

UNIVERSIDADE VILA VELHA-ES
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

**USO DE PROBIÓTICOS COMO TERAPIA DE RESGATE NO
TRANSTORNO DEPRESSIVO MAIOR RESISTENTE AO
TRATAMENTO CONVENCIONAL**

JAIRO IZIDRO ROSSETTI NAVARRO JÚNIOR

VILA VELHA-ES
JULHO/2022

UNIVERSIDADE VILA VELHA-ES
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

**USO DE PROBIÓTICOS COMO TERAPIA DE RESGATE NO
TRANSTORNO DEPRESSIVO MAIOR RESISTENTE AO
TRATAMENTO CONVENCIONAL**

Dissertação apresentada à Universidade Vila Velha, como pré-requisito do Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

JAIRO IZIDRO ROSSETTI NAVARRO JÚNIOR

VILA VELHA-ES
JULHO/2022

Catálogo na publicação elaborada pela Biblioteca Central / UVV-ES

N322u Navarro Júnior,
Uso de probióticos como terapia de resgate no transtorno
depressivo maior resistente ao tratamento convencional / Jairo
Izidro Rossetti Navarro Júnior – 2022.
22 f. : il.

Orientadora: Bianca Prandi Campagnaro.
Dissertação (mestrado em Ciências Farmacêuticas) –
Universidade Vila Velha, 2022.
Inclui bibliografias.

1. Farmacologia e terapêutica. 2. Depressão mental. 3. Kefir.
4. Probióticos. I. Campagnaro, Bianca Prandi. II. Universidade Vila
Velha. III. Título.

CDD 615

JAIRO IZIDRO ROSSETTI NAVARRO JÚNIOR

**USO DE PROBIÓTICOS COMO TERAPIA DE RESGATE NO TRANSTORNO
DEPRESSIVO MAIOR RESISTENTE AO TRATAMENTO CONVENCIONAL**

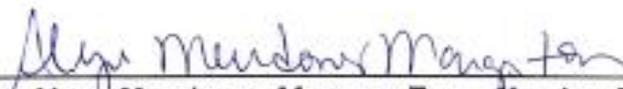
Dissertação apresentada à Universidade Vila Velha, como pré-requisito do Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Aprovada em 26 de julho de 2022.

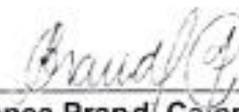
Banca Examinadora:



Prof. Dr. Thiago de Melo Costa Pereira – UVV



Prof(a). Dra. Alyne Mendonça Marques Ton – Membro Externo



**Prof(a). Dra. Bianca Prandi Campagnaro – UVV
Orientadora**

RESUMO

JÚNIOR, Jairo Izidro Rossetti Navarro. M.Sc., Universidade Vila Velha-ES, julho de 2022. **Uso de probióticos como terapia de resgate no transtorno depressivo maior resistente ao tratamento convencional.** Orientadora: Profa. Dra. Bianca Prandi Campagnaro.

O Transtorno Depressivo Maior (TDM) é o mais prevalente dos transtornos de humor e acomete aproximadamente 4,4% da população mundial. Apesar do progresso no tratamento do TDM, menos de 50% dos pacientes alcança remissão após um tratamento farmacológico, associado à psicoterapia. O presente estudo constatou que a associação de kefir ao tratamento convencional trouxe importante melhora clínica às pacientes (conforme aplicação da Escala de Hamilton para depressão) e demonstrou relevante ação anti-inflamatória, fato demonstrado pela redução significativa dos níveis de IL-6, PCR, VHS e insulina total. Apesar da amostra ser relativamente pequena, o estudo evidenciou grande eficácia do tratamento do Transtorno Depressivo Maior com probióticos quando comparado ao tratamento padrão. Portanto, constata-se que a terapia adjuvante com probióticos pode ser uma importante estratégia para o tratamento do TDM. Mais estudos são necessários para que tal possibilidade seja confirmada.

Palavras-chave: Probióticos. Transtorno Depressivo Maior. Kefir.

ABSTRACT

JÚNIOR, Jairo Izidro Rossetti Navarro. M.Sc., Vila Velha University-ES, July de 2022. **Use of probiotics as salvage therapy in conventional treatment-resistant major depressive disorder.** Advisor: Profa. Dra. Bianca Prandi Campagnaro.

Major Depressive Disorder (MDD) is the most prevalent of mood disorders and affects approximately 4.4% of the world population. Despite progress in the treatment of MDD, less than 50% of patients achieve remission after pharmacological treatment associated with psychotherapy. The present study found that the association of kefir with conventional treatment brought important clinical improvement to patients (according to the application of the Hamilton Scale for depression) and demonstrated a relevant anti-inflammatory action, a fact demonstrated by the significant reduction in IL-6 levels, CRP, ESR and total insulin. Although the sample was relatively small, the study showed great effectiveness of treating Major Depressive Disorder with probiotics when compared to standard treatment. Therefore, it appears that adjuvant therapy with probiotics can be an important strategy for the treatment of MDD. More studies are needed to confirm this possibility.

