

## RELAÇÃO DO EIXO MICROBIOTA INTESTINO-CÉREBRO COM ANSIEDADE E OUTRAS ALTERAÇÕES CEREBRAIS EM MODELO ZEBRAFISH

**Tainara Maria de Moraes Silva**<sup>1</sup>, **Carla Brigida Teixeira Magalhães**<sup>1</sup>, **Caroline Maia Silva de Pontes**<sup>1</sup>, **Estefany Castro dos Santos**<sup>1</sup>, **Vitória Maria Freitas Franco**<sup>1</sup>, **José Eduardo Ribeiro Honório Júnior**<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Centro Universitário Christus (jose.ribeiro@unichristus.edu.br)

### Resumo

Esse trabalho tem como objetivo a avaliação das alterações do eixo intestino-cérebro ligadas ao desenvolvimento da ansiedade e/ou alterações cerebrais no modelo de zebrafish que está sendo um modelo animal atraente para estudos devido seus benefícios como baixo custo e fácil manutenção. Foi realizado uma pesquisa de revisão da literatura, utilizando as bases de dados LILACS, PubMed e ScienceDirect com os descritores microbiota, zebrafish e *anxiety*. Foram selecionados os trabalhos que estavam de acordo com nossos critérios de inclusão e objetivos. A literatura observou-se que a ansiedade é bem descrita no modelo zebrafish, pois são animais de vida em cardume. Também foi observado, no zebrafish, que a relação do eixo microbiota intestino-cérebro pode ocasionar alterações que induzem ao estresse e/ou transtorno de ansiedade generalizada (TAG), já a utilização de probióticos para redução dessas alterações está sendo de grande interesse para a comunidade científica. Ainda que existam evidências da relação do eixo microbiota intestino-cérebro, ainda é necessário a realização de mais estudos para melhor elucidação, e a utilização do zebrafish emerge como modelo animal devido seus inúmeros aspectos positivos.

**Palavras-chave:** Eixo intestino-cérebro; Microbioma; Zebrafish.

**Área Temática:** Temas livres.

**Modalidade:** Trabalho completo.

Os transtornos de humor são condições patológicas que consistem em alterações de humor, de comportamento e sentimentos que se apresentam, por exemplo, como o transtorno de ansiedade, depressão, dentre outros (FRANÇA, 2019, p.10). As características mais marcantes do transtorno de ansiedade se dão por sentimentos de preocupação exacerbada o suficiente para interferir nas atividades cotidianas. É uma patologia comumente encontrada e acredita-se que representa cerca de 3 milhões de casos nos Estados Unidos por profissionais de saúde a cada ano (SCHUYLER, 2016).

É comum ser observado em pacientes com esse transtorno uma predominância de sintomas ligados à irritação, medo da morte, uma sudorese com causas não determinadas e extremas tensões ligadas à vida cotidiana que não são normais no padrão diário e acabam interferindo nas ações comuns do paciente. Alterações relacionadas ao consumo alimentar não são sintomas muito característicos para o diagnóstico, entretanto eles se apresentam de forma não rara e acabam agregando um prejuízo ao estado de saúde além do já causado pelos principais achados diagnósticos. É de importante destaque que a literatura nos afirma que os estados de ansiedade estão relacionados às alterações fisiológicas por meio de sistemas neurobiológicos de defesa ao estresse, refletindo em diversos aspectos como imunidade e funções metabólicas essenciais para o funcionamento e manutenção da homeostasia. (FERNANDES et al., 2017; FURTADO et al., 2018).

