

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA MULTICÊNTRICO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FISIOLÓGICAS**

GEORGIANNA DE ARAÚJO HENRIQUES FERREIRA

**EFEITOS DA INTERVENÇÃO COM UMA FORMULAÇÃO PROBIÓTICA DE
Limosilactobacillus fermentum SOBRE A MICROBIOTA INTESTINAL E OS
PARÂMETROS CARDIOMETABÓLICOS EM RATOS**

JOÃO PESSOA - PB

2021

GEORGIANNA DE ARAÚJO HENRIQUES FERREIRA

**EFEITOS DA INTERVENÇÃO COM UMA FORMULAÇÃO PROBIÓTICA DE
Limosilactobacillus fermentum SOBRE A MICROBIOTA INTESTINAL E
PARÂMETROS CARDIOMETABÓLICOS EM RATOS**

Dissertação apresentada ao Programa Multicêntrico de Pós-graduação em Ciências Fisiológicas da Sociedade Brasileira de Fisiologia – SBFis, associada ao Centro de Biotecnologia da Universidade Federal da Paraíba (Cbiotec-UPFB), como parte dos requisitos para obtenção do título de MESTRE EM CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS.

Orientador: Prof. Dr. José Luiz de Brito Alves

JOÃO PESSOA - PB

2021

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

F383e Ferreira, Georgianna de Araújo Henriques.
Efeitos da intervenção com uma formulação probiótica de *Limosilactobacillus fermentum* sobre a microbiota intestinal e os parâmetros cardiometabólicos em ratos / Georgianna de Araújo Henriques Ferreira. - João Pessoa, 2021.
69 f. : il.

Orientação: José Luiz de Brito Alves.
Dissertação (Mestrado) - UFPB/CBiotec.

1. Dislipidemia. 2. Probióticos. 3. Microbiota intestinal. 4. Hiperatividade simpática. 5. Hipertensão arterial. I. Alves, José Luiz de Brito. II. Título.

UFPB/BC

CDU 616.1(043)

RESUMO

A Hipertensão Arterial Sistêmica é uma doença crônica não transmissível de etiologia multifatorial. O estilo de vida sedentário associado à um contexto alimentar rico em ácidos graxos saturados (AGS) e açúcares culmina em dislipidemias, as quais podem favorecer o desenvolvimento da HAS. Por sua vez, a HAS desenvolvida em um quadro dislipidêmico é associada com alterações qualitativas e quantitativas do microbioma intestinal, caracterizando a disbiose intestinal. Alterações sistêmicas surgem junto à disbiose intestinal, como o aumento do estresse oxidativo, inflamação e hiperatividade simpática, refletindo em maiores níveis de pressão arterial (PA). O microbioma intestinal pode ser recuperado a partir da inoculação de bactérias com potencial probiótico e essa modulação intestinal pode afetar órgãos de controle da PA, visto que em estudos experimentais anteriores probióticos atenuaram a disfunção autonômica e em estudos clínicos reduziram fatores de risco para doenças cardiovasculares. Cepas de *Limosiactobacillus fermentum* apresentaram boas características probióticas (agregação, antagonismo, adesão, entre outras) e exerceram papel hipolipemiante em ratos, no entanto a atuação em distúrbios cardiovasculares e metabólicos não foi estudada. Por isso, o presente estudo investigou os efeitos da administração de uma formulação probiótica de *L. fermentum* (cepas 139, 263 e 296) sobre os parâmetros cardiorrespiratórios, metabólicos e alterações na microbiota intestinal de ratos aos 90 dias alimentados com uma dieta rica em AGS. Ratos *Wistar* (n=18) adultos com 90 dias foram alimentados com dieta controle (CTL) ou dieta rica em AGS (high-fat diet, HFD). Os animais foram divididos em 3 grupos: grupo controle (CTL: n=6); grupo dieta rica em AGS + formulação probiótica de *L. fermentum* 139, 263 e 296 (HFD-LF: n=6); grupo dieta rica em AGS (HFD: n=6). A administração das cepas de *L. fermentum* (10⁹ UFC/mL de cada cepa) foi realizada diariamente via gavagem do 90º ao 120º dia de vida. Ao 120º dia de vida, as fezes foram coletadas para análise da microbiota fecal, nas amostras de sangue foram quantificados colesterol total (CT), lipoproteína de alta densidade (HDL-colesterol), lipoproteína de baixa densidade (LDL-colesterol), triglicerídeos (TG) e foi feito o teste de tolerância à insulina (TII). Parâmetros cardiovasculares foram obtidos a partir do registro da PA e da frequência cardíaca (FC) em níveis basais e após administração de hexametônio

(fármaco bloqueador ganglionar do sistema nervoso simpático; dosagem 25mg/kg) para avaliar a contribuição do tônus simpático. A variabilidade da FC e PA foi avaliada em condições basais. O grupo HFD-LF apresentou níveis séricos de TG, CT e LDL-colesterol menores, maior concentração plasmática de HDL-colesterol e menor área sob a curva do TII após receber o tratamento da formulação probiótica de *L. fermentum* por 4 semanas, quando comparado ao grupo HFD ($p<0.05$). Os níveis de PA foram menores no grupo HFD-LF em relação ao grupo HFD ($p<0.05$), mas sem alteração da FC ($p>0.05$). Na análise espectral, a formulação probiótica com *L. fermentum* preveniu um aumento nas oscilações de LF da pressão arterial sistólica (PAS) e a razão LH/HF do intervalo cardíaco do grupo HFD-LF ($p<0.05$) em relação ao grupo HFD. No entanto, o tratamento não interferiu em oscilações de HF e na sensibilidade espontânea do barorreflexo em comparação ao grupo HFD ($p>0.05$). Após administração do hexametônio, o aumento do tônus vasomotor foi prevenido nos animais do grupo HFD-LF em relação ao grupo HFD ($p<0.05$). Considerando a composição da microbiota intestinal, foi encontrada baixa riqueza e baixa diversidade no grupo HFD-LF em relação ao CTL. No grupo HFD, a dieta rica em AGS aumentou a abundância relativa de bactérias que prejudicam integridade intestinal, como as ordens *Enterobacteriales*, e *Campylobacteriales*, as famílias *Clostridiaceae*, *Peptostreptococcaceae* e demonstrou uma correlação positiva com as espécies *Ruminococcus torques* e *Ruminococcus gnavus*, as quais também prejudicam a função de barreira intestinal. Em adição, a dieta rica em AGS reduziu a abundância relativa de bactérias que favorecem a integridade intestinal, como as famílias *Lachnospiraceae*, outras espécies de *Ruminococcaceae*, *Erysipelotrichaceae*, e as ordens *Mollicutes* RF39, *Gastranaerophilales* do grupo HFD em relação ao grupo CTL. Após a administração de *L. fermentum* foi encontrada menor abundância de bactérias que afetam o microbioma intestinal *Campylobacteriales*, *Helicobacteraceae* e correlação negativa com *Ruminococcus gnavus* e *Ruminococcus torques*. Foi encontrada correlação positiva com bactérias que fortalecem a barreira intestinal, como *Ruminococcaceae*_UCG-004. O tratamento com formulação probiótica de *L. fermentum* melhorou a composição da microbiota intestinal, atenuou desordens no perfil lipídico, preveniu a resistência à insulina e a hiperatividade simpática em ratos alimentados com uma dieta rica em AGS.

Palavras-chave: Dislipidemia. Microbiota intestinal. Hiperatividade simpática. Probióticos. Hipertensão arterial.

ABSTRACT

Systemic Arterial Hypertension is a chronic, non-communicable disease of multifactorial etiology. The sedentary lifestyle associated with a food context rich in saturated fatty acids (SFA) and sugars culminates in dyslipidemia, which can favor the development of SAH. In turn, SAH developed in a dyslipidemic setting is associated with qualitative and quantitative changes in the intestinal microbiome, characterizing intestinal dysbiosis. Systemic alterations appear together with intestinal dysbiosis, such as increased oxidative stress, inflammation and sympathetic hyperactivity, reflecting higher levels of blood pressure (BP). The intestinal microbiome can be recovered from the inoculation of bacteria with probiotic potential and this intestinal modulation can affect BP control organs, as in previous experimental studies probiotics attenuated the autonomic dysfunction and in clinical studies they reduced risk factors for cardiovascular diseases. *Limosiactobacillus fermentum* strains showed good probiotic characteristics (aggregation, antagonism, adhesion, among others) and exerted a lipid-lowering role in rats, however, their role in cardiovascular and metabolic disorders has not been studied. Therefore, the present study investigated the effects of administering a probiotic formulation of *L. fermentum* (strains 139, 263 and 296) on cardiorespiratory and metabolic parameters and changes in the intestinal microbiota of rats at 90 days fed a diet rich in AGS. Wistar rats (n=18) adults aged 90 days were fed either a control diet (CTL) or a diet rich in AGS (high-fat diet, HFD). The animals were divided into 3 groups: control group (CTL: n=6); group diet rich in AGS + probiotic formulation of *L. fermentum* 139, 263 and 296 (HFD-LF: n=6); High AGS diet group (HFD: n=6). The administration of *L. fermentum* strains (109 CFU/mL of each strain) was performed daily via gavage from the 90th to the 120th day of life. On the 120th day of life, feces were collected for analysis of fecal microbiota, blood samples were quantified total cholesterol (TC), high-density lipoprotein (HDL-cholesterol), low-density lipoprotein (LDL-cholesterol), triglycerides (TG) and the insulin tolerance test (TII) was performed. Cardiovascular parameters were obtained from the recording of BP and heart rate (HR) at baseline levels and after administration of hexamethonium (a sympathetic nervous system ganglion blocker; dosage of 25mg/kg) to assess the contribution of sympathetic tone. The

variability of HR and BP was evaluated under baseline conditions. The HFD-LF group had lower serum levels of TG, TC and LDL-cholesterol, higher plasma concentration of HDL-cholesterol and smaller area under the TII curve after receiving the treatment with the probiotic formulation of *L. fermentum* for 4 weeks, when compared to the HFD group ($p < 0.05$). The BP levels were lower in the HFD-LF group compared to the HFD group ($p < 0.05$), but with no change in HR ($p > 0.05$). In the spectral analysis, the probiotic formulation with *L. fermentum* prevented an increase in the LF oscillations of the systolic blood pressure (SBP) and the LH/HF ratio of the cardiac interval of the HFD-LF group ($p < 0.05$) compared to the HFD group. However, the treatment did not interfere with HF oscillations and spontaneous baroreflex sensitivity compared to the HFD group ($p > 0.05$). After administration of hexamethonium, the increase in vasomotor tone was prevented in animals from the HFD-LF group compared to the HFD group ($p < 0.05$). Considering the composition of the intestinal microbiota, low richness and low diversity were found in the HFD-LF group in relation to the CTL. In the HFD group, the AGS-rich diet increased the relative abundance of bacteria that impair intestinal integrity, such as the Enterobacteriales and Campylobacterales orders, the Clostridiaceae, Peptostreptococcaceae families and showed a positive correlation with the *Ruminococcus torques* and *Ruminococcus gnavus* species, which also impair intestinal barrier function. In addition, the AGS-rich diet reduced the relative abundance of bacteria that favor intestinal integrity, such as the Lachnospiraceae families, other Ruminococcaceae species, Erysipelotrichaceae, and the orders Mollicutes RF39, Gastranaerophilales from the HFD group compared to the CTL group. After the administration of *L. fermentum*, a lower abundance of bacteria that affect the intestinal microbiome Campylobacterales, Helicobacteraceae and a negative correlation with *Ruminococcus gnavus* and *Ruminococcus torques* was found. A positive correlation was found with bacteria that strengthen the intestinal barrier, such as Ruminococcaceae_UCG-004. Treatment with *L. fermentum* probiotic formulation improved the composition of the intestinal microbiota, attenuated disorders in the lipid profile, prevented insulin resistance and sympathetic hyperactivity in rats fed a diet rich in AGS.