Keywords: Probiotics. Major Depressive Disorder. kefir

LISTA DE TABELAS E FIGURAS

Tabela 1	14
Eficácia do consumo de Kefir sobre a escala de depressão de Hamilton.	
Tabela 2	15
Efeito do consumo de Kefir sobre cortisol matinal, cortisol vespertino e serotonina.	
Tabela 3	17
Efeito do consumo de Kefir sobre biomarcadores séricos.	
Figura 1	15
Efeito do consumo de Kefir sobre a Escala de depressão de Hamilton. * $p < 0,05$ (média \pm DP; ANOVA 1-via; <i>pos hoc</i> de Tukey)	
Figura 2	16
Efácia do consumo de Kefir sobre marcadores séricos inflamatórios. (A) Efeito do Kefir sobre IL-6 e (B) proteína C reativa. * $p < 0,05$ (média \pm DP; ANOVA 1-via; <i>pos hoc</i> de Tukey)	
Figura 3	15
Efácia do consumo de Kefir sobre nível sérico de Serotonina total. * $p < 0,05$ (média \pm DP; ANOVA 1-via; <i>pos hoc</i> de Tukey)	

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	7
2. METODOLOGIA	9
2.1 PÚBLICO ALVO	9
2.2 DIAGNÓSTICO DO TRANSTORNO DEPRESSIVO MAIOR	10
2.3 DETERMINAÇÃO DA GRAVIDADE DO TRANSTORNO DEPRESSIVO MAIOR.....	10
2.4 TRATAMENTO COM KEFIR E COLETA DE SANGUE	11
2.5 DETERMINAÇÃO DE FATORES INFLAMATÓRIOS, VITAMINAS, PROTEÍNAS, NEUROTRANSMISSORES E HORMÔNIOS.....	11
3. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	12
4. RESULTADOS	12
5. DISCUSSÃO	16
6. REFERÊNCIAS	20

1. INTRODUÇÃO

O Transtorno Depressivo Maior (TDM) é o mais prevalente dos transtornos de humor e acomete aproximadamente 4,4% da população mundial (World Health Organization [WHO], 2017). Segundo o Manual Diagnóstico e Estatístico dos Transtornos Mentais (DSM-5), o diagnóstico do TDM visa a identificação de um quadro, com duração mínima de 2 semanas, caracterizado por tristeza persistente e/ou perda de prazer. Além desses, pelo menos mais três dos seguintes sintomas devem estar presentes: alterações de apetite, prejuízos cognitivos, alterações de sono, sentimentos de desvalia e pensamentos com conteúdo mórbido. Esses sintomas devem representar uma mudança em relação ao funcionamento pessoal pré-mórbido e induzir sofrimento clinicamente significativo ou prejuízo no funcionamento social, profissional ou em outras áreas importantes da vida do indivíduo (APA, 2013).

Atualmente se sabe que a neurobiologia do TDM é relacionada a alterações em alguns mensageiros químicos, principalmente nas monoaminas, serotonina, noradrenalina e dopamina. Ademais, também se observa alterações inflamatórias, como modificações nos níveis de cortisol (Herman et al., 2016), de prolactina, de citocinas e de fatores de crescimento neuronal (Foltran & Diaz, 2016). O tratamento padrão é constituído por medicamentos antidepressivos, incluindo inibidores seletivos de recaptção de serotonina, inibidores da recaptção de serotonina e noradrenalina, tricíclicos, entre outros, podendo ser associado à psicoterapia. Como tratamento adjuvante, pode-se utilizar atividades físicas que sejam produtoras da beta-endorfina, meditação, técnicas de relaxamento, acupuntura, mudanças de hábitos de vida, suplementação dietética específica e probióticos (Sadock, B. J., 2015).

Tem sido motivo de discussão e investigação o eixo que liga o cérebro e o intestino (eixo intestino-cérebro), visto que mantém relação direta com o sistema neuroendócrino de forma bidirecional. Conexões entre intestino e sistema nervoso central se dão por meio da via vagal, toracolombar e lombossacral, através das substâncias presentes nos sistemas que englobam neurotransmissores, citocinas e hormônios; portanto, através dos sistemas neuroendócrino, neuroimune e pelas vias simpáticas e parassimpática do sistema nervoso autônomo (DOCKRAY, 2014). O

cortisol é um hormônio esteroide, secretado pelas adrenais a partir da regulação do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA). A presença de desregulações nesse eixo, resultando em elevados níveis de cortisol, passou a ser uma das observações mais frequente no TDM, apesar de não ser um achado exclusivo (Galvão et al., 2018). Jovens com depressão tendem a apresentar a hipercortisolemia, e maiores níveis de cortisol são associados a sintomas depressivos mais intensos e a recorrência do transtorno (Foreman & Goodyer, 1988; Lewis, Jones, & Goodyer, 2016). Repetidamente, modelos animais demonstram aumento da atividade pró-inflamatória associada a estresse crônico, particularmente relacionada à atividade dos glicocorticoides. Nessas situações, os efeitos pró-inflamatórios dessas substâncias superam os efeitos anti-inflamatórios. O estresse crônico é um dos principais fatores de risco para o desenvolvimento de TDM e postula-se que ocorrem hiperatividade e inflamação do eixo HPA nesses quadros de humor, com altos níveis de glicocorticoides e marcadores pró-inflamatórios, como IL-6, insulina, volume de hemossedimentação (VHS) e elevação de proteína C reativa (PCR), promovendo ativação microglial e lesão tecidual cerebral (LIPPARD, 2020).