É observado na literatura que o cérebro pode ser influenciado pelo microbioma gastrointestinal, formado por microrganismos que residem no intestino. Essa influência constitui um eixo intestino-cérebro de comunicação complexa e bidirecional, mediado por diversos estímulos imunológicos, nervosos, sanguíneos que é formado pelo sistema nervoso central, sistema nervoso autônomo, sistema nervoso entérico, eixo hipotálamo-pituitária-adrenal e microbiota intestinal, sendo a microbiota capaz de alterar comportamentos influenciando condições estressoras com desenvolvimento de patologias mentais e psiquiátricas devido mudanças da mesma. (FRANÇA, 2019; SOUZEDO et al., 2020). As bactérias que estão presentes na microbiota intestinal humana, denominado microbioma, predominam significativamente os genes humanos no corpo e são capazes de produzir uma abundância de compostos neuroativos. Esses microrganismos são parte do comportamento inconsciente do sistema regulador, e pesquisas recentes indicam que têm um impacto maior sobre a função cognitiva e padrões de comportamento fundamentais, como a interação social e a coordenação do estresse. Na ausência de microrganismos, a neuroquímica subjacente é profundamente alterada. (FURTADO et al., 2018).

O microbioma funciona como um biosistema que contém cerca de 100 trilhões de microrganismos que atuam para estabelecer a proteção intestinal e ajuda na manutenção. Tem intervenção de vários fatores, entre eles a genética, idade, sexo, dieta e, de particular interesse ultimamente, estresse. Já existe evidência de que o estresse psicológico pode aumentar a permeabilidade do revestimento gastrointestinal e, inversamente, vêm crescendo cada vez mais, tendo ênfase de que o microbioma pode ter influência e modular o comportamento emocional. (FURTADO et al., 2018)

O uso de espécies modelo de peixes tornou-se mais comum nos últimos anos devido ao fato de serem fáceis de reproduzir em cativeiro e também porque algumas de suas vias neurológicas são homólogas às de espécies de mamíferos (VALCARCE et al., 2020).

O modelo animal do peixe-zebra (*Danio rerio*) está se tornando rapidamente um organismo modelo atraente na pesquisa em neurofarmacologia devido ao seu baixo custo e facilidade de manutenção em comparação aos outros modelos de animais; além disso, os sistemas nervoso e endócrino que regulam as respostas biológicas e comportamentais ao estresse são altamente conservados. Os estados de estresse e ansiedade podem ser inferidos no modelo do peixe-zebra medindo várias respostas comportamentais, como cardume, imobilidade, movimentos erráticos e a detecção de pulos em resposta a vários estímulos, como a introdução de produtos farmacêuticos, estímulos visuais e feromônios de alarme. (ALIA e RUTHERFORD, 2019). Esse trabalho tem como objetivo buscar na literatura as interações e alterações causadas no eixo intestino-cérebro relacionadas a transtornos, principalmente ansiedade, com a utilização do zebrafish como modelo animal diante de seus inúmeros benefícios como modelo de estudo.

## 2 MÉTODO

Foi realizada uma revisão da literatura com utilização das bases de dados *Latin American and Caribbean Health Sciences Literature* (LILACS), PubMed e ScienceDirect. Os descritores utilizados foram microbiota AND zebrafish AND *anxiety*, selecionados após consulta nos Descritores em Ciência e Saúde (DeCS). Foram encontrados ao todo 172 resultados (Tabela 1.) até o dia da busca realizada em 20 de maio de 2021. Os artigos foram selecionados com base no ano de publicação (2016-2021), sem restrições de idioma, título e resumo relacionados com os nossos objetivos e leitura do trabalho completo que demonstrou ser relevante em relação à proposta do nosso trabalho. Foram excluídos trabalhos de determinada base de dados que estava em duplicata com outro (2 no total), que se distanciaram

do nosso tema por meio do título e resumo ou que não apresentavam a utilização do zebrafish como modelo animal.

**Tabela 1.** Número de trabalhos encontrados e selecionados de acordo com a base de dados.

Base de dados	Total de resultados	Excluídos pelos motivos citados.	Incluídos pelos motivos citados.
LILACS	0	0	0
PubMed	5	3	2
ScienceDirect	167	160 e 2 duplicatas	5

Fonte: Autoria própria, 2021.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após a realização da presente revisão de literatura, constatou-se que a ansiedade é um dos padrões comportamentais mais bem reproduzidos em estudos utilizando Zebrafish, que respondem a estímulos de estresse de forma semelhante aos mamíferos, tornando esse um dos modelos animais mais valiosos quando se trata de pesquisas experimentais que visam um maior entendimento das facetas neurofisiológicas por trás do transtorno.