Keywords: Dyslipidemia. Intestinal microbiota. Sympathetic hyperactivity. Probiotics. Arterial hypertension.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Esquema do estudo experimental.....	32
Figura 2. Avaliação do perfil lipídico após administração da formulação probiótica de <i>L. fermentum</i> em ratos alimentados com uma dieta rica em AGS.....	37
Figura 3. Avaliação do teste de tolerância à insulina após administração da formulação probiótica de <i>L. fermentum</i> em ratos alimentados com uma dieta rica em AGS.....	38
Figura 4. Traçado representativo da pressão arterial pulsátil, pressão arterial média e frequência cardíaca em condições basais nos grupos CTL, HF, e HF+LF.....	39
Figura 5. Avaliação de parâmetros cardiovasculares após administração da formulação probiótica de <i>L. fermentum</i> em ratos alimentados com uma dieta rica em AGS: pressão arterial sistólica (PAS) (A), pressão arterial diastólica (PAD) (B), pressão arterial média (PAM) (C), frequência cardíaca (FC) (D).....	39
Figura 6. Avaliação de parâmetros cardiovasculares após administração da formulação probiótica de <i>L. fermentum</i> em ratos alimentados com uma dieta rica em AGS: ondas de baixa frequência da análise espectral da PA (LF) (A); ondas de alta frequência (HF) (B); a razão LF/HF (LF/HF) (C); sensibilidade barorreflexa espontânea (SBRS) (D).	40
Figura 7. Avaliação de parâmetros cardiovasculares após administração da formulação probiótica de <i>L. fermentum</i> em ratos aos 90 dias expostos a uma dieta rica em AGS: variação da pressão arterial média (Δ PAM).....	42
Figura 8. Efeitos da formulação com <i>L. fermentum</i> no tônus simpático em ratos alimentados com uma dieta rica em AGS.....	42

Figura 9. Mapa de calor dos grupos taxonômicos mais significativamente diferentes em abundância nos ratos CTL, HFD e HFD-LF.....	47
---	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição nutricional dietética (g/100g).....	30
Tabela 2. Amostras, acesso ao NCBI Biosample, códigos de filtros de qualidade e sequências aplicados pelo software Trimmomatic (0,36).....	43
Tabela 3. Número de OTUs, ACE, Chao1, Índice de Shannon e Simpson obtidos para os grupos CTL, HFD e HFD-LF.....	44
Tabela 4. Abundância relativa da ordem bacteriana aferida da análise de sequenciamento do gene 16S rRNA para todos os grupos.....	45
Tabela 5. Abundância relativa da família bacteriana aferida da análise de sequenciamento do gene 16S rRNA para todos os grupos.	46

LISTA DE ABREVIATURAS

- ABP** - Ácidos Biliares Primários
- AGCC** – Ácidos Graxos de Cadeia Curta
- AGS** – Ácido Graxo Saturado
- CO₂** – Gás carbônico
- CT** – Colesterol Total
- CTL** – Controle
- CV** - Capacitância venosa
- DC** – Débito Cardíaco
- DCNT** - Doença crônica não transmissível
- DLP** – Dislipidêmico
- EROS** – Espécies Reativas de Oxigênio
- FC** – Frequência Cardíaca
- HAS** – Hipertensão Arterial Sistêmica
- HDL** – Lipoproteína de alta densidade (*High Density Lipoprotein*)
- HF** – *High Frequency*
- HFD** – *High fat diet*
- HFD-LF** – *High fat diet + L. fermentum*
- IDL** - Lipoproteínas de densidade intermediária
- IP** – Intervalo de Pulso
- L. fermentum*** – *Lactobacillus fermentum*
- LDL** – Lipoproteína de baixa densidade (*Low Density Lipoprotein*)
- LF** – *Low Frequency*
- LF/HF** - Razão baixa frequência: alta frequência ou razão simpátovagal
- LPL** - Lipases lipoproteicas
- LPS** – Lipopolissacarídeo
- NAV** – Nodo Atrioventricular
- NSA** – Nodo Sinoatrial
- NTS** – Núcleo do Trato Solitário
- PA** – Pressão Arterial
- PAD** – Pressão Arterial Diastólica
- PAM** – Pressão Arterial Média
- PAP** – Pressão Arterial Pulsátil

PAS – Pressão Arterial Sistólica

RLDL - Receptores celulares de LDL

RNAm - Ácido Ribonucleico Mensageiro

RPVT – Resistência Vascular Periférica Total

RV – Retorno Venoso

RVLM - Medula Rostroventrolateral

RVPT - Resistência vascular periférica total

SBRS - Sensibilidade barorreflexa espontânea

SNS - Sistema Nervoso Simpático

TG – Triglicerídeos

UFC – Unidades Formadoras de Colônias

VDL – Lipoproteína de muito baixa densidade (*Very Low Density Lipoprotein*)

VS – Volume sistólico

LISTA DE SIGLAS

AIN – Instituto Americano de Nutrição

CEUA – Comitê Institucional de Cuidado e Uso de Animais de Laboratório

CONCEA – Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal

FAO – Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura

OMS – Organização Mundial da Saúde

UFPB – Universidade Federal da Paraíba

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	16
2.1 METABOLISMO DOS LIPÍDIOS E DISLIPIDEMIAS	16
2.1.1 Digestão e metabolismo lipídico.....	16
2.1.2 Fisiopatologia das dislipidemias	17
2.2 HIPERTENSÃO ARTERIAL SISTÊMICA E FISIOLOGIA	
CARDIOVASCULAR.....	18
2.2.1 Componentes do sistema cardiovascular	19
2.2.2 O valor da pressão arterial	20
2.2.3 Mecanismos de controle da pressão e SNA.....	20
2.2.4 Hipertensão arterial sistêmica	21
2.3 MICROBIOTA INTESTINAL E SUA INFLUÊNCIA NA PRESSÃO	
ARTERIAL.....	21
2.3.1 Microbioma intestinal.....	21
2.3.2 Disbiose intestinal	24
2.3.3 HAS e Disbiose Intestinal.....	25
2.4 DISLIPIDEMIA, MICROBIOTA INTESTINAL E RESISTÊNCIA	
INSULÍNICA	26
2.5 PROBIÓTICOS.....	26
3 OBJETIVOS.....	29
3.1 OBJETIVO GERAL	29
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	29
4 PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS.....	30
4.1 ANIMAIS E ASPECTOS ÉTICOS	30
4.2 DIETAS.....	30
4.3 CEPAS DE <i>L. fermentum</i>.....	31
4.4 PREPARAÇÃO DA FORMULAÇÃO PROBIÓTICA DE <i>L. fermentum</i>	31
4.5 GRUPOS EXPERIMENTAIS	31
4.6 ADMINISTRAÇÃO DA FORMULAÇÃO PROBIÓTICA	31
4.7 TESTE DE TOLERÂNCIA À INSULINA	32
4.8 DETERMINAÇÃO DOS PARÂMETROS CARDIOVASCULARES	
BASAIS E ENSAIO PARA MEDIÇÕES SÉRICAS	32
4.9 AVALIAÇÃO DO TÔNUS SIMPÁTICO	33
4.10 ANÁLISE DA MICROBIOTA INTESTINAL	33
4.11 ANÁLISES ESTATÍSTICAS	34
5 RESULTADOS.....	36
5.1 INFLUÊNCIA DA FORMULAÇÃO PROBIÓTICA <i>L. fermentum</i> NO	
PERFIL LIPÍDICO.....	36

5.2 INFLUÊNCIA DA FORMULAÇÃO PROBIÓTICA <i>L. fermentum</i> NO TESTE DE TOLERÂNCIA À INSULINA	37
5.3 PARÂMETROS CARDIOVASCULARES APÓS ADMINISTRAÇÃO DA FORMULAÇÃO PROBIÓTICA <i>L. fermentum</i>	38
5.4 INFLUÊNCIA DA FORMULAÇÃO PROBIÓTICA <i>L. fermentum</i> SOBRE A MICROBIOTA INTESTINAL	43
.....	45
6 DISCUSSÃO	47
7 CONCLUSÃO	55

1 INTRODUÇÃO

O padrão de dieta ocidental tem sido descrito como fator de risco de doenças cardiovasculares e metabólicas, tais como dislipidemias, diabetes melitos tipo 2 e hipertensão arterial sistêmica (HAS). Estudos clínicos e em animais sugerem que os prejuízos na composição e na diversidade bacteriana da microbiota intestinal, caracterizado como disbiose intestinal, a partir dessa alimentação ocidentalizada podem estar implicados no desenvolvimento e na manutenção da HAS (JAMA et al., 2019; JAMA; KAYE; MARQUES, 2019; LI et al., 2017a; WANG et al., 2021).

Considerando a disbiose intestinal, a função de barreira do intestino é prejudicada, havendo maior permeabilidade e translocação de endotoxinas e do próprio lipopolissacarídeo (LPS) bacteriano para a circulação sistêmica (HERSOU; MØLLER; LOFT, 2016; SIRCANA et al., 2018; TORAL et al., 2014). Repercussões sistêmicas como a inflamação crônica de baixo grau e a maior produção de radicais livres, sobretudo espécies reativas de oxigênio (EROS) podem favorecer um aumento do tônus vascular e hiperatividade simpática, e consequentemente, interferir na pressão arterial (PA) (BENJAMIN et al., 2019; CHAN, S.; CHAN, J., 2012; DE OLIVEIRA et al., 2020).

Estudos experimentais têm demonstrado que a modulação intestinal com administração de probióticos pode ser uma estratégia eficaz na prevenção e/ou redução de distúrbios cardiovasculares e metabólicos, notadamente pela evidenciada redução dos níveis séricos de glicose, colesterol, triglicerídeos e de PA (CAVALCANTE et al., 2019; DE OLIVEIRA et al., 2020; ETTINGER et al., 2014; GÓMEZ-GUZMÁN et al., 2015). Tais evidências têm estimulado a identificação e a caracterização de cepas potencialmente probióticas capazes de reduzir distúrbios cardiometabólicos.

Nesta perspectiva, estudos anteriores isolaram de frutas e caracterizaram, *in vitro*, três cepas de *L. fermentum* como potencialmente probióticas, a conhecer: *L. fermentum* 139, 263 e 296. Todas as três cepas apresentaram aptidões como potenciais candidatas ao uso como probióticos em um conjunto de propriedades relacionadas à funcionalidade, como funcionalidades fisiológicas de adesão, agregação, coagregação, antagonismo

à patógenos e sobrevivência à exposição em condições gastrointestinais simuladas, além de apresentar ausência de atividades hemolíticas e mucolíticas e resistência a antibióticos (DE ALBUQUERQUE et al., 2018).

Em estudos clínicos, efeitos positivos foram demonstrados das cepas de *L. fermentum* sobre fatores de risco para doenças cardiovasculares, papel antioxidante e melhora do perfil inflamatório (KULLISAAR et al., 2016; LIU et al., 2017a).

Essas descobertas sugeriram, para nós, que cepas de *L. fermentum* derivadas de frutas poderiam ser boas candidatas para inclusão em estudos *in vivo* adicionais para avaliar seus efeitos benéficos à saúde e confirmar seu potencial para aplicação como novos probióticos. Nesse sentido, estudos prévios do nosso laboratório demonstraram que administração de 1 cepa de *L. fermentum* 296 ou uma formulação com as 3 cepas de *L. fermentum* exerceram efeitos hipolipemiantes em ratos (DE ALBUQUERQUE et al., 2018; DE OLIVEIRA et al., 2020).

Apesar dos achados promissores *in vivo*, ainda não se conhecida se a formulação de *L. fermentum* poderia modular a composição da microbiota intestinal e atenuar distúrbios cardiovasculares e metabólicos em ratos alimentados com dieta rica em ácidos graxos saturados (AGS). Por isso, o objetivo do estudo foi avaliar os efeitos da administração da formulação probiótica contendo *L. fermentum* 139, 263 e 296 sobre os parâmetros bioquímicos e sensibilidade à insulina, microbiota intestinal, pressão arterial, frequência cardíaca e modulação autonômica em ratos alimentados com uma dieta rica em AGS. A hipótese testada no presente estudo foi que a administração de *L. fermentum* 139, 263 e 296 por 4 semanas melhora a composição da microbiota intestinal e previne disfunção autonômica e metabólicas em ratos alimentados com uma dieta rica em AGS.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 METABOLISMO DOS LIPÍDIOS E DISLIPIDEMIAS

2.1.1 Digestão e metabolismo lipídico

Os lipídios desempenham diversas funções biológicas como comunicação celular, função estrutural e síntese de hormônios podendo ser

obtidos por fontes dietéticas ou pela biossíntese endógena (HAN, 2016; WINDMUELLER; SPAETH, 1972). No processo digestivo, após hidrólise das gorduras pelas lipases, a bile é ejetada no duodeno para emulsificá-las formando as micelas, as quais são absorvidas pelos enterócitos (BAYNES; DOMINICZAK, 2015). A síntese hepática da bile engloba ácidos biliares primários (ABP), colesterol, fosfolipídios e bilirrubina (BAYNES; DOMINICZAK, 2015).