Particularmente, tem sido alvo de pesquisas a microbiota intestinal, que pode ter a composição alterada em diversas condições clínicas e psiquiátricas. Atribui-se aos quadros de TDM o extravasamento de endotoxinas translocadas da microbiota por alteração da permeabilidade intestinal, com maiores taxas de anticorpos IgA e IgM contra bactérias intestinais e lipopolissacarídeos no sangue periférico de pacientes com TDM (DOCKRAY, 2014). Dada a importância da preservação da microbiota, fatores ambientais, como a exposição ao estresse, ganham notoriedade. Dietas escassas em nutrientes como zinco e magnésio, escassas em vitaminas do complexo B, em gorduras poliinsaturadas, escassas em prebióticos e em probióticos parecem exercer papel adverso (Daniels, 2017). Por isso, terapias que envolvam a redução da inflamação e do estresse oxidativo passaram a ser alvos importantes de pesquisa.

Apesar do progresso no tratamento do TDM menos de 50% dos pacientes alcança remissão após um tratamento farmacológico associado à psicoterapia (Warden et al 2017). Por isso, esforços têm sido dedicados à busca por tratamentos alternativos ou complementares, que visam melhorar a eficiência terapêutica e reduzir as recaídas e

recorrências (Sarris et al., 2018). Nesse cenário, a suplementação dietética com Kefir, que contém probióticos, como os dos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*, além de compostos bioativos (peptídeos) e diversos outros nutrientes, poderia ser uma terapia adjuvante eficiente para os quadros depressivos resistentes.

O presente artigo visa demonstrar que a suplementação com probióticos pode ser uma importante estratégia para potencializar as ações dos medicamentos antidepressivos, proporcionando melhora clínica quando associada ao tratamento padrão, o que traria importante melhora dos sintomas depressivos e impediria a degeneração de diversas regiões cerebrais.

2. METODOLOGIA

2.1 PÚBLICO ALVO

O estudo foi realizado com 38 indivíduos do sexo feminino, que não remeteram os sintomas com o tratamento padrão, faixa etária entre 30-35 anos, nascidas de parto cesariano, casadas, sem gestação prévia ou atual, sem uso de anticoncepcionais orais, sem comorbidades clínicas, índice de massa corporal entre 18,5-24,99, sem histórico de cirurgias ginecológicas ou em trato gastrointestinal, com nível superior de escolaridade e com renda familiar *per capita* média superior a dez salários mínimos, diagnosticados com TDM leve/moderado, em tratamento clínico padronizado com uso de Escitalopram 20mg/dia (inibidor seletivo da recaptação de serotonina – ISRS) há pelos menos 12 semanas, e que estão em acompanhamento clínico e psicoterápico em consultório particular. O escitalopram foi a medicação escolhida em virtude de sua excelente eficácia e boa tolerabilidade/segurança (Keitner, 2012). As pacientes, ao concordarem em participar do estudo, assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) e de acordo com a Resolução do Conselho Nacional sobre Pesquisas em Humanos 466/12.

Os critérios de exclusão do estudo foram: 1) pacientes com comorbidades neurológicas e/ou psiquiátricas prévias; 2) pacientes impossibilitados de realizarem a

suplementação probiótica por causas orgânicas ou ambientais; 3) pacientes em uso de substâncias que possam afetar a avaliação do humor; 4) pacientes com demais doenças crônicas descompensadas; 5) pacientes com histórico familiar de suicídio; 6) histórico de hipersensibilidade ao Kefir e ao leite (incluindo alergia à proteína do leite de vaca e intolerância à lactose)

2.2 DIAGNÓSTICO DO TRANSTORNO DEPRESSIVO MAIOR

O diagnóstico do Transtorno Depressivo Maior foi realizado segundo os critérios do Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais, DSM-V, publicado pela American Psychiatry Association (APA).

2.3 DETERMINAÇÃO DA GRAVIDADE DO TRANSTORNO DEPRESSIVO MAIOR

A gravidade do transtorno foi avaliada segundo a Escala de Avaliação de Depressão de Hamilton (HAM-D). Tal escala foi desenvolvida por Max Hamilton *et al.*, na década de 1960, para ser utilizada exclusivamente em pacientes previamente diagnosticados com TDM. Em função da organização e da escolha de seus itens, eles servem para identificar a gravidade dos sintomas depressivos, e não sua existência. Há 50 anos, a HAM-D vem sendo considerada como “padrão-ouro” de referência para estudos de validação de outras escalas. Ela é amplamente sensível às mudanças vivenciadas por pacientes acometidos por depressão leve/moderada e é eficiente em discriminar droga e placebo. O tempo de aplicação varia em torno de 15 a 30 minutos. Na prática clínica, escores acima de 25 pontos são característicos de pacientes gravemente deprimidos; escores entre 18 e 24 pontos, pacientes moderadamente deprimidos; e escores entre 7 e 17 pontos, pacientes com depressão leve (Sadock, B. J., 2015).

