camundongo foi pesado semanalmente durante o período experimental (18 semanas). Na 12ª semana foi realizado o Labirinto T para verificar se a dieta promoveu déficit cognitivo nos animais. Após a confirmação, os animais foram tratados com prebióticos e na 18ª semana foram realizados o Labirinto T e o Labirinto circular de Barnes. Após os testes, os camundongos foram anestesiados com injeção intraperitoneal de cetamina (115mg / kg) e xilazina (10mg / kg). Todos os experimentos foram conduzidos pelos Princípios Éticos na Experimentação Animal e foram aceitos pelo Comitê de Ética no Uso de Animais do Instituto Aggeu Magalhães (CEUA 135/2018 – IAM).

2.2 ALTERNÂNCIA ESPONTÂNEA DO LABIRINTO T

Neste teste é avaliado a memória de curto prazo ou de trabalho dos camundongos. Os animais são submetidos a um desafio de labirinto devido a sua capacidade de explorar um novo ambiente, ou seja, eles optam por entrar em uma

região nova em vez daquela já visitada anteriormente. Os animais foram colocados no labirinto em T um dia antes de realizar a tarefa, para que se adaptassem ao ambiente. Inicialmente, os animais foram colocados no braço inicial do labirinto em T. Após saírem do braço inicial, os camundongos entram espontaneamente no braço direito ou esquerdo, ficando confinados a esse braço por 30 segundos antes de retornar ao braço inicial. Em seguida, os rastros olfativos foram removidos usando etanol 30% e cada camundongo foi colocado no braço inicial podendo explorar o labirinto por 2 minutos. Depois de várias tentativas, os animais devem apresentar menos tendência a entrar em um braço já visitado anteriormente. A porcentagem de alternância (número de voltas em cada braço) e a duração total da tentativa são registradas. Este teste é usado para quantificar déficits cognitivos em linhagens transgênicas de camundongos e avaliar novas entidades químicas por seus efeitos na cognição (SHARMA; RAKOCZY; BROWN-BORG, 2010).

2.4 LABIRINTO CIRCULAR DE BARNES (BM)

Os animais foram submetidos BM na última semana de experimento para avaliar o desempenho da memória espacial e aprendizagem na 18ª semana do experimento (Jolivald et al., 2010). Consiste em uma plataforma circular iluminada com 20 furos equidistantes. Um dos buracos tem um alvo escuro é marcada por uma pista visual, enquanto as demais estão fechadas. Tendo em vista que os animais preferem compartimentos escuros, o ambiente aberto e iluminado da superfície superior funciona como incentivo a encontrar o buraco alvo. Os animais interagiram com o equipamento em três fases: habituação (1 dia), aquisição (4 dias) e sondagem (1 dia). Inicialmente, no período de habituação, o camundongo foi colocado em um recipiente cilíndrico preto no centro do labirinto por dez segundos e depois disso, foi guiado até o alvo do labirinto. No período de aquisição (aprendizagem), o animal foi colocado em um cilindro preto tubo no centro do labirinto por dez segundos e depois se permitiu explorar o labirinto por 5 min. Nesta fase, os animais foram treinados para encontrar a saída por quatro dias e depois ficaram com um intervalo de três dias sem treinar. Além da luz, um ruído moderado (60 dB) foi reproduzido por um alto-falante para induzir o comportamento de escape até que o animal entrasse no túnel de fuga (PITTS, 2018). A sessão encerra quando camundongo encontra a caixa ou depois de esgotar o tempo. Os animais que não encontraram a caixa de destino após esse

tempo foram guiados pela cauda para o alvo do equipamento onde permaneceu por um minuto. Os animais foram treinados para encontrar a saída por quatro dias e depois ficaram com um intervalo de três dias sem treinar. Na fase de sondagem da aquisição (memória), os animais foram submetidos ao teste de memória no 9º dia, conforme mencionado anteriormente. Caso o animal não encontrasse a saída, era retirado da plataforma sem condução dos animais. Depois de testar cada animal, foi realizada a limpeza das pistas olfativas usando etanol a 30%. O parâmetro utilizado para avaliar a aprendizagem e memória foi a latência primária, que referencia o tempo dispendido pelo animal para fazer o contato inicial com o buraco alvo.

2.5 ENSAIOS BIOQUÍMICOS

Após a anestesia, foi coletado do ventrículo esquerdo, por meio de uma incisão torácica, aproximadamente 1 ml do sangue de cada animal por punção cardíaca. Em seguida, o sangue foi centrifugado a 5.000 rotações por minuto (RPM) por 10 minutos. O soro foi adicionado a uma placa de ELISA de 96 poços e foram determinados, através de sistemas enzimáticos, a glicose plasmática (Labtest Diagnóstica S.A[®], MG, Brasil - Ref. 133), Triglicerídeos (Labtest Diagnóstica S.A[®], MG, Brasil - Ref. 87) e colesterol (Labtest Diagnóstica S.A[®], MG, Brasil - Ref. 76). Após a incubação, as medições espectrofotométricas foram feitas a 492 nm no analisador automático Cobas Integra 400 (Roche, Mannheim, Alemanha). Os resultados foram expressos como média \pm desvio padrão usando GraphPad Prism V6.0.

2.6 IMUNO-HISTOQUÍMICA

Após a aplicação intraperitoneal dos anestésicos, os animais foram perfundidos transcardialmente com 100 ml de solução salina tamponada com fosfato (PBS), em pH 7,2. Em seguida, os cérebros dos animais foram removidos e parte desse material foi pós-fixado durante a noite em paraformaldeído 4% (Sigma-Aldrich) em solução salina tamponada com fosfato 0,1 M (PBS), em pH 7 (heptahidratado monobásico e fosfato de sódio dibásico; Sigma - Aldrich). As amostras foram desidratadas em várias etapas de lavagem com etanol (Isolar Chemical Co., RJ, Brasil), purificadas em xilol e incluídas em parafina (Merck, EUA). Seções de 4-5 μ m foram cortadas em série usando um micrótomo RM 2035 (Reichert S, Leica) e montadas em lâminas de vidro, reidratadas e tratadas com tampão citrato 20 mM (em pH 6,0) a 100 ° C por 30 min. O bloqueio da peroxidase endógena foi realizado com peróxido de hidrogênio 3% (H₂O₂) e os cortes foram bloqueados com albumina sérica bovina 3% (BSA, fração

V) (Miles, Naperville, IL, EUA) por 1 h em temperatura ambiente. Os anticorpos policlonais primários usados para marcar o hipocampo foram: GFAP (Novus Biological, número de catálogo NB300- 141) em uma diluição de 1: 1000; IBA (Wako, número de catálogo 016-20001) em uma diluição de 1: 500; TNF- α (Abcam, número de catálogo Ab34674) na diluição 1: 100 e Neu-N (Novus Biological, número de catálogo: NBP1-77686) na diluição 1: 200. Os anticorpos monoclonais primários usados para marcar o hipocampo foram: COX-2 (Abcam, número de catálogo ab 15191) em uma diluição de 1: 100; p-GR(S226) (Cell Signaling, código de catálogo # 12041) em uma diluição de 1: 400 e CREB-p (Cell Signaling, código de catálogo # 9198) em uma diluição de 1: 500. Todos os anticorpos foram incubados em tecidos durante a noite a 4 ° C. As seções foram incubadas com um anticorpo secundário conjugado com biotina por 1 h após a lavagem (DakoCytomation, Biotinylated Link Universal HRP; número de catálogo: K0690, CA, EUA). As marcações foram reveladas incubando-se com 3,3'-diaminobenzidina (DAB) como cromógeno, contrastadas com hematoxilina de Carrazi e montadas em Entellan (Merck, número de catálogo: 1079610100, EUA). A densidade de pixels foi quantificada em 8 áreas do hipocampo coradas (giro denteado) (aumento de 400x) obtidas de 3 animais diferentes usando o software GIMP 2.10.4 (software GNU Image Manipulation Program, CNET Networks, Inc., Australia).

2.7 IMUNOFLUORESCÊNCIA

As amostras foram processadas em parafinas como descrito anteriormente. Seções de 4-5 μ m foram cortadas usando um micrótomo RM 2035 (Reichert S, Leica) e montadas em lâminas de vidro, reidratadas e tratadas com tampão citrato 20 mM (em pH 6,0) a 100 ° C por 30 min. Em seguida, foram permeabilizados com 0,5% de Triton X-100 e bloqueados por 1 h com 3% de BSA mais 0,2% de Tween 20 em solução salina tamponada com Tris. Sucessivamente, as lâminas foram incubadas com anticorpos anti-BDNF (Alomone, número de catálogo ANT-010) a uma diluição de 1: 300. Incubação com anticorpo primário foi realizada durante a noite e, em seguida, incubada com anticorpo policlonal secundário conjugado com flúor 546 (Alexa, número de catálogo A10040) contra imunoglobulina de coelho por 1 h. As lâminas foram lavadas e montadas em meio fluorescente Prolong Gold Antifade (Life

Technologies, número de catálogo: P36930) para análise em um microscópio de fluorescência invertido (Zeiss MicroImaging GmbH) equipado com uma câmera (Zeiss AxioCam MRM) e análise de imagem de realocação. As áreas hipocâmpais marcadas (giro denteado) foram medidas usando o software GIMP 2.6.11 (software GNU Image Manipulation Program, CNET Networks, Inc. Australia).

2.8 WESTERN BLOT

Os hipocâmpos foram rapidamente dissecados e homogeneizados em uma extração contendo coquetel de inibidor de protease (EDTA 10 mM, Amresco, Solon, EUA; fluoreto de fenilmetano sulfonil 2 mM, NaF 100 mM, pirofosfato de sódio 10 mM, NaVO₄ 10 mM, 10 µg de aprotinina / mL e Tris 100 mM, pH 7,4 - Sigma - Aldrich). As amostras (n = 4) foram misturadas e homogeneizadas para formar um pool para cada grupo. Os homogenatos foram centrifugados e congelados a -80°C. 20 µg de proteína total foram aplicados em cada poço de um gel de eletroforese e separados, antes de serem transferidos eletroforeticamente para as membranas de nitrocelulose (OmniPage mini-vertical protein electrophoresis, Cleaver Scientific). Após o bloqueio com 3% de BSA, as membranas foram incubadas overnight com anticorpo policlonal de coelho (CA, EUA) contra NGF (Abcam, número de catálogo ab6199), Caspase-3 (Abcam, número de catálogo ab4051), TLR4 (Abcam, número de catálogo ab13556) e BDNF (Alomone, número de catálogo ANT-010). Todos os anticorpos primários foram diluídos em solução de bloqueio (BSA a 1%, solução salina tamponada com fosfato a 0,02% e Tween a 0,01%) para um fator de diluição de 1: 1.000. Após a lavagem, as membranas foram incubadas com anti-coelho conjugado com peroxidase de rábano (HRP) (Sigma-Aldrich, número de catálogo: A9169, EUA), em um diluição de 1: 8000. Para revelar as bandas foi utilizado o reagente de quimioluminescência (Super Signal, Pierce, número de catálogo: 34080, EUA). O sistema iBright CL 1000 (Thermo Fisher Scientific, número de catálogo: A44241) foi usado para registrar bandas quimioluminescentes. Para a quantificação, os valores da densitometria foram obtidos medindo-se a densidade de pixels de cada banda por meio do software Image J 1.38 (NIH, MD, EUA). Para cada marcador de proteína investigado, os resultados foram confirmados em dois conjuntos de experimentos. Como um gene de controle para transferências, foi realizado o immunoblotting para β-actina. Após a visualização, as membranas foram removidas e sondadas novamente com anticorpo monoclonal

anti- β -actina em diluição 1: 5000 (Sigma-Aldrich, número de catálogo A2228, EUA) e densitometria de proteínas foi realizada. A razão de cada proteína / β -actina estudada foi calculada e comparada entre os grupos.

2.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para os resultados de imunofluorescência e imuno-histoquímica, a densidade de pixels foi medida em oito áreas coradas usando um programa de software (GIMP 2.10.4). O software GraphPad Prism (versão 5) foi usado para a análise estatística. Todas as análises foram realizadas considerando-se valores de $p < 0,05$ como estatisticamente significativos.

3. RESULTADOS

3.1 FOS e GOS reduzem o ganho de peso corporal dos animais obesos alimentados por uma dieta hiperlipídica

O grupo HFD e HFD + Prebiótico tiveram média de peso significativamente maior ($p < 0,05$) que o grupo controle após a 2ª semana até o final do experimento. Com a administração de FOS e GOS na 13ª semana, houve diminuição significativa ($p < 0,05$) do peso médio dos animais alimentados com a dieta HFD em relação ao grupo HFD não tratado. No final do experimento, o grupo HFD+Prebióticos apresentavam peso significativamente menor ($38,610 \pm 5,54$) quando comparado ao grupo HFD ($40,89 \pm 7,33$) (figura 2).

3.2 O consumo de uma dieta hiperlipídica leva à diminuição de memória espacial e aprendizagem enquanto o tratamento com prebióticos reverte os danos cognitivos.

A avaliação da memória foi realizada em todos os grupos antes e após o tratamento. Animais obesos tiveram uma pontuação de alterações significativamente menor ($p < 0,05$) ao explorar o labirinto em T do que os animais dos grupos de controle (Figura 3). Por sua vez, o tratamento com 0,3 e 0,4g de FOS e GOS por 6 semanas melhorou significativamente ($p < 0,05$) o desempenho de animais obesos quando comparado ao grupo HFD não tratado.

O labirinto circular de Barnes foi usado para caracterizar a aprendizagem dos diferentes grupos. Inicialmente os animais receberam o treinamento uma vez ao dia por 5 dias seguidos. A capacidade cognitiva dos diferentes grupos foi avaliada mediante a latência primária uma vez que outros parâmetros como latência total e número de erros podem ser influenciados pela capacidade exploratória do animal (GAWEL et al., 2019). Os animais do grupo controle tiveram uma redução significativamente no tempo para encontrar a saída do labirinto em comparação com o segundo dia, indicando aprendizagem. Os animais alimentados com uma dieta HFD não apresentam redução significativa do tempo para encontrar a caixa de destino. O grupo tratado com os prebióticos apresentaram uma redução da latência primária no quarto e quinto dia quando comparado com o 2º dia de treinamento indicando um melhor desempenho na aprendizagem (Figura 4). No nono dia (sondagem) foi

avaliada a memória de longo prazo em todos os grupos e foi observado que o grupo HFD apresenta um maior tempo de latência ($10,75 \pm 5,54$), mas não significativa em relação ao grupo controle ($5,83 \pm 2,40$) e HFD+Prebióticos ($8,83 \pm 5,37$) (Figura 5).

3.3 FOS e GOS melhoram o perfil bioquímico nos animais obesos

No grupo HFD foi observado um aumento significativo ($p < 0,05$) da glicemia quando comparada ao grupo controle. A glicemia é restaurada significativamente ($p < 0,05$) próximo a normalidade quando os animais são tratados com prebióticos (Figura 6A). Semelhantemente, os animais alimentados com uma dieta hiperlipídica apresentaram níveis de colesterol total sérico e triglicerídeos significativamente ($p < 0,05$) maiores do que o grupo controle (MÉDIA \pm DP). No entanto, a administração dos prebióticos foi capaz de diminuir significativamente ($p < 0,05$) a colesterolemia e a trigliceridemia nos animais obesos (Figura 6B e C).

3.4 O tratamento com FOS e GOS reduziu a expressão de marcadores da neuroinflamação e morte celular no hipocampo de camundongos obesos.

O fator de necrose tumoral é uma das principais citocina pró-inflamatória secretada das pelos macrófagos. O consumo crônico de uma dieta hiperlipídica foi capaz de aumentar significativamente ($p < 0,0001$) os níveis de TNF- α no hipocampo em comparação com o grupo controle. Por outro lado, quando tratados com FOS e GOS, os animais do grupo HFD+Prebióticos apresentaram uma expressão significativamente ($p < 0,001$) reduzida dessa citocina quando comparado com o grupo não tratado (Figura 7).

A enzima cicloxigenase-2 é um dos principais alvos farmacológicos dos anti-inflamatórios para o controle da inflamação uma vez que ela é um importante mediador na formação de prostaglandinas. Diferentemente da COX-1 que é uma enzima constitutiva, a COX-2 é uma enzima indutiva, ou seja, está bastante expressa nas regiões de inflamação (KUMMER; COELHO, 2002). No grupo controle, a imunoexpressão de COX-2 no giro denteado se apresenta em níveis fisiológicos, semelhante ao grupo obeso tratado com os prebióticos. No entanto, o consumo de uma dieta hiperlipídica aumenta significativamente ($p < 0,001$) a expressão da COX-2, refletindo no processo neuroinflamatório local (Figura 8).

Os processos moleculares envolvidos na execução da apoptose engloba um conjunto de cisteínas proteases conhecidas como caspases, sendo a Caspase-3 (CASP-3) considerada efetora da morte celular (SADOWSKI-DEBBING et al., 2002). Análise por western-blot revelou que o grupo HFD apresentou uma expressão significativamente ($p < 0,01$) maior da CASP-3 quando comparada ao grupo controle. No entanto, o tratamento com os prebióticos diminuiu significativamente ($p < 0,001$) a expressão da CASP-3 nos animais obesos (Figura 9a).

Os receptores Toll-Like são uma classe de proteínas transmembranas responsáveis pelo reconhecimento de padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs). A ativação do receptor Toll-like 4 (TLR4), através do LPS circulante, leva à produção de citocinas pró-inflamatórias como macrófagos (NIE et al., 2018). O consumo da dieta lipídica levou a um aumento ($p < 0,05$) na expressão do TLR4 quando comparado ao grupo controle. Por outro lado, os animais do grupo HDF+Prebióticos apresentaram uma redução significativa ($p < 0,001$) da expressão quando comparados com o grupo HFD (Figura 9b).

3.5 FOS e GOS reduzem a ativação da micróglia e do astrócitos na área do giro denteado do hipocampo.

A molécula adaptadora de ligação de cálcio ionizada 1 (*Ionized calcium-binding adapter molecule 1* - Iba1), também conhecida como fator inflamatório de aloenxerto-1 (AIF-1), é uma proteína localizada no citoplasma relacionada com a ativação e função de macrófagos. A Iba-1 também é um marcador de micróglia, que são macrófagos específicos do SNC (AUTIERI, 1996). O grupo HFD apresentou uma expressão significativa ($p < 0,0001$) de Iba-1 quando comparadas com o controle e com o grupo HFD+Prebióticos. O aumento significativo da imunoexpressão de Iba-1 no grupo HFD reflete em um processo de neuroinflamatório e o tratamento com prebióticos foi capaz de reduzir a neuroinflamação induzida por dieta (Figura 10).

Os astrócitos normalmente expressam a proteína do ácido fibrilar glial (GFAP), e seu aumento está relacionado com a sua ativação, frequentemente denominada de gliose reativa. Os animais do grupo controle apresentaram uma imunoexpressão em níveis fisiológicos no giro denteado do hipocampo. Os animais obesos mostraram uma expressão significativamente ($p < 0,001$) maior de GFAP quando comparado com o

grupo controle. No entanto, o tratamento com prebiótico resultou em uma redução significativa ($p < 0,05$) da astrogliose reativa no grupo obeso. Os animais do grupo HFD+Prebióticos não mostraram diferenças significativas em relação a ativação astrocítica quando comparados ao grupo controle (Figura 11).

3.6 A resistência aos receptores de glicocorticóides do hipocampo foi diminuída em camundongos obesos tratados com prebióticos.