Diversos estudos indicam a existência de uma correlação entre a microbiota intestinal humana e o desenvolvimento neurológico, compondo o eixo intestino-cérebro, bem como nos padrões de comportamento, sugerindo que alterações ambientais causadoras de estresse são fatores favoráveis à alterações no microbioma; da mesma forma, disfunções da microbiota podem vir a ser determinantes para uma boa manutenção das funções neurológicas (DAVIS et al., 2016). No zebrafish não é tão diferente, uma vez que é conhecida por regular a atividade de granulócitos heterofílicos-neutrofílicos (HNGs) e outros leucócitos no intestino dos peixes (ABREU et al., 2019).

A colonização do intestino gnotobiótico do zebrafish pela microbiota comensal aumenta os números de HNG sistêmico e a expressão da mieloperoxidase, também alterando a localização e a migração (KANTHER et al., 2014), o que impacta na homeostase no organismo dos peixes. Porém, os mecanismos envolvidos nesses processos necessitam de estudos mais concretos. Outra alteração observada nos estudos foi a comportamental, uma vez pesquisas

recentes trazem dados de que bactérias do intestino têm influência no comportamento dos peixes e várias funções do SNC, incluindo os níveis de fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) e no metabolismo da serotonina (BORRELLI et al., 2016; LI et al., 2020).

Notou-se, ainda, que fatores como ansiedade, privação de alimentação, fatores ambientais e estresse, por exemplo, são responsáveis por causar distúrbios na microbiota intestinal dos peixes-zebra promovendo um imunocomprometimento, dada a importância conferida às bactérias presentes no microbioma que confere proteção contra certos organismos patogênicos, os quais podem atacar o intestino e desregulam o sistema imunológico entérico (YANG et al, 2017). Dessa forma, a manipulação da microbiota do zebrafish também mostra resultados como uma maior resistência contra patógenos, estimulação da resposta imune, crescimento, realce e melhor estado fisiológico para o intestino; com isso, a administração de probióticos como mecanismo redutor de estresse e consequentemente de padrões comportamentais observados na TAG passou a ser de grande interesse da comunidade científica.

Experimentos utilizando essa premissa demonstraram bons resultados quanto ao uso de *Lactobacillus sp.* para o bom funcionamento do SNC, prevalentemente diminuindo o aparecimento de comportamentos relacionados à ansiedade e ao estresse, com especial destaque ao *Lactobacillus plantarum*. A suplementação contínua de *L. plantarum* em Zebrafish reduziu em níveis significativos tais comportamentos, bem como provocou alterações nos mecanismos de sinalização GABAérgico e serotoninérgico cerebrais além de mudanças na estrutura e função da microbiota intestinal dos modelos animais sem ocasionar alterações indesejadas como diminuição no número de microrganismos dominantes (DAVIS et al., 2016).

Quando observados os níveis de cortisol, um corticosteróide cuja função está relacionada a mobilização de recursos energéticos necessários para atividades resultantes a exposição ao estresse, liberado em situações estressantes por grupos controle e grupos sob a administração de probióticos à base de *L. plantarum*, entretanto, não foram obtidos dados que apontassem para uma diferença significativa na secreção do hormônio entre os organismos desses animais. A utilização de uma solução contendo cepas de *Lactobacillus rhamnosus* e *Bifidobacterium longum* como um tratamento de longo termo também mostrou resultados positivos em relação aos padrões comportamentais dos peixes, que passaram a demonstrar um baixo nível de estresse e ansiedade após a colonização de sua microbiota intestinal pelas bactérias às quais foram expostos, similarmente aos resultados obtidos quando se faz a administração de drogas ansiolíticas comumente prescritas aos humanos durante tratamentos de transtornos ansiosos (VALCARCE et al., 2020).