2.4 TRATAMENTO COM KEFIR E COLETA DE SANGUE

Antes do início do tratamento, foi realizada uma coleta de sangue periférico (2ml) para posteriores análises. A coleta foi feita pelo Laboratório Pretti/Fleury, utilizando-se de material estéril e apropriado, em veia periférica de membros superiores, durante a avaliação em clínica médica. As amostras foram devidamente identificadas e levadas em embalagens próprias ao laboratório para realização das análises. A administração do probiótico foi feita utilizando amostras diárias contendo espécies dos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* na dose de 3 ml por quilo corpóreo, durante 12 semanas. O material foi preparado pela Trevo Lácteos S.A., CNPJ 04.892.455/0001-10, sendo transportado por veículo automotor devidamente acondicionado em embalagem térmica e entregue ao participante da pesquisa diariamente, no turno matutino, sendo ingerido imediatamente após a abertura da embalagem e sem adição de água ou outra substância/alimento ao kefir. No 45^o e 90^o dias de tratamento, foram novamente coletadas amostras de sangue dos pacientes.

2.5 DETERMINAÇÃO DE FATORES INFLAMATÓRIOS, VITAMINAS, PROTEÍNAS, NEUROTRANSMISSORES E HORMÔNIOS

Os exames e as coletas de material (sangue venoso periférico) foram realizados no Laboratório Pretti (CNPJ 27.725.605/0001-04), antes (T0), 45 (T45) e 90 (T90) dias após a suplementação com probiótico. Foram quantificados hormônios, vitaminas e fatores inflamatórios no sangue dos pacientes. Interleucina-6 (IL6), fator de necrose tumoral α (TNF α), 25-hidroxi-vitamina D, ferritina, prolactina, cortisol e insulina total foram quantificados por quimioluminescência. Proteína C reativa (PCR) e fator reumatóide foram determinados por turbidimetria. A velocidade de hemossedimentação foi avaliada pelo método de Westergren. O fator anti-nuclear foi determinado por imunofluorescência, usando como substrato células da linhagem Hep-2. Por fim, os níveis de serotonina foram quantificados através de cromatografia líquida de ultra performance.

3. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados estão apresentados como média \pm DP. A normalidade das variáveis foi avaliada pelo teste de D' Agostino & Pearson. A análise estatística foi realizada através de ANOVA de uma via, seguida de post hoc de Tukey, utilizando o *software* GraphPad Prism 8 (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA, EUA). As diferenças entre os grupos foram consideradas significativas quando $p < 0,05$.

4. RESULTADOS

Efeito do consumo de Kefir sobre a Escala de depressão de Hamilton

A tabela 1 apresenta o número de pacientes classificadas nos níveis de depressão moderada e leve da escala de Hamilton. No começo do estudo (T0) todas as pacientes apresentavam grau de depressão moderada. Após 45 dias de consumo de Kefir, 33 pacientes, representando 86% da amostra, se apresentavam com depressão leve. Ao final do estudo (T90), somente 2 pacientes foram diagnosticadas com depressão moderada.

Tabela 1: Eficácia do consumo de Kefir sobre a escala de depressão de Hamilton.

Escala de depressão	Tempo 0			Tempo 45			Tempo 90		
	N (%)	Score mínimo	Score máximo	N (%)	Score mínimo	Score máximo	N (%)	Score mínimo	Score máximo
Depressão moderada (Hamilton 18-24)	38 (100)	18	23	5 (14)	18	19	2 (6)	20	22
Depressão leve (Hamilton 7-17)	0	-	-	33 (86)	6	16	36 (94)	0	14

N= número de pacientes

Na figura 1 observa-se o curso do escore da Escala de Hamilton ao longo dos 90 dias de tratamento com Kefir. Quarenta e cinco dias de consumo de Kefir foram capazes de reduzir significativamente o escore de depressão quando comparado ao início do estudo (T0: $20,3 \pm 1,5$; T45: $11,5 \pm 3,8$; -43%). Após 90 dias de tratamento com Kefir, o score de depressão foi significativamente menor ($5,4 \pm 5,4$) comparado ao T0 (-73%) e T45 (-53%).

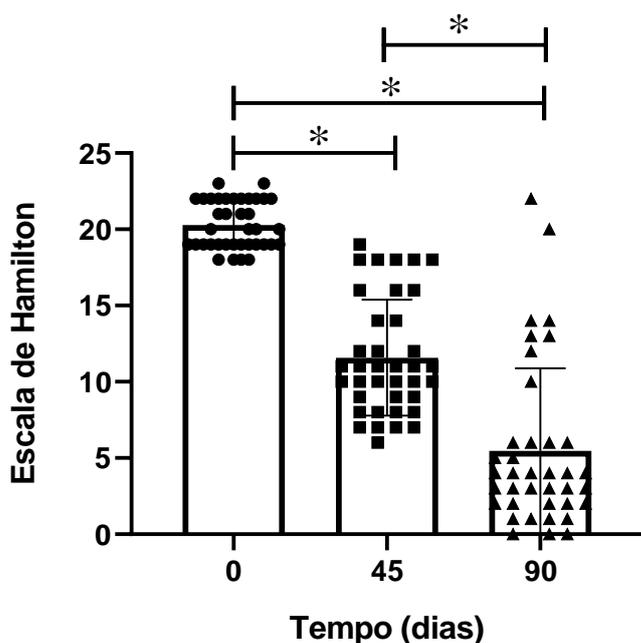


Figura 1: Efeito do consumo de Kefir sobre a Escala de depressão de Hamilton. * $p < 0,05$ (média \pm DP; ANOVA 1-via; *pos hoc* de Tukey)