Os receptores de glicocorticóides (GR) são importantes mediadores dos efeitos do cortisol, principalmente na modulação pelo feedback negativo do eixo HPA. A desregulação dos níveis de pGR-S226 desempenha um papel essencial na desregulação do eixo HPA em alguns distúrbios neuropsiquiátricos (Zhang et al., 2020). Neste estudo, observou-se que o consumo crônico de dieta hiperlipídica levou a um aumento significativo ($p < 0,0001$) na expressão do RG fosforilado quando comparado ao grupo controle. No entanto, o tratamento com FOS e GOS não diminuiu significativamente a expressão deste receptor em DG (Figura 12A), mas diminuiu significativamente ($p < 0,001$) no CA1 do hipocampo (Figura 12B).

3.7 O tratamento com FOS e GOS aumentaram os marcadores de plasticidade sináptica, proliferação celular e neurogênese

A dieta hiperlipídica e a obesidade contribuem para indução e manutenção do estado inflamatório crônico, levando a déficit cognitivos. Nós analisamos se o tratamento com os prebióticos seria capaz de estimular de vias de sinalização da plasticidade sináptica em camundongos obesos. A proteína Neu-N (Núcleos NEUronais) é um marcador de neurônios maduros (GUSEL'NIKOVA; KORZHEVSKIY, 2015a). A expressão dessa proteína se encontra nos níveis basais no grupo controle diferentemente dos animais do grupo HFD que apresentaram uma redução significativa ($p < 0,01$). Quando os animais alimentados com uma dieta hiperlipídica foram tratados com FOS e GOS, a expressão de NeuN aumentou significativamente ($p < 0,01$) em comparação com o grupo não tratado (Figura 13).

O fator de crescimento neuronal (NGF – Nerve growth factor) é uma proteína que exerce um importante papel no crescimento, sobrevivência e manutenção dos neurônios (SOFRONIEW; HOWE; MOBLEY, 2001). Nos animais obesos, a expressão proteica de NGF diferiu significativamente ($p < 0,01$) do grupo controle. Em contraste,

o grupo HFD+Prebióticos apresentou um aumento significativo ($p < 0,001$) na expressão de NGF (Figura 9D).

O antígeno nuclear KI-67 tem sido usado como marcador de proliferação celular, principalmente para células neoplásicas. O KI-67 é indispensável na etapa da mitose para a formação da camada pericromossômica (SCHONK et al., 1989). A expressão desse marcador no grupo HFD foi significativamente ($p < 0,05$) menor quando comparado ao grupo controle. No entanto, quando esses animais receberam o tratamento com o prebióticos houve um aumento significativo ($p < 0,01$) da expressão de KI-67 quando comparado com o grupo HFD (Figura 14).

A proteína de ligação ao elemento de resposta cAMP (CREB) é uma proteína nuclear e a sua forma fosforilada atua principalmente como fator de transcrição para genes envolvidos na plasticidade sináptica, neurogênese e proliferação celular (KANDEL, 2012). O grupo controle, apresentou p-CREB em níveis fisiológicos (MÉDIA \pm DP), enquanto o grupo HFD apresentou redução significativa ($p < 0,05$) na expressão. Em contraste, o grupo HFD+Prebióticos teve expressão significativamente aumentada ($p < 0,01$) de p-CREB de forma semelhante ao grupo controle (Figura 15).

O fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) é uma importante neurotrofina capaz de regular a manutenção, diferenciação e sobrevivência, aumentando a plasticidade sináptica e, assim, a cognição (BEKINSCHTEIN; CAMMAROTA; MEDINA, 2014). A desregulação na expressão do BDNF está relacionada aos déficits cognitivos e transtornos de humor. O grupo controle apresentou uma expressão do BDNF significativamente ($p < 0,0001$) maior do que o grupo HFD em análises de imunofluorescência. No entanto, quando esses animais receberam o tratamento com o prebióticos houve um aumento significativo ($p < 0,001$) da expressão de BDNF quando comparado com o grupo HFD (Figura 16). Este dado foi confirmado por análise de Western Blot (Figura 9C).

4. DISCUSSÃO

A obesidade é uma doença metabólica multifatorial, e o consumo crônico de dietas ricas em gordura e pobres em fibras tem se destacado como um fator determinante em todo mundo (CARNAHAN; BALZER; PANCHAL, 2014). Na obesidade, bem como em distúrbios do humor e cognição, se observam alterações na estrutura microbiana intestinal. Inúmeros estudos demonstraram que o eixo microbiota-intestino-cérebro exerce um papel-chave na fisiologia da obesidade e respectivas comorbidades (CERDÓ et al., 2019).

Inicialmente, a perda de peso constitui um resultado importante nas intervenções terapêuticas contra a obesidade, e a mudança no perfil bioquímico de lipídeos e carboidratos são fatores que diminuem a predisposição à comorbidade (POKHAREL et al., 2017). Neste artigo, foi observado que a partir da segunda semana do tratamento crônico com FOS e GOS houve redução do peso bem como melhora da glicemia, colesterolemia e trigliceridemia. Resultados semelhantes foram descritos por Rima et al., 2020 os quais mostraram que a suplementação com GOS em uma dieta do tipo ocidental reduz o ganho de peso corporal, melhora a dislipidemia e sensibilidade à insulina em camundongos C57BL / 6 (MISTRY et al., 2020).

Everard e cols. 2011 mostraram que a oligofrutose, um prebiótico semelhante ao FOS, foi capaz de diminuir os níveis de triglicerídeos e tecido adiposo branco. Respondek et al., (2013) mostraram que a administração de FOS de cadeia curta por 7 semanas levou alterações na estrutura e atividade da microbiota intestinal em camundongos obesos além de melhorar o metabolismo lipídico e a sensibilidade à insulina. Em um outro estudo experimental, NOGUEIRA BEZAN, (2019) avaliou os efeitos da suplementação a longo prazo de FOS em parâmetros metabólicos na esteatose hepática não alcoólica em camundongos C57BL/6 e observou menor ganho de peso corporal embora não tenha encontrado alterações significativas no perfil lipídico hepático, e na glicemia de jejum nesses animais.

A fermentação microbiana do FOS e GOS estimula bactérias do gênero *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*, as quais estão associadas a alguns efeitos benéficos na saúde do hospedeiro como redução da massa adiposa e tolerância a glicose (NICOLUCCI et al., 2017). Além disso, produtos da fermentação dessas fibras,

como butirato, surgem como um dos mecanismos capaz de atuar direta ou indiretamente no metabolismo energético (PARNELL; REIMER, 2010). Alguns prebióticos ainda alteram o perfil lipídico sanguíneo mediante à sua ligação com o colesterol e aos ácidos biliares no intestino superior, aumentando a excreção de lipídeos, aumentando o volume intestinal, e portanto, promovendo a saciedade (SLAVIN, 2013).

A cognição pode ser representada por diversas faculdades mentais como linguagem, atenção, memória, aprendizagem entre outros (COREN, 2012). Neste trabalho, a aprendizagem e memória foram utilizadas como parâmetros de avaliação da cognição. Neste contexto, o labirinto T e o de Barnes fornecem dados para avaliação da memória e aprendizado espacial principalmente em modelos de déficit cognitivos (GAWEL et al., 2019).

O hipocampo é a região do lobo temporal que recebe uma maior atenção na memória pelo seu papel crítico na formação e consolidação da memória espacial. Logo, é de se esperar que lesões hipocámpais estejam diretamente ligadas com déficit cognitivo (BIRD; BURGESS, 2008; SHETTY, 2014). Atualmente já se sabe que a inflamação periférica promovida pelo consumo crônico de uma dieta hiperlipídica desencadeia um processo neuroinflamatório em diversas áreas cerebrais como no hipocampo podendo levar a alterações cognitivas (GAINEY et al., 2016; KESBY et al., 2015). Neste trabalho, demonstramos que o tratamento com FOS e GOS restaura a capacidade de aprendizagem e memória, visto que reduziu significativamente a latência primária dos animais.

Estudos recentes têm mostrado que entre o FOS e GOS podem promover a sobrevivência neuronal e levar a uma melhoria significativa da memória e cognição (CHEN et al., 2017; SUN et al., 2019). MCVEY NEUFELD e cols., (2019) mostraram que a administração crônica de FOS era capaz de reduzir os déficits cognitivos na doença de Alzheimer. MCVEY NEUFELD e cols (2019) relataram que ratos Sprague-Dawley alimentados com dietas contendo GOS combinado com polidextrose apresentavam atenuação dos efeitos deletérios da separação materna no comportamento depressivo e na memória. No presente estudo, no entanto, os animais tratados com prebióticos não apresentaram melhor desempenho no nono dia demonstrando que o tratamento não foi capaz de consolidar o aprendizado e a memória espacial por muito tempo. Tendo em vista que o Labirinto de Barnes é um

teste estressante, isto poderia ser um dos fatores responsáveis pela não consolidação no 9º dia (JOCA; PADOVAN; GUIMARÃES, 2003).

Uma proposta do elo mecanicista entre obesidade e suas comorbidade é a inflamação de baixo grau, evidenciada pelo aumentos de IL-6, IL-1 β e TNF- α . Além da obesidade, dietas hiperlipídicas também conseguem promover um fenótipo pró-inflamatório (CAVALIERE et al., 2019; DUAN et al., 2018). Entretanto, em termos fisiológicos, estas citocinas atuam nas vias de sinalização da aprendizagem e memória, e desempenham um importante papel na neurogênese, potenciação de longo prazo e plasticidade sináptica (MCAFOOSE; BAUNE, 2009). Portanto, alterações nos níveis das citocinas pró-inflamatórias estão direta e indiretamente relacionadas ao déficit cognitivo.

Além disso, a dieta hiperlipídica agrava os estados inflamatórios mediante a desregulação da microbiota intestinal, que por sua vez leva ao comprometimento da permeabilidade intestinal. Essa hiperpermeabilidade intestinal crônica é capaz de aumentar a inflamação por meio da translocação de alguns antígenos microbianos como o LPS (AGUSTÍ et al., 2018b). Como mencionado anteriormente, os TLR4s são expressos em diferentes células do sistema imune periférico e central, principalmente na micróglia, onde desempenha diferentes papéis relacionados com a sobrevivência ou morte neural (WALTER et al., 2007; FIEBICH et al., 2018). O TLR4 pode levar a produção de mediadores pró-inflamatórias como IL-6, IL-1 β e TNF- α e sua ativação excessiva está relacionada com danos cognitivos (GAIKWAD; NAVEEN; AGRAWAL-RAJPUT, 2016), e ao desenvolvimento de doenças neurodegenerativas como na doença de Alzheimer (WANG et al., 2013). Estudos clínicos relataram uma associação entre HFD e comprometimento cognitivo semelhantemente àqueles apresentados neste estudo (TAN; NORHAIZAN, 2019). O presente estudo demonstrou que o tratamento por 6 semanas com FOS e GOS reduziu significativamente a expressão de TLR4 e TNF- α , reduzindo a neuroinflamação hipocampal e melhorando, portanto o déficit cognitivo.

A COX-2 é uma enzima chave na conversão de eicosanóides em prostanóides como prostaglandinas, prostaciclina e tromboxanos. A inflamação crônica causada pela obesidade em animais é capaz de aumentar a expressão dessa enzima (CHAN; LIAO; HSIEH, 2019). Por exemplo, foi observado que o TNF- α pode aumentar a

produção de PGE2 mediante a estimulação de COX-2 (FAIN, 2006). Um estudo realizado por CHAN e cols (2016) mostrou que a alimentação de ratos com uma dieta hiperlipídica era capaz de aumentar a expressão de COX-1 e 2 no tecido adiposo. Inicialmente, a COX-2 se mostrou com um importante mediador das reações inflamatórias em tecidos periféricos. Por sua vez, as prostaglandinas produzidas pelas cicloxigenases apresentam uma importante função na inflamação e no eixo HPA. Foi evidenciado que o LPS leva a ativação do eixo HPA em ratos mediado por PGE2, estimulando a liberação de corticosterona a nível do hipotálamo e da hipófise (MOHN et al., 2005). Além disso, a inibição da COX-2 cerebral foi capaz de atenuar a liberação de cortisol (VAKHARIA; HINSON, 2005). Portanto, níveis elevados de COX-2 hipocampal observado nos animais obesos poderia estar diretamente relacionado à resistência de GRs. Por outro lado, o tratamento dos animais obesos com prebióticos foi capaz de reverter a expressão hipocampal de COX-2.

Nesse contexto, os receptores de glicocorticóides (GR) podem ser fosforilados diretamente na serina 226 levando a uma diminuição da função transcricional e antiinflamatória do GR (Rogatsky et al. 1998). O aumento da fosforilação de GR-Ser226 foi observado em pacientes com MDD (Simic et al., 2012). Dados recentes sugeriram que a fosforilação mediada por JNK de GR-Ser226 pode interromper as funções de feedback homeostático de GR e pode contribuir para a hiperatividade do eixo HPA em MDD (Stapelberg et al., 2018). Nossos dados mostram que a exposição crônica ao HFD aumentou a expressão de pGR-S226 na região CA1 do hipocampo, mas não no DG, o que pode levar à ativação da cascata inflamatória induzida pelo inflamassoma. No entanto, o tratamento com FOS e GOS reduziu a fosforilação de pGR-S226a em animais alimentados com uma dieta rica em gordura.

A apoptose e a neuroinflamação contribuem para o dano e alteração das funções cerebrais. Alguns estudos mostram que a dieta hiperlipídica conseguem influenciar na atividade das caspases. O consumo de uma dieta rica em gordura promove a ativação não apoptótica da caspase-3 em astrócitos e prejudica o aprendizado mediante a um mecanismo dependente de caspase-1 (GUYENET et al., 2013). Além disso, a ativação desregulada das CASP-3 parece estar associada a intensa morte neuronal de algumas doenças neurodegenerativas como esclerose lateral amiotrófica, doença de Huntington, doença de Alzheimer e doença (DA) de Parkinson (DP) (D'AMELIO; CAVALLUCCI; CECCONI, 2010).

Por outro lado, a expressão da NeuN é frequentemente usada como indicador de neurônios pós-mitóticos danos no SNC (GUSEL'NIKOVA; KORZHEVSKIY, 2015b) e que a isquemia e lesão cerebral são condições que reduzem sua imunorreatividade (IGARASHI; HUANG; NOBLE, 2001). Atualmente já se sabe que o consumo crônico de dietas hiperlipídicas em camundongos é capaz de levar a diminuição da NeuN, aumentando a neurodegeneração em modelo de DA (KIM et al., 2016). Nossos resultados mostraram que a expressão de NeuN foi menor no hipocampo de animais obesos, enquanto o tratamento com FOS e GOS neutralizou a neurodegeneração, sugerindo um papel fundamental dos prebióticos na neuroproteção. Além disso, este dado pode estar associado à redução dos níveis de TLR4, TNF- α , COX-2 e de CASP-3 observados após o tratamento com FOS e GOS.

A micróglia está envolvida em várias funções neurais na poda sináptica, no reparo do dano tecidual e a na vigilância imunológica (GU et al., 2014). Entretanto, estudos apontam que a microgliose crônica se torna uma fonte de diversos fatores neurotóxicos como citocinas, óxido nítrico e espécies reativas de oxigênio causando danos neuronal (TAY et al., 2018). Essas moléculas favorecem um desequilíbrio nos fatores tróficos levando a um prejuízo nas propriedades sinaptogênicas (LULL; BLOCK, 2010). Além disso, estes danos estão associados, por exemplo, ao comprometimento cognitivo e desenvolvimentos de doenças neurodegenerativas como a DA e DP (OKELLO et al., 2009; MÉNARD et al., 2017).

Recentes estudos mostraram que as dietas hiperlipídicas estão associadas a ativação microglial mediante ao aumento de citocinas pró-inflamatórias e LPS e a alteração do humor e cognição (KIM et al., 2012; LIANG et al., 2019). Em nosso estudo observamos que o tratamento com FOS e GOS foi responsável por diminuir a expressão de Iba-1 no giro denteado hipocampal em camundongos alimentados com uma dieta hiperlipídica. Semelhantemente, um estudo anterior demonstrou que a administração de B-GOS está relacionada a diminuição do comprometimento cognitivo em modelo pós-operatório mediante a redução do número de micróglia (MILLANI; KONSTANTYNER; TADDEI, 2009; YANG et al., 2018). Em outro estudo foi observado que a administração de FOS associada a inulina em camundongos C57BL diminuiu a ativação microglial alterando a neuroinflamação associada ao envelhecimento (BOEHME et al., 2018).

O astrócito por sua vez, exerce um papel importante nas respostas do SNC a estímulos nocivos como trauma, infecções, excitotoxicidade e doenças neurodegenerativas. Frente a estes estímulos, os astrócitos entram em um processo chamado de astrogliose reativa caracterizada por aumento da expressão das proteínas do filamento intermediário do citoesqueleto e GFAP (RIDET et al., 1997). O consumo de dietas ricas em lipídeos é induz o processo de neuroinflamação, lesão neural e astrogliose reativa no hipotálamo mediobasal (THALER et al., 2012). Estudos recentes mostram que a dieta hiperlipídica diminui o processo de arborização dos astrócitos e aumenta a expressão de GFAP em hipocampo em animais (BONDAN et al., 2019; TSAI et al., 2018). Nós observamos que a administração crônica de uma dieta hiperlipídica em camundongos promove aumento da expressão de GFAP no giro denteado, entretanto, o tratamento com FOS e GOS atenuou o aumento da astrogliose hipocampal, melhorando o desempenho cognitivo destes animais.

A CREB exerce uma função essencial na regulação da transcrição de genes relacionados à plasticidade sináptica e no gatilho da LTP (BENITO; BARCO, 2010). A fosforilação de CREB leva a transcrição de genes, como o BDNF, que apresentar efeito neuroprotetor e está relacionado à cognição, melhorando o armazenamento de memórias ao longo prazo, (KIM et al., 2017; PEIXOTO; NUNES; GARCIA-OSTA, 2015). Diminuição tanto do BDNF quanto quando NGF estão intimamente relacionadas à cognição prejudicada e a ao desenvolvimento de doenças neuropsiquiátricas como depressão (AUTRY; MONTEGGIA, 2012; SALLES et al., 2017; YANEV, 2013). Além disso, diversos estudos relatam que a redução de BDNF e NGF está associada à redução da função cognitiva como consequência de uma administração crônica de dietas hiperlipídicas (BAE-GARTZ et al., 2019; GRIFFITHS et al., 2016). Em nosso estudo, observamos que o tratamento com FOS e GOS é capaz de aumentar os níveis de p-CREB, BDNF e NGF em camundongos alimentados com uma dieta hiperlipídica, melhorando assim a cognição nesses animais, favorecendo uma melhora cognitiva e, provavelmente, na plasticidade sináptica. Estes dados foram consistentes com os achados de um estudo anterior em que a administração de FOS e GOS restaurou os níveis de BDNF no hipocampo em um modelo de estresse psicossocial crônico (BUROKAS et al., 2017b). De forma semelhante, SAVIGNAC e cols (2013) observaram que a administração de FOS e GOS por 5 semanas em ratos Sprague Dawley aumentava a expressão de BDNF no

giro denteado e esse efeito pode ter sido alcançado mediante a liberação do peptídeo plasmático YY através da microbiota.

A proteína nuclear KI67 é frequentemente usada em células em divisão celular (ZHANG; JIAO, 2015). Um estudo realizado por YOO et al., (2014) em camundongos observaram que a administração de uma dieta hiperlipídica por 8 semanas levava a diminuição da expressão de BDNF e de KI67. Semelhantemente a dieta rica em gordura foi capaz de levar diminuição do KI67, e que o tratamento com FOS e GOS induziu a proliferação neuronal através do aumento da expressão de fatores neurotróficos como o BDNF e NGF.