A partir dos enterócitos, os ácidos graxos de cadeia longa são empacotados em quilomícrons, os quais são liberados por exocitose na linfa até alcançar a circulação venosa (BAYNES; DOMINICZAK, 2015; WINDMUELLER; SPAETH, 1972). Nos vasos, as lipases lipoproteicas (LPL) clivam os quilomícrons liberando ácidos graxos para os tecidos e os quilomícrons remanescentes retornam ao fígado onde sofrem metabolização (OLIVECRONA, 2016; WINDMUELLER; SPAETH, 1972).

No fígado são sintetizadas lipoproteínas ricas em triglicerídeos juntamente com apoproteínas, sendo chamadas de lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL), e liberadas na circulação sanguínea para serem clivadas pela LPL (DONNELLY et al., 2005; RADDING; BRAGDON; STEINBERG, 1958). São formadas as VLDL remanescentes, as quais retornam ao fígado e uma parte é hidrolisada pela triglicerídeo lipase hepática originando as lipoproteínas de baixa densidade (LDL), moléculas densas, ricas em colesterol, pobres em triglicerídeos e pequenas (BAYNES; DOMINICZAK, 2015; SURGI; TARG; ROBINSON, 1978; TADA et al., 2019).

A partir do fígado, lipoproteínas que captam e transportam colesterol dos tecidos também são formadas, são as chamadas lipoproteínas de alta densidade (HDL) (BEN-AICHA; BADIMON; VILAHUR, 2020; RADDING; BRAGDON; STEINBERG, 1958). As HDL possuem papel antiaterogênese removendo LDL oxidadas, estimula a produção de óxido nítrico, o que favorece a vasodilatação, tem propriedades antioxidantes, anti-trombóticas, antidiabéticas e imunomoduladoras (AUSTIN et al., 1990; BEN-AICHA; BADIMON; VILAHUR, 2020).

2.1.2 Fisiopatologia das dislipidemias

A dislipidemia é uma desordem do metabolismo lipídico caracterizada pela alta concentração plasmática de colesterol e/ou suas frações (colesterol total e LDL-C), hipertrigliceridemia e/ou em conjunto com a diminuição do HDL-C (GAU; WRIGHT, 2006).

Segundo a Atualização da Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção de Aterosclerose, as dislipidemias podem ser primárias, a partir de fatores genéticos, ou secundárias, modulada pela alimentação e estilo de vida (SBC, 2017).

O estilo de vida com o padrão de dieta ocidental (elevado consumo de gordura saturada e *trans*, açúcares e sódio) predispõe um quadro dislipidêmico e aumenta o risco de doenças cardiovasculares (HU et al., 1997; RODRÍGUEZ-MONFORTE et al., 2017). Nesse sentido, ocorre um acúmulo de quilomícrons remanescentes no plasma e produção excessiva de VLDL a partir do fígado, o que culmina em altos níveis de lipoproteínas aterogênicas, como a LDL susceptível à oxidação, triglicerídeos e diminuição de HDL, a chamada “tríade lipídica” (GRUNDY, 1998; HAN, 2016; HAVEL, 1994). Consequentemente, favorece a disfunção endotelial e aterogênese, aumentando o risco cardiovascular (JACKSON; POPPITT; MINIHANE, 2012; LIBBY, 2002). Em indivíduos dislipidêmicos, além de um quadro inflamatório há maior atividade de enzimas pró-oxidantes, liberando mais EROS que, por sua vez, contribuem para a lesão e remodelação vascular (HUANG et al., 2013).

Estudos experimentais mostram associação positiva entre fatores pró-oxidantes e o desenvolvimento da HAS, sugerindo que um desequilíbrio oxidativo pode causar dano em órgãos-chave do controle da PA, envolvendo, possivelmente, uma hiperatividade simpática (CHAN, S.; CHAN, J., 2012; DE BRITO ALVES et al., 2016a; GUIMARÃES et al., 2017). Nessa perspectiva, uma dieta em AGS pode contribuir no desenvolvimento da HAS (CAVIERES et al., 2014; SACHIDANANDAM et al., 2009).

2.2 HIPERTENSÃO ARTERIAL SISTÊMICA E FISIOLOGIA CARDIOVASCULAR

A HAS é caracterizada por elevações persistentes e permanentes dos valores de PA e, sendo uma doença crônica não transmissível (DNCT) de origem multifatorial, demanda de maiores possibilidades terapêuticas não

medicamentosas, com o objetivo de diminuir sua prevalência e aumentar sua taxa de controle (SBC, 2017). A dislipidemia sendo um fator de risco para a HAS, é necessário compreender os mecanismos que envolvem as alterações da fisiologia cardiovascular e, conseqüentemente, dos valores de PA.

2.2.1 Componentes do sistema cardiovascular

O sistema cardiovascular é responsável por gerar um fluxo sanguíneo adequado para os tecidos ao longo da circulação sistêmica, e possibilita o equilíbrio gasoso arterial através da troca com o ambiente na circulação pulmonar, tendo como força propulsora uma bomba que é o coração (AIRES, 2008). Este sofre contração a partir da atividade elétrica espontânea das suas células autoexcitáveis, o nodo atrioventricular (NAV) e nodo sinoatrial (NSA) possibilitando ejeção ventricular na aorta e artéria pulmonar (AIRES, 2008; PARK; FISHMAN, 2011).

A partir da aorta os vasos se ramificam em pequenas artérias, arteríolas e capilares e a partir dos tecidos se convergem em vênulas e veias do sistema venoso, o qual impulsiona o fluxo sanguíneo de volta ao coração (AIRES, 2008; HALL; GUYTON, 2017). No compartimento arterial, o fluxo sanguíneo depende da resistência vascular periférica total (RVPT), ou seja, o somatório das resistências dos vasos nos tecidos periféricos, que, por sua vez, influencia os níveis da PA (HALL; GUYTON, 2017; WANG et al., 2006). As arteríolas e os esfíncteres pré-capilares constituem os principais sítios de resistência do sistema vascular. O sistema nervoso simpático (SNS) é o principal componente que regula a vasoconstrição, atuando também na venoconstrição reduzindo a capacitância venosa (CV), ou seja, reduz a capacidade das veias de reter volume, aumentando o retorno venoso (RV) ao coração (AIRES, 2008; HALL; GUYTON, 2017; HENRIKSEN, 1991).

A partir da contração do miocárdio, o volume sistólico (VS; sangue ejetado) depende do estiramento das paredes intraventriculares no final da diástole (chamado de pré-carga), da contratilidade do coração (que depende da inervação simpática) e da resistência à ejeção que o ventrículo precisa superar no sentido oposto (chamado de pós-carga) (AIRES, 2008).

A quantidade de sangue que é bombeada pelos ventrículos em uma unidade de tempo compõe o débito cardíaco (DC), sendo calculado pelo produto do VS pela frequência cardíaca (FC), já o fluxo que retorna ao coração através da circulação venosa é chamado de RV (MAGDER, 2016). A RVPT pode afetar o DC e o RV, visto que uma diminuição da RVPT aumenta o RV, e o estímulo simpático por aumentar a excitabilidade cardíaca aumenta o DC e o RV (HALL; GUYTON, 2017).

2.2.2 O valor da pressão arterial

A PA é expressa em força/unidade de área, sendo determinada pelo volume ejetado pelo coração nas artérias, a elasticidade das paredes das artérias e a saída de sangue do leito arterial para o sistema venoso, o que o possibilita seu retorno ao átrio direito (MAGDER, 2018). É uma variável física que depende do volume sanguíneo no leito arterial e da sua expansão neste leito a partir da contração cíclica do coração, o que mantém a força motriz da circulação sanguínea em um sistema fechado (AIRES, 2008).

A pressão arterial média (PAM) é proporcional ao fluxo sanguíneo do DC multiplicado pela resistência das arteríolas. Na sístole, a PA atinge seu valor máximo, chamado de pressão arterial sistólica (PAS) e conforme a pressão aórtica diminui até o final da diástole chega a um valor mínimo, chamado de pressão arterial diastólica (PAD). A diferença entre a PAS e a PAD determina o pulso arterial (ou pressão arterial pulsátil, PAP), sendo gerado, portanto, pela dilatação da aorta após a ejeção do ventrículo e se propaga na circulação arterial até chegar nas arteríolas (AIRES, 2008; HALL; GUYTON, 2017).

O valor da PA é determinado pelo produto entre o DC e a RVPT: por conseguinte o DC é determinado pela FC e pelo VS, e a RVPT depende, sobretudo, do tônus simpático (AIRES, 2008; HALL; GUYTON, 2017).

2.2.3 Mecanismos de controle da pressão e SNA

O controle da PA é realizado por mecanismos de controle a curto prazo, os quais são neuro-humonais envolvendo receptores periféricos, como os barorreceptores, mecanorreceptores e quimiorreceptores; assim como mecanismos de longo prazo, que envolvem a regulação do volume de líquido

extracelular e o sistema renina angiotensina (GUYTON et al., 1969; MAGDER, 2018).

Em cada alteração da PA, os barorreceptores e cardiopulmonares, disparam sinais nervosos através dos nervos vagos e glossifaríngeos ativando o centro de controle cardiovascular bulbar (no núcleo do trato solitário, NTS) (ANDRESEN; KUNZE, 1994). Com a integração dos sinais nervosos, as vias autonômicas eferentes (simpáticas ou parassimpáticas) são ativadas produzindo efeito modulatório sobre parâmetros cardiovasculares, como FC, VS, RVPT, RV e CV (GOURINE et al., 2016). Com uma diminuição da PA, o SNA emite sinais simpáticos no coração aumentando sua força de contração e velocidade de relaxamento, o que aumenta o VS e o DC; enquanto nos vasos aumenta a vasoconstrição que eleva a RVPT, e a venoconstrição que reduz a CV e aumenta o RV. Ou seja, há um aumento do DC e da RVPT elevando a PA aos níveis normais (AIRES, 2008; GOURINE et al., 2016; HALL; GUYTON, 2017).

2.2.4 Hipertensão arterial sistêmica

No Brasil, a principal causa de morte por doenças cardiovasculares, a HAS abrange 32,5%, sobretudo nos idosos, já no âmbito mundial acomete 13% dos óbitos (OMS, 2010; SBC, 2017). Na maioria dos casos, a principal alteração é o aumento da RVPT, e ocorre concomitantemente à elevação crônica da PAM e a PAP. O aumento da RVPT aumenta a pós-carga, o que culmina na maior força de contração ventricular para manter o DC (AIRES, 2008).

Um prejuízo impactante na regulação da PA é a adaptação dos barorreceptores carotídeos e aórticos ao seu nível mais elevado. Dessa forma, a faixa de ativação dos mesmos é deslocada pra cima e o centro de controle cardiovascular bulbar aceita a alta PA como um valor dentro da normalidade (AIRES, 2008; HALL; GUYTON, 2017).

2.3 MICROBIOTA INTESTINAL E SUA INFLUÊNCIA NA PRESSÃO ARTERIAL

2.3.1 Microbioma intestinal

Microbiota abrange a população de microorganismos que coexiste com hospedeiros e, no corpo humano, coloniza o intestino, onde usufrui de grande disponibilidade de nutrientes (NEISH, 2009). A microbiota intestinal participa da digestão fermentando carboidratos para produzir ácidos graxos de cadeia curta (AGCC, sobretudo acetato, propionato e butirato), compete com microorganismos patogênicos (sintetizando peptídeos antimicrobianos, como as defensinas), estimula a produção de mucina que protege o epitélio intestinal, o que estabelece relações comensais com o hospedeiro (CORR et al., 2007; HOOPER; MIDTVEDT; GORDON, 2002). Os AGCC, particularmente o butirato, fortalecem a função de barreira intestinal, regulam a ativação do sistema imune e pode ter papel no controle da PA, visto que tem correlação negativa com a PAS em quadros de obesidade (FURUSAWA et al., 2013; GOMEZ-ARANGO et al., 2016; MERCADO et al., 2013).

Conforme descrito pela Organização Mundial de Gastroenterologia (2017), cerca de 90% da microbiota intestinal é composta por bactérias dos filos *Firmicutes* e *Bacteroidetes* e a ampla variedade microbiana pode sofrer alterações por insultos ambientais, como o estilo de vida e o contexto alimentar, o que resulta em estado de saúde ou doença no hospedeiro (OMG, 2017; ROBLES-VERA et al., 2017).