Efeito do consumo de Kefir sobre marcadores inflamatórios

A Figura 2 representa os valores dos marcadores inflamatórios nos três tempos de estudo. O consumo de Kefir por 45 e 90 dias foi capaz de reduzir significativamente os níveis séricos de IL-6 (fig. 2A; T45: $1,9 \pm 0,7$ pg/mL; T90: $1,7 \pm 0,8$ pg/mL) quando comparado ao início do estudo (T0: $2,8 \pm 2,0$ pg/mL). Além disso, foi observado redução significativa de PCR (fig. 2B) após tratamento com Kefir por 45 e 90 dias (T0: $4,8 \pm 4,0$ mg/L; T45: $2,2 \pm 1,3$ mg/L; T90: $1,9 \pm 1,1$ mg/L). Quanto aos valores de ferritina (fig. 2C), não foram observadas alterações significativas após consumo de Kefir (T0: $96,3 \pm 53,1$ ng/mL; T45: $80,4 \pm 42,8$ ng/mL; T90: $79,6 \pm 39,2$ ng/mL). Por

outro lado, houve uma redução significativa do VHS (fig. 2D) após tratamento com Kefir por 45 e 90 dias quando comparado ao início do estudo (T0: 19,8 ± 19,0 mm; T45: 12,5 ± 6,8 mm; T90: 10,8 ± 6,6 mm).

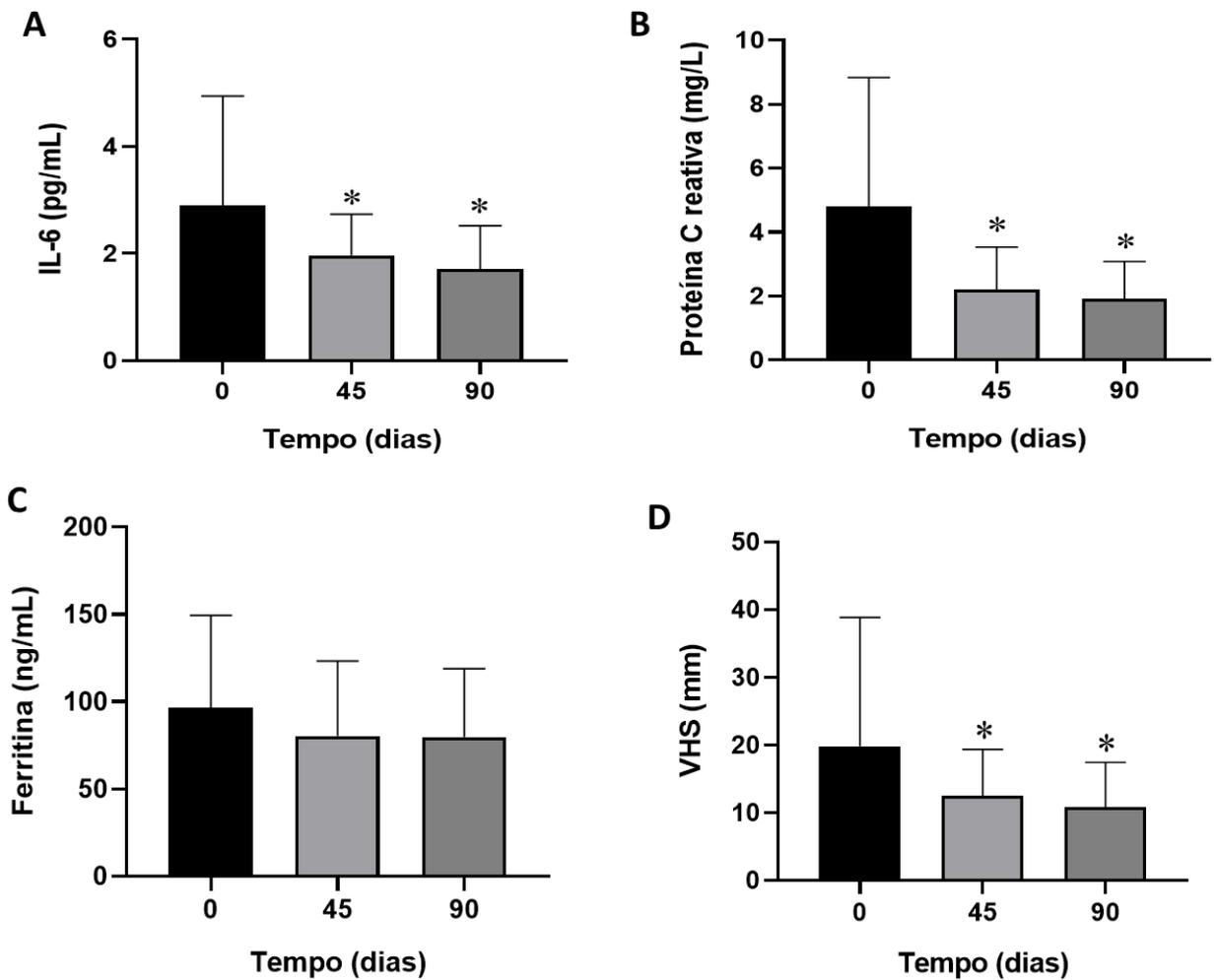


Figura 2: Efeito do consumo de Kefir sobre marcadores séricos inflamatórios. (A) Níveis de IL-6, (B) PCR, (C) Ferritina e (D) VHS. * $p < 0,05$ vs T0 (média ± DP; ANOVA 1-via; *post hoc* de Tukey)

A figura 3 representa os valores de serotonina sérica total nos três tempos de estudo. O consumo de Kefir por 45 e 90 dias não influenciou os níveis séricos de serotonina (T45: 90,8 ± 44,0 ng/mL; T90: 80,7 ± 52,9 ng/mL).