CONCLUSÃO

O tratamento com FOS e GOS reduz os níveis TNF- α , COX-2, TLR4, CASP-3, IBA-1 e GFAP no hipocampo, diminuindo, assim, a neuroinflamação e neurodegeneração proporcionadas pelo consumo crônico de uma dieta hiperlipídica. Além disso, o FOS e GOS também promovem a plasticidade sináptica aumentando NeuN, NGF, p-CREB, BDNF e Ki-67, restaurando a capacidade de aprendizagem espacial e a memória. Portanto, nossos dados mostram um efeito neuroprotetor do FOS e GOS que pode ser útil para melhorar a função cognitiva em indivíduos obesos.

CONFLITO DE INTERESSES

Os autores declaram não haver conflito de interesses em relação a publicação deste artigo.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Programa de Excelência em Pesquisa - Instituto Aggeu Magalhães (IAM PROEP #400208/2019-9) e o Programa de Geração de Conhecimento - Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ; # VPPCB-007-FIO-18-2-17), o Instituto de Ciência e Tecnologia em Neuroimunomodulação (INCT-NIM; # 465489 / 2014-1), o Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq; # 301777 / 2012-8); a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES / PNPd) para Silva Bolsa de pós-doutorado AKS. Este estudo foi financiado em parte por a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código Financeiro 001.

REFERÊNCIAS

AGUSTÍ, A. et al. Interplay Between the Gut-Brain Axis, Obesity and Cognitive Function. **Frontiers in Neuroscience**, v. 12, p. 155, 16 mar. 2018a.

AGUSTÍ, A. et al. Interplay Between the Gut-Brain Axis, Obesity and Cognitive Function. **Frontiers in Neuroscience**, v. 12, p. 155, 16 mar. 2018b.

AL-GOBLAN, A. S.; AL-ALFI, M. A.; KHAN, M. Z. Mechanism linking diabetes mellitus and obesity. **Diabetes, metabolic syndrome and obesity : targets and therapy**, v. 7, p. 587–91, 2014.

ALBERTI, K. G. M. M. et al. Harmonizing the Metabolic Syndrome. **Circulation**, v. 120, n. 16, p. 1640–1645, 20 out. 2009.

AUTIERI, M. V. cDNA cloning of human Allograft Inflammatory Factor-1: Tissue distribution, cytokine induction, and mRNA expression in injured rat carotid arteries. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 228, n. 1, p. 29–37, 1 nov. 1996.

AUTRY, A. E.; MONTEGGIA, L. M. **Brain-derived neurotrophic factor and neuropsychiatric disorders** *Pharmacological Reviews* American Society for Pharmacology and Experimental Therapeutics, , abr. 2012.

BAE-GARTZ, I. et al. Maternal Obesity Alters Neurotrophin-Associated MAPK Signaling in the Hypothalamus of Male Mouse Offspring. **Frontiers in Neuroscience**, v. 13, p. 962, 13 set. 2019.

BEKINSCHTEIN, P.; CAMMAROTA, M.; MEDINA, J. H. BDNF and memory processing. **Neuropharmacology**, v. 76, p. 677–683, jan. 2014.

BENITO, E.; BARCO, A. **CREB's control of intrinsic and synaptic plasticity: implications for CREB-dependent memory models** *Trends in Neurosciences* *Trends Neurosci*, , maio 2010.

BIRD, C. M.; BURGESS, N. **The hippocampus and memory: Insights from spatial processing** *Nature Reviews Neuroscience* Nature Publishing Group, , mar. 2008.

BOEHME, M. et al. Targeting the gut microbiome to reverse microglia activation and

stress-induced immune priming in ageing. **European Neuropsychopharmacology**, v. 28, p. S18–S19, 1 mar. 2018.

BONDAN, E. F. et al. Memory impairments and increased GFAP expression in hippocampal astrocytes following hypercaloric diet in rats. **Arquivos de Neuro-Psiquiatria**, v. 77, n. 9, p. 601–608, 2019.

BÚRIGO, T. et al. Bifidogenic effect of fructooligosaccharides in the intestinal flora of patients with hematological neoplasia. **Revista de Nutricao**, v. 20, n. 5, p. 491–497, 2007.

BUROKAS, A. et al. Targeting the Microbiota-Gut-Brain Axis: Prebiotics Have Anxiolytic and Antidepressant-like Effects and Reverse the Impact of Chronic Stress in Mice. **Biological psychiatry**, v. 82, n. 7, p. 472–487, 1 out. 2017a.

BUROKAS, A. et al. Targeting the Microbiota-Gut-Brain Axis: Prebiotics Have Anxiolytic and Antidepressant-like Effects and Reverse the Impact of Chronic Stress in Mice. **Biological Psychiatry**, v. 82, n. 7, p. 472–487, 1 out. 2017b.

CARNAHAN, S.; BALZER, A.; PANCHAL, S. **Attenuation of diet-induced obesity with coffee and coffee components** [View project](#) **The effects of wasabi on metabolic syndrome in rats** [View project](#). 2014.

CAVALIERE, G. et al. High-Fat Diet Induces Neuroinflammation and Mitochondrial Impairment in Mice Cerebral Cortex and Synaptic Fraction. **Frontiers in Cellular Neuroscience**, v. 13, 12 nov. 2019.

CERDÓ, T. et al. **The role of probiotics and prebiotics in the prevention and treatment of obesity** [Nutrients](#) MDPI AG, , 1 mar. 2019.

CHAN, P. et al. Importance of adipocyte cyclooxygenase-2 and prostaglandin E₂ - prostaglandin E receptor 3 signaling in the development of obesity-induced adipose tissue inflammation and insulin resistance. **The FASEB Journal**, v. 30, n. 6, p. 2282–2297, 1 jun. 2016.

CHAN, P. C.; LIAO, M. T.; HSIEH, P. S. **The dualistic effect of COX-2-mediated signaling in obesity and insulin resistance** [International Journal of Molecular Sciences](#) MDPI AG, , 1 jul. 2019.

CHEN, D. et al. Prebiotic Effect of Fructooligosaccharides from *Morinda officinalis* on Alzheimer's Disease in Rodent Models by Targeting the Microbiota-Gut-Brain Axis. **Frontiers in aging neuroscience**, v. 9, p. 403, 2017.

COREN, S. Sensation and Perception. In: **Handbook of Psychology, Second Edition**. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc., 2012.

CSIGE, I. et al. **The Impact of Obesity on the Cardiovascular System** *Journal of Diabetes Research* Hindawi Limited, , 2018.

D'AMELIO, M.; CAVALLUCCI, V.; CECCONI, F. **Neuronal caspase-3 signaling: Not only cell death** *Cell Death and Differentiation* Nature Publishing Group, , 4 jul. 2010.

DA SILVA, C. C.; MONTEIL, M. A.; DAVIS, E. M. Overweight and Obesity in Children Are Associated with an Abundance of Firmicutes and Reduction of Bifidobacterium in Their Gastrointestinal Microbiota. **Childhood Obesity**, v. 16, n. 3, p. 204–210, 1 abr. 2020.

DOS SANTOS, R.; SIMIQUELI, A. P. R.; PASTORE, G. M. Production of galactooligosaccharide by *Scopulariopsis* sp. **Ciencia e Tecnologia de Alimentos**, v. 29, n. 3, p. 682–689, 2009.

DUAN, Y. et al. Inflammatory links between high fat diets and diseases. **Frontiers in Immunology**, v. 9, n. NOV, p. 2649, 13 nov. 2018.

FAIN, J. N. **Release of Interleukins and Other Inflammatory Cytokines by Human Adipose Tissue Is Enhanced in Obesity and Primarily due to the Nonfat Cells** *Vitamins and Hormones* Vitam Horm, , 2006.

FIEBICH, B. L. et al. Role of microglia TLRs in neurodegeneration. **Frontiers in Cellular Neuroscience**, v. 12, 2 out. 2018.

GAIKWAD, S.; NAVEEN, C.; AGRAWAL-RAJPUT, R. **Toll-like receptor-4 antagonism mediates benefits during neuroinflammation** *Neural Regeneration Research* Editorial Board of Neural Regeneration Research, , 1 abr. 2016.

GAINEY, S. J. et al. Short-term high-fat diet (HFD) induced anxiety-like behaviors and cognitive impairment are improved with treatment by glyburide. **Frontiers in Behavioral Neuroscience**, v. 10, n. AUG, p. 156, 11 ago. 2016.

GAWEL, K. et al. **Assessment of spatial learning and memory in the Barnes maze task in rodents—methodological consideration** *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology* Springer Verlag, , 15 jan. 2019.

GIBSON, G. 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 and Hepatology*. Nature Publishing Group, , 1 ago. 2017.

GRIFFITHS, P. S. et al. Maternal high-fat hypercaloric diet during pregnancy results in persistent metabolic and respiratory abnormalities in offspring. **Pediatric Research**, v. 79, n. 2, p. 278–286, 1 mar. 2016.

GU, J. et al. Differential roles of microglia and monocytes in the inflamed central nervous system. **The Journal of Experimental Medicine**, v. 211, n. 8, p. 1533–1549, 2014.

GUSEL'NIKOVA, V. V.; KORZHEVSKIY, D. E. **NeuN as a neuronal nuclear antigen and neuron differentiation marker** *Acta Naturae* Russian Federation Agency for Science and Innovation, , 15 jun. 2015a.

GUSEL'NIKOVA, V. V.; KORZHEVSKIY, D. E. **NeuN as a neuronal nuclear antigen and neuron differentiation marker** *Acta Naturae* Russian Federation Agency for Science and Innovation, , 15 jun. 2015b.

GUYENET, S. J. et al. High-fat diet feeding causes rapid, non-apoptotic cleavage of caspase-3 in astrocytes. **Brain Research**, v. 1512, p. 97–105, 2013.

HARRISON, N. A. et al. Inflammation causes mood changes through alterations in subgenual cingulate activity and mesolimbic connectivity. **Biological psychiatry**, v. 66, n. 5, p. 407–14, 1 set. 2009.

IGARASHI, T.; HUANG, T. T.; NOBLE, L. J. Regional vulnerability after traumatic brain injury: Gender differences in mice that overexpress human copper, zinc superoxide dismutase. **Experimental Neurology**, v. 172, n. 2, p. 332–341, 1 dez. 2001.

JOCA, S. R. L.; PADOVAN, C. M.; GUIMARÃES, F. S. **Stress, depression and the** . *Brasileira de Psiquiatria*. Associacao Brasileira de Psiquiatria, 2003.

JOHNSON, L. A. et al. Amelioration of Metabolic Syndrome-Associated Cognitive Impairments in Mice via a Reduction in Dietary Fat Content or Infusion of Non-Diabetic Plasma. **EBioMedicine**, v. 3, p. 26–42, jan. 2016.

KANDEL, E. R. **The molecular biology of memory: CAMP, PKA, CRE, CREB-1, CREB-2, and CPEB** *Molecular Brain* BioMed Central, , 2012.

KESBY, J. P. et al. Spatial cognition in adult and aged mice exposed to high-fat diet. **PLoS ONE**, v. 10, n. 10, 8 out. 2015.

KIM, D. et al. Decreased hippocampal brain-derived neurotrophic factor and impaired cognitive function by hypoglossal nerve transection in rats. **Journal of Cellular and Molecular Medicine**, v. 21, n. 12, p. 3752–3760, 1 dez. 2017.

KIM, D. G. et al. Non-alcoholic fatty liver disease induces signs of Alzheimer’s disease (AD) in wild-type mice and accelerates pathological signs of AD in an AD model. **Journal of Neuroinflammation**, v. 13, n. 1, p. 1, 5 jan. 2016.

KIM, K. A. et al. High Fat Diet-Induced Gut Microbiota Exacerbates Inflammation and Obesity in Mice via the TLR4 Signaling Pathway. **PLoS ONE**, v. 7, n. 10, 16 out. 2012.

KUMMER, C. L.; COELHO, T. C. R. B. **Antiinflamatórios não esteróides inibidores da ciclooxigenase-2 (COX-2): Aspectos atuais** *Revista Brasileira de Anestesiologia* Sociedade Brasileira de Anestesiologia, , 2002.

LIANG, Y. J. et al. Contribution of microglial reaction to increased nociceptive responses in high-fat-diet (HFD)-induced obesity in male mice. **Brain, Behavior, and Immunity**, v. 80, p. 777–792, 1 ago. 2019.

LULL, M. E.; BLOCK, M. L. Microglial Activation and Chronic Neurodegeneration. **Neurotherapeutics**, v. 7, n. 4, p. 354–365, out. 2010.

MCAFOOSE, J.; BAUNE, B. T. **Evidence for a cytokine model of cognitive function** *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* Pergamon, , 1 mar. 2009.

MCVEY NEUFELD, K. A. et al. Neurobehavioural effects of *Lactobacillus rhamnosus* GG alone and in combination with prebiotics polydextrose and galactooligosaccharide in male rats exposed to early-life stress. **Nutritional Neuroscience**, v. 22, n. 6, p. 425–434, 3 jun. 2019.

MÉNARD, C. et al. **Immune and Neuroendocrine Mechanisms of Stress Vulnerability and Resilience** *Neuropsychopharmacology* Nature Publishing Group, , 1 jan. 2017.

MILLANI, E.; KONSTANTYNER, T.; TADDEI, J. A. DE A. C. Efeitos da utilização de prebióticos (oligossacarídeos) na saúde da criança. **Revista Paulista de Pediatria**, v. 27, n. 4, p. 436–446, dez. 2009.

MINISTÉRIO DA SAÚDE (BRASIL). **Brasileiros atingem maior índice de obesidade nos últimos treze anos**. 2019.

MISTRY, R. H. et al. Long-Term β -galacto-oligosaccharides Supplementation Decreases the Development of Obesity and Insulin Resistance in Mice Fed a Western-Type Diet. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 64, n. 12, p. 1900922, 25 jun. 2020.

MOHN, C. E. et al. The rapid release of corticosterone from the adrenal induced by ACTH is mediated by nitric oxide acting by prostaglandin E2. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 102, n. 17, p. 6213–6218, 26 abr. 2005.

NICOLUCCI, A. C. et al. Prebiotics Reduce Body Fat and Alter Intestinal Microbiota in Children Who Are Overweight or With Obesity. **Gastroenterology**, v. 153, n. 3, p. 711–722, 1 set. 2017.

NIE, L. et al. Toll-Like Receptors, Associated Biological Roles, and Signaling Networks in Non-Mammals. **Frontiers in Immunology**, v. 9, p. 1523, 2 jul. 2018.

NOGUEIRA BEZAN, P. **Efeitos da suplementação de frutooligossacarídeos em parâmetros metabólicos em camundongos C57BL alimentados com dieta hiperlipídica**. Ribeirão Preto: 2019.

NOVOTNÝ, M.; KLIMOVA, B.; VALIS, M. Microbiome and Cognitive Impairment: Can Any Diets Influence Learning Processes in a Positive Way? **Frontiers in Aging Neuroscience**, v. 11, n. JUN, p. 170, 28 jun. 2019.

OKELLO, A. et al. Microglial activation and amyloid deposition in mild cognitive impairment: A PET study. **Neurology**, v. 72, n. 1, p. 56–62, 6 jan. 2009.

PACE, T. W. W.; HU, F.; MILLER, A. H. **Cytokine-effects on glucocorticoid receptor function: Relevance to glucocorticoid resistance and the pathophysiology and treatment of major depression***Brain, Behavior, and Immunity* NIH Public Access, , jan. 2007.

PARNELL, J. A.; REIMER, R. A. Effect of prebiotic fibre supplementation on hepatic gene expression and serum lipids: A dose-response study in JCR:LA-cp rats. **British Journal of Nutrition**, v. 103, n. 11, p. 1577–1584, jun. 2010.

PEIXOTO, C. A.; NUNES, A. K. S.; GARCIA-OSTA, A. **Phosphodiesterase-5 inhibitors: Action on the signaling pathways of neuroinflammation, neurodegeneration, and cognition***Mediators of Inflammation*Hindawi Publishing Corporation, , 2015.

PETERS, U. et al. Beyond BMI: Obesity and Lung Disease. **Chest**, v. 153, n. 3, p. 702–709, 1 mar. 2018.

PITTS, M. Barnes Maze Procedure for Spatial Learning and Memory in Mice. **BIO-PROTOCOL**, v. 8, n. 5, 2018.

POKHAREL, Y. et al. Adoption of the 2013 American College of Cardiology/ American Heart Association Cholesterol Management Guideline in cardiology practices nationwide. **JAMA Cardiology**, v. 2, n. 4, p. 361–369, 1 abr. 2017.

RAJAN, T. M.; MENON, V. Psychiatric disorders and obesity: A review of association studies. **Journal of postgraduate medicine**, v. 63, n. 3, p. 182–190, 2017.

REEVES, P. G.; NIELSEN, F. H.; FAHEY, G. C. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. **The Journal of nutrition**, v. 123, n. 11, p. 1939–51, nov. 1993.

RESPONDEK, F. et al. Short-Chain Fructo-Oligosaccharides Modulate Intestinal Microbiota and Metabolic Parameters of Humanized Gnotobiotic Diet Induced Obesity Mice. **PLoS ONE**, v. 8, n. 8, 12 ago. 2013.

RIDET, J. L. et al. **Reactive astrocytes: Cellular and molecular cues to biological function***Trends in Neurosciences*Elsevier Ltd, , 1 dez. 1997.

SADOWSKI-DEBBING, K. et al. **Caspases - Their Role in Apoptosis and Other Physiological Processes as Revealed by Knock-Out Studies** *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*, 2002.

SALLES, F. H. M. et al. Mental disorders, functional impairment, and nerve growth factor. **Psychology Research and Behavior Management**, v. 10, p. 9–15, 2017.

SAVIGNAC, H. M. et al. Prebiotic feeding elevates central brain derived neurotrophic factor, N-methyl-d-aspartate receptor subunits and d-serine. **Neurochemistry International**, v. 63, n. 8, p. 756–764, 2013a.

SAVIGNAC, H. M. et al. Prebiotic feeding elevates central brain derived neurotrophic factor, N-methyl-D-aspartate receptor subunits and D-serine. **Neurochemistry international**, v. 63, n. 8, p. 756–64, dez. 2013b.

SCHONK, D. M. et al. Assignment of the gene(s) involved in the expression of the proliferation-related Ki-67 antigen to human chromosome 10. **Human Genetics**, v. 83, n. 3, p. 297–299, out. 1989.

SEO, W. J. et al. High fat diet accelerates and exacerbates microgliosis and neuronal damage/death in the somatosensory cortex after transient forebrain ischemia in gerbils. **Laboratory Animal Research**, v. 36, n. 1, dez. 2020.

SHARMA, S.; RAKOCZY, S.; BROWN-BORG, H. Assessment of spatial memory in mice. **Life sciences**, v. 87, n. 17–18, p. 521–36, 23 out. 2010.

SHETTY, A. K. **Hippocampal injury-induced cognitive and mood dysfunction, altered neurogenesis, and epilepsy: Can early neural stem cell grafting intervention provide protection?** *Epilepsy and Behavior* Academic Press Inc., , 1 set. 2014.

SLAVIN, J. Fiber and Prebiotics: Mechanisms and Health Benefits. **Nutrients**, v. 5, n. 4, p. 1417–1435, 22 abr. 2013.

SOFRONIEW, M. V.; HOWE, C. L.; MOBLEY, W. C. **Nerve growth factor signaling, neuroprotection, and neural repair** *Annual Review of Neuroscience* Annu Rev Neurosci, , 2001.

SUN, J. et al. Fructooligosaccharides Ameliorating Cognitive Deficits and

Neurodegeneration in APP/PS1 Transgenic Mice through Modulating Gut Microbiota. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 67, n. 10, p. 3006–3017, mar. 2019.