Ao ser realizada a administração dietética de 28 dias de um probiótico contendo *Lactobacillus rhamnosus* ICM501, o zebrafish apresenta uma redução no modelo de comportamento em cardume e maior expressão cerebral de BDNF bem como de genes envolvidos na sinalização cerebral (ABREU et al., 2019). Os perfis comportamentais da resposta ao estresse podem servir como indicadores importantes, uma vez que alterações no comportamento muitas vezes ocorrem antes das mudanças fisiológicas. Os peixes-zebra possuem a vantagem de serem vertebrados que possuem grande homologia aos humanos, promovendo uma capacidade de pesquisa de alto rendimento e ainda a utilização de um maior número de animais em comparação às pesquisas utilizando roedores, devido à sua facilidade de criação e manipulação, ciclo de vida curto e tecnologias de análise comportamental específicas da espécie. Contudo, o conhecimento geral da microbiota do zebrafish ainda é limitado, o que o torna inegavelmente promissor para mais estudos que avaliem as alterações em ambos os sistemas. A apuração feita evidencia a importância de estudos que correlacionam os sistemas nervoso e gastrointestinal para a obtenção de novas descobertas acerca das suas interações e seus impactos na homeostase, além de possíveis alternativas terapêuticas que proporcionem cada vez mais qualidade de vida.

#### 4 CONCLUSÃO

Nessa revisão pode-se observar evidências da correlação entre microbiota intestinal e ansiedade, assim como outros transtornos do humor, através do modelo animal zebrafish. Experimentos utilizando essa espécie mostrou resultados como: diminuição dos sintomas ansiosos e níveis de cortisol pós suplementação com probióticos e alterações na neurotransmissão GABAérgica e serotoninérgica, além de maiores níveis de BDNF, outrossim peixes submetidos a estresse apresentam alterações na microbiota intestinal que refletem também em um imunocomprometimento.

Ainda que existam evidências do eixo microbiota-intestino-cérebro, os mecanismos envolvidos não foram bem elucidados, sendo necessários mais estudos que explorem a modulação do microbioma intestinal e seus efeitos na sintomática da ansiedade.

Nesse cenário o *Danio rerio* emerge como modelo animal alternativo, vista sua homologia com genes humanos e similaridade com sistema nervoso central, além de suas vantagens em manipulação, condicionamento e economia.

## 5 REFERÊNCIAS

ABREU, Murilo S. de; GIACOMINI, Ana C.V.V.; SYSOEV, Maksim; DEMIN, Konstantin A.; ALEKSEEVA, Polina A.; SPAGNOLI, Sean T.; KALUEFF, Allan V.. Modeling gut-brain interactions in zebrafish. **Brain Research Bulletin**, [S.L.], v. 148, p. 55-62, maio 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.brainresbull.2019.03.003>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0361923018307743?via%3Dihub>. Acesso em: 20 maio 2021.

ALIA, Alia O.; PETRUNICH-RUTHERFORD, Maureen L.. Anxiety-like behavior and whole-body cortisol responses to components of energy drinks in zebrafish (*Danio rerio*). **PeerJ**, [S.L.], v. 7, p. 7546-3, 20 ago. 2019. PeerJ. <http://dx.doi.org/10.7717/peerj.7546>. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6707341/#ref-53>. Acesso em: 20 maio 2021.

DAVIS, Daniel J.; BRYDA, Elizabeth C.; GILLESPIE, Catherine H.; ERICSSON, Aaron C.. Microbial modulation of behavior and stress responses in zebrafish larvae. **Behavioural Brain Research**, [S.L.], v. 311, p. 219-227, set. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbr.2016.05.040>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27217102/>. Acesso em: 20 maio 2021.

DAVIS, Daniel J.; DOERR, Holly M.; GRZELAK, Agata K.; BUSI, Susheel B.; JASAREVIC, Eldin; ERICSSON, Aaron C.; BRYDA, Elizabeth C.. *Lactobacillus plantarum* attenuates anxiety-related behavior and protects against stress-induced dysbiosis in adult zebrafish. **Scientific Reports**, [S.L.], v. 6, n. 1, p. 1-11, 19 set. 2016. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/srep33726>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27641717/>. Acesso em: 20 maio 2021.