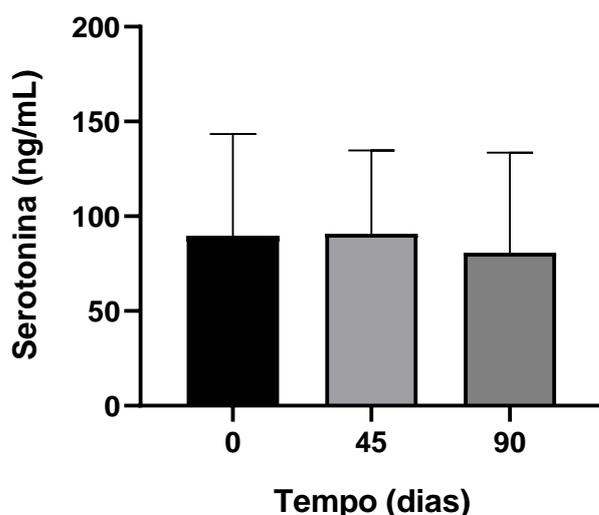


Figura 3: Efeito do consumo de Kefir sobre nível sérico de Serotonina total. Média \pm DP; ANOVA 1-via.

Na Tabela 2 estão apresentados os dados sobre o efeito do Kefir sobre os hormônios. Após consumo de Kefir por 45 e 90 dias os níveis de insulina foram significativamente reduzidos (-28% e -32%, respectivamente). Além disso, o cortisol matinal apresentou-se significativamente menor após consumo de Kefir por 45 e 90 dias (-20% e 19%, respectivamente). Por outro lado, não foram observadas alterações significativas dos níveis séricos de prolactina, vitamina D e cortisol vespertino após consumo de Kefir em ambos os tempos de tratamento.

Tabela 2: Efeito do consumo de Kefir sobre hormônios.

Parâmetro	Tempo 0	Tempo 45	Tempo 90
Prolactina (ng/mL)	13,6 \pm 6,5	15,2 \pm 6,7	13,0 \pm 7,0
Vitamina D (ng/mL)	33,1 \pm 11,3	32,0 \pm 11,6	34,3 \pm 12,9
Insulina (mcU/mL)	12,5 \pm 6,5	9,0 \pm 2,6*	8,5 \pm 2,2*
Cortisol matinal (ug/dL)	15,48 \pm 5,4	12,24 \pm 3,4*	12,44 \pm 3,4*
Cortisol vespertino (ug/dL)	9,7 \pm 3,8	9,2 \pm 3,4	9,5 \pm 3,0

*p<0,05 vs Tempo 0. (média \pm DP; ANOVA 1-via; *pos hoc* de Tukey)

5. DISCUSSÃO

O presente estudo é o primeiro ensaio clínico a demonstrar os efeitos da associação de Kefir ao tratamento convencional em pacientes em estado moderado de depressão. O consumo desse probiótico promoveu importante melhora clínica às pacientes, como demonstrado pela escala de Hamilton. Além disso, observou-se que o consumo do probiótico contribuiu para a redução dos níveis séricos de marcadores inflamatórios (IL6, PCR e VHS) e dos hormônios insulina e cortisol matinal.

Apesar da amostra deste estudo ser relativamente pequena, evidenciou-se grande eficácia do tratamento do transtorno depressivo maior com o probiótico quando comparado ao tratamento padrão. A associação de probióticos em condições de depressão e ansiedade tem sido amplamente estudada, tanto em roedores (Tillmann et al., 2018; Li et al., 2019; Aygun et al., 2021) quanto em humanos (Wallace e Milev, 2017; Pinto-Sanchez et al., 2017; Reininghaus et al., 2020). Em concordância com nosso resultado, estudos evidenciaram que a adição de probióticos ao tratamento convencional reduziu os escores de depressão (Akkasheh et al., 2016; Pinto-Sanchez et al., 2017; Reininghaus et al., 2020).

Em relação a propriedade antidepressiva Kefir, ainda são escassos os estudos (Sun et al., 2019; Chen et al., 2021). Os recentes trabalhos caracterizam a presença de componentes do Kefir, como compostos bioativos (peptídeos) e bactérias (*Lactobacillus*), com atividade neuromoduladora que contribuem para seu efeito antidepressivo, e assim poderiam explicar o mecanismo pelo qual o Kefir exerceu potencial antidepressivo demonstrado em nosso estudo.

Chen e colaboradores (2021), observaram que peptídeos do kefir, ativadores da via de sinalização do receptor de tropomiosina quinase B e do fator neurotrófico derivado do hipocampo, melhoraram os comportamentos semelhantes à depressão em camundongos. Além disso, a administração de *Lactobacillus kefiranofaciens* CGMCC2809 isolado de grãos de Kefir tibetano em modelo de estresse em camundongos melhorou os comportamentos semelhantes à depressão, sendo

observado no intestino desses animais a colonização da cepa bacteriana mesmo após 7 dias de interrupção do consumo do probiótico (Sun et al., 2019).