TAN, B. L.; NORHAIZAN, M. E. **Effect of high-fat diets on oxidative stress, cellular inflammatory response and cognitive function** *Nutrients* MDPI AG, , 25 out. 2019.

TAY, T. L. et al. **Microglia gone rogue: Impacts on psychiatric disorders across the lifespan** *Frontiers in Molecular Neuroscience* Frontiers Media S.A., , 4 jan. 2018. Disponível em: </pmc/articles/PMC5758507/?report=abstract>. Acesso em: 15 out. 2020

THALER, J. P. et al. Obesity is associated with hypothalamic injury in rodents and humans. **Journal of Clinical Investigation**, v. 122, n. 1, p. 153–162, 3 jan. 2012.

TSAI, S. F. et al. High-fat diet suppresses the astrocytic process arborization and downregulates the glial glutamate transporters in the hippocampus of mice. **Brain Research**, v. 1700, p. 66–77, 1 dez. 2018.

VAKHARIA, K.; HINSON, J. P. Lipopolysaccharide Directly Stimulates Cortisol Secretion by Human Adrenal Cells by a Cyclooxygenase-Dependent Mechanism. **Endocrinology**, v. 146, n. 3, p. 1398–1402, 1 mar. 2005.

WALTER, S. et al. Role of the toll-like receptor 4 in neuroinflammation in Alzheimer's disease. **Cellular Physiology and Biochemistry**, v. 20, n. 6, p. 947–956, 2007.

WANG, H.-X.; WANG, Y.-P. Gut Microbiota-brain Axis. **Chinese medical journal**, v. 129, n. 19, p. 2373–80, 2016.

WANG, Y. et al. The role of the TLR4 signaling pathway in cognitive deficits following surgery in aged rats. **Molecular Medicine Reports**, v. 7, n. 4, p. 1137–1142, abr. 2013.

WHO. Obesity and overweight. 2016. Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/>

WHO. **Obesidade e excesso de peso**. Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>>. Acesso em: 20 out. 2020.

XAVIER-SANTOS, D. et al. **Impact of probiotics and prebiotics targeting**

metabolic syndrome *Journal of Functional Foods* Elsevier Ltd, , 1 jan. 2020.

YANEV, S. Neurotrophic and metabotropic potential of nerve growth factor and brain-derived neurotrophic factor: Linking cardiometabolic and neuropsychiatric diseases.

World Journal of Pharmacology, v. 2, n. 4, p. 92, 2013.

YANG, X.-D. et al. Effects of prebiotic galacto-oligosaccharide on postoperative cognitive dysfunction and neuroinflammation through targeting of the gut-brain axis.

BMC anesthesiology, v. 18, n. 1, p. 177, 2018.

YOO, D. Y. et al. Cell proliferation and neuroblast differentiation in the dentate gyrus of high-fat diet-fed mice are increased after rosiglitazone treatment. **Journal of Veterinary Science**, v. 15, n. 1, p. 27–33, 2014.

ZHANG, J.; JIAO, J. Molecular Biomarkers for Embryonic and Adult Neural Stem Cell and Neurogenesis. **BioMed Research International**, v. 2015, 2015.

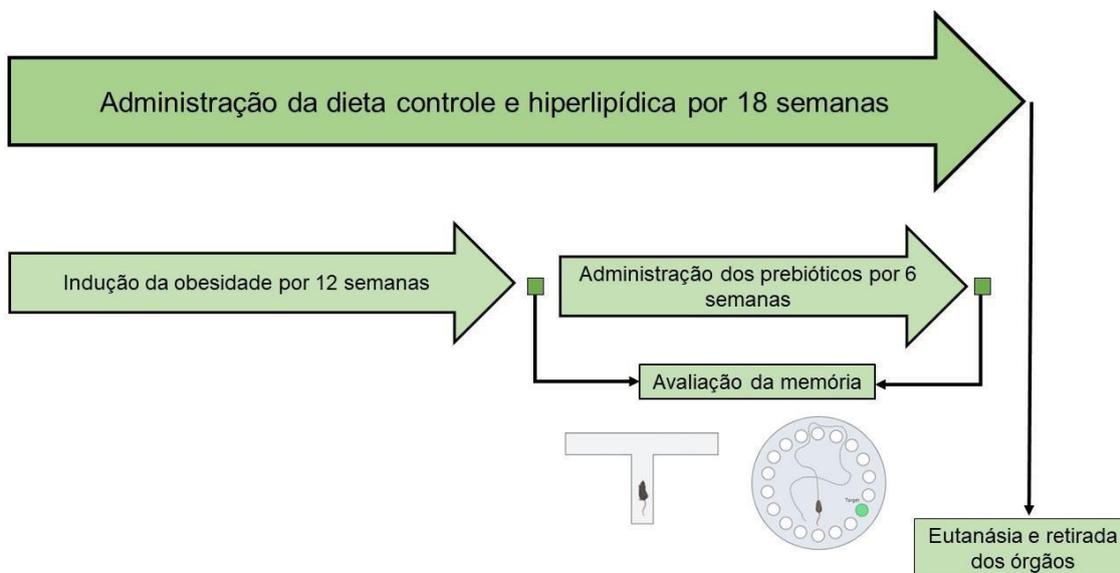


Figura 1. Programação experimental por 18 semanas. Resumidamente, 45 camundongos machos adultos ($n = 15$ por grupo) foram submetidos alimentados com uma dieta hiperlipídica ou controle por 18 semanas. Na 12ª semana, os animais realizaram o teste do labirinto em T para avaliar se os animais apresentavam déficit de memória induzido pela obesidade. Na 13ª semana, os animais foram tratados com 0,3 e 0,4g / animal / dia de FOS e GOS, respectivamente. Na 18ª semana os animais foram novamente submetidos ao teste do labirinto em T e, em seguida, foram eutanasiados. O hipocampo e plasma sanguíneo foram coletados.

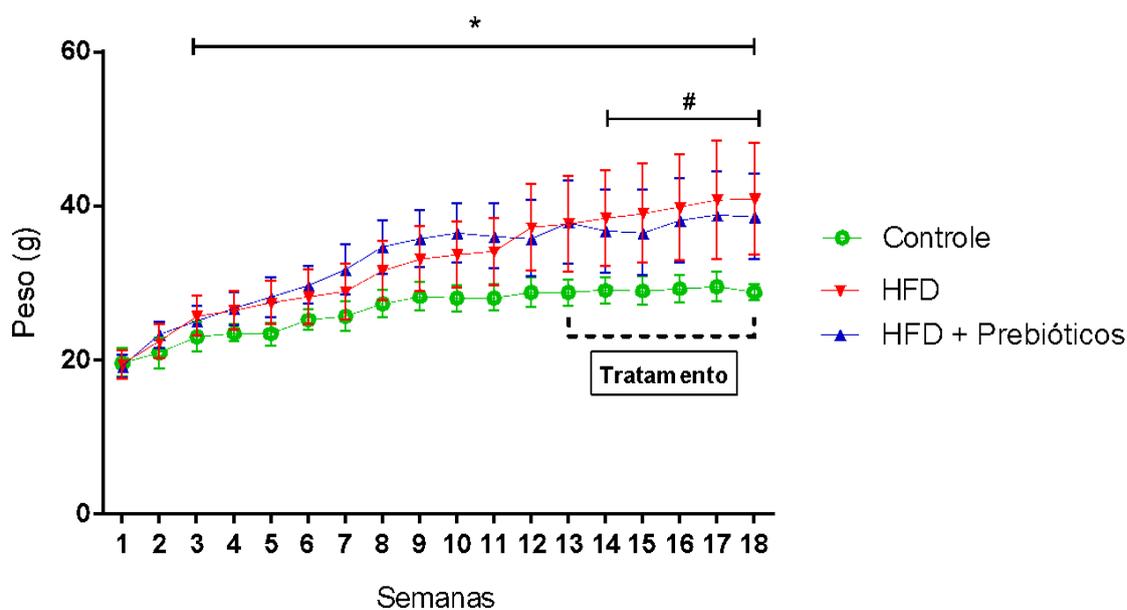


Figura 2. Efeito dos prebióticos na redução do ganho peso corporal induzido pela HFD (média \pm D.P.). Avaliação do peso durante 18 semanas de experimento, através da análise de variância (ANOVA), teste de comparações múltiplas de Holm-Sidak. * $p < 0,05$ quando comparado ao grupo controle. #: $p < 0,05$ quando comparado o grupo HFD ao HFD+Prebióticos.

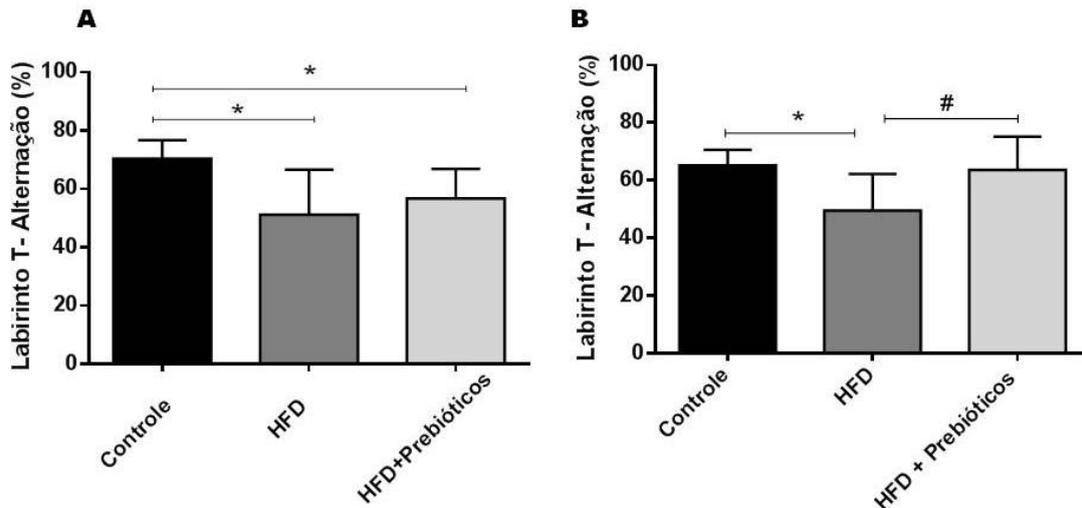


Figura 3. Efeito da dieta hiperlipídica na memória antes (A) e depois (B) do tratamento. Análise da alternância no labirinto em T (média \pm D.P.), usando análise de variância (ANOVA), teste de Kruskal-Wallis. *: $p < 0,05$ quando comparado ao grupo controle. # $p < 0,05$ quando comparado ao grupo HFD.

Aprendizagem - Labirinto de Barnes

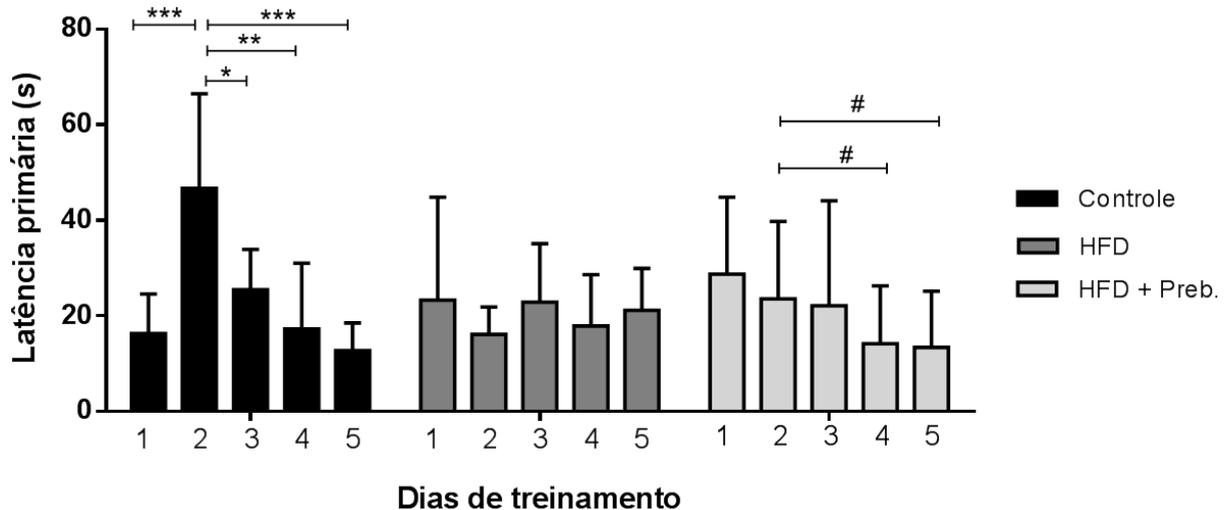


Figura 4. Efeitos dos prebióticos na aprendizagem. Análise do tempo em segundos para encontrar o alvo. Os valores apresentados acima são a média \pm D.P. de cada grupo, usando análise de variância (ANOVA two-way) seguida de teste post-hoc de Tukey. * $p < 0,05$ quando comparado o segundo com o terceiro dia do grupo controle. ** $p < 0,01$ quando comparado o segundo com o quarto dia do grupo controle. *** $p < 0,001$ quando comparado o primeiro e o quinto dia com o segundo dia do controle. # $p < 0,05$ quando comparado o quarto e quinto dia com o segundo dia do grupo HFD+Prebióticos.

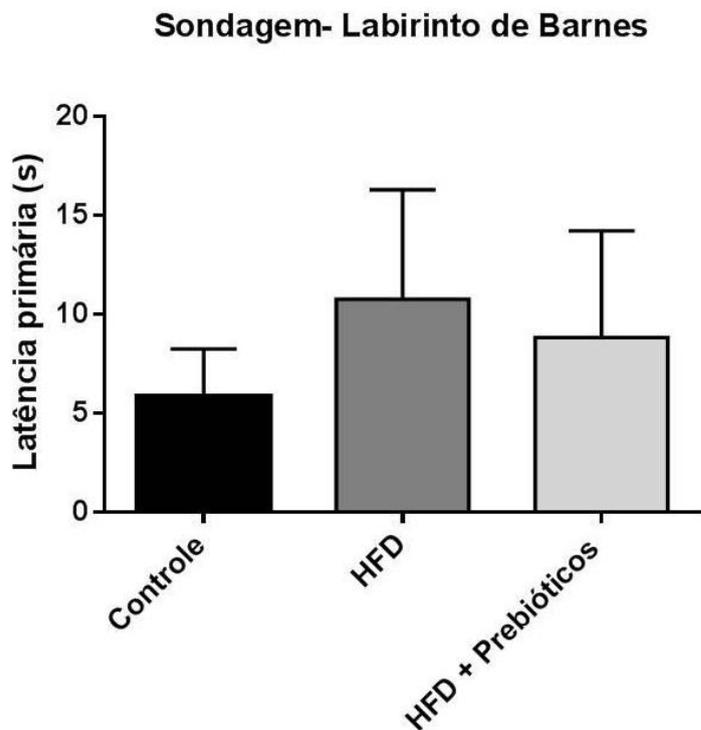


Figura 5. Análise da memória no dia da sondagem do teste do Labirinto de Barnes. O tempo de latência (média \pm D.P.) de cada grupo por meio de análise de variância (ANOVA), teste post-hoc de Tukey.

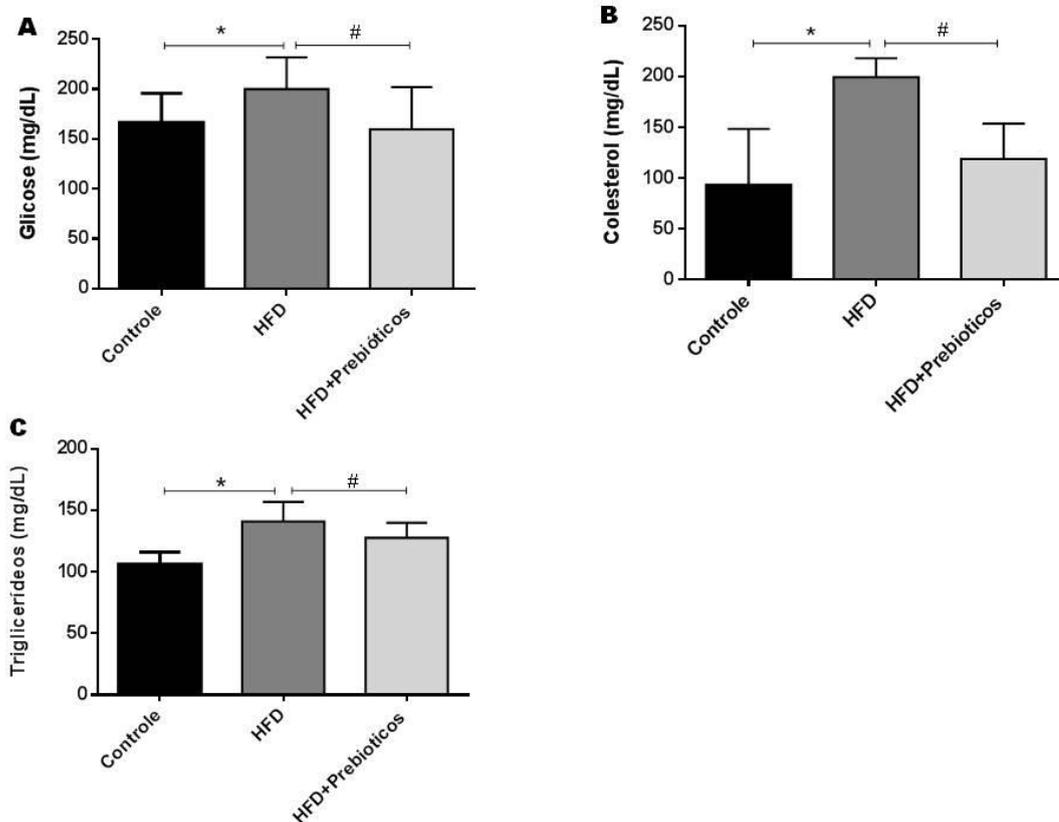


Figura 6. Efeitos dos prebióticos no perfil bioquímico do soro. A) Níveis de glicemia (média \pm D.P.) após eutanásia por meio de análise de variância (ANOVA), teste post-hoc de Tukey. *: $p < 0,05$ quando comparado ao grupo controle. # $p < 0,05$ quando comparado ao grupo HFD. B) Efeitos dos prebióticos no controle da colesterolemia. *: $p < 0,05$ quando comparado ao grupo controle. # $p < 0,05$ quando comparado ao grupo HFD. C) Efeitos dos prebióticos no controle da trigliceridemia. * $p < 0,05$ quando comparado ao grupo controle. # $p < 0,05$ quando comparado ao grupo HFD.