Considerando o microbioma intestinal, a família *Ruminococcaceae*, do filo *Firmicutes*, apresenta diversidade bacteriana que abrange gêneros com potencial probiótico, como a *Ruminococcaceae* UCG-004 a qual aumenta a produção de butirato, *Ruminococcaceae* UCG-014 correlacionada negativamente com doenças metabólicas em humanos e com dietas ricas em AGS. Assim como também abrange espécies com potencial patogênico, como a *Ruminococcaceae torques* e *gnavus group* relacionados com a inflamação e maior permeabilidade intestinal (HE et al., 2018; MANCABELLI et al., 2017; ZHAO et al., 2017). Elevada abundância relativa de *Ruminococcaceae* e *Lachnospiraceae* produtores de butirato foi associada à redução de bactérias gram-negativas contendo LPS em sua composição, o que por sua vez reduz a inflamação crônica de baixo grau (KANG et al., 2017).

Na família *Lachnospiraceae*, os membros são anaeróbicos, fermentativos e quimioorganotróficos, algumas espécies possuem atividade de hidrólise com atuação das enzimas pectina metil-esterase, pectato liase, beta-galactosidase,

alfa-amilase, hidrolisando amido e outros açúcares para produzir AGCC, sobretudo butirato, e podem contribuir contra patógenos resistentes à medicamentos (SORBARA et al., 2020; VACCA et al., 2020).

Nas famílias *Erysipelotrichaceae*, *Ruminococcaceae* e *Lachnospiraceae* do filo *Firmicutes*, bactérias produzem hidrolase de sais biliares os quais desconjugam o ácido biliar primário em secundário no intestino aumentando a excreção de bile nas fezes, o que pode contribuir para um efeito hipocolesterolêmico (FIORUCCI; DISTRUTTI, 2015).

Peptostreptococcus stomatis e *anaerobius* também do filo *Firmicutes* são comensais orais e intestinais com possível potencial patogênico, visto que foram associadas positivamente ao câncer cólon retal cujo mecanismo ainda não está claro na literatura. No entanto, o ambiente pró-inflamatório pode estar implicado na tumorigênese das células do cólon (LONG et al., 2019; SHEN et al., 2021).

Os gêneros da família *Christensenellaceae* do filo *Firmicutes* conferem benefícios ao hospedeiro e a abundância relativa foi correlacionada negativamente com a obesidade (WATERS; LEY, 2019).

A ordem *Bacteroidales* do filo *Bacteroidetes* também se correlaciona negativamente com a obesidade, enquanto o filo *Firmicutes* é favorecido em oferta nutricional com padrão ocidental (HILDEBRANDT et al., 2009; LEY et al., 2005). Baixa riqueza da ordem *Bacteroidales* pode ter um impacto negativo sobre a imunidade do hospedeiro, visto que espécies como a *Bacteroides fragilis* medeia o desenvolvimento do sistema imunológico (MAZMANIAN et al., 2005).

Já dentro do filo *Proteobacteria*, bactérias da ordem *Campylobacterales* como o *Helicobacter* foram correlacionadas positivamente com a disfunção epitelial da mucosa do cólon, o que aumenta a permeabilidade e, consequentemente, favorece o quadro de disbiose intestinal (QIAN; HUANG; QIN, 2020). Da mesma ordem, o *Campylobacter jejuni* é um patógeno entérico causador de gastroenterites em humanos que apresenta resistência à antibióticos (LEHRI; SEDDON; KARLYSHEV, 2017).

No filo *Proteobacteria*, a ordem *Enterobacteriales* abrange o gênero *Escherichia coli* a qual pode apresentar potencial patogênico e o seu supercrescimento está correlacionado com doenças inflamatórias intestinais, além do enriquecimento desta ordem está associado à depleção de

microorganismos comensais anaeróbios produtores de AGCC (LUPP et al., 2007; RÍOS-COVIÁN et al., 2016).

A ordem *Gastranaerophilales* do grupo *Terrabacteria* demonstra uma correlação negativa com níveis de triglicerídeos, colesterol total e LDL, assim como parâmetros de inflamação e endotoxemia, como LPS, fator de necrose tumoral-alfa, interleucina-6, interleucina 1-B. A riqueza intestinal dessa ordem favorece a expressão gênica de peptídeos antimicrobianos e de ocludina, a qual faz parte das *tight junctions* (proteínas das zonas de oclusão das células intestinais) fortalecendo a função de barreira intestinal (GAO et al., 2020).

O microbioma intestinal favorece respostas imunológicas à alergias alimentares dependendo da abundância relativa de seus componentes, e a riqueza da família *Mollicutes* do filo *Tenericutes* está associada à redução da resposta alérgica, promove a proliferação de células Treg e a manutenção da integridade da mucosa (ATARASHI et al., 2013; SMIT et al., 2011).

2.3.2 Disbiose intestinal

Mudanças nas proporções entre grupos bacterianos no microbioma intestinal podem causar um desequilíbrio referido como disbiose intestinal, o qual culmina em doenças sistêmicas (WALKER et al., 2011; YAN et al., 2017). A redução da diversidade, maior abundância relativa de bactérias do filo *Proteobacteria* em detrimento de bactérias probióticas, como *Bifidobacterium*, *Akkermansia* e *Flavobacterium*, caracterizam a disbiose (WALKER et al., 2011). Esta pode ser mensurada pela diversidade alfa e beta, teste de disbiose, número de táxons relevantes e razão de *Firmicutes* e *Bacteroidetes* (WEI et al., 2021).

Por sua vez, as dietas ricas em AGS favorecem a sobrevivência de bactérias mucinolíticas, patogênicas (*Enterobacteriaceae* e *Clostridium*) em detrimento do gênero *Bifidobacterium*, o qual fortaleceria a função de barreira intestinal; além de reduzir os genes que codificam as *tight junctions* e aumentar a produção de LPS, o que, consequentemente, aumenta a permeabilidade intestinal (CAVALCANTI NETO et al., 2018; NAGPAL; YADAV, 2017; NETTO CANDIDO; BRESSAN; ALFENAS, 2018).

Por conseguinte, há uma maior passagem de metabólitos, endotoxinas e LPS através do intestino, os quais acarretam em alterações metabólicas a nível

hepático, imunológico e sistêmico, como aumento do estresse oxidativo, resistência insulínica e inflamação crônica de baixo grau (CAVALCANTI NETO et al., 2018; GANGARAPU et al., 2014; ROBLES-VERA et al., 2017; YAN et al., 2017).

Considerando o contexto alimentar, substituir os AGS por gordura insaturada modula positivamente a microbiota intestinal, favorecendo o aumento de *Actinobacteria*, bactérias produtoras de ácido láctico e *Akkermansia muciniphila*, o que previne a inflamação (CAESAR et al., 2015).

2.3.3 HAS e Disbiose Intestinal

A disbiose intestinal é comumente associada à HAS, no entanto os mecanismos pelos quais estão envolvidos continuam sendo estudados. Sabe-se que em quadros hipertensivos há um aumento da razão *Firmicutes/Bacteroidetes*, maior sobrevivência de microorganismos oportunistas, diminuição da produção de AGCC (DALIRI; LEE; OH, 2017; DURGAN et al., 2016; YAN et al., 2017). Além disso, há prejuízo no comprimento das vilosidades intestinais e número de células caliciformes, maior permeabilidade intestinal, desencadeando cascatas inflamatórias (LIU et al., 2017b; ROBLES-VERA et al., 2020).

Estudos têm mostrado que em estado hipertensivo, a modulação do microbioma intestinal através da intervenção com probióticos diminui os níveis de PA (CAVALCANTE et al., 2019; ROBLES-VERA et al., 2020). Embasando nossa hipótese, estudos experimentais anteriores identificaram cepas de *L. fermentum* atenuando a hiperatividade simpática, evitando a disfunção autonômica e o estresse oxidativo, o que por sua vez reduziu a PA (DE OLIVEIRA et al., 2020). Gómez-guzmán e colaboradores observaram cepas de *L. fermentum* melhorando a disfunção endotelial, o estresse oxidativo vascular e reduzindo também PA em modelos animais de hipertensão genética (GÓMEZ-GUZMÁN et al., 2015). Embora os mecanismos pelos quais elas atuem permaneçam obscuros, é evidente o potencial probiótico dessa espécie bacteriana na regulação da pressão arterial.

Além disso, a administração de probióticos também tem potencial terapêutico nas dislipidemias, regulação do perfil glicídico, benefícios no

metabolismo hepático dos macronutrientes, melhora de parâmetros renais e de marcadores de estresse oxidativo (DE BRITO ALVES et al., 2016b).

2.4 DISLIPIDEMIA, MICROBIOTA INTESTINAL E RESISTÊNCIA INSULÍNICA

No metabolismo da glicose, a insulina favorece sua entrada na célula para ser metabolizada e um prejuízo no mecanismo de ação da insulina aumenta a produção insulínica pancreática, o que induz o desenvolvimento de uma resistência insulínica (RI) (BIDDINGER et al., 2008).

Embora a insulina seja secretada, na RI a hiperglicemia persiste após refeição rica em carboidratos devido a baixa captação pelos tecidos. Consequentemente há queda na síntese de glicogênio hepático/muscular e aumento da gliconeogênese (síntese de glicose a partir de outros substratos). Além disso, o glucagon continua sendo secretado pelo pâncreas, que deveria ser suprimido pela insulina, e a gliconeogênese permanece elevada, mantendo a hiperglicemia e retroalimentação positiva da secreção de insulina (SHAH et al., 2003).

Por sua vez, o elevado consumo de AGS favorece a RI ativando receptores *toll-like* (TLRs) no tecido adiposo e fígado com ação pró-inflamatória, ativando vias que prejudicam a cascata intracelular e aumentando produção de EROS, que prejudica a ação insulínica no receptor (CHAVEZ; SUMMERS, 2003; KOSKA et al., 2016; SHAH et al., 2003).

Considerando a microbiota, transplantes fecais de indivíduos magros para obesos melhora a sensibilidade à insulina, assim como favorece sobrevivência de bactérias produtoras de butirato, mostrando que uma modulação da microbiota intestinal tem repercussões no metabolismo glicídico (VRIEZE et al., 2012).

2.5 PROBIÓTICOS

Segundo a Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO) e a Organização Mundial de Saúde (OMS), probióticos são

definidos como microorganismos vivos que quando ingeridos em quantidades adequadas conferem benefícios à saúde do hospedeiro (OMS, 2001).

Dentre as espécies de bactérias probióticas mais utilizadas estão os *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* e *Lactococcus*, no entanto, o gênero *Lactobacillus* é considerado padrão de referência em probióticos (SALVETTI; TORRIANI; FELIS, 2012; WILKINS; SEQUOIA, 2017). Deste gênero, as bactérias *Lactobacillus fermentum* pertencem ao filo *Firmicutes*, classe *Bacilli*, ordem *Lactobacillales*, são ácido-lático heterofermentativas obrigatórias capazes de produzir exopolissacarídeos (EPS). Estes componentes apresentam potencial prebiótico, antioxidante, anti-inflamatório, imunomodulatório e competem com bactérias patogênicas (CASTRO-BRAVO et al., 2018; DI CAGNO et al., 2008; LIM et al., 2017; MUKDSI et al., 2012). Os EPS podem ser responsáveis por várias propriedades funcionais dessa cepa e outras que os produzem, no entanto, maiores elucidações são necessárias na literatura.

Estudos clínicos demonstram efeito positivo das cepas de *L. fermentum* sobre fatores de risco para doenças cardiovasculares, atenua o estresse oxidativo e o perfil inflamatório, melhorando o estado de saúde do hospedeiro (KULLISAAR et al., 2016; LIU et al., 2017a).

Em estudos experimentais, a administração de *L. fermentum* reduziu os níveis de PA através da mudança do microbioma intestinal, tanto pelo aumento da biodisponibilidade de NO quanto pela redução da inflamação no endotélio vascular e do estresse oxidativo (WANG et al., 2009; GÓMEZ-GUZMÁN et al., 2015; ROBLES-VERA et al., 2018; TORAL et al., 2018).

Corroborando com esses achados, o nosso grupo de pesquisa elucidou em trabalhos anteriores a redução da PA, efeito hipocolesterolêmico e melhora do estresse oxidativo após administração de *L. fermentum* em modelos experimentais expostos à dislipidemia (CAVALCANTE et al., 2019; DE OLIVEIRA et al., 2020).