A microbiota intestinal está fortemente relacionada ao eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA) (Ait-Belgnaoui et al., 2012; Suda e Matsuda, 2022). Alterações no eixo HPA associadas com mudanças da composição da microbiota intestinal foram relacionadas ao desenvolvimento de transtornos de humor, como demonstrado por Sudo e colaboradores (2004). Após serem submetidos a estresse, ratos exibiram maior liberação de hormônio adreno-cortico-trópico (ACTH) e corticosterona, ambos biomarcadores da hiperatividade do eixo HPA, sendo esta resposta parcialmente revertida por transplante fecal de doadores controle e completamente revertida pelo tratamento com *Bifidobacterium infantis* (Sudo et al., 2004; Sun et al., 2019).

O ACTH é, por sua vez, secretado na circulação sanguínea para estimular a secreção de cortisol em humanos, que está elevado no sangue de pacientes depressivos induzindo a inflamação (Wrobel et al., 2018; Wu et al., 2021). No nosso estudo, observamos a redução dos níveis de cortisol matinal e de inflamação após consumo de Kefir, sugerindo assim, que esse probiótico atenuou a hiperatividade do eixo HPA. Além disso, sugerimos que o Kefir melhorou a depressão nas pacientes através da regulação da microbiota intestinal influenciando o eixo HPA, uma vez que como demonstrado em estudo prévio, que administração de *Lactobacillus kefiranofaciens* CGMCC2809, isolado do Kefir, reduziu em modelo experimental de depressão os níveis de hormônio liberador de corticotropina no hipotálamo e corticosterona sérica (Sun et al., 2019).

A literatura sugere a regulação de marcadores inflamatórios e a neurotransmissão da serotonina como principais possíveis mecanismos de ação através dos quais os probióticos exercem seus efeitos sobre o humor (Howren et al., 2009; Wallace e Milev, 2017). De acordo com os nossos dados, sugerimos que o efeito antidepressivo do Kefir foi provavelmente pela redução de marcadores inflamatórios, pois não observamos influência desse probiótico sobre os níveis de serotonina.

O aumento de citocinas pró-inflamatórias, como IL-6, assim como de PCR, é observado em pacientes depressivos e tem sido relacionado com exacerbação dos comportamentos depressivos (Valkanova et al., 2013; Ting et al., 2020). Esse

aumento sistêmico da inflamação contribui para os sintomas depressivos ao ativar o eixo HPA. Sugere-se que a inflamação sistêmica seja causada pelo aumento da permeabilidade intestinal, propiciando a saída de endotoxinas para a corrente sanguínea que ativam uma resposta imunológica exacerbada (Wallace e Milev, 2017), com altos níveis de IL-6, além da elevação de proteína C reativa (PCR) e VHS, promovendo ativação microglial e lesão tecidual cerebral (Lippard, 2020).

Assim como observado no nosso estudo, o consumo de probióticos reduz os níveis de citocinas pró-inflamatórias na depressão, como IL-6 (Ait-Belgnaoui et al., 2012; Yong et al., 2019; Aygun et al., 2022). Estudos anteriores com o probiótico Kefir exibem sua ação anti-inflamatória em condições neurológicas propícias ao aparecimento de sintomas depressivos, como o Alzheimer e epilepsia (Ton et al., 2020; Lemos et al., 2021).

Supõe-se que os probióticos possam exercer seus efeitos terapêuticos no sistema nervoso central, através da melhora da integridade do revestimento gastrointestinal, reduzindo a passagem de endotoxinas para a corrente sanguínea e, por sua vez, diminuindo a inflamação global (Wallace e Milev, 2017). A redução desta inflamação pode resultar em melhor regulação do eixo HPA e da atividade neurotransmissora.

A redução da inflamação pode implicar na melhora da disponibilidade dos neurotransmissores, como a serotonina, porém no presente estudo não foi possível observar essa relação. A serotonina é um neurotransmissor implicado na etiologia e fisiopatologia do TDM, participando no sistema nervoso central da regulação do estresse e emoções (Wallace e Milev, 2017). Alterações da microbiota intestinal demonstraram influenciar fortemente a neurotransmissão da serotonina no sistema nervoso periférico e central (Li et al., 2019; Staci et al., 2019). Os estudos têm demonstrado a associação de probióticos com níveis plasmáticos aumentados de serotonina, do seu precursor (triptofano) (Desbonnet et al., 2008; Tillmann et al., 2018; Sun et al., 2019) e do ácido 5-hidroxiindolacético (5-HIAA), seu principal metabólito (Nishino et al., 2013). Propõe-se que os probióticos no trato gastrointestinal melhorem os sintomas do sistema nervoso central associados ao TDM, aumentando a produção de triptofano livre e, por sua vez, aumentando a disponibilidade de serotonina. Sun e colaboradores (2019), evidenciaram que *Lactobacillus kefiranofaciens* extraído do

Kefir atenuou comportamentos depressivos em camundongos provavelmente por regular o metabolismo do triptofano.

Os resultados do presente estudo demonstraram que a dosagem de serotonina sérica não é um bom marcador para diagnóstico e/ou avaliação da eficácia do tratamento para TDM, visto que o consumo de Kefir não influenciou os níveis séricos desse neurotransmissor. Corroborando com nossos achados, Pinto-Sanchez e colaboradores (2017) evidenciaram que a utilização de probiótico por seis semanas não foi capaz de alterar os níveis plasmáticos desse neurotransmissor em pacientes depressivos.

