

## EFEITOS PROTETORES DE *KOMAGATAELLA PASTORIS* KM71H CONTRA COMPORTAMENTOS DEPRESSIVOS E ANSIOSOS INDUZIDOS POR ESTRESSE AGUDO EM CAMUNDONGOS

LAUREN N. PUJOL<sup>1</sup>; RENATA L. DE OLIVEIRA<sup>2</sup>; RAFAELA A. XAVIER<sup>3</sup>;  
RAFAEL R. RODRIGUES<sup>4</sup>; FABRICIO R. CONCEIÇÃO<sup>5</sup>; LUCIELLI SAVEGNAGO<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas – laurennetto21@gmail.com

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – renataleivas15@hotmail.com

<sup>3</sup>Universidade Federal de Pelotas – alvaroxavierrafacla@gmail.com

<sup>4</sup>Universidade Federal de Pelotas – rafaelr458@gmail.com

<sup>5</sup>Universidade Federal de Pelotas – fabricio.rochedo@ufpel.edu.br

<sup>6</sup>Universidade Federal de Pelotas – luciellisavegnago@yahoo.com.br

### 1. INTRODUÇÃO

*Komagataella pastoris* KM71H tem sido investigada como um probiótico promissor devido à sua capacidade de modular o eixo microbiota-intestino-cérebro, atuando na redução do estresse oxidativo, na regulação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal e na diminuição da permeabilidade da barreira hematoencefálica (BIRMANN, et al., 2021). O eixo microbiota-intestino-cérebro descreve a comunicação bidirecional entre o sistema nervoso central e o trato gastrointestinal, mediada por múltiplas vias pelos microrganismos que compõem a microbiota intestinal (GRENHAM et al., 2011). Evidências crescentes indicam que alterações na microbiota intestinal contribuem para o desenvolvimento de transtornos psiquiátricos (WIEËRS et al., 2020), e sua modulação mostrou-se capaz de atenuar comportamentos do tipo depressivo (BIRMANN et al., 2021) e tipo ansioso (IKEGAMI et al., 2024).

De acordo com a Organização Mundial da Saúde, cerca de 280 milhões de pessoas em todo o mundo sofrem de depressão (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2023a), enquanto os transtornos de ansiedade representam os distúrbios psiquiátricos mais prevalentes na atualidade (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2023b). No Brasil, somente em 2024, quase meio milhão de afastamentos do trabalho foram registrados devido a transtornos mentais, como ansiedade e depressão, considerado o maior número da última década (CASEMIRO; MOURA, 2025). Esses dados evidenciam a necessidade de novas estratégias preventivas para os transtornos mentais. Nesse contexto, o presente estudo teve como objetivo investigar o efeito da *K. pastoris* KM71H, uma abordagem probiótica, na atenuação de comportamentos do tipo depressivo e ansioso induzidos pelo estresse agudo de restrição (EAR) em camundongos.

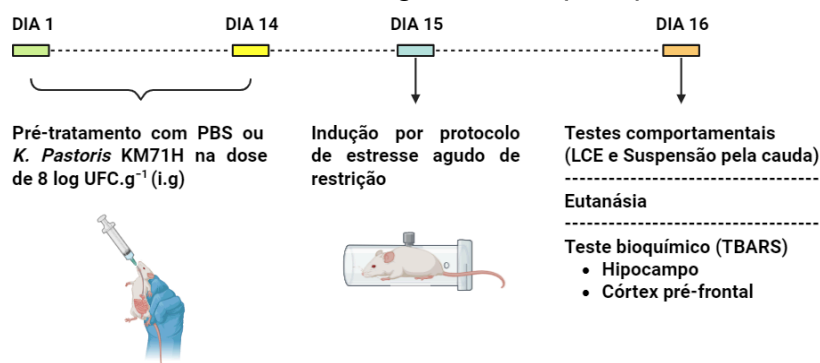
### 2. METODOLOGIA

Para a realização do protocolo experimental foram utilizados camundongos machos da raça Swiss (4 a 6 semanas - 25 e 35g). Durante o protocolo experimental, os animais foram mantidos em ciclo claro/escuro de 12 h, temperatura de 22 ± 2 °C e acesso livre a água e ração. Os procedimentos seguiram as diretrizes da Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Pelotas (CEEa 49/2024). A *K. pastoris* KM71H foi diluída em 500 µL de tampão fosfato-salino (PBS) para obtenção da concentração de 8 logs unidades formadoras de colônia (UFC).g<sup>-1</sup>.

Para avaliação da capacidade da *K. pastoris* KM71H em prevenir os efeitos tipo depressivos e tipo ansiosos induzidos pelo EAR, os animais foram tratados com 500 µL de probiótico ( $10^8$  UFC/animal) ou PBS (veículo) por via intragástrica durante 14 dias consecutivos, de acordo com o delineamento experimental (Figura 1). Os grupos experimentais foram: Controle (sem estresse + PBS), Induzido (EAR + PBS), *Per se* (sem estresse + *K. pastoris* KM71H) e Tratado (EAR + *K. pastoris* KM71H). No 15º dia, realizou-se o EAR, segundo Sousa e colaboradores (2018), com imobilização por 4 horas em aparato fenestrado, sem acesso a água e alimento. No 16º dia, os animais foram submetidos aos testes comportamentais e, em seguida, submetidos a eutanásia por sobredosagem de isoflurano para coleta do córtex pré-frontal e hipocampo, destinados à análise de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), segundo descrito por Ohkawa e colaboradores (1979).