Nessa perspectiva, Albuquerque et al. (2017) elucidou um bom potencial probiótico *in vitro* de várias cepas de *L. fermentum* isoladas de subprodutos de frutas, com destaque apresentado pelas cepas: *L. fermentum* 139 (extraída da manga *Mangifera indica*); a *L. fermentum* 263 (extraída do abacaxi *Ananas comosus*); e a cepa de *L. fermentum* 296 (extraída do morango *Fragaria vesca*). (DE ALBUQUERQUE et al., 2017).

Sendo assim, o presente trabalho busca de elucidar alterações em parâmetros cardiometabólicos a partir da modulação do microbioma intestinal com administração dessas cepas probióticas, o que pode contribuir para o avanço dos estudos de terapias não-medicamentosas para o controle da HAS e dislipidemias.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Investigar os efeitos da administração de uma formulação probiótica contendo *L. fermentum* 139, 263 e 296 sobre os níveis de pressão arterial, parâmetros metabólicos e análise da microbiota intestinal em ratos alimentados com uma dieta rica em AGS.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Nos ratos alimentados com uma dieta rica em AGS por 4 semanas e tratados com uma formulação de *L. fermentum*:

- Avaliar o perfil lipídico mensurando valores séricos de colesterol total, triglicerídeos, LDL-colesterol, HDL-colesterol;
- Analisar a sensibilidade à insulina através do teste de tolerância à insulina;
- Avaliar a pressão arterial e frequência cardíaca em condições basais através da canulação da artéria femoral;
- Analisar a função autonômica cardiovascular após injeção intravenosa do bloqueador ganglionar hexametônio;
- Investigar o perfil da composição do microbioma intestinal através do sequenciamento do gene 16S rRNA das fezes.

4 PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS

4.1 ANIMAIS E ASPECTOS ÉTICOS

Foram utilizados 18 ratos Wistar (*Rattus norvegicus*) com 90 dias de idade provenientes do biotério do departamento de nutrição da Universidade Federal de Pernambuco e alocados no Centro de Biotecnologia (CBIOTEC) da Universidade Federal da Paraíba (UFPB). Os animais foram mantidos em gaiolas coletivas de polipropileno em ambiente com temperatura ($22 \pm 1^\circ\text{C}$) e umidade (50-55%) controladas, sendo nutridos com água filtrada e ração *ad libitum*, em ciclo claro-escuro de 12 horas. O protocolo experimental foi submetido e aprovado pelo Comitê Institucional de Cuidado e Uso de Animais de Laboratório (protocolo CEUA-UFPB 6080240418) da Universidade Federal da Paraíba seguindo as orientações do Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA).

4.2 DIETAS

A dieta dislipidêmica (DLP) e a dieta controle (CTL) AIN-93M foram confeccionadas pela empresa *Rhoster* (Araçoiaba da Serra, SP, Brasil). A composição nutricional das dietas CTL e DLP estão apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1. Composição nutricional dietética (g/100g)		
Nutrientes	Dieta Controle	Dieta dislipidêmica
Caseína (85%)*	20	19.86
Amido dextrinizado	13	15.5
Celulose	5	5
Sacarose	10	6
Amido de milho	39.7	33.6
Óleo de soja	7	3
Banha de porco	0	6
Gordura vegetal	0	5
hidrogenada		
Ácido cólico	0	0.5
(Sigma)		
Colesterol (Sigma)	0	0.5
Colina	0.25	0.25
Metionina	0.3	0.3
Formulação de	1	1
vitaminas		
Formulação de	3.5	3.5
minerais		
T-BHQ	0.014	0.014

*A caseína possui 85% de pureza (sendo 85 g de caseína realmente, em cada 100 g).

4.3 CEPAS DE *L. fermentum*

As cepas de *L. fermentum* 139, *L. fermentum* 263 e *L. fermentum* 296 foram gentilmente fornecidas pelo Laboratório de Microbiologia de Alimentos do Departamento de Nutrição da UFPB (João Pessoa, Brasil). Os estoques foram armazenados a -20 ° C em caldo Mann, Rogosa and Sharpe (MRS) (HiMedia, Mumbai, Índia) contendo glicerol (Sigma-Aldrich, St. Louis, EUA; 20 mL / 100mL).

4.4 PREPARAÇÃO DA FORMULAÇÃO PROBIÓTICA DE *L. fermentum*

A suspensão de células probióticas foi obtida a partir de culturas durante 24 horas de crescimento em caldo MRS (Himedia, Mumbai, Índia) e incubadas anaerobicamente (Anaerobic System Anaerogen, Oxoid Ltda., Wade Road, UK) a 37 °C, de acordo com estudos anteriores (CAVALCANTE et al., 2019; DE OLIVEIRA et al., 2020). As suspensões de células mistas com contagens viáveis de aproximadamente 9 log UFC / mL foram obtidas de cada cepa probiótica na proporção de 1: 1: 1.

4.5 GRUPOS EXPERIMENTAIS

Os animais foram divididos nos seguintes grupos experimentais: grupo controle (CTL: n=6) o qual recebeu a ração AIN-93M (Rhoster®, Araçoiaba da Serra, SP, Brasil); grupo dieta rica em AGS ou *High-Fat* (HFD: n=6) que recebeu a dieta DLP proveniente também da empresa *Rhoster Company*; grupo dieta rica em AGS + formulação probiótica de *L. fermentum* 139, 263 e 296 (HFD-LF: n=6) o qual recebeu a dieta DLP associada à intervenção com a formulação probiótica.

4.6 ADMINISTRAÇÃO DA FORMULAÇÃO PROBIÓTICA

O grupo CTL e HFD recebeu solução PBS como placebo enquanto o grupo HFD + *L. fermentum* recebeu intervenção com a formulação probiótica de

L. fermentum (296, 263, 195). A administração de PBS ou formulação de *L. fermentum* foi feita por gavagem 1 vez ao dia do 90° ao 120° dia de vida dos animais.

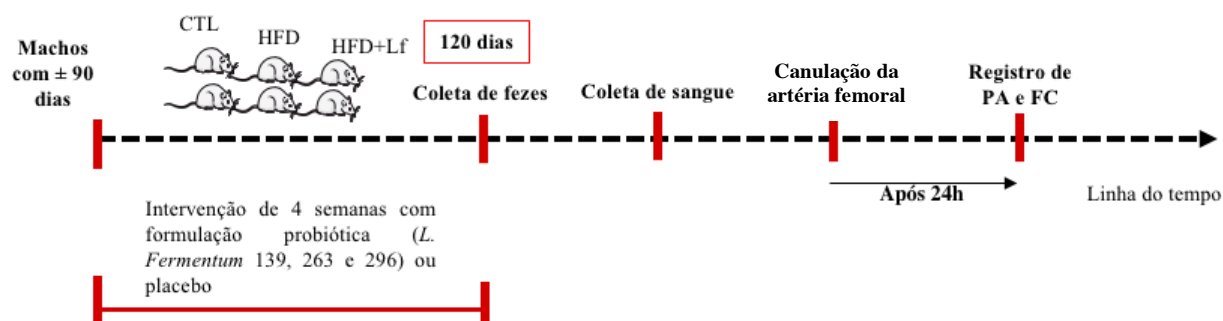


Figura 1. Esquema do estudo experimental. CTL: grupo alimentado com dieta controle. HFD + LF: grupo alimentado com dieta rica em AGS e tratamento com *L. fermentum* 139, 263, 296. HFD: grupo alimentado com dieta rica em AGS. PA: Pressão Arterial. FC: Frequência Cardíaca.

4.7 TESTE DE TOLERÂNCIA À INSULINA

Após 8h de jejum, os animais foram submetidos ao teste de tolerância à insulina (TTI) com a administração intraperitoneal de insulina (0,75 UI/kg de peso corporal). As concentrações de glicose, a partir das amostras sanguíneas coletadas pela cauda dos animais, foram medidas antes da administração (0 min) e após 30, 60, 90 e 120 min (GUIMARÃES et al., 2017). Todas as medições da concentração de glicose capilar foram realizadas com um glicosímetro Accu-Check (Bayer®, São Paulo, Brasil).

4.8 DETERMINAÇÃO DOS PARÂMETROS CARDIOVASCULARES BASAIS E ENSAIO PARA MEDIÇÕES SÉRICAS

Pelo menos 48 h após os experimentos TTI, os ratos foram anestesiados com cloridrato de cetamina (80 mg / kg, i.p.) e xilazina (10 mg / kg, i.p.) para inserção de cateteres de polietileno na artéria e veia femoral. 2 mL de sangue foram coletados do cateter venoso para medidas bioquímicas. O sangue foi centrifugado a 5.000 g, 25 ° C, por 15 min e as dosagens séricas das concentrações de colesterol total, colesterol HDL, colesterol LDL e triglicerídeos foram realizadas utilizando kits colorimétricos enzimáticos apropriados de acordo com as instruções do fabricante (Bioclin, Belo Horizonte - Minas Gerais - Brasil).

Os cateteres foram exteriorizados subcutaneamente pela nuca e cetoprofeno (5 mg / kg) foi injetado também por via subcutânea. Os ratos foram submetidos a um período de recuperação cirúrgica por 24 horas. Após este período, os ratos estavam saudáveis e sem sinais clínicos de dor ou angústia. A PA e a FC foram registradas em animais conscientes conectando a cânula arterial a um transdutor de pressão (ML866 / P, ADInstruments, Power Lab, Bella Vista, NSW, Austrália), conforme descrito anteriormente (DE BRITO ALVES et al., 2014). A PAP e a FC foram registradas por 40-60 min sob condições basais, e os valores da PAS), PAD, PAM e FC foram calculados off-line por seleção de 10 min para cada animal (LabChart™ Pro, ADInstruments, Bella Vista, NSW, Austrália).

Usando o mesmo período de 10 min de registros de PA e FC basais, análises espectrais no domínio da frequência da PAS e do intervalo de pulso (IP) foram avaliadas por meio de um software computacional apropriado (CardioSeries-v.2.4; www.danielpenteado.com). Os espectros de PAS foram integrados nas bandas LF (0,2-0,75 Hz) e HF (0,75-3 Hz). Além disso, a relação LF / HF do IP foi usada para avaliar o índice simpático-vagal. Por último, a sensibilidade barorreflexa espontânea (SBRS) foi calculada usando um método de sequência.

4.9 AVALIAÇÃO DO TÔNUS SIMPÁTICO

A contribuição do tônus vascular simpático para o sistema cardiovascular foi avaliada por injeção intravenosa do bloqueador ganglionar hexametônio (30 mg / kg, Sigma-Aldrich®, St Louis, MO, EUA). O tônus simpático foi calculado pelas mudanças na PAM (Δ PAM).

4.10 ANÁLISE DA MICROBIOTA INTESTINAL

O DNA total foi extraído do conteúdo cecal com o kit QIAmp DNA Stool e estocado em -80 C. Para o perfil da composição do microbioma, a região hipervariável (V3-V4) do gene 16S rRNA bacteriano foi amplificada usando o guia de preparação da biblioteca de sequenciamento metagenômico Illumina 16S. O gene 16S foi amplificado usando o amplificador direto correspondente às seguintes sequências: 338F-

5'TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGCCTAGGGNGGCWGCA
G3'

e

785R-

5'GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGGACTACHVGGGTATC
TAATCC3'.

Usando leituras emparelhadas de 300 bp e reagentes MiSeq v3, as extremidades foram sobrepostas para gerar leituras completas de alta qualidade das regiões V3 e V4. Mais de 100.000 leituras por amostra foram geradas, comumente reconhecidas como suficientes para pesquisas metagenômicas. O sequenciamento foi realizado no equipamento Illumina Miseq (Neoprospecta Consultoria e Pesquisa SA, Santa Catarina, Brasil).

As sequências resultantes foram concluídas, filtradas com qualidade, agrupadas e taxonomicamente atribuídas com base no nível de similaridade de 97% em relação ao RDP (Ribosomal Database Project) usando o pacote de software QIIME (Versão 1.9.1) (Knight Lab, San Diego, CA, EUA). As sequências foram selecionadas para estimar a diversidade bacteriana total das amostras de DNA de uma maneira comparável e foram aparadas para remover códigos de barras, primers, quimeras, plasmídeos, DNA mitocondrial e quaisquer leituras bacterianas não 16S e sequências <150 bp.

Agrupamento hierárquico e mapas de calor representando os padrões de abundância e valores de log foram construídos dentro do pacote de software estatístico "R" (versão 3.6.0; <https://www.r-project.org/>) usando os pacotes "pheatmap", "heatmap.2" e "ggplots". Os dados foram usados para avaliar a riqueza usando QIIME: índices de diversidade α , riqueza de Chao1 e índices de diversidade de Shannon e OTUs observados.