FERNANDES, Márcia Astrês; MENESES, Raíla Tôrres de; FRANCO, Samantha Luzia Guimarães; SILVA, Joyce Soares e; FEITOSA, Carla Danielle Araújo. Transtornos de ansiedade: Vivências de usuários de um ambulatório especializado em saúde mental. **Revista de Enfermagem Ufpe On Line**, Recife, v. 11, n. 10, p. 3836-3844, out. 2017. Disponível em: <https://periodicos.ufpe.br/revistas/revistaenfermagem/article/view/25366>. Acesso em: 27 maio 2021.

FORSATKAR, Mohammad Navid; NEMATOLLAHI, Mohammad Ali; RAFIEE, Gholamreza; FARAHMAND, Hamid; LAWRENCE, Christian. Effects of the prebiotic mannan-oligosaccharide on the stress response of feed deprived zebrafish (*Danio rerio*). **Physiology & Behavior**, [S.L.], v. 180, p. 70-77, out. 2017. Elsevier BV.

FRANÇA, Thaíza Barros de. **Interação entre o eixo microbiota-intestino-cérebro, dieta e transtornos de humor**: uma revisão narrativa. 2019. 33 f. TCC (Graduação) - Curso de Nutrição, Universidade Federal de Pernambuco, Vitória de Santo Antão, 2019. Disponível em: <https://repositorio.ufpe.br/handle/123456789/36993>. Acesso em: 27 maio 2021.

FURTADO, Celine de Carvalho; SILVA, Alessandra Lima Bispo da; WALFALL, Alicia Matias. PSICOBÍOTICOS: UMA FERRAMENTA PARA O TRATAMENTO NO TRANSTORNO DA ANSIEDADE E DEPRESSÃO? **Revista Unilus Ensino e Pesquisa**, Santos, v. 15, n. 40, p. 137-151, set. 2018. Disponível em: <http://revista.unilus.edu.br/index.php/ruep/article/view/1039/u2018v15n40e1039>. Acesso em: 20 maio 2021.

LI, Jiawei; DONG, Ting; KEERTHISINGHE, Tharushi P.; CHEN, Hao; LI, Ming; CHU, Wenqing; YANG, Jingfeng; HU, Zongfu; SNYDER, Shane Allen; DONG, Wu. Long-term oxytetracycline exposure potentially alters brain thyroid hormone and serotonin homeostasis in zebrafish. **Journal Of Hazardous Materials**, [S.L.], v. 399, p. 123061, nov. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.123061>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0304389420310505?via%3Dihub>. Acesso em: 20 maio 2021.

MOHANTA, Larica; DAS, Bhaskar C.; PATRI, Manorama. Microbial communities modulating brain functioning and behaviors in zebrafish: a mechanistic approach. **Microbial Pathogenesis**, [S.L.], v. 145, p. 104251, ago. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.micpath.2020.104251>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0882401020305386?via%3Dihub>. Acesso em: 20 maio 2021.

SCHUYLER, Dean. Anxiety. **The Primary Care Companion For Cns Disorders**, 13 out. 2016. Physicians Postgraduate Press, Inc. <http://dx.doi.org/10.4088/pcc.16f02039>. Disponível em: <https://www.psychiatrist.com/pcc/anxiety/anxiety/#top>. Acesso em: 18 maio 2021.

SOUZEDO, Flávia Bellesia; BIZARRO, Lisiane; PEREIRA, Ana Paula Almeida de. O eixo intestino-cérebro e sintomas depressivos: uma revisão sistemática dos ensaios clínicos randomizados com probióticos. **Jornal Brasileiro de Psiquiatria**, [S.L.], v. 69, n. 4, p. 269-276, dez. 2020. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/0047-2085000000285>.

Disponível em: <https://www.scielo.br/j/jbpsiq/a/vC7DMqRZtLcK7QmxS6NH3jM/?lang=pt>.  
Acesso em: 27 maio 2021.

VALCARCE, David G.; MARTÍNEZ-VÁZQUEZ, Juan M.; RIESCO, Marta F.; ROBLES, Vanesa. Probiotics reduce anxiety-related behavior in zebrafish. **Heliyon**, [S.L.], v. 6, n. 5, maio 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e03973>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32435716/>. Acesso em: 26 maio 2021.