O efeito tipo antidepressivo da *K. pastoris* KM71H foi avaliado pelo teste de suspensão pela cauda (TSC) durante 6 minutos, registrando a latência para o primeiro episódio e o tempo total de imobilidade nos últimos 4 minutos (STERU, et al., 1985). A redução no tempo de imobilidade é o parâmetro de atividade tipo antidepressiva analisado. O comportamento tipo ansioso foi avaliado no labirinto em cruz elevado (LCE), composto por dois braços abertos e dois fechados, perpendiculares, conectados por plataforma central a 40 cm do solo. Cada animal explorou o aparato por 5 minutos, registrando-se número de entradas, tempo de permanência e número de mergulhos nos braços abertos (RODGERS e DALVI, 1997).

A análise estatística foi realizada no *GraphPad Prism* 8.0, utilizando ANOVA de duas vias seguida do teste de *Tukey*. Os dados foram expressos como média ± erro padrão da média e considerados significativos para  $p < 0,05$ .



**Figura 1.** Delineamento experimental do projeto. PBS - tampão fosfato-salino; i.g - intragástrico; LCE - labirinto em cruz elevado; TBARS - espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico; UFC - unidades formadoras de colônia.

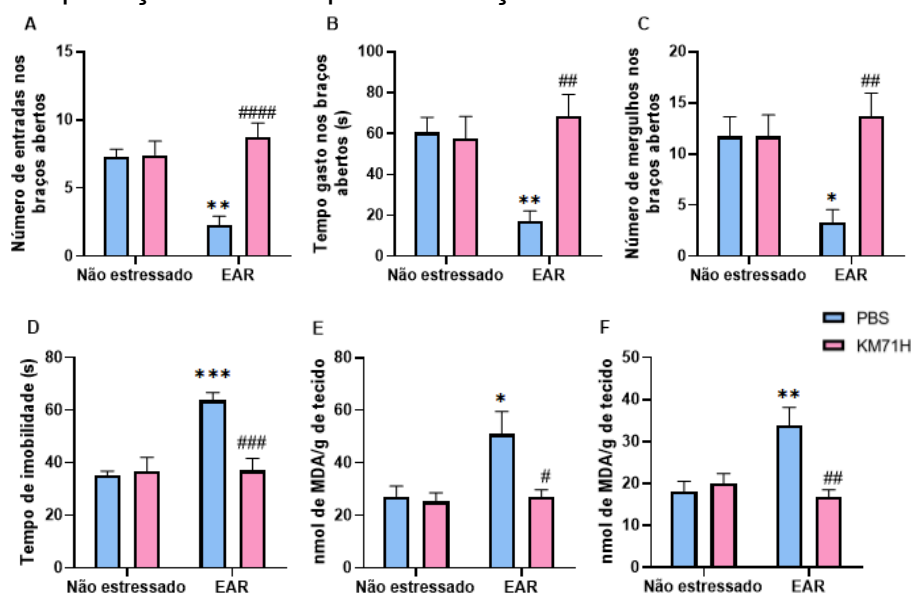
### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com os resultados, o EAR reduziu significativamente o número de entradas, o tempo de permanência nos braços abertos e o número de mergulhos no LCE em comparação ao grupo controle. O pré-tratamento com *K. pastoris* KM71H preveniu o comportamento tipo ansioso induzido pelo EAR (Figuras 2A–2C). No TSC, o EAR aumentou significativamente o tempo de imobilidade, indicando comportamento do tipo depressivo. Esse efeito foi prevenido pelo pré-tratamento com *K. pastoris* KM71H (Figura 2D). Não houve diferença significativa na latência para o primeiro episódio de imobilidade.

De acordo com os marcadores bioquímicos, o EAR também elevou significativamente os níveis de peroxidação lipídica no hipocampo e no córtex pré-frontal, enquanto o pré-tratamento com *K. pastoris* KM71H evitou esse aumento (Figuras 2E e 2F). A peroxidação lipídica, quantificada por meio do teste de TBARS, reflete a degradação de fosfolipídios de membranas celulares e é um marcador clássico de estresse oxidativo (BARBOSA et al., 2010).

A produção de espécies reativas constitui um processo fisiológico essencial; entretanto, sob condições de estresse exacerbado, como o induzido pelo EAR, pode ocorrer estresse oxidativo, caracterizado pela incapacidade das defesas antioxidantes em neutralizar o excesso dessas espécies. No sistema nervoso central, a elevada taxa metabólica, o alto conteúdo lipídico e a limitada disponibilidade de antioxidantes tornam o encéfalo particularmente suscetível a danos oxidativos, favorecendo alterações associadas a transtornos neuropsiquiátricos, incluindo depressão e ansiedade (BOUAYED et al., 2009; PIZZINO et al., 2017).