4.11 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os resultados foram expressos como média $\pm$ desvio padrão. O teste de Kolmogorov Smirnov foi usado para avaliar a normalidade dos dados. Os dados cardiometabólicos e a alfa diversidade exigiram teste paramétrico ANOVA *one-way* e pós-teste de Tukey. ANOVA *two-way* foi usada em curvas do teste de tolerância à insulina. A análise estatística foi realizada utilizando o software

computacional Prism 6 (GraphPad Software, San Diego, CA). A diferença foi considerada significativa quando $p < 0.05$.

O teste de Kruskal-Wallis foi usado para determinar diferenças estatisticamente significativas entre as atribuições de metabolização do 16S RNA bacteriano das fezes de animais suplementados com dietas diferentes usando o software XLSTAT (versão 2020.1.3. Adinsoft, Paris, França). As leituras de sequência bruta foram colocadas no *Sequence Read Archive of the National Centre for Biotechnology Information* (NCBI) sob o Bio-Project ID PRJNA PRJNA724720.

5 RESULTADOS

5.1 INFLUÊNCIA DA FORMULAÇÃO PROBIÓTICA *L. fermentum* NO PERFIL LIPÍDICO

Ao avaliar o perfil lipídico, o protocolo experimental utilizando a dieta rica em AGS por 4 semanas desenvolve dislipidemia nos animais. Os níveis de colesterol do grupo HFD estão maiores quando comparados ao grupo CTL ($162,8 \pm 29,22$ vs. $46,5 \pm 6,99$ mg/dL, $p < 0.05$, Figura 2A).

Comparando os níveis de LDL-colesterol, o grupo HFD apresenta maior concentração que o grupo CTL ($134,7 \pm 28,17$ vs. $13,75 \pm 12,78$ mg/dL, $p < 0.05$, Figura 2B). No grupo HFD, a concentração de triglicerídeos também foi maior que o grupo CTL ($66,09 \pm 18,56$ vs. $45,85 \pm 12,85$ mg/dL, $p < 0.05$, Figura 2C). O nível plasmático de HDL-colesterol no grupo HFD é menor quando comparado ao grupo CTL ($14,45 \pm 4,8$ vs. $26,92 \pm 4,4$ mg/dL $p < 0.05$, Figura 2D).

Após 4 semanas de administração da formulação probiótica de *L. fermentum*, no grupo HFD-LF houve uma prevenção do aumento dos níveis de colesterol ao comparar com o grupo HFD ($118,6 \pm 22,65$ vs. $162,8 \pm 29,22$ mg/dL, $p < 0.05$, Figura 2A).

A concentração plasmática de LDL-colesterol do grupo HFD-LF também foi menor em comparação ao grupo HFD ($84,17 \pm 30,25$ vs. $134,7 \pm 28,17$ mg/dL, $p < 0.05$, Figura 2B).

Em conjunto, houve uma prevenção da elevação dos triglicerídeos no grupo HFD-LF quando comparado ao grupo HFD ($38,04 \pm 17,09$ vs. $66,09 \pm 18,56$ mg/dL, $p < 0.05$, Figura 2C). E quanto ao nível plasmático de HDL-colesterol, após 4 semanas de tratamento com a formulação de *L. fermentum*, o grupo HFD-LF teve aumento significativo quando comparado ao grupo HFD ($25,42 \pm 10,37$ vs. $14,45 \pm 4,81$ mg/dL, $p < 0.05$, Figura 2D).

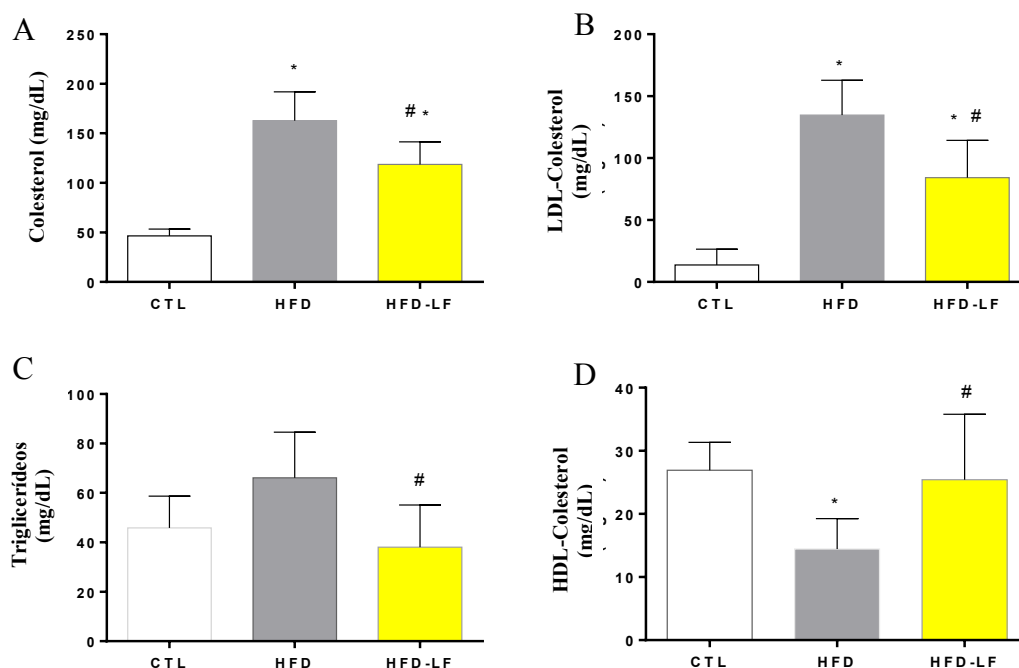


Figura 2. Avaliação do perfil lipídico após administração da formulação probiótica de *L. fermentum* em ratos alimentados com uma dieta rica em gorduras: concentrações séricas de colesterol total (A), lipoproteína de baixa densidade-colesterol (LDL-colesterol) (B), triglicerídeos (C), lipoproteína de alta densidade-colesterol (HDL-colesterol) (D).

Grupos: grupo controle (CTL; n=6), grupo dieta rica em gordura (HFD; n=6), grupo dieta rica em gordura + *L. fermentum* (HFD-LF; n=6). Valores são média DP. *, p<0.05 versus grupo CTL; #, p<0.05 versus grupo HFD, usando *one-way* ANOVA e teste *post hoc* de Turkey.

5.2 INFLUÊNCIA DA FORMULAÇÃO PROBIÓTICA *L. fermentum* NO TESTE DE TOLERÂNCIA À INSULINA

Considerando o estado glicêmico, os animais que receberam dieta rica em AGS (HFD) exibiram uma maior área sobre a curva (ASC) em 4 semanas após serem submetidos ao teste de tolerância à insulina quando comparados ao grupo CTL ($8116 \pm 742,7$ vs. $5479 \pm 570,7$, $p<0.05$, Figura 3A; B). Este achado sugere que o consumo de uma dieta rica em AGS por 4 semanas pode favorecer a resistência à insulina nos animais. Após 4 semanas em tratamento com a formulação probiótica de *L. fermentum*, a resistência a insulina foi prevenida no grupo HFD-LF, visto que a ASC foi menor do que no grupo HFD sem tratamento (5958 ± 1019 vs. $8116 \pm 742,7$, $p<0.05$, Figura 3A; B).

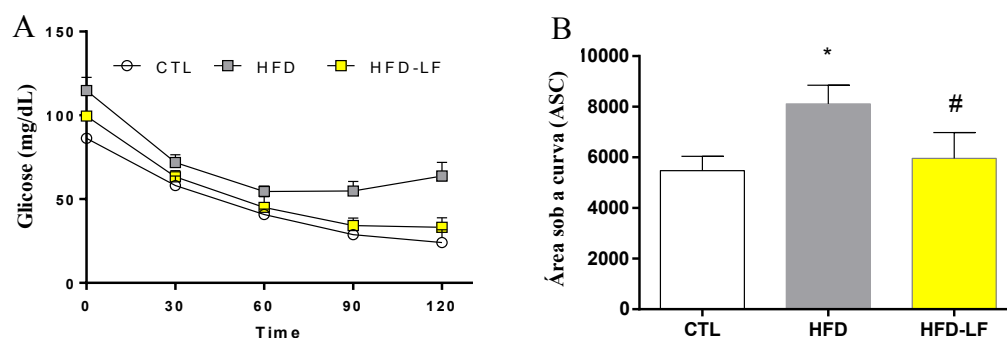


Figura 3. Avaliação do teste de tolerância à insulina após administração da formulação probiótica de *L. fermentum* em ratos alimentados com uma dieta rica em gorduras: concentrações séricas de glicose (A), área sob a curva glicêmica (ASC) (B). Grupos: grupo controle (CTL; n=6), grupo dieta rica em gordura (HFD; n=6), grupo dieta rica em gordura + *L.fermentum* (HFD-LF; n=6). Valores são média DP. *, p<0.05 versus grupo CTL; #, p<0.05 versus grupo HFD, usando *two-way* ANOVA e teste *post hoc* de Turkey.

5.3 PARÂMETROS CARDIOVASCULARES APÓS ADMINISTRAÇÃO DA FORMULAÇÃO PROBIÓTICA *L. fermentum*

O traçado representativo mostra a PAP, PAM e FC em condições basais dos grupos CTL, HFD e HFD+LF (Figura 4). Os animais que receberam dieta rica em AGS apresentaram condições basais de PAS ($156,6 \pm 9,3$ mmHg, $p < 0.05$, PAS, Figura 5A), PAD ($103 \pm 7,72$ mmHg, $p < 0.05$, PAD, Figura 5B) e PAM ($125,7 \pm 7,53$ mmHg, $p < 0.05$, PAM, Figura 5C) maiores do que o grupo CTL ($141,4 \pm 7,87$ mmHg, $p < 0.05$, PAS; $92,33 \pm 7,56$ mmHg, $p < 0.05$, PAM; $114,5 \pm 7,6$ mmHg, $p < 0.05$, PAD, Figura 5A, B, C). A administração da formulação probiótica de *L. fermentum* preveniu o aumento da PAS ($134,6 \pm 14,07$ mmHg, $p < 0.05$, PAS, Figura 5A), PAD ($87,7 \pm 15,12$ mmHg, $p < 0.05$, PAD, Figura 5B), e PAM ($103,5 \pm 13,84$ mmHg, $p < 0.05$, PAM, Figura 5C) nos animais alimentados com dieta rica em AGS quando comparado ao grupo HFD ($156,6 \pm 9,3$ mmHg, $p < 0.05$, PAS; $103 \pm 7,72$ mmHg, $p < 0.05$, PAD; $125,7 \pm 7,53$ mmHg, $p < 0.05$, PAM, Figura 5A, B, C). Não houve alteração na frequência cardíaca entre os grupos (Figura 5D).

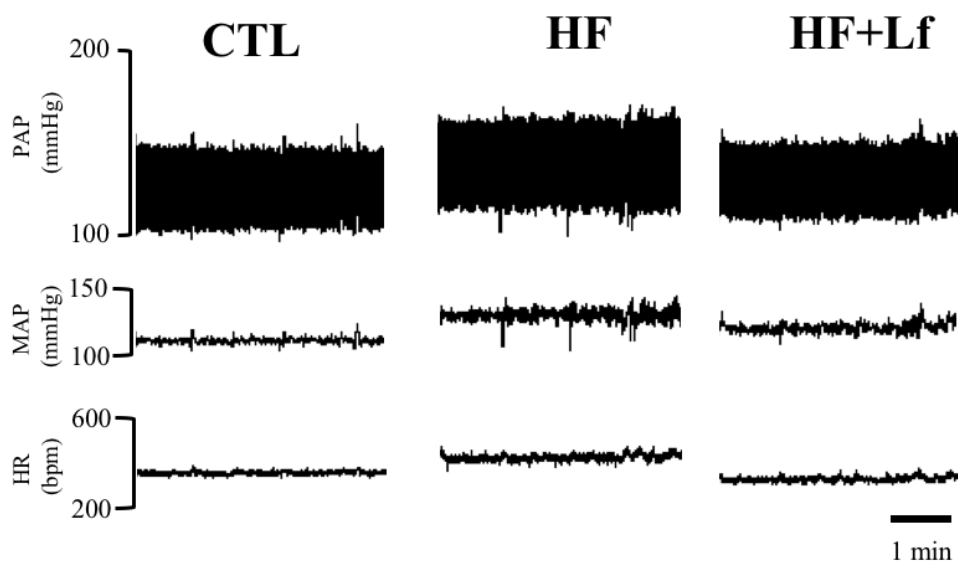


Figura 4. Traçado representativo da pressão arterial pulsátil, pressão arterial média e frequência cardíaca em condições basais nos grupos CTL, HF, e HF+Lf. Grupos: grupo controle (CTL; n=6), grupo dieta rica em gordura (HFD; n=6), grupo dieta rica em gordura + *L.fermentum* (HFD+LF; n=6).