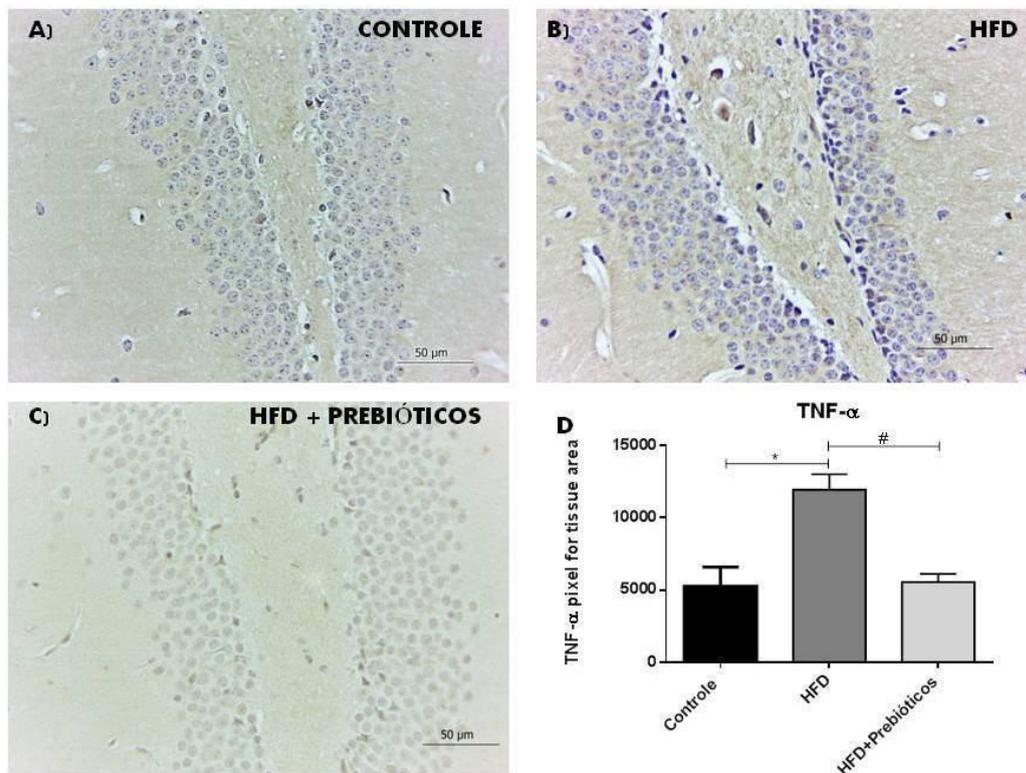


Figura 7. Efeito dos prebióticos nos níveis hipocâmpais de TNF- α . Imunohistoquímica para TNF- α , quantificação de pixels. Ampliação de 400x. A) Controle, B) HFD, C) HFD+Prebiótico e D) A quantificação do pixels da imunohistoquímica (média \pm D.P.), análise de variância (ANOVA) com teste post-hoc de Tukey. * $p < 0,0001$ quando comparado ao grupo controle. # $p < 0,001$, quando comparado ao grupo HFD.

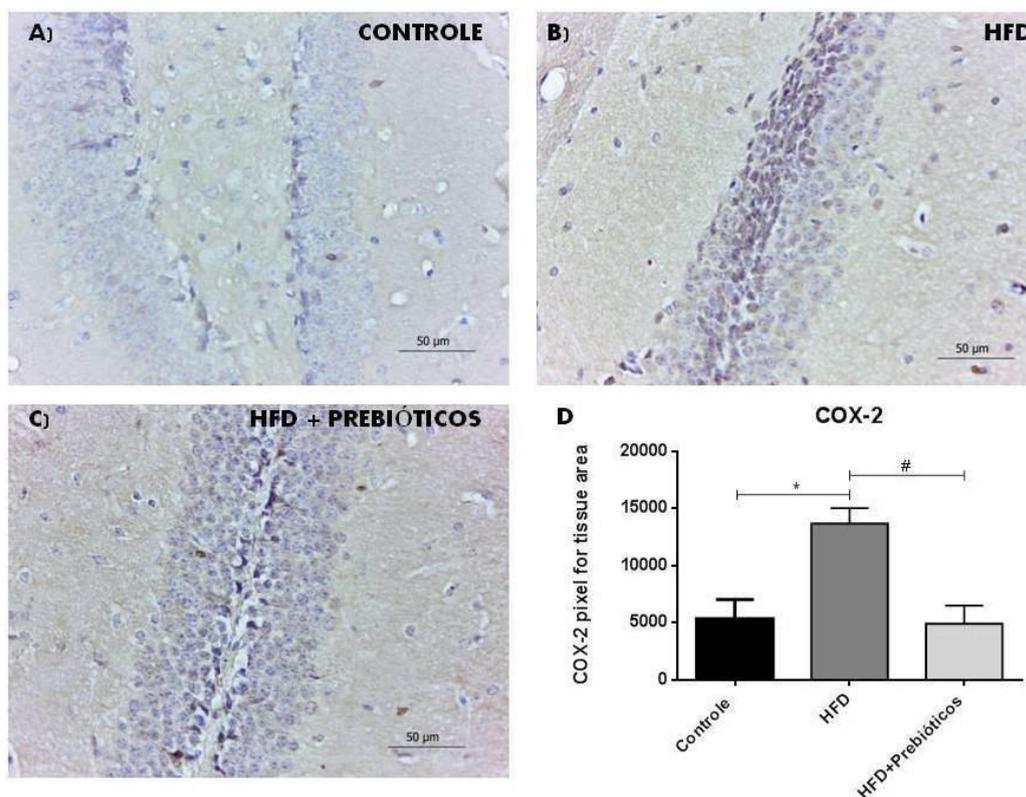


Figura 8. Efeito dos prebióticos na expressão da Ciclooxigenase-2. Imunohistoquímica para COX-2, quantificação de pixels. Ampliação de 400x. A) Controle, B) HFD, C) HFD+Prebiótico e D) A quantificação do pixels da imunohistoquímica (média \pm D.P.), análise de variância (ANOVA) com teste post-hoc de Tukey. * $p < 0,0001$ quando comparado ao grupo controle. # $p < 0,001$, quando comparado ao grupo HFD.

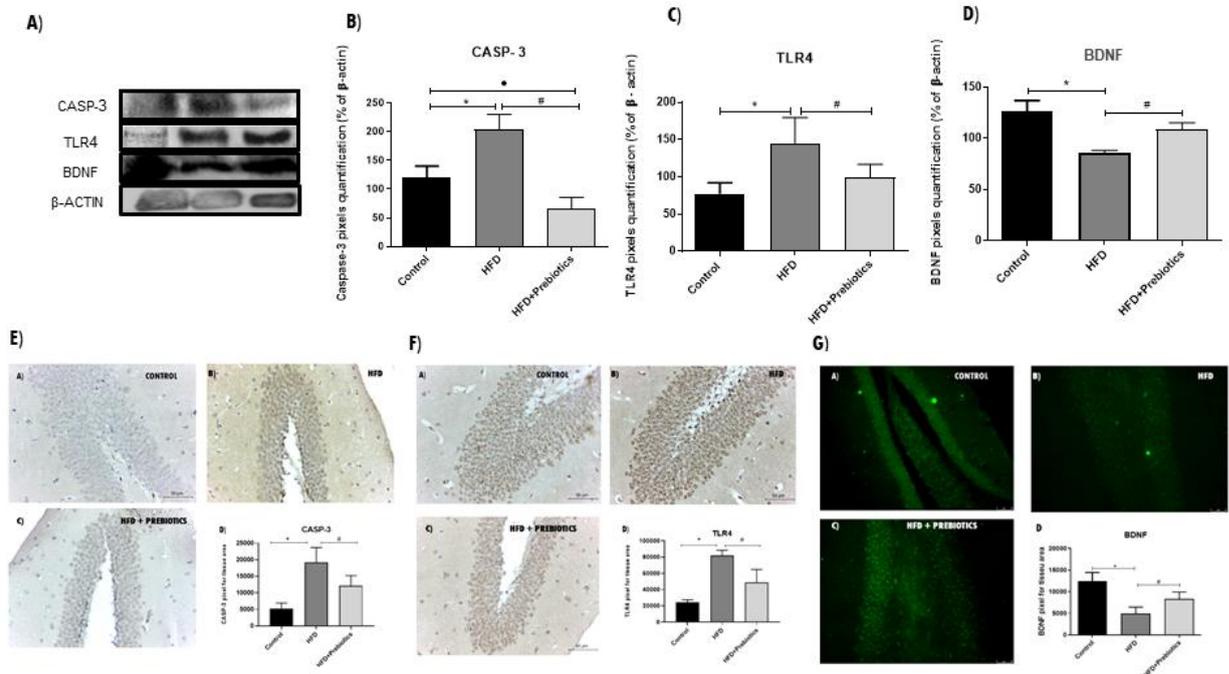


Figura 9. Efeito dos prebióticos na expressão de marcadores de morte celular, inflamação e proliferação neural. A) Quantificação de pixels de Western blot para CASPASE-3 usando análise de variância (ANOVA) e teste postthoc de Tukey de Tukey, o * $p < 0,01$ quando comparado ao grupo controle, # $p < 0,0001$ quando comparado ao grupo HFD, • $p < 0,05$ quando comparado ao grupo controle. B) Quantificação dos pixels de Western blot para TLR4 utilizando análise de ANOVA e teste postthoc de Tukey, o * $p < 0,05$ quando comparado ao grupo controle, # $p < 0,01$ quando comparado ao grupo HFD. C) Quantificação dos pixels de Western blot para BDNF utilizando ANOVA e teste postthoc de Tukey, * $p < 0,01$ quando comparado ao grupo controle, # $p < 0,01$ quando comparado ao grupo HFD. D) Quantificação de pixels de Western blot para NGF usando análise de variância ANOVA e teste postthoc de Tukey, * $p < 0,0001$ quando comparado ao grupo controle, # $p < 0,01$ quando comparado ao grupo HFD. E) Imunohistoquímica para CASP-3, quantificação de pixels. Ampliação de 400x. Quantificação de pixels da imunohistoquímica (média \pm DP), análise de ANOVA com teste postthoc de Tukey. * $p < 0,0001$ quando comparado ao grupo controle. # $p < 0,001$, quando comparado ao grupo HFD. F) Imunohistoquímica para TLR4, quantificação de pixels. Ampliação de 400x.

Quantificação de pixels da imunohistoquímica (média \pm DP), análise de ANOVA com teste posthoc de Tukey. * $p < 0,0001$ quando comparado ao grupo controle. # $p < 0,001$, quando comparado ao grupo HFD. G) Imunofluorescência para BDNF, quantificação de pixels. Aumento de 400x. Quantificação dos pixels de imunohistoquímica (média \pm DP), análise ANOVA com teste post-hoc de Tukey. * $p < 0,0001$ quando comparado ao grupo controle. # $p < 0,01$, quando comparado ao grupo HFD

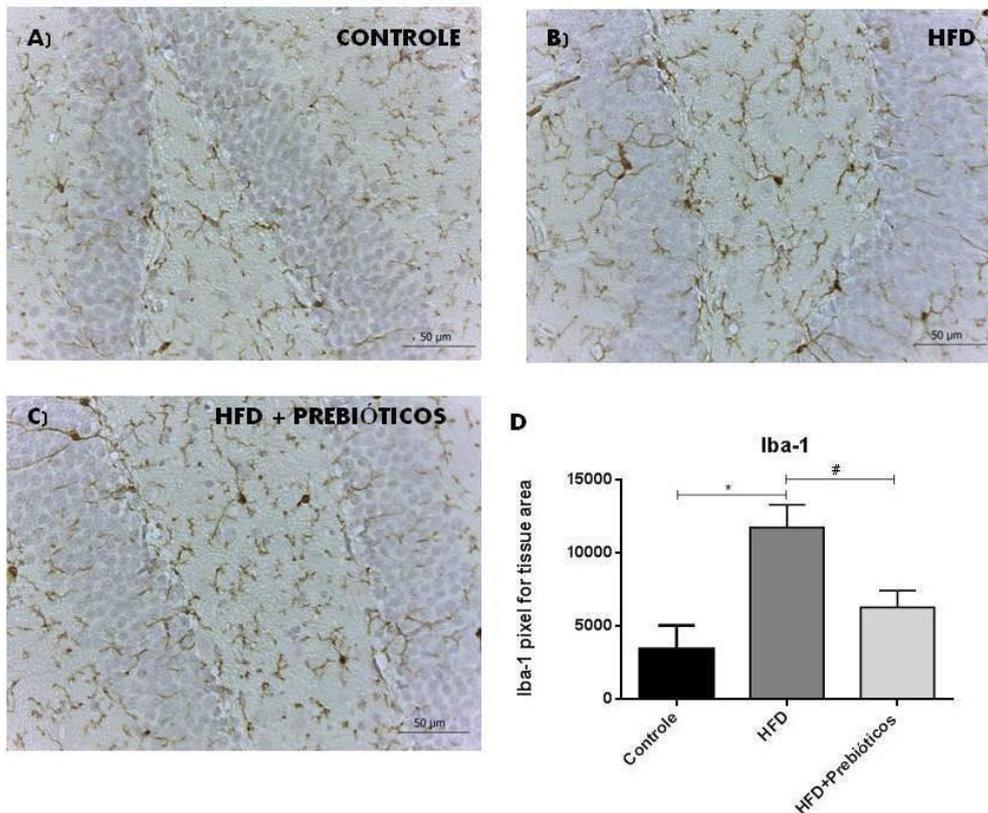


Figura 10. Efeito dos prebióticos na ativação microglial. Imunohistoquímica para IBA-1, quantificação de pixels. Ampliação de 400x. A) Controle, B) HFD, C) HFD+Prebiótico D) A quantificação imunohistoquímica (média \pm D.P.), análise de variância (ANOVA) com teste post-hoc de Tukey. * $p < 0,0001$ quando comparado ao grupo controle. # $p < 0,0001$ quando comparado ao grupo HFD

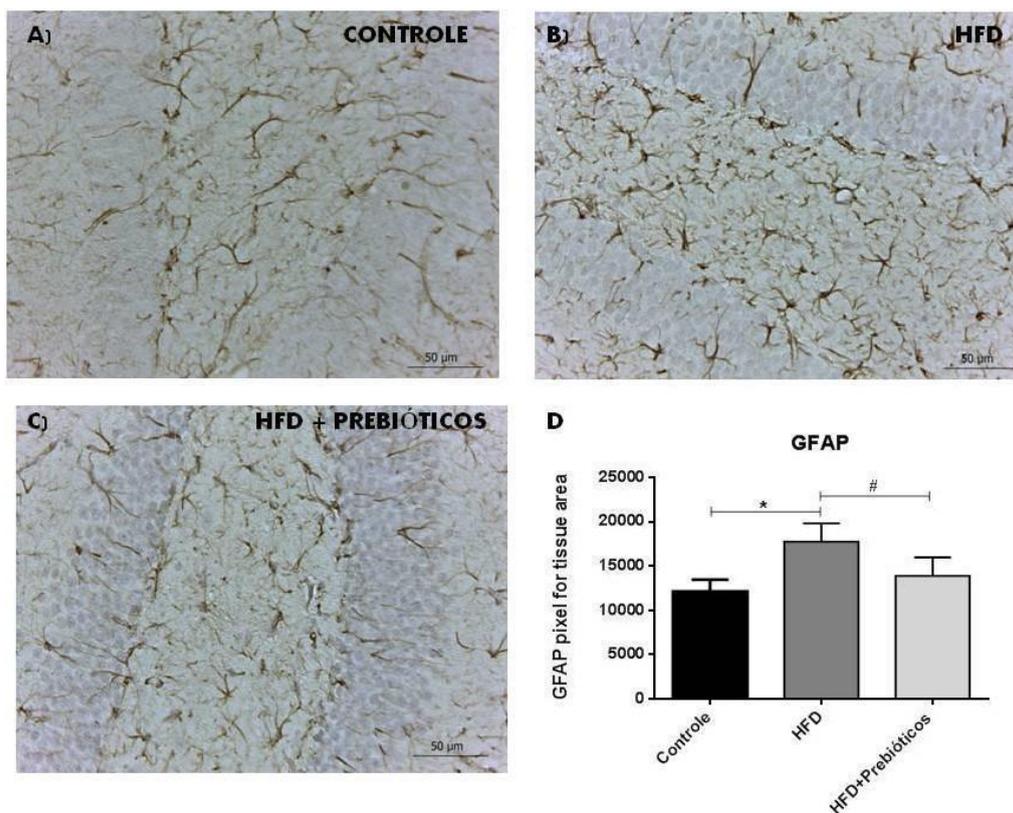


Figura 11. Efeito dos prebióticos na ativação astrocitária. Imunohistoquímica para GFAP, quantificação de pixels. Ampliação de 400x. A) Controle, B) HFD, C) HFD+Prebiótico e D) A quantificação do pixels da imunohistoquímica (média ± D.P.), análise de variância (ANOVA) com teste post-hoc de Tukey. * $p < 0,0001$ quando comparado ao grupo controle. # $p < 0,01$, quando comparado ao grupo HFD.

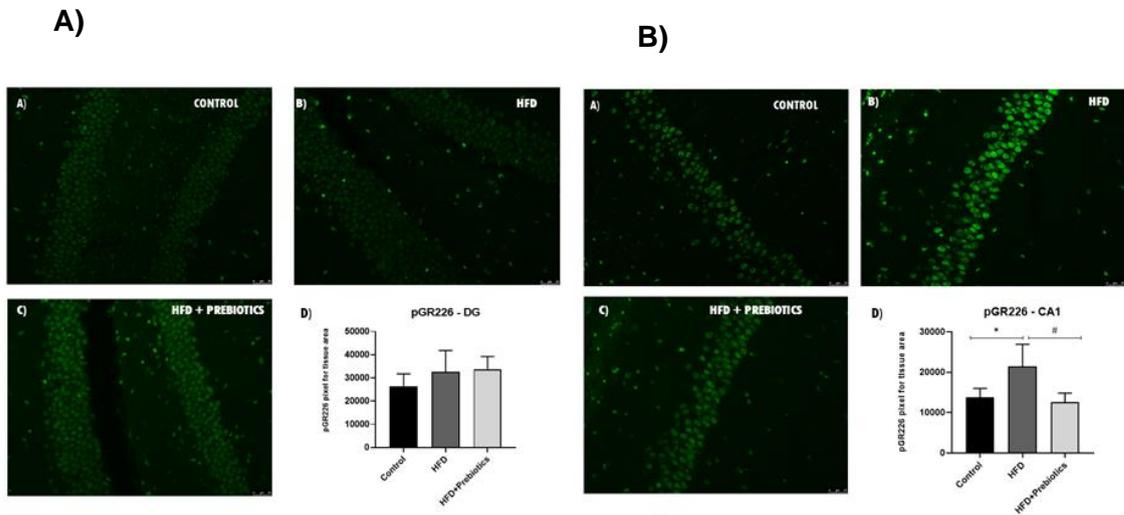


Figura 12. Efeito dos prebióticos na fosforilação dos receptores de glicocorticóides na imunofluorescência da serina 246 para pGR-S226 em A) Giro denteado e B) CA1, quantificação de pixels. Ampliação de 400x. A) Controle, B) HFD, C) HFD + Prebióticos D) Quantificação imunohistoquímica (média \pm DP), análise de variância (ANOVA) com teste posthoc de Tukey. * $p < 0,0001$ quando comparado ao grupo controle. # $p < 0,0001$ quando comparado ao grupo HFD.