Assim, os resultados indicam que a ação tipo antidepressiva e tipo ansiolítica da *K. pastoris* KM71H podem estar relacionadas à manutenção dos níveis de peroxidação lipídica no córtex pré-frontal e hipocampo, sugerindo um mecanismo de proteção mediado pela atenuação do estresse oxidativo.



**Figura 2.** Efeito de *K. Pastoris* KM71H no teste do labirinto em cruz elevado, no teste da suspensão pela cauda e na avaliação bioquímica no TBARS em camundongos machos submetidos ao EAR. Número de entradas nos braços abertos (A), tempo gasto nos braços abertos (B) e número de mergulhos nos braços abertos no LCE (C), tempo de imobilidade no TSC (D) e determinação de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico em amostras de hipocampo (E) e córtex pré-frontal (F). Os dados estão expressos em média  $\pm$  erro padrão da média (n=6-7). (\*)  $p < 0,05$ , (\*\*)  $p < 0,01$  e (\*\*\*)  $p < 0,001$  quando comparado com o grupo controle. (#)  $p < 0,05$ , (##)  $p < 0,01$ ; (###)  $p < 0,001$  e (####)  $p < 0,0001$  quando comparado com o grupo induzido.

#### 4. CONCLUSÕES

Em conclusão, a administração de *K. pastoris* KM71H apresentou efeito do tipo antidepressivo e tipo ansiolítico em camundongos estressados. A prevenção do aumento da peroxidação lipídica no hipocampo e no córtex pré-frontal parece constituir um mecanismo relevante para tais efeitos. Esses achados apontam a *K. pastoris* KM71H como uma abordagem promissora na prevenção de comportamentos do tipo depressivo e tipo ansioso, embora estudos adicionais sejam necessários para esclarecer os mecanismos subjacentes à sua ação.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARBOSA, Kiriague Barra Ferreira et al. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de nutrição**, v. 23, p. 629-643, 2010.

BIRMANN, Paloma T. et al. Komagataella pastoris KM71H modulates neuroimmune and oxidative stress parameters in animal models of depression: A proposal for a new probiotic with antidepressant-like effect. **Pharmacological Research**, v. 171, p. 105740, 2021.

BOUAYED, Jaouad; RAMMAL, Hassan; SOULIMANI, Rachid. Oxidative stress and anxiety: relationship and cellular pathways. **Oxidative medicine and cellular longevity**, v. 2, n. 2, p. 63-67, 2009.

CASEMIRO, Poliana; MOURA, Rayane. Crise de saúde mental: Brasil tem maior número de afastamentos por ansiedade e depressão em 10 anos. **G1 - Trabalho e Carreira**, 10 mar. 2025. Disponível em: <https://g1.globo.com/trabalho-e-carreira/noticia/2025/03/10/crise-de-saude-mental-brasil-t-tem-maior-numero-de-afastamentos-por-ansiedade-e-depressao-em-10-anos.ghtml>. Acesso em: 14 mar. 2025.

DOMINGUES, Micaela et al. Effects of a selanylimidazopyridine on the acute restraint stress-induced depressive-and anxiety-like behaviors and biological changes in mice. **Behavioural Brain Research**, v. 366, p. 96-107, 2019.

GRENHAM, Sue et al. Brain–gut–microbe communication in health and disease. **Frontiers in physiology**, v. 2, p. 16175, 2011.

IKEGAMI, Mion et al. Intervention in gut microbiota increases intestinal  $\gamma$ -aminobutyric acid and alleviates anxiety behavior: a possible mechanism via the action on intestinal epithelial cells. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 14, p. 1421791, 2024.

OHKAWA, Hiroshi; OHISHI, Nobuko; YAGI, Kunio. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. **Analytical biochemistry**, v. 95, n. 2, p. 351-358, 1979.

PIZZINO, Gabriele et al. Oxidative stress: harms and benefits for human health. **Oxidative medicine and cellular longevity**, v. 2017, n. 1, p. 8416763, 2017.

RODGERS, R. J.; DALVI, Allan. Anxiety, defence and the elevated plus-maze. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 21, n. 6, p. 801-810, 1997.

SOUSA, Fernanda Severo Sabedra et al.  $\alpha$ -(phenylselanyl) acetophenone abolishes acute restraint stress induced-comorbid pain, depression and anxiety-related behaviors in mice. **Neurochemistry international**, v. 120, p. 112-120, 2018.

STERU, Lucien et al. The tail suspension test: a new method for screening antidepressants in mice. **Psychopharmacology**, v. 85, n. 3, p. 367-370, 1985.

WIEËRS, Grégoire et al. How probiotics affect the microbiota. **Frontiers in cellular and infection microbiology**, v. 9, p. 454, 2020.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Depressive disorder (depression). **WHO**, 31 de mar. de 2023a. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/depression>. Acesso em: 12 de ago. de 2025.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Anxiety disorders. **WHO**, 27 de set. de 2023b. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/anxiety-disorders>. Acesso em: 12 de ago. de 2025.