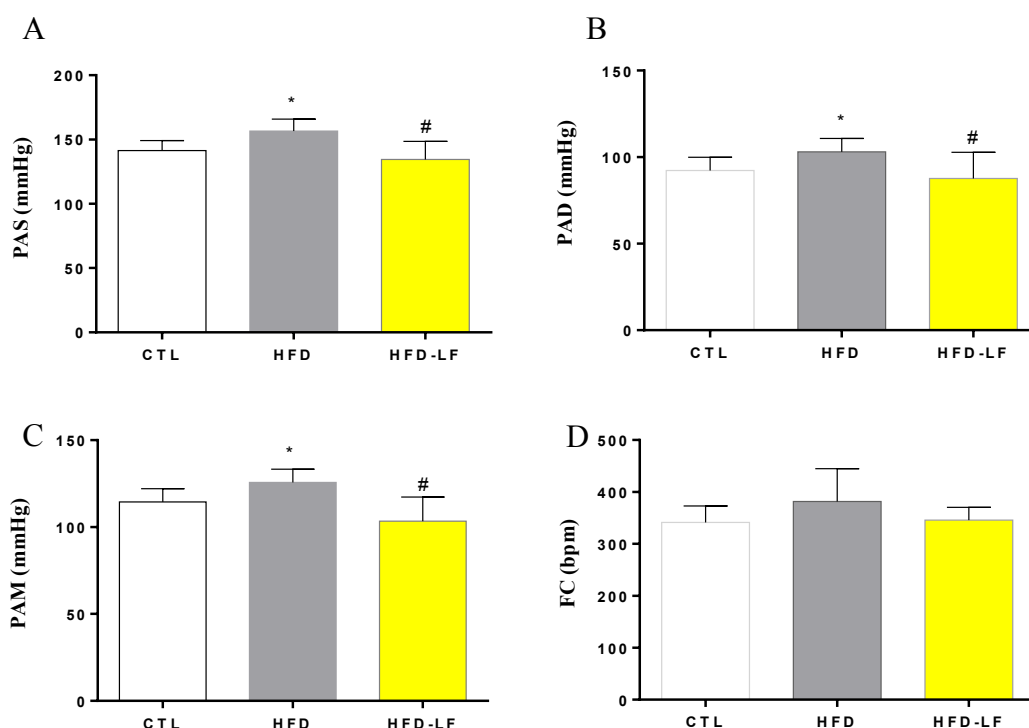
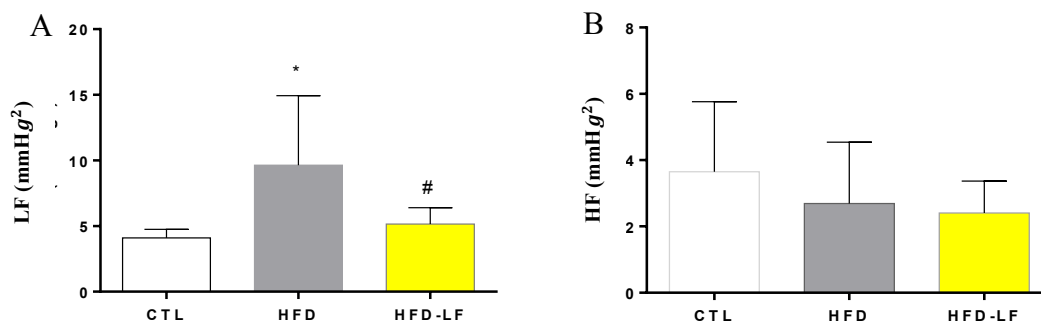


Figura 5. Avaliação de parâmetros cardiovasculares após administração da formulação probiótica de *L. fermentum* em ratos alimentados com uma dieta rica em gorduras: pressão arterial sistólica (PAS) (A), pressão arterial diastólica (PAD) (B), pressão arterial média (PAM) (C), frequência cardíaca (FC) (D). Grupos: grupo controle (CTL; n=6), grupo dieta rica em gordura (HFD; n=6), grupo dieta rica em gordura + *L.fermentum* (HFD+LF; n=6). Valores são média DP. *, p<0.05 versus grupo CTL; #, p<0.05 versus grupo HFD, usando *one-way* ANOVA e teste *post hoc* de Turkey.

Considerando as análises espectrais, oscilações LF ($9,64 \pm 5,3$, $p < 0.05$, Figura 6A) da PAS e relação LH/HF ($9,64 \pm 5,3$, $p < 0.05$, Figura 6C) do intervalo cardíaco foram aumentados nos animais que receberam dieta rica em AGS por 4 semanas ao comparar com o grupo CTL ($4,11 \pm 0,64$, $p < 0.05$). Analisando as oscilações de HF da PAS ($2,66 \pm 1,85$ HFD, $3,65 \pm 2,11$, CTL; $2,4 \pm 0,96$, HFD-LF, $p > 0.05$, Figura 6B), não houve diferença entre os grupos. Assim como também não houve diferença significativa na sensibilidade do barorreflexo do grupo HFD ($1,16 \pm 0,63$, $p > 0.05$, Figura 6D) quando comparado ao grupo CTL ($1,3 \pm 0,35$, $p > 0.05$).

A formulação probiótica com *L. fermentum* preveniu um aumento nas oscilações de LF da PAS ($5,15 \pm 1,2$ vs. $9,64 \pm 5,3$, $p < 0.05$, Figura 6A) e na razão LF/HF do intervalo cardíaco ($0,22 \pm 0,09$ vs. $0,38 \pm 0,13$, $p < 0.05$, Figura 6C) no grupo alimentado com dieta rica em AGS quando comparado ao grupo HFD sem tratamento. No entanto, a formulação não interferiu em oscilações de HF ($2,4 \pm 0,96$ vs. $2,68 \pm 1,85$, $p > 0.05$, Figura 6B) e a sensibilidade espontânea do barorreflexo em comparação ao grupo HFD ($1,57 \pm 0,56$ vs. $1,16 \pm 0,63$, $p > 0.05$, Figura 6D).



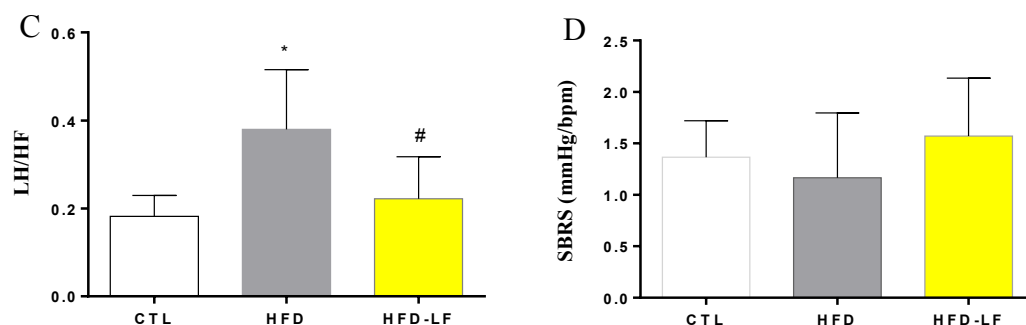


Figura 6. Avaliação de parâmetros cardiovasculares após administração da formulação probiótica de *L. fermentum* em ratos alimentados com uma dieta rica em gorduras ondas de baixa frequência da análise espectral da PA (LF) (A); ondas de alta frequência (HF) (B); a razão LF/HF (LF/HF) (C); sensibilidade barorreflexa espontânea (SBRS) (D). Grupos: grupo controle (CTL; n=6), grupo dieta rica em gordura (HFD; n=6), grupo dieta rica em gordura + *L.fermentum* (HFD+LF; n=6). Valores são média DP. *, p<0.05 versus grupo CTL; #, p<0.05 versus grupo HFD, usando *one-way* ANOVA e teste *post hoc* de Turkey.

O tônus simpático vasomotor foi analisado por meio do bloqueio ganglionar farmacológico, conforme demonstramos no traçado representativo (Figura 8). Foi observada uma diminuição significativa na queda da pressão arterial induzida pela infusão de hexametônio no grupo HFD em relação ao grupo CTL ($-58,83 \pm -8,5$ vs. $-43,54 \pm -12,1$, $p<0.01$, Figura 7). Este achado sugere que o consumo de uma dieta rica em AGS por 4 semanas aumenta o tônus simpático vasomotor. Com a administração da formulação probiótica de *L. fermentum*, sugere-se que o aumento do tônus vasomotor foi prevenido nos animais do grupo HFD-LF em relação ao grupo não tratado ($-41,7 \pm -10,1$ vs. $-58,83 \pm -8,5$, $p<0.05$, Figura 7).

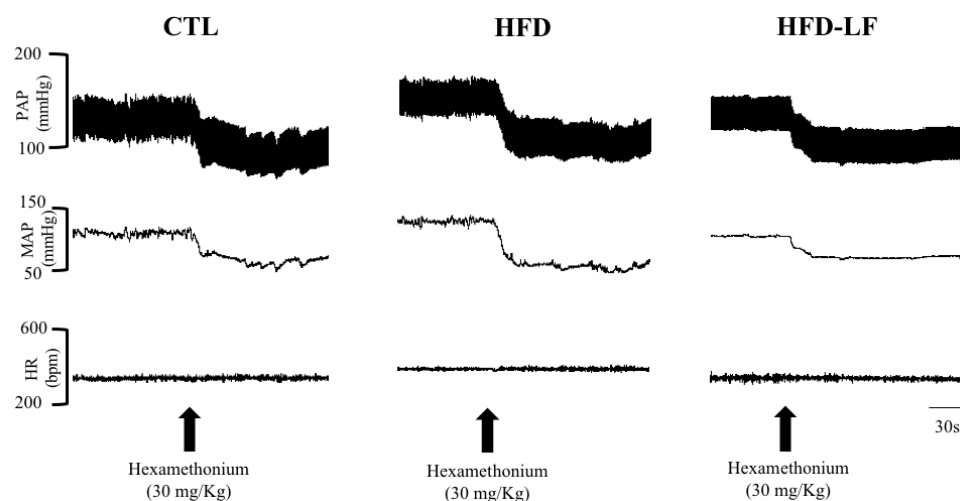


Figura 8. Efeitos da formulação com *L. fermentum* no tônus simpático em ratos alimentados com uma dieta rica em gordura. Grupos: grupo controle (CTL; n=6), grupo dieta rica em gordura (HFD; n=6), grupo dieta rica em gordura + *L.fermentum* (HFD+LF; n=6). Valores são média DP. *, p<0.05 versus grupo CTL; #, p<0.05 versus grupo HFD, usando *one-way* ANOVA e teste *post hoc* de Turkey.

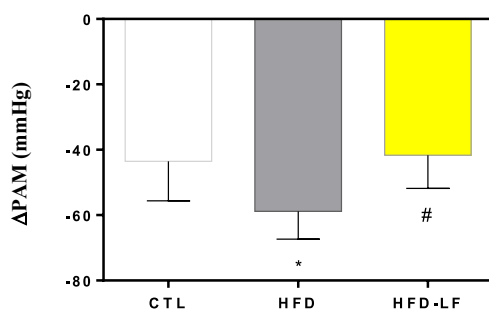


Figura 7. Avaliação de parâmetros cardiovasculares após administração da formulação probiótica de *L. fermentum* em ratos alimentados com uma dieta rica em gorduras: variação da pressão arterial média (ΔPAM). Grupos: grupo controle (CTL; n=6), grupo dieta rica em gordura (HFD; n=6), grupo dieta rica em gordura + *L.fermentum* (HFD+LF; n=6). Valores são média DP. *, p<0.05 versus grupo CTL; #, p<0.05 versus grupo HFD, usando *one-way* ANOVA e teste *post hoc* de Turkey.

5.4 INFLUÊNCIA DA FORMULAÇÃO PROBIÓTICA *L. fermentum* SOBRE A MICROBIOTA INTESTINAL

Um total de 138.923 leituras de sequência foram obtidas de todas as amostras examinadas. Após a filtragem de qualidade, 154.359 sequências bacterianas (em média) foram adquiridas por amostra (Tabela 2). O número de OTUs e os valores dos índices Ace, Chao1, Shannon e Simpson para todos os grupos estão mostrados na Tabela 3. A análise da alfa diversidade revelou uma baixa riqueza (Chao1) e baixa diversidade (Shannon) em HFD-LF quando comparado ao grupo CTL (Tabela 3).

ID Sequência Documento	Acesso Biosample NCBI	Código	Média de dados brutos (cada par)	Filtragem de qualidade
200609105453	SAMN18570499	CTL-1	134028	121163
200609105455	SAMN18570500	CTL-3	116862	104973
200515181656	SAMN18570501	HFD-1	230696	201269
200609105456	SAMN18570600	HDF-2	109064	97333
200609105457	SAMN18570631	HDF-3	142628	127367
200515181657	SAMN18849092	HFD-LF-1	138932	122883
200515181664	SAMN18849092	HFD-LF-2	315014	277373
200515181659	SAMN18849187	HFD-LF-3	231267	200759

Tabela 2. Amostras, acesso ao NCBI Biosample, códigos de filtros de qualidade e sequências aplicados pelo software Trimmomatic (0,36). Grupos: grupo controle (CTL; n=6), grupo dieta rica em gordura (HFD; n=6), grupo dieta rica em gordura + *L.fermentum* (HFD+LF; n=6).

ÍNDICES	CTL	HFD	HFD-LF
OTUs	1362.0 $\pm$ 271.0 ^a	962.3 $\pm$ 544.0 ^a	500.7 $\pm$ 173.9 ^a
Ace	3555.0 $\pm$ 975.4 ^a	2516.5 $\pm$ 1393.2 ^a	1301.8 $\pm$ 319.9 ^a
Chao1	3398.3 $\pm$ 743.1 ^a	2319.0 $\pm$ 1204.6 ^{ab}	1170.1 $\pm$ 301.0 ^b
Shannon	7.174 $\pm$ 0.456 ^a	5.327 $\pm$ 1.908 ^{ab}	2.774 $\pm$ 0.697 ^b

Tabela 3. Número de OTUs, ACE, Chao1, Índice de Shannon e Simpson obtidos para os grupos CTL, HFD e HFD-LF. Os dados são expressos como médias $\pm$ DP. Os valores em linhas seguidas de letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos de acordo com o teste ANOVA *one-way* e o teste *post hoc* de Tukey. Grupos: grupo controle (CTL; n=6), grupo dieta rica em gordura (HFD; n=6), grupo dieta rica em gordura + *L.fermentum* (HFD+LF; n=6).

A composição da comunidade bacteriana em nível de ordem mostrou um aumento em *Clostridiales* (92.87 $\pm$ 3.06 vs. 84.03 $\pm$ 4.2, $p < 0.05$, Tabela 4) e *Enterobacteriales* (1.33 $\pm$ 2.13 vs. 0.00 $\pm$ 0.00, $p < 0.05$, Tabela 4) e uma diminuição em *Erysipelotrichales* (3.00 $\pm$ 2.59 vs. 5.65 $\pm$ 2.75, $p < 0.05$, Tabela 4), *Methanobacteriales* (0.00 $\pm$ 0.00 vs. 1.75 $\pm$ 1.15, $p < 0.05$, Tabela 4), *Bacterioidales* (0.07 $\pm$ 0.06 vs. 3.65 $\pm$ 0.55, $p < 0.05$, Tabela 4), *Desulfovibrionales* (0.03 $\pm$ 0.06 vs. 0.3 $\pm$ 0.2, $p < 0.05$, Tabela 4), *Mollicutes* RF39 (0.00 $\pm$ 0.00 vs. 0.35 $\pm$ 0.15, $p < 0.05$, Tabela 4), *Gastranaerophilales* (0.00 $\pm$ 0.00 vs. 0.30 $\pm$ 0.10, $p < 0.05$, Tabela 4) e *Selenomonadales* (0.00 $\pm$ 0.00 vs. 0.20 $\pm$ 0.10, $p < 0.05$, Tabela 4) em grupo HDF em comparação ao CTL.

A administração da formulação de *L. fermentum* no grupo HFD-LF diminuiu *Campylobacteriales* em comparação ao grupo HFD, aproximando níveis semelhantes ao grupo CTL (0.00 $\pm$ 0.00 vs. 0.8 $\pm$ 1.21, $p < 0.05$, Tabela 4).

ORDEM	CTL	HFD	HFD-LF
<i>Clostridiales</i>	84.30 ± 4.20 ^a	92.87 ± 3.06 ^b	97.13 ± 1.55 ^c
<i>Erysipelotrichales</i>	5.65 ± 2.75 ^b	3.00 ± 2.59 ^{ab}	0.80 ± 0.44 ^a
<i>Bacteroidales</i>	3.65 ± 0.55 ^b	0.07 ± 0.06 ^{ab}	0.03 ± 0.06 ^a
<i>Coriobacteriales</i>	1.05 ± 0.35 ^a	0.87 ± 0.76 ^a	0.80 ± 0.60 ^a
<i>Lactobacillales</i>	1.15 ± 0.45 ^a	0.47 ± 0.29 ^a	0.43 ± 0.31 ^a
<i>Methanobacteriales</i>	1.75 ± 1.15 ^b	0.00 ± 0.00 ^a	0.00 ± 0.00 ^a
<i>Unassigned;Other</i>	0.75 ± 0.25 ^a	0.37 ± 0.29 ^a	0.40 ± 0.35 ^a
<i>Desulfovibrionales</i>	0.30 ± 0.20 ^b	0.03 ± 0.06 ^{ab}	0.00 ± 0.00 ^a
<i>Mollicutes RF39</i>	0.35 ± 0.15 ^b	0.00 ± 0.00 ^a	0.00 ± 0.00 ^a
<i>Gastranaerophilales</i>	0.30 ± 0.10 ^b	0.00 ± 0.00 ^a	0.00 ± 0.00 ^a
<i>Selenomonadales</i>	0.20 ± 0.10 ^b	0.00 ± 0.00 ^a	0.00 ± 0.00 ^a
<i>Campylobacteriales</i>	0.20 ± 0.00 ^b	0.80 ± 1.21 ^b	0.00 ± 0.00 ^a
<i>Bacillales</i>	0.00 ± 0.00 ^a	0.13 ± 0.06 ^b	0.07 ± 0.06 ^{ab}
<i>Enterobacteriales</i>	0.00 ± 0.00 ^a	1.33 ± 2.13 ^b	0.27 ± 0.21 ^{ab}

Tabela 4. Abundância relativa da ordem bacteriana aferida da análise de sequenciamento do gene 16S rRNA para todos os grupos. Os dados são expressos como médias ± DP. Os valores em linhas seguidas por letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos de acordo com o teste de Kruskal-Wallis e o teste *post-hoc* de comparações múltiplas de Dunn. Grupos: grupo controle (CTL; n=6), grupo dieta rica em gordura (HFD; n=6), grupo dieta rica em gordura + *L.fermentum* (HFD+LF; n=6).

A composição da comunidade bacteriana, em nível de família, mostrou maior abundância relativa de *Lachnospiraceae* nos grupos HFD (77.53 ± 10.62 vs. 33.50 ± 12.00, $p < 0.05$, Tabela 5) e HFD-LF (92.47 ± 5.01 vs. 33.50 ± 12.00, $p < 0.05$, Tabela 5) em relação ao grupo CTL. O grupo HFD também demonstrou maior abundância relativa de *Clostridiaceae 1* (2.33 ± 1.00 vs. 0.83 ± 0.45; $p < 0.05$, Tabela 5) e de *Peptostreptococcaceae* (0.63 ± 0.35 vs. 0.20 ± 0.10, $p < 0.05$, Tabela 5) em relação ao grupo CTL. Por outro lado, os grupos HFD (16.85 ± 1.73 vs. 46.95 ± 14.25, $p < 0.05$, Tabela 5) e HFD-LF (2.30 ± 2.42 vs. 46.95 ± 14.25, $p < 0.05$, Tabela 5) apresentaram menor abundância relativa da família *Ruminococcaceae* em comparação com o grupo CTL. Considerando a família *Helicobacteraceae*, o grupo HFD-LF teve menor abundância relativa em comparação ao grupo HFD (0.00 ± 0.00 vs. 0.80 ± 1.21, $p < 0.05$, Tabela 5).

FAMÍLIA	CTL	HFD	HFD-LF
Lachnospiraceae	33.50 ± 12.00 ^a	77.53 ± 10.62 ^b	92.47 ± 5.01 ^b
Ruminococcaceae	46.95 ± 14.25 ^b	16.85 ± 1.73 ^a	2.30 ± 2.42 ^a
Erysipelotrichaceae	5.65 ± 2.75 ^a	3.00 ± 2.59 ^a	0.80 ± 0.44 ^a
Clostridiaceae 1	0.00 ± 0.00 ^a	2.33 ± 1.00 ^c	0.83 ± 0.45 ^b
Lactobacillaceae	0.85 ± 0.35 ^b	0.27 ± 0.06 ^b	0.33 ± 0.31 ^{ab}
Peptostreptococcaceae	0.00 ± 0.00 ^a	0.63 ± 0.35 ^b	0.20 ± 0.10 ^c
Coriobacteriaceae	0.60 ± 0.30 ^a	0.77 ± 0.76 ^a	0.40 ± 0.17 ^a
Christensenellaceae	2.80 ± 1.60 ^a	7.83 ± 12.88 ^a	0.70 ± 0.87 ^a
Streptococcaceae	0.25 ± 0.05 ^a	0.13 ± 0.23 ^a	0.07 ± 0.06 ^a
Enterobacteriaceae	0.00 ± 0.00 ^a	1.33 ± 2.14 ^b	0.27 ± 0.21 ^b
Methanobacteriaceae	1.75 ± 1.15 ^b	0.00 ± 0.00 ^a	0.00 ± 0.00 ^a
Muribaculaceae	3.00 ± 0.30 ^b	0.00 ± 0.00 ^a	0.00 ± 0.00 ^a
Helicobacteraceae	0.20 ± 0.00 ^b	0.80 ± 1.21 ^b	0.00 ± 0.00 ^a
Clostridiales;D_4__Family XIII	0.90 ± 0.30 ^a	1.57 ± 1.70 ^a	0.47 ± 0.72 ^a

Tabela 5. Abundância relativa da família bacteriana aferida da análise de sequenciamento do gene 16S rRNA para todos os grupos. Os dados são expressos como médias ± DP. Os valores em linhas seguidas por letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos de acordo com o teste de Kruskal-Wallis e o teste *post-hoc* de comparações múltiplas de Dunn. Grupos: grupo controle (CTL; n=6), grupo dieta rica em gordura (HFD; n=6), grupo dieta rica em gordura + *L.fermentum* (HFD+LF; n=6).

Os resultados, conforme representados na forma de mapa de calor hierárquico (*Heat Map*), mostraram grupos distintos de associações positivas e negativas entre abundâncias bacterianas nos grupos CTL, HFD e HFD-LF (Figura 9).

Em nível taxonômico, foram encontrados os filos *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Proteobacteria*, *Tenericutes* e *Actinobacteria*.

Os gêneros *Clostridium sensu stricto* 1, *Tyzzerella*, *Collinsella*, *Erysipelatoclostridium*, *Helicobacter* e *Blautia* foram enriquecidos em amostras fecais do grupo HFD (Figura 9). Esses gêneros foram reduzidos nos grupos CTL e HFD-LF. Em nível de espécie, enquanto *Ruminococcus gnavus* e *Ruminococcus torques* foram enriquecidos em amostras fecais do grupo HFD, essas espécies foram reduzidas nos grupos CTL e HFD-LF (Figura 9).

Os gêneros *Ruminococcus* 2, *Ruminococcaceae* UCG-014, *Lachnospiraceae* NK4A136, *Ruminococcaceae* UCG-013, *Ruminococcaceae* UCG-005, *Allobaculum*, *Lactobacillus* e *Ruminococcaceae* NK4A136, foram

reduzidos no grupo HFD e a administração da formulação de *L. fermentum* não modulou esses gêneros (Figura 9). Esses resultados sugerem que a formulação de *L. fermentum* promoveu mudanças importantes na composição da microbiota intestinal, mas não recuperou totalmente a composição da microbiota intestinal na condição do grupo HFD.