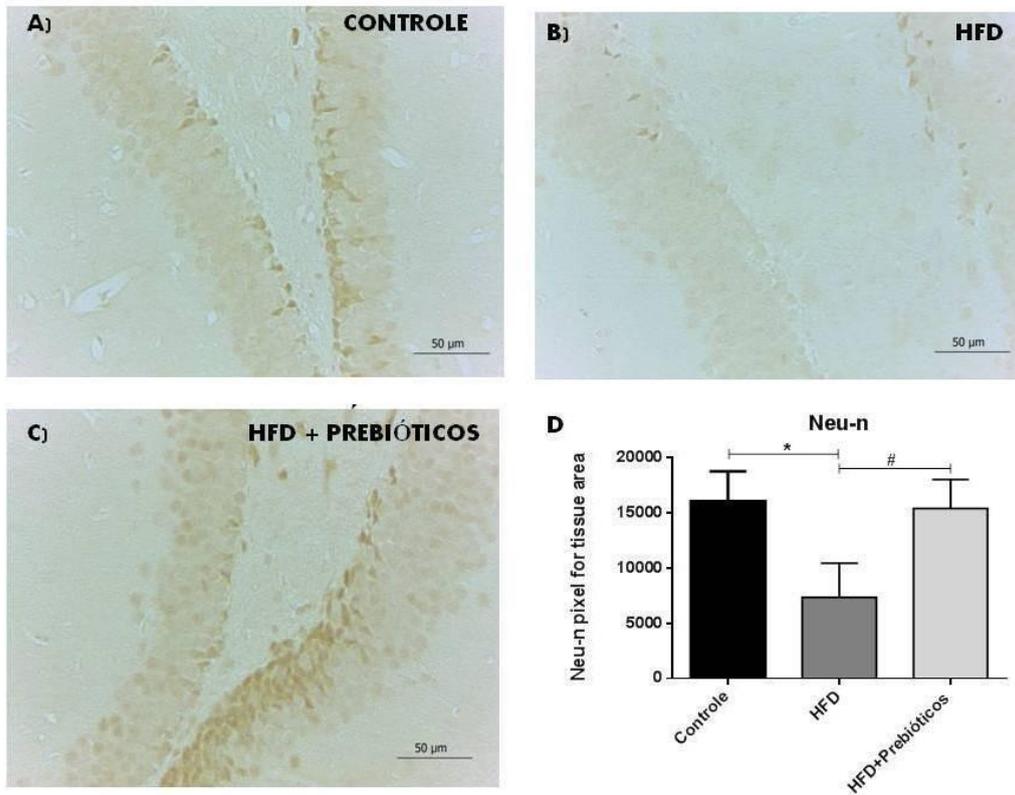


Figura 13. Efeito dos prebióticos na neurogênese. Imunohistoquímica para Neu-N, quantificação de pixels. Ampliação de 400x. A) Controle, B) HFD, C) HFD+Prebiótico e D) A quantificação do pixels da imunohistoquímica (média \pm D.P.), análise de variância (ANOVA) com teste post-hoc de Tukey. * $p < 0,01$ quando comparado ao grupo controle. # $p < 0,01$, quando comparado ao grupo HFD.

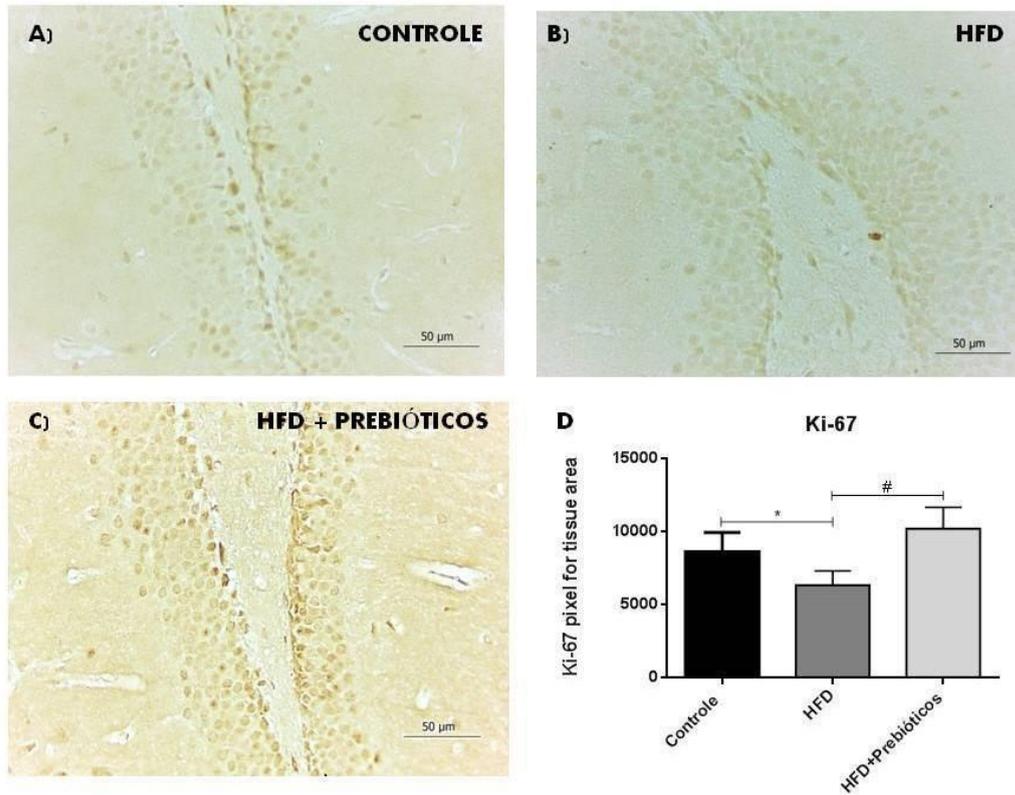


Figura 14. Efeito dos prebióticos na proliferação celular. Imunohistoquímica para Ki-67, quantificação de pixels. Ampliação de 400x. A) Controle, B) HFD, C) HFD+Prebiótico e D) A quantificação do pixels da imunohistoquímica (média ± D.P.), análise de variância (ANOVA) com teste post-hoc de Tukey. * $p < 0,05$ quando comparado ao grupo controle. # $p < 0,01$, quando comparado ao grupo HFD.

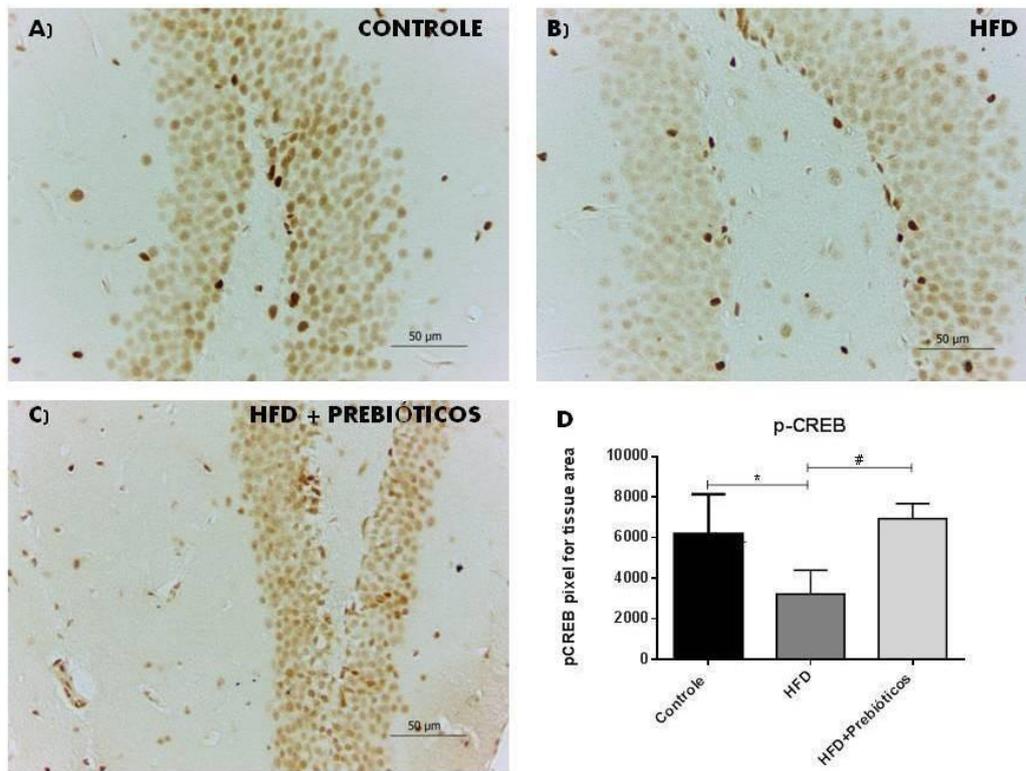


Figura 15. Efeito dos prebióticos nos níveis hipocâmpais de p-CREB. Imunohistoquímica para p-CREB, quantificação de pixels. Ampliação de 400x. A) Controle, B) HFD, C) HFD+Prebiótico e D) A quantificação do pixels da imunohistoquímica (média \pm D.P.), análise de variância (ANOVA) com teste post-hoc de Tukey. * $p < 0,05$ quando comparado ao grupo controle. # $p < 0,01$, quando comparado ao grupo HFD.

6. CONCLUSÕES

No presente estudo, a administração de FOS e GOS levou a redução do ganho de peso e melhora do perfil bioquímico do sangue, além de diminuir os níveis de TNF- α , COX-2, TLR4 e CASP-3, superexpressas na obesidade. O tratamento foi capaz de reduzir a imunoexpressão da Iba-1 e GFAP, atenuando a microgliose e astrogliose hipocampal. O tratamento com os prebióticos aumentou o número de alternâncias no labirinto T, restaurando a memória de trabalho nos animais obesos. Os animais tratados com prebióticos apresentam menor latência quando comparado a animais não tratados. Nos animais obesos, a expressão de NGF, p-CREB, NeuN, BDNF e Ki67 foram reduzidos, em contrapartida o tratamento com FOS e GOS promoveu a fosforilação do CREB aumentando a expressão do fator neurotrófico e os níveis de NeuN e NGF, levando a neuroproteção e plasticidade sináptica. Sendo assim, este estudo demonstrou que o tratamento com FOS e GOS promove aumento dos marcadores de plasticidade, restaurando capacidade de aprendizagem espacial e memória. Portanto, o FOS e GOS podem ser úteis para melhorar a função cognitiva em indivíduos obesos.

7. SÚMULA CURRICULAR

• Identificação

Nome e profissão: Igor Paiva, Biomédico.

Laboratório: Laboratório de Ultraestrutura – IAM / FIOCRUZ – PE

• Produção Científica

Artigo 1. Igor Henrique R Paiva, Eduardo Duarte-Silva, Christina Alves Peixoto. The role of prebiotics in cognition, anxiety, and depression. Artigo aceito na revista *European Neuropsychopharmacology*. Impact Factor: 5.5.

Artigo 2. Rodrigo Soares da Silva; Ingrid Prata Mendonça; Igor Henrique Rodrigues de Paiva; José Roberto Botelho de Souza; Christina Alves Peixoto. Prebiotics Reduce Nonalcoholic Fatty Liver Disease by Modulating Gut Microbiota in Obese Mice. Artigo submetido para revista *Food and Chemical Toxicology*. Impact Factor: 5.572.

• Participação em eventos, congressos, exposições e feiras

Encontro de Neuroimunomodulação (NIM) na qualidade de APRESENTADOR de trabalhos de pesquisa apresentados na modalidade oral e banner.

REFERÊNCIAS

AAS, J.; GESSERT, C. E.; BAKKEN, J. S. Recurrent *Clostridium difficile* colitis: case series involving 18 patients treated with donor stool administered via a nasogastric tube. **Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America**, v. 36, n. 5, p. 580–5, 1 mar. 2003.

ABRAHAMSSON, T. R. et al. Low gut microbiota diversity in early infancy precedes asthma at school age. **Clinical and Experimental Allergy**, v. 44, n. 6, p. 842–850, 2014.

AGUSTÍ, A. et al. Interplay Between the Gut-Brain Axis, Obesity and Cognitive Function. **Frontiers in Neuroscience**, v. 12, p. 155, 16 mar. 2018.

AL-GOBLAN, A. S.; AL-ALFI, M. A.; KHAN, M. Z. Mechanism linking diabetes mellitus and obesity. **Diabetes, metabolic syndrome and obesity : targets and therapy**, v. 7, p. 587–91, 2014.

AL-SADI, R. et al. IL-1beta-induced increase in intestinal epithelial tight junction permeability is mediated by MEKK-1 activation of canonical NF-kappaB pathway. **The American journal of pathology**, v. 177, n. 5, p. 2310–22, nov. 2010.

ALBERTI, K. G. M. M. et al. Harmonizing the Metabolic Syndrome. **Circulation**, v. 120, n. 16, p. 1640–1645, 20 out. 2009.

ANDRÉ, C. et al. Diet-induced obesity progressively alters cognition, anxiety-like behavior and lipopolysaccharide-induced depressive-like behavior: Focus on brain indoleamine 2,3-dioxygenase activation. **Brain, Behavior, and Immunity**, v. 41, n. 1, p. 10–21, 2014.

ANTUNA-PUENTE, B. et al. Adipokines: The missing link between obesity and cardiovascular disease. **Diabetes and Metabolism**, v. 34, p. 2–11, 2008.

ARAUJO, E. P. et al. Consumption of a Fat-Rich Diet Activates a Proinflammatory Response and Induces Insulin Resistance in the Hypothalamus. **Endocrinology**, v. 146, n. 10, p. 4192–4199, 2005.

ARBOLEYA, S. et al. **Gut bifidobacteria populations in human health and**

agingFrontiers in MicrobiologyFrontiers Media S.A., , 19 ago. 2016.

ARORA, T.; SINGH, S.; SHARMA, R. K. Probiotics: Interaction with gut microbiome and antiobesity potential. **Nutrition (Burbank, Los Angeles County, Calif.)**, v. 29, n. 4, p. 591–6, abr. 2013.

ARPAIA, N. et al. Metabolites produced by commensal bacteria promote peripheral regulatory T-cell generation. **Nature**, v. 504, n. 7480, p. 451–5, 19 dez. 2013.

ARUMUGAM, M. et al. Enterotypes of the human gut microbiome. **Nature**, v. 473, n. 7346, p. 174–180, 12 maio 2011.

BÄCKHED, F. et al. **Host-bacterial mutualism in the human intestine****Science**, 25 mar. 2005.

BAMOLA, V. D. et al. Gut microbial diversity in health and disease: experience of healthy Indian subjects, and colon carcinoma and inflammatory bowel disease patients. **Microbial Ecology in Health and Disease**, v. 28, n. 1, p. 1322447, 2017.

BERMON, S. et al. The microbiota: an exercise immunology perspective. **Exercise immunology review**, v. 21, p. 70–9, 2015.

BEUTLER, B. **Tlr4: Central component of the sole mammalian LPS sensor****Current Opinion in Immunology**Current Biology Ltd, , 1 fev. 2000.

BLOEMEN, J. G. et al. Short chain fatty acids exchange across the gut and liver in humans measured at surgery. **Clinical nutrition (Edinburgh, Scotland)**, v. 28, n. 6, p. 657–61, dez. 2009.

BLÜHER, M. Obesity: global epidemiology and pathogenesis. **Nature reviews. Endocrinology**, v. 15, n. 5, p. 288–298, 2019.

BRAVO, J. A. et al. Ingestion of Lactobacillus strain regulates emotional behavior and central GABA receptor expression in a mouse via the vagus nerve. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 108, n. 38, p. 16050–16055, 20 out. 2011.

BROWNING, K. N.; TRAVAGLI, R. A. Central nervous system control of

gastrointestinal motility andAlthough the gastrointestinal (GI) tract possesses intrinsic neural plexuses that allow a significant degree of autonomy over GI functions, the central nervous system (CNS) provides extrinsic. **Comprehensive Physiology**, p. 1139–1368, 2014.

BUROKAS, A. et al. Targeting the Microbiota-Gut-Brain Axis: Prebiotics Have Anxiolytic and Antidepressant-like Effects and Reverse the Impact of Chronic Stress in Mice. **Biological psychiatry**, v. 82, n. 7, p. 472–487, 1 out. 2017.

BYRNE, C. S. et al. The role of short chain fatty acids in appetite regulation and energy homeostasis. **International journal of obesity (2005)**, v. 39, n. 9, p. 1331–8, set. 2015.

CAI, D.; LIU, T. Inflammatory cause of metabolic syndrome via brain stress and NF- κ B. **Aging**, v. 4, n. 2, p. 98–115, 2012.

CAMPBELL, J. M. et al. Selected Fructooligosaccharide (1-Kestose, Nystose, and 1^F- β -Fructofuranosylnystose) Composition of Foods and Feeds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 45, n. 8, p. 3076–3082, ago. 1997.

CANI, P. D. et al. Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance. **Diabetes**, v. 56, n. 7, p. 1761–1772, jul. 2007.

CANI, P. D. et al. Changes in gut microbiota control metabolic endotoxemia-induced inflammation in high-fat diet-induced obesity and diabetes in mice. **Diabetes**, v. 57, n. 6, p. 1470–1481, jun. 2008.

CAPURON, L.; MILLER, A. H. **Immune system to brain signaling: Neuropsychopharmacological implications** **Pharmacology and Therapeutics**, maio 2011.

CHAMBERS, E. S.; MORRISON, D. J.; FROST, G. **Control of appetite and energy intake by SCFA: What are the potential underlying mechanisms?** Proceedings of the Nutrition Society. **Anais...**Cambridge University Press, 21 ago. 2015

CHAPUT, J.-P.; DUTIL, C. Lack of sleep as a contributor to obesity in adolescents: impacts on eating and activity behaviors. **International Journal of Behavioral**

Nutrition and Physical Activity, v. 13, n. 1, p. 103, 26 dez. 2016.

CHAVES FILHO, A. J. M. et al. IDO chronic immune activation and tryptophan metabolic pathway: A potential pathophysiological link between depression and obesity. **Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry**, v. 80, n. Pt C, p. 234–249, 3 jan. 2018.

CHEN, D. et al. Prebiotic Effect of Fructooligosaccharides from *Morinda officinalis* on Alzheimer's Disease in Rodent Models by Targeting the Microbiota-Gut-Brain Axis. **Frontiers in aging neuroscience**, v. 9, p. 403, 2017.

CHOI, D. Y. et al. Obovatol attenuates LPS-induced memory impairments in mice via inhibition of NF- κ B signaling pathway. **Neurochemistry International**, v. 60, n. 1, p. 68–77, jan. 2012.

CHUNCHAI, T. et al. Decreased microglial activation through gut-brain axis by prebiotics, probiotics, or synbiotics effectively restored cognitive function in obese-insulin resistant rats. **Journal of neuroinflammation**, v. 15, n. 1, p. 11, jan. 2018.

COLLINS, S. M.; SURETTE, M.; BERCIK, P. **The interplay between the intestinal microbiota and the brain** *Nature Reviews Microbiology*, nov. 2012.

CRYAN, J. F.; O'MAHONY, S. M. Microbial endocrinology: Host-microbiota neuroendocrine interactions influencing brain and behavior. **Neurogastroenterology and motility: the official journal of the European Gastrointestinal Motility Society**, v. 23, n. 3, p. 187–92, 2011.

CSIGE, I. et al. **The Impact of Obesity on the Cardiovascular System** *Journal of Diabetes Research* Hindawi Limited, , 2018.

CZIMMER, J.; MILLION, M.; TACHÉ, Y. Urocortin 2 acts centrally to delay gastric emptying through sympathetic pathways while CRF and urocortin 1 inhibitory actions are vagal dependent in rats. **American journal of physiology. Gastrointestinal and liver physiology**, v. 290, n. 3, p. G511-8, mar. 2006.

DALY, M. The relationship of C-reactive protein to obesity-related depressive symptoms: A longitudinal study. **Obesity**, v. 21, n. 2, p. 248–250, fev. 2013.

DANTZER, R. et al. **From inflammation to sickness and depression: When the immune system subjugates the brain***Nature Reviews Neuroscience*, jan. 2008.

DAVID, L. A. et al. Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome. **Nature**, v. 505, n. 7484, p. 559–563, 2014.

DAVIGLUS, M. L. et al. **National Institutes of Health state-of-the-science conference statement: Preventing Alzheimer disease and cognitive decline.** *Annals of Internal Medicine*. **Anais...**American College of Physicians, 3 ago. 2010

DE FILIPPO, C. et al. Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 107, n. 33, p. 14691–14696, 17 ago. 2010.

DE JONG, A. J. et al. **Fatty acids, lipid mediators, and T-cell function***Frontiers in Immunology*Frontiers Media S.A., , 2014.

DE LARTIGUE, G.; DE LA SERRE, C. B.; RAYBOULD, H. E. Vagal afferent neurons in high fat diet-induced obesity; intestinal microflora, gut inflammation and cholecystokinin. **Physiology & behavior**, v. 105, n. 1, p. 100–5, 30 nov. 2011.

DE SILVA, A.; BLOOM, S. R. Gut Hormones and Appetite Control: A Focus on PYY and GLP-1 as Therapeutic Targets in Obesity. **Gut and liver**, v. 6, n. 1, p. 10–20, jan. 2012.

DE WEERTH, C. **Do bacteria shape our development? Crosstalk between intestinal microbiota and HPA axis***Neuroscience and Biobehavioral Reviews*Elsevier Ltd, , 1 dez. 2017.

DEHGHAN, M. et al. Associations of fats and carbohydrate intake with cardiovascular disease and mortality in 18 countries from five continents (PURE): a prospective cohort study. **The Lancet**, v. 390, n. 10107, p. 2050–2062, 4 nov. 2017.

DEN BESTEN, G. et al. Short-chain fatty acids protect against high-fat diet-induced obesity via a pparg-dependent switch from lipogenesis to fat oxidation. **Diabetes**, v. 64, n. 7, p. 2398–2408, 1 jul. 2015.

DENG, X.-H. et al. Lipopolysaccharide induces paired immunoglobulin-like receptor B (PirB) expression, synaptic alteration, and learning-memory deficit in rats. **Neuroscience**, v. 209, p. 161–70, 3 maio 2012.

DESBONNET, L. et al. The probiotic *Bifidobacteria infantis*: An assessment of potential antidepressant properties in the rat. **Journal of psychiatric research**, v. 43, n. 2, p. 164–74, dez. 2008.

DINAN, T. G.; STANTON, C.; CRYAN, J. F. Psychobiotics: a novel class of psychotropic. **Biological psychiatry**, v. 74, n. 10, p. 720–6, 15 nov. 2013.

DINEL, A. L. et al. Lipopolysaccharide-induced brain activation of the indoleamine 2,3-dioxygenase and depressive-like behavior are impaired in a mouse model of metabolic syndrome. **Psychoneuroendocrinology**, v. 40, n. 1, p. 48–59, 2014.

DIXON, J. B. et al. Raised CRP levels in obese patients: Symptoms of depression have an independent positive association. **Obesity**, v. 16, n. 9, p. 2010–2015, set. 2008.

DOBSON, A. et al. Bacteriocin production: a probiotic trait? **Applied and environmental microbiology**, v. 78, n. 1, p. 1–6, jan. 2012.

DUCATELLE, R. et al. A review on prebiotics and probiotics for the control of dysbiosis: present status and future perspectives. **Animal**, v. 9, n. 1, p. 43–48, jan. 2015.

F. GUARNER. Papel de la flora intestinal en la salud y en la enfermedad Papel de la flora. **Nutrición Hospitalaria**, v. 22, p. 6, 2007.

FAIN, J. N. **Release of inflammatory mediators by human adipose tissue is enhanced in obesity and primarily by the nonfat cells: A review** *Mediators of Inflammation*, 2010.

FANTUZZI, G. **Adipose tissue, adipokines, and inflammation** *Journal of Allergy and Clinical Immunology* Mosby Inc., , 2005.

FERNÁNDEZ-REAL, J. M.; RICART, W. Insulin resistance and chronic cardiovascular inflammatory syndrome. **Endocrine reviews**, v. 24, n. 3, p. 278–301, jun. 2003.

FIEBIGER, U.; BERESWILL, S.; HEIMESAAT, M. M. Dissecting the interplay between

intestinal microbiota and host immunity in health and disease: Lessons learned from germfree and gnotobiotic animal models. **European Journal of Microbiology and Immunology**, v. 6, n. 4, p. 253–271, dez. 2016.

FOSTER, J. A.; RINAMAN, L.; CRYAN, J. F. **Stress & the gut-brain axis: Regulation by the microbiome** *Neurobiology of Stress* Elsevier Inc, , 1 dez. 2017.

FRAYN, M.; LIVSHITS, S.; KNÄUPER, B. Emotional eating and weight regulation: a qualitative study of compensatory behaviors and concerns. **Journal of eating disorders**, v. 6, p. 23, 2018.

GARNER, A.; RACHLOW, J. L.; HICKS, J. F. Patterns of genetic diversity and its loss in mammalian populations. **Conservation Biology**, v. 19, n. 4, p. 1215–1221, 2005.

GHALANDARI, H.; HOSSEINI-ESFAHANI, F.; MIRMIRAN, P. The Association of Polymorphisms in Leptin/Leptin Receptor Genes and Ghrelin/Ghrelin Receptor Genes With Overweight/Obesity and the Related Metabolic Disturbances: A Review. **International Journal of Endocrinology and Metabolism**, v. 13, n. 3, p. e19073, 1 jul. 2015.

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**, v. 32, n. 12, p. 2281–7, dez. 2009.

GIBNEY, S. M. et al. Poly I: C-induced activation of the immune response is accompanied by depression and anxiety-like behaviours, kynurenine pathway activation and reduced BDNF expression. **Brain, Behavior, and Immunity**, v. 28, p. 170–181, fev. 2013.

GIBSON, G. R. et al. Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics. **Nutrition Research Reviews**, v. 17, n. 02, p. 259, 10 dez. 2004.

GIBSON, G. 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**, v. 14, n. 8, p. 491, 14 jun. 2017.

GIBSON, G. R.; ROBERFROID, M. B. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. Gibson, G. R., & Roberfroid, M. B. (1995). Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *The Journal of Nutrition*, 125(6). **The Journal of nutrition**, v. 125, n. 6, p. 1401–1412, 1995.

GODERSKA, K.; NOWAK, J.; CZARNECKI, Z. **COMPARISON OF THE GROWTH OF LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS AND BIFIDOBACTERIUM BIFIDUM SPECIES IN MEDIA SUPPLEMENTED WITH SELECTED SACCHARIDES INCLUDING PREBIOTICS** *Acta Sci. Pol., Technol. Aliment.* [s.l: s.n.].

GRASSET, E. et al. A Specific Gut Microbiota Dysbiosis of Type 2 Diabetic Mice Induces GLP-1 Resistance through an Enteric NO-Dependent and Gut-Brain Axis Mechanism. **Cell metabolism**, v. 25, n. 5, p. 1075- 1090.e5, 2 maio 2017.

GREENWOOD, C. E.; WINOCUR, G. High-fat diets, insulin resistance and declining cognitive function. **Neurobiology of Aging**, v. 26, n. 1, p. 42–45, 1 dez. 2005.

GREGOR, M. F.; HOTAMISLIGIL, G. S. Inflammatory mechanisms in obesity. **Annual review of immunology**, v. 29, p. 415–45, 2011.

GRENHAM, S. et al. Brain-gut-microbe communication. **Frontiers in physiology**, v. 2, n. December, p. 1–15, jan. 2011.

GRIGOLEIT, J. S. et al. 52. Dose-dependent effects of lipopolysaccharide on memory and social cognition in humans. **Brain, Behavior, and Immunity**, v. 26, p. S15, 7 set. 2012.

GRIMALDI, R. et al. Fermentation properties and potential prebiotic activity of Bimuno® galacto-oligosaccharide (65 % galacto-oligosaccharide content) on in vitro gut microbiota parameters. **British Journal of Nutrition**, v. 116, n. 03, p. 480–486, 8 ago. 2016.

GROCHOWSKA, M.; WOJNAR, M.; RADKOWSKI, M. The gut microbiota in neuropsychiatric disorders. 2018.

GRONIER, B. et al. Increased cortical neuronal responses to NMDA and improved

attentional set-shifting performance in rats following prebiotic (B-GOS®) ingestion. **European Neuropsychopharmacology**, v. 28, n. 1, p. 211–224, jan. 2018.

GU, J. et al. Differential roles of microglia and monocytes in the inflamed central nervous system. **The Journal of Experimental Medicine**, v. 211, n. 8, p. 1533–1549, 2014.

GUILLEMOT-LEGRIS, O.; MUCCIOLI, G. G. Obesity-Induced Neuroinflammation: Beyond the Hypothalamus. **Trends in neurosciences**, v. 40, n. 4, p. 237–253, 2017.

GULAJ, E. et al. Kynurenine and its metabolites in Alzheimer's disease patients. **Advances in Medical Sciences**, v. 55, n. 2, p. 204–211, 30 dez. 2010.

HARRISON, N. A. et al. Inflammation causes mood changes through alterations in subgenual cingulate activity and mesolimbic connectivity. **Biological psychiatry**, v. 66, n. 5, p. 407–14, 1 set. 2009.

HAWKESWORTH, S. et al. Evidence for metabolic endotoxemia in obese and diabetic Gambian women. **Nutrition & diabetes**, v. 3, p. e83, 26 ago. 2013.

HEYDEMANN, A. An Overview of Murine High Fat Diet as a Model for Type 2 Diabetes Mellitus. **Journal of Diabetes Research**, v. 2016, p. 1–14, 31 jul. 2016.

HILDEBRANDT, M. A. et al. High-fat diet determines the composition of the murine gut microbiome independently of obesity. **Gastroenterology**, v. 137, n. 5, p. 1716- 24.e1–2, nov. 2009.

HINNEY, A.; VOGEL, C. I. G.; HEBEBRAND, J. **From monogenic to polygenic obesity: Recent advances** **European Child and Adolescent Psychiatry**, mar. 2010.

HOOPER, L. V; MACPHERSON, A. J. Immune adaptations that maintain homeostasis with the intestinal microbiota. **Nature reviews. Immunology**, v. 10, n. 3, p. 159–69, mar. 2010.

HRUBY, A.; HU, F. B. The Epidemiology of Obesity: A Big Picture. **PharmacoEconomics**, v. 33, n. 7, p. 673–89, jul. 2015.

INAGAKI, H. et al. Increased susceptibility to primary infection with *Listeria*

monocytogenes in germfree mice may be due to lack of accumulation of L-selectin+ CD44+ T cells in sites of inflammation. **Infection and immunity**, v. 64, n. 8, p. 3280–7, ago. 1996.

IVANOV, I. I. et al. Specific Microbiota Direct the Differentiation of IL-17-Producing T-Helper Cells in the Mucosa of the Small Intestine. **Cell Host and Microbe**, v. 4, n. 4, p. 337–349, 16 out. 2008.

IVANOV, I. I. et al. Induction of Intestinal Th17 Cells by Segmented Filamentous Bacteria. **Cell**, v. 139, n. 3, p. 485–498, 30 out. 2009.

IYENGAR, N. M. et al. Obesity and cancer mechanisms: Tumor microenvironment and inflammation. **Journal of Clinical Oncology**, v. 34, n. 35, p. 4270–4276, 10 dez. 2016.

JACOBSON, L. Hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis: neuropsychiatric aspects. **Comprehensive Physiology**, v. 4, n. 2, p. 715–38, abr. 2014.

JOHNSON, L. A. et al. Amelioration of Metabolic Syndrome-Associated Cognitive Impairments in Mice via a Reduction in Dietary Fat Content or Infusion of Non-Diabetic Plasma. **EBioMedicine**, v. 3, p. 26–42, jan. 2016.

JUMPERTZ, R. et al. Energy-balance studies reveal associations between gut microbes, caloric load, and nutrient absorption in humans. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 94, n. 1, p. 58–65, 1 jul. 2011.

JUNQUEIRA, Luiz Carlos Uchôa & CARNEIRO, José (2017). *Histologia Básica* 13^a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 474 páginas. ISBN 978-8527731812

KARLSSON, F. H. et al. Gut metagenome in European women with normal, impaired and diabetic glucose control. **Nature**, v. 498, n. 7452, p. 99–103, 2013.

KAU, A. L. et al. **Human nutrition, the gut microbiome and the immune system** *Nature*, 16 jun. 2011.

KELESIDIS, T.; POTHOUKAKIS, C. **Efficacy and safety of the probiotic *Saccharomyces boulardii* for the prevention and therapy of gastrointestinal disorders** *Therapeutic Advances in Gastroenterology*, 2012.

KENNEDY, E. A.; KING, K. Y.; BALDRIDGE, M. T. Mouse microbiota models: Comparing germ-free mice and antibiotics treatment as tools for modifying gut bacteria. **Frontiers in Physiology**, v. 9, n. OCT, 31 out. 2018.

KERSHAW, E. E.; FLIER, J. S. **Adipose tissue as an endocrine organ**. Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism. **Anais...**jun. 2004

KIM, K. A. et al. High Fat Diet-Induced Gut Microbiota Exacerbates Inflammation and Obesity in Mice via the TLR4 Signaling Pathway. **PLoS ONE**, v. 7, n. 10, 16 out. 2012.

LAM, Y. Y. et al. Increased gut permeability and microbiota change associate with mesenteric fat inflammation and metabolic dysfunction in diet-induced obese mice. **PloS one**, v. 7, n. 3, p. e34233, 2012.

LAWLEY, T. D. et al. Antibiotic treatment of clostridium difficile carrier mice triggers a supershedder state, spore-mediated transmission, and severe disease in immunocompromised hosts. **Infection and immunity**, v. 77, n. 9, p. 3661–9, set. 2009.

LEE, S. et al. Antidepressant-like effects of p-coumaric acid on LPS-induced depressive and inflammatory changes in rats. **Experimental Neurobiology**, v. 27, n. 3, p. 189–199, 1 jun. 2018.

LEE, Y. S. et al. Increased adipocyte O₂ consumption triggers HIF-1 α , causing inflammation and insulin resistance in obesity. **Cell**, v. 157, n. 6, p. 1339–1352, 5 jun. 2014.

LEY, R. E. et al. Human gut microbes associated with obesity. **Nature**, v. 444, n. 7122, p. 1022–1023, 21 dez. 2006a.

LEY, R. E. et al. Microbial ecology: Human gut microbes associated with obesity. **Nature**, v. 444, n. 7122, p. 1022–1023, 21 dez. 2006b.

LIU, F. et al. Fructooligosaccharide (FOS) and Galactooligosaccharide (GOS) Increase Bifidobacterium but Reduce Butyrate Producing Bacteria with Adverse Glycemic Metabolism in healthy young population. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, 1 dez. 2017.

LOZUPONE, C. A. et al. **Diversity, stability and resilience of the human gut microbiota** **Nature**, 13 set. 2012.

LU, P. et al. CNS penetration of small molecules following local inflammation, widespread systemic inflammation or direct injury to the nervous system. **Life sciences**, v. 85, n. 11–12, p. 450–6, 9 set. 2009.

LÜHRS, H. et al. Butyrate inhibits NF-kappaB activation in lamina propria macrophages of patients with ulcerative colitis. **Scandinavian journal of gastroenterology**, v. 37, n. 4, p. 458–66, abr. 2002.

LUMENG, C. N. et al. Obesity induces a phenotypic switch in adipose tissue macrophage polarization Find the latest version : Obesity induces a phenotypic switch in adipose tissue macrophage polarization. **J Clin Invest**, v. 117, n. 1, p. 175–184, 2007.

MACKOWIAK, P. A. Recycling Metchnikoff: Probiotics, the intestinal microbiome and the quest for long life. **Frontiers in Public Health**, v. 1, n. NOV, 13 nov. 2013.

MAO, B. et al. Effects of different doses of fructooligosaccharides (FOS) on the composition of mice fecal microbiota, especially the bifidobacterium composition. **Nutrients**, v. 10, n. 8, 16 ago. 2018.

MARTIN, B. D.; SCHWAB, E. Current Usage of Symbiosis and Associated Terminology. **International Journal of Biology**, v. 5, n. 1, 29 nov. 2012.

MARTINEZ, R. C. R. et al. Effect of galactooligosaccharides and Bifidobacterium animalis Bb-12 on growth of Lactobacillus amylovorus DSM 16698, microbial community structure, and metabolite production in an in vitro colonic model set up with human or pig microbiota. **FEMS microbiology ecology**, v. 84, n. 1, p. 110–23, abr. 2013.

MCNELIS, J. C. et al. GPR43 potentiates β -cell function in obesity. **Diabetes**, v. 64, n. 9, p. 3203–3217, 1 set. 2015.

MEMOLI, B. et al. Inflammation may modulate IL-6 and C-reactive protein gene expression in the adipose tissue: the role of IL-6 cell membrane receptor. **American journal of physiology. Endocrinology and metabolism**, v. 293, n. 4, p. E1030-5, out. 2007.

MENNINI, M. et al. **Probiotics in asthma and allergy prevention** *Frontiers in Pediatrics* Frontiers Media S.A., , 31 jul. 2017.

MILLER, A. A.; SPENCER, S. J. Obesity and neuroinflammation: A pathway to cognitive impairment. **Brain, Behavior, and Immunity**, v. 42, p. 10–21, 1 nov. 2014.

MILLER, T. L.; WOLIN, M. J. Pathways of acetate, propionate, and butyrate formation by the human fecal microbial flora. **Applied and environmental microbiology**, v. 62, n. 5, p. 1589–92, maio 1996.

MINISTÉRIO DA SAÚDE (BRASIL). **Brasileiros atingem maior índice de obesidade nos últimos treze anos**. [s.l: s.n.]. Disponível em:

<<https://www.saude.gov.br/noticias/agencia-saude/45612-brasileiros-atingem-maior-indice-de-obesidade-nos-ultimos-treze-anos>>. Acesso em: 5 jun. 2020.

MORRISON, D. J.; PRESTON, T. Formation of short chain fatty acids by the gut microbiota and their impact on human metabolism. **Gut microbes**, v. 7, n. 3, p. 189–200, 2016.

MOYER, B. J. et al. Inhibition of the aryl hydrocarbon receptor prevents Western diet-induced obesity. Model for AHR activation by kynurenine via oxidized-LDL, TLR2/4, TGF β , and IDO1. **Toxicology and applied pharmacology**, v. 300, p. 13–24, 2016.

MRAK, R. E.; GRIFFIN, W. S. T. **Glia and their cytokines in progression of neurodegeneration**. *Neurobiology of Aging*. **Anais...**mar. 2005

NIMMERJAHN, A.; KIRCHHOFF, F.; HELMCHEN, F. Resting Microglial Cells Are Highly Dynamic Surveillants of Brain Parenchyma in Vivo — Resting Microglial Cells Are Highly Dynamic Surveillants of Brain Parenchyma in Vivo — Supporting Online Material. **Science**, v. 308, n. 5726, p. 1314–1319, 2005.

NISHINA, P. M.; FREEDLAND, R. A. Effects of propionate on lipid biosynthesis in isolated rat hepatocytes. **The Journal of nutrition**, v. 120, n. 7, p. 668–73, jul. 1990.

OAK, S. J.; JHA, R. The effects of probiotics in lactose intolerance: A systematic review. **Critical reviews in food science and nutrition**, v. 59, n. 11, p. 1675–1683, 2019.

OLIVEROS, E. et al. Sialic Acid and Sialylated Oligosaccharide Supplementation during Lactation Improves Learning and Memory in Rats. **Nutrients**, v. 10, n. 10, out. 2018.

ORRHAGE, K.; NORD, C. E. Bifidobacteria and lactobacilli in human health. **Drugs under experimental and clinical research**, v. 26, n. 3, p. 95–111, 2000.

OUCHI, N. et al. **Adipokines in inflammation and metabolic disease** *Nature Reviews Immunology*, fev. 2011.

OUWEHAND, A. C.; TIIHONEN, K.; LAHTINEN, S. The potential of probiotics and prebiotics for skin health. In: **Textbook of Aging Skin**. [s.l.] Springer Berlin Heidelberg, 2010. p. 799–809.

PACE, N. R. Mapping the tree of life: progress and prospects. **Microbiology and molecular biology reviews : MMBR**, v. 73, n. 4, p. 565–76, dez. 2009.

PARKS, B. W. et al. Genetic control of obesity and gut microbiota composition in response to high-fat, high-sucrose diet in mice. **Cell metabolism**, v. 17, n. 1, p. 141–52, 8 jan. 2013.

PENDERS, J. et al. Factors influencing the composition of the intestinal microbiota in early infancy. **Pediatrics**, v. 118, n. 2, p. 511–21, ago. 2006.

PETERS, U. et al. Beyond BMI: Obesity and Lung Disease. **Chest**, v. 153, n. 3, p. 702–709, 1 mar. 2018.

PETERSEN, C.; ROUND, J. L. Defining dysbiosis and its influence on host immunity and disease. **Cellular microbiology**, v. 16, n. 7, p. 1024–33, jul. 2014.

PICHÉ, M.-E. et al. Overview of Epidemiology and Contribution of Obesity and Body Fat Distribution to Cardiovascular Disease: An Update. **Progress in Cardiovascular Diseases**, v. 61, n. 2, p. 103–113, 1 jul. 2018.

PREISS, K.; BRENNAN, L.; CLARKE, D. A systematic review of variables associated with the relationship between obesity and depression. **Obesity reviews : an official journal of the International Association for the Study of Obesity**, v. 14, n. 11, p. 906–18, nov. 2013.

PYRZAK, B. et al. **Adiponectin as a biomarker of the metabolic syndrome in children and adolescents** *European Journal of Medical Research* BioMed Central Ltd., , 4 nov. 2010.

QIN, J. et al. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing <file:///Users/hannahharris/Downloads/emss-54210.pdf>. **Nature**, v. 11, n. March, p. 28, 2010.

RAISON, C. L. et al. CSF concentrations of brain tryptophan and kynurenines during immune stimulation with IFN- α : Relationship to CNS immune responses and depression. **Molecular Psychiatry**, v. 15, n. 4, p. 393–403, abr. 2010.

RAJAN, T. M.; MENON, V. Psychiatric disorders and obesity: A review of association studies. **Journal of postgraduate medicine**, v. 63, n. 3, p. 182–190, 2017.

RAY, D.; ALPINI, G.; GLASER, S. Probiotic Bifidobacterium species: Potential beneficial effects in diarrheal disorders. Focus on “Probiotic bifidobacterium species stimulate human SLC26A3 gene function and expression in intestinal epithelial cells”. **American Journal of Physiology - Cell Physiology**, v. 307, n. 12, p. C1081–C1083, 15 dez. 2014.

RAZZOLI, M. et al. Stress, overeating, and obesity: Insights from human studies and preclinical models. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 76, p. 154–162, 1 maio 2017.

REEVES, P. G.; NIELSEN, F. H.; FAHEY, G. C. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. **The Journal of nutrition**, v. 123, n. 11, p. 1939–51, nov. 1993.

REID, G. Probiotic and prebiotic applications for vaginal health. **Journal of AOAC International**, v. 95, n. 1, p. 31–4, 2012.

REID, G. et al. How do probiotics and prebiotics function at distant sites? **Beneficial microbes**, v. 8, n. 4, p. 521–533, 24 ago. 2017.

RHEE, S. H.; POTHOUKAKIS, C.; MAYER, E. A. Principles and clinical implications of

the brain-gut-enteric microbiota axis. **Nature reviews. Gastroenterology & hepatology**, v. 6, n. 5, p. 306–14, maio 2009.

RÍOS-COVIÁN, D. et al. **Intestinal short chain fatty acids and their link with diet and human health***Frontiers in Microbiology*Frontiers Media S.A., , 17 fev. 2016.

ROBERFROID, M. et al. Prebiotic effects: metabolic and health benefits. **The British journal of nutrition**, v. 104 Suppl 2, p. S1-63, ago. 2010.

ROOKS, M. G.; GARRETT, W. S. **Gut microbiota, metabolites and host immunity***Nature Reviews Immunology*Nature Publishing Group, , 1 jun. 2016.

ROSENBAUM, M. et al. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. **Journal of Clinical Investigation**, v. 112, n. 12, p. 1796–1808, 2008.

ROSS, J. S. et al. Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance. **Journal of Clinical Investigation**, v. 112, n. 12, p. 1821–1830, 2003.

RUAN, H.; LODISH, H. F. Insulin resistance in adipose tissue: direct and indirect effects of tumor necrosis factor-alpha. **Cytokine & growth factor reviews**, v. 14, n. 5, p. 447–55, out. 2003.

SAKAI, F. et al. Effects of Feeding Sialyllactose and Galactosylated N-Acetylneuraminic Acid on Swimming Learning Ability and Brain Lipid Composition in Adult Rats. **Journal of Applied Glycoscience**, v. 53, n. 4, p. 249–254, 2006.

SARKAR, A. et al. **Psychobiotics and the Manipulation of Bacteria–Gut–Brain Signals***Trends in Neurosciences*Elsevier Ltd, , 1 nov. 2016.

SARTORI, A. C. et al. **The impact of inflammation on cognitive function in older adults: Implications for healthcare practice and research***Journal of Neuroscience Nursing*, ago. 2012.

SAVIGNAC, H. M. et al. Prebiotic feeding elevates central brain derived neurotrophic factor, N-methyl-D-aspartate receptor subunits and D-serine. **Neurochemistry international**, v. 63, n. 8, p. 756–64, dez. 2013.

SAVIGNAC, H. M. et al. Prebiotic administration normalizes lipopolysaccharide (LPS)-induced anxiety and cortical 5-HT_{2A} receptor and IL1- β levels in male mice. **Brain, Behavior, and Immunity**, 2016.

SCHACHTER, J. et al. Effects of obesity on depression: A role for inflammation and the gut microbiota. **Brain, behavior, and immunity**, v. 69, p. 1–8, 2018.

SCHWARTZ, T. L. et al. Psychiatric medication-induced obesity: a review. **Obesity Reviews**, v. 5, n. 2, p. 115–121, 1 maio 2004.

SELLBOM, K. S.; GUNSTAD, J. Cognitive function and decline in obesity. **Journal of Alzheimer's disease : JAD**, v. 30 Suppl 2, p. S89-95, 2012.

SHARMA, S.; RAKOCZY, S.; BROWN-BORG, H. Assessment of spatial memory in mice. **Life sciences**, v. 87, n. 17–18, p. 521–36, 23 out. 2010.

SHAW, K. N.; COMMINS, S.; O'MARA, S. M. Lipopolysaccharide causes deficits in spatial learning in the watermaze but not in BDNF expression in the rat dentate gyrus. **Behavioural Brain Research**, v. 124, n. 1, p. 47–54, 2001.

SHOKRYAZDAN, P. et al. Probiotic potential of Lactobacillus strains with antimicrobial activity against some human pathogenic strains. **BioMed Research International**, v. 2014, 2014.

SMITH, A.; SUTHERLAND, D.; HEWLETT, P. An Investigation of the Acute Effects of Oligofructose-Enriched Inulin on Subjective Wellbeing, Mood and Cognitive Performance. **Nutrients**, v. 7, n. 11, p. 8887–8896, out. 2015.

SOLEIMANI, N. et al. Dietary supplementation of fructooligosaccharide (FOS) improves the innate immune response, stress resistance, digestive enzyme activities and growth performance of Caspian roach (*Rutilus rutilus*) fry. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 32, n. 2, p. 316–321, fev. 2012.

SOMMER, F. et al. Site-specific programming of the host epithelial transcriptome by the gut microbiota. **Genome biology**, v. 16, p. 62, 28 mar. 2015.

SPYRIDAKI, E. C.; AVGOUSTINAKI, P. D.; MARGIORIS, A. N. **Obesity, inflammation and cognition** *Current Opinion in Behavioral Sciences* Elsevier Ltd, ,

1 jun. 2016.

STENTZ, F. B.; KITABCHI, A. E. Palmitic acid-induced activation of human T-lymphocytes and aortic endothelial cells with production of insulin receptors, reactive oxygen species, cytokines, and lipid peroxidation. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 346, n. 3, p. 721–726, 4 ago. 2006.

STEVENS, B. et al. The Classical Complement Cascade Supplementary. **Cell**, v. 131, n. 6, p. 1164–1178, 2007.

STONE, T. W. et al. **Involvement of kynurenines in Huntington's disease and stroke-induced brain damage** **Journal of Neural Transmission**, fev. 2012.

SUN, J. et al. Fructooligosaccharides Ameliorating Cognitive Deficits and Neurodegeneration in APP/PS1 Transgenic Mice through Modulating Gut Microbiota. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 67, n. 10, p. 3006–3017, mar. 2019.

SUN, J.; BUYS, N. J. Glucose- and glycaemic factor-lowering effects of probiotics on diabetes: A meta-analysis of randomised placebo-controlled trials. **British Journal of Nutrition**, v. 115, n. 7, p. 1167–1177, 11 fev. 2016.

TANG, C. et al. Loss of FFA2 and FFA3 increases insulin secretion and improves glucose tolerance in type 2 diabetes. **Nature medicine**, v. 21, n. 2, p. 173–7, fev. 2015.

THAKER, V. V. GENETIC AND EPIGENETIC CAUSES OF OBESITY. **Adolescent medicine: state of the art reviews**, v. 28, n. 2, p. 379–405, 2017.

TINDALL, D.; LONERGAN, P. Androgen receptor signaling in prostate cancer development and progression. **Journal of Carcinogenesis**, v. 10, n. 1, p. 20, 2011.

TONUCCI, L. B. et al. Clinical application of probiotics in type 2 diabetes mellitus: A randomized, double-blind, placebo-controlled study. **Clinical Nutrition**, v. 36, n. 1, p. 85–92, 2017.

TRAYHURN, P.; WOOD, I. S. Adipokines: inflammation and the pleiotropic role of white adipose tissue. **British Journal of Nutrition**, v. 92, n. 3, p. 347–355, set. 2004.

TREMBLAY, M.-È. et al. The role of microglia in the healthy brain. **The Journal of**

neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience, v. 31, n. 45, p. 16064–9, 9 nov. 2011.

TRØSEID, M. et al. Plasma lipopolysaccharide is closely associated with glycemic control and abdominal obesity: Evidence from bariatric surgery. **Diabetes Care**, v. 36, n. 11, p. 3627–3632, nov. 2013.

VÄHÄMIKO, S. et al. The impact of probiotic supplementation during pregnancy on DNA methylation of obesity-related genes in mothers and their children. **European Journal of Nutrition**, v. 58, n. 1, p. 367–377, 1 fev. 2019.

VON FRIELING, J. et al. **Grow with the challenge-microbial effects on epithelial proliferation, carcinogenesis, and cancer therapy** *Frontiers in Microbiology* Frontiers Media S.A., , 20 set. 2018.

VULEVIC, J. et al. Influence of galacto-oligosaccharide mixture (B-GOS) on gut microbiota, immune parameters and metabonomics in elderly persons. **The British journal of nutrition**, v. 114, n. 4, p. 586–95, 28 ago. 2015.

WANG, H.-X.; WANG, Y.-P. Gut Microbiota-brain Axis. **Chinese medical journal**, v. 129, n. 19, p. 2373–80, 2016.

WASIM, M. et al. Role of Leptin Deficiency, Inefficiency, and Leptin Receptors in Obesity. **Biochemical Genetics**, v. 54, n. 5, p. 565–572, 16 out. 2016.

WEAVER, C. M. et al. Galactooligosaccharides Improve Mineral Absorption and Bone Properties in Growing Rats through Gut Fermentation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, n. 12, p. 6501–6510, 22 jun. 2011.

WHO. Obesity and overweight. 2016. Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/>

WHO. **Obesidade e excesso de peso**. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>>. Acesso em: 20 out. 2020.

WILLIAMS, S. et al. Neonatal prebiotic (BGOS) supplementation increases the levels of synaptophysin, GluN2A-subunits and BDNF proteins in the adult rat hippocampus. **Synapse (New York, N.Y.)**, v. 70, n. 3, p. 121–4, mar. 2016.

WINGEN, M.; KUYPERS, K. P. C.; RAMAEKERS, J. G. Selective verbal and spatial memory impairment after 5-HT_{1A} and 5-HT_{2A} receptor blockade in healthy volunteers pre-treated with an SSRI. **Journal of Psychopharmacology**, v. 21, n. 5, p. 477–485, 4 jul. 2007.

WOSTMANN, B. S. The germfree animal in nutritional studies. **Annual review of nutrition**, v. 1, p. 257–79, 1981.

XANTHOPOULOS, M.; TAPIA, I. E. Obesity and common respiratory diseases in children. **Paediatric Respiratory Reviews**, v. 23, p. 68–71, 1 jun. 2017.

XU, Y. et al. Inflammation and increased IDO in hippocampus contribute to depression-like behavior induced by estrogen deficiency. **Behavioural Brain Research**, v. 288, p. 71–78, 5 jul. 2015.

YE, D.; MA, I.; MA, T. Y. Molecular mechanism of tumor necrosis factor- α modulation of intestinal epithelial tight junction barrier. **American journal of physiology. Gastrointestinal and liver physiology**, v. 290, n. 3, p. G496-504, mar. 2006.

YEN, C.-H. et al. Fructo-oligosaccharide improved brain β -amyloid, β -secretase, cognitive function, and plasma antioxidant levels in D-galactose-treated Balb/cJ mice. **Nutritional Neuroscience**, v. 20, n. 4, p. 228–237, 21 abr. 2017.

YEOP HAN, C. et al. Differential effect of saturated and unsaturated free fatty acids on the generation of monocyte adhesion and chemotactic factors by adipocytes: dissociation of adipocyte hypertrophy from inflammation. **Diabetes**, v. 59, n. 2, p. 386–96, fev. 2010.

ZHANG, C. et al. Structural resilience of the gut microbiota in adult mice under high-fat dietary perturbations. **The ISME journal**, v. 6, n. 10, p. 1848–57, out. 2012.

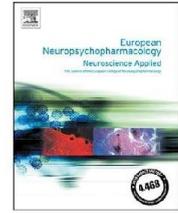
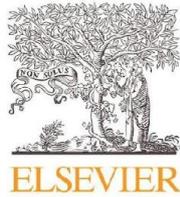
ZHANG, Y. et al. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. **Nature**, v. 372, n. 6505, p. 425–432, 1 dez. 1994.

ZHENG, G. et al. Corticosterone mediates stress-related increased intestinal permeability in a region-specific manner. **Neurogastroenterology and motility : the**

official journal of the European Gastrointestinal Motility Society, v. 25, n. 2, p. e127-39, fev. 2013.

ZHU, B. et al. Chronic lipopolysaccharide exposure induces cognitive dysfunction without affecting BDNF expression in the rat hippocampus. **Experimental and therapeutic medicine**, v. 7, n. 3, p. 750–754, mar. 2014.

ZUPANCIC, M. L. et al. Analysis of the gut microbiota in the old order a mish and its relation to the metabolic syndrome. **PLoS ONE**, v. 7, n. 8, 15 ago. 2012.



REVIEW

The role of prebiotics in cognition, anxiety, and depression



Igor Henrique R. Paiva^{a,b,*}, Eduardo Duarte-Silva^{a,c},
Christina Alves Peixoto^{a,d,*}

^aLaboratory of Ultrastructure, Aggeu Magalhães Institute (IAM), Avenida Professor Moraes Rego, s/n, Cidade Universitária, 50.670-420 Recife, PE, Brazil

^bPostgraduate Program in Biological Sciences (PPGCB), Federal University of Pernambuco (UFPE), Brazil

^cPostgraduate Program in Biosciences and Biotechnology for Health (PPGBBS), Oswaldo Cruz Foundation (FIOCRUZ-PE)/Aggeu Magalhães Institute (IAM), Recife, PE, Brazil

^dNational Institute of Science and Technology on Neuroimmunomodulation (INCT-NIM), Oswaldo Cruz Institute, Oswaldo Cruz Foundation, Rio de Janeiro, Brazil

Received 19 November 2019; received in revised form 18 February 2020; accepted 6 March 2020

KEYWORDS

Cognition;
Depression;
Anxiety;
Prebiotics;
Gut microbiota;
Neuroinflammation

Abstract

The disruption of the gut microbial composition, defined as dysbiosis, has been associated with many neurological disorders with inflammatory components. The alteration of the gut microbiota leads to an increase in pro-inflammatory cytokines that are associated with metabolic diseases (such as obesity and type 2 diabetes), autoimmune arthritis, and neuropsychiatric diseases. Prebiotics are defined as non-digestible carbohydrates and promote the growth of beneficial bacteria such as bifidobacteria and lactobacillus, exert beneficial effects on improving dysbiosis and its associated inflammatory state. Preclinical and clinical data indicated that some prebiotics also have positive impacts on the central nervous system (CNS) due to the modulation of neuroinflammation and thus may have a key role in the modulation of cognitive impairment, anxiety, and depression. The present manuscript reviews the state-of-art of the effects of prebiotics in cognitive impairment, anxiety, and depressive disorders. Data from clinical studies are still scarce, and further clinical trials are needed to corroborate the potential therapeutic cognitive, antidepressant, and anxiolytic of prebiotics. Prebiotics may provide patients suffering from cognitive deficits, depression, and anxiety with a new tool to minimize disease symptoms and increase the quality of life.

© 2020 Elsevier B.V. and ECNP. All rights reserved.

* Corresponding authors at: Laboratory of Ultrastructure, Aggeu Magalhães Institute (IAM), Avenida Professor Moraes Rego, s/n, Cidade Universitária, 50.670-420 Recife, PE, Brazil.

E-mail address: peixoto.christina@gmail.com (C.A. Peixoto).

<https://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2020.03.006>

0924-977X/© 2020 Elsevier B.V. and ECNP. All rights reserved.

ANEXO 2 – CERTIFICADO CEUA/IAM 135/2018



Ministério da Saúde
 FIOCRUZ
 Fundação Oswaldo Cruz
 Instituto Aggeu Magalhães

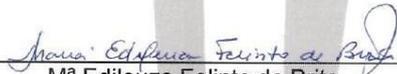
INSTITUTIONAL ANIMAL CARE AND USE COMMITTEE (IACUC)

Letter of IACUC Approval

We certify that the project entitled “AÇÃO DOS PREBIÓTICOS (FRUTO-OLIGOSSACARÍDEOS E GALACTOOLIGOSSACARÍDEOS) E SUA ASSOCIAÇÃO COM A FLUOXETINA SOBRE AS VIAS DE SINALIZAÇÃO DA NEUROINFLAMAÇÃO, COGNIÇÃO E DEPRESSÃO EM MODELO ANIMAL DE OBESIDADE” (IACUC protocol number nº 135/2018), coordinated by **Christina Alves Peixoto** follows strictly the ethical principles in animal research and is in accordance with the Brazilian federal law 11.794/2008. The project was approved by the Institutional Animal Care and Use Committee (IACUC) of the Aggeu Magalhães Institute/Oswaldo Cruz Foundation and is valid until february 2022. It is the responsibility of the Principal Investigator to notify the IACUC of any proposed changes regarding the work described within this project. The Principal Investigator agrees that no such changes will be implemented until approved by the IACUC/IAM.

| Number of animals approved | |
|---------------------------------|-----------------------------------|
| Species/Strain/Breed | Number of animals/Weight/Age/Sex |
| Inbred Mouse C57BL6 LDL r-/- | 150 (20 gr/ 8-10 weeks / females) |
| Total | 150 |

Recife (PE, Brazil), February, 06, 2019



M^a Edileuza Felinto de Brito
 IACUC Vice Chair/IAM

Maria Edileuza Felinto de Brito
 Vice-Coordenadora da Comissão de Ética no
 Uso de Animais do IAM/Fiocruz-PE
 Mat. Signa 0464741
 E-mail: britomef@cpqam.fiocruz.br