Pacientes com transtornos depressivos apresentam pré-disposição a alterações no metabolismo da insulina (Martinac et al., 2014; Akkasheh et al., 2016). Nosso estudo demonstrou que a ingestão de Kefir reduziu os níveis de insulina. Em concordância, os resultados encontrados por Akkasheh e colaboradores (2016), demonstraram que a ingestão de probiótico por 8 semanas reduziu os níveis de insulina em pacientes com depressão. A melhora dos níveis de insulina pode ser atribuída a um aumento no número de células T hepáticas e uma redução na sinalização inflamatória (Ma et al., 2008). Além disso, algumas espécies de *Lactobacillus* podem bloquear a supressão do transportador de glicose do tipo 4 (Nakamura et al., 2012).

6 REFERÊNCIAS

Lippard ETC, et al. The devastating clinical consequences of child abuse and neglect: increased disease vulnerability and poor treatment response in mood disorders. *Am J Psychiatry*. 2020.

Barzegari A, et al. The Battle of Probiotics and Their Derivatives Against Biofilms. *Infect Drug Resist*. 2020;13:659-72.

Indira M, et al. Bioactive molecules of probiotic bacteria and their mechanism of action: a review. *3 Biotech*. 2019;9(8):306.26.

Sarris, J., et al (2018). Adjunctive S-adenosylmethionine (SAME) in treating non-remittent major depressive disorder: An 8-week double-blind, randomized, controlled trial. *European Neuropsychopharmacology*, 28(1), 1126-1136. doi:10.1016/j.euroneuro.2018.07.098

Palhano-Fontes, et al (2018). Rapid antidepressant effects of the psychedelic ayahuasca in treatment-resistant depression: a randomized placebo-controlled trial.

Oak SJ, et al. The effects of probiotics in lactose intolerance: A systematic review. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2018:1-9.

Neufeld, C. B.(2017). *Terapia cognitivo-comportamental em grupos : Das evidências à prática*. Porto Alegre: Artmed.

Daniels JK, (2017). Depressed gut? The microbiota-diet-inflammation triad in depression. *Curr Opin Psychiatry*.

Van Dalen (2018). The influence of sleep on human hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis reactivity: a systematic review. *Sleep Medicine Reviews*, 39, 187-194. doi: 10.1016/j.smrv.2017.10.002

World Health Organization. (2017). Depression and other common mental disorders: global health estimates.

Sarris, J., et al (2016). Adjunctive nutraceuticals for depression: a systematic review

Sadock, B. J., (2015). *Kaplan and Sadock's Synopsis of Psychiatry* (11nd Ed.).

Sarris, J., et al. (2015). Nutritional medicine as mainstream in psychiatry. *The Lancet Psychiatry*, 2(3), 271-274. doi: [https://doi.org/10.1016/S2215-0366\(14\)00051-0](https://doi.org/10.1016/S2215-0366(14)00051-0)

McEwen, B. S., et al (2015). *Mechanisms of stress in the brain. Nature Neuroscience*, 18(10), 1353–1363. doi:10.1038/nn.4086

Stopa, S. R., et al. (2015). Prevalência do autorrelato de depressão no Brasil: resultados da Pesquisa Nacional de Saúde, 2013 / Prevalence of self-reported depression in Brazil: 2013 National Health Survey results. *Revista Brasileira de Epidemiologia*, 18(2), 170-180. doi: 10.1590/1980-5497201500060015

World Health Organization. (2014). Depression and other common mental disorders: global health estimates, Available from:

Dockray GJ. Gastrointestinal hormones an the dialogue between gut and brain. *J Physiol*. 2014.

Duric V, Depression and treatment response: dynamic interplay of signaling pathways and altered neural processes. *Cell Mol Life Sci*. 2013.

American Psychiatry Association. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*. 5th ed. Arlington: American Psychiatric Publishing, 2013. pp. 123–154. ISBN 0-89042-555-8

Tu, M. T., (2013). Cortisol profile and depressive symptoms in older adults residing in Brazil and in Canada. *Aging clinical and experimental research*, 25(5), 527-537. doi: 10.1007/s40520-013-0111-0

Verleger, R., et al (2013). Insights into sleep's role for insight: Studies with the number reduction task. *Advances in cognitive psychology*, 9(4), 160–172. doi:10.2478/v10053-008-0143-8

Luca, A. (2013). Sleep disorders and depression: brief review of the literature, case report, and nonpharmacologic interventions for depression. *Clinical interventions in aging*. 8, 1033-1039. doi: 10.2147/CIA.S47230

Vreeburg, S. A., et al. (2013). Salivary cortisol levels and the 2-year course of depressive and anxiety disorders. *Psychoneuroendocrinology*, 38(9) 1494-1502. doi: 10.1016/j.psyneuen.2012.12.017

Keitner GI & Mansfield AK. *Psychiatr Clin North Am* 2012;35:249–265

Young, C. C., (2012). Screening for depression in adolescents. *The Journal for Nurse Practitioners*, 8(1), 73-74. doi: <https://doi.org/10.1016/j.nurpra.2011.11.008>

Uppal, A.,

Hamilton M. Development of a rating scale for primary depressive illness. *British J Social Clin Psychol*. 1967;6(4):278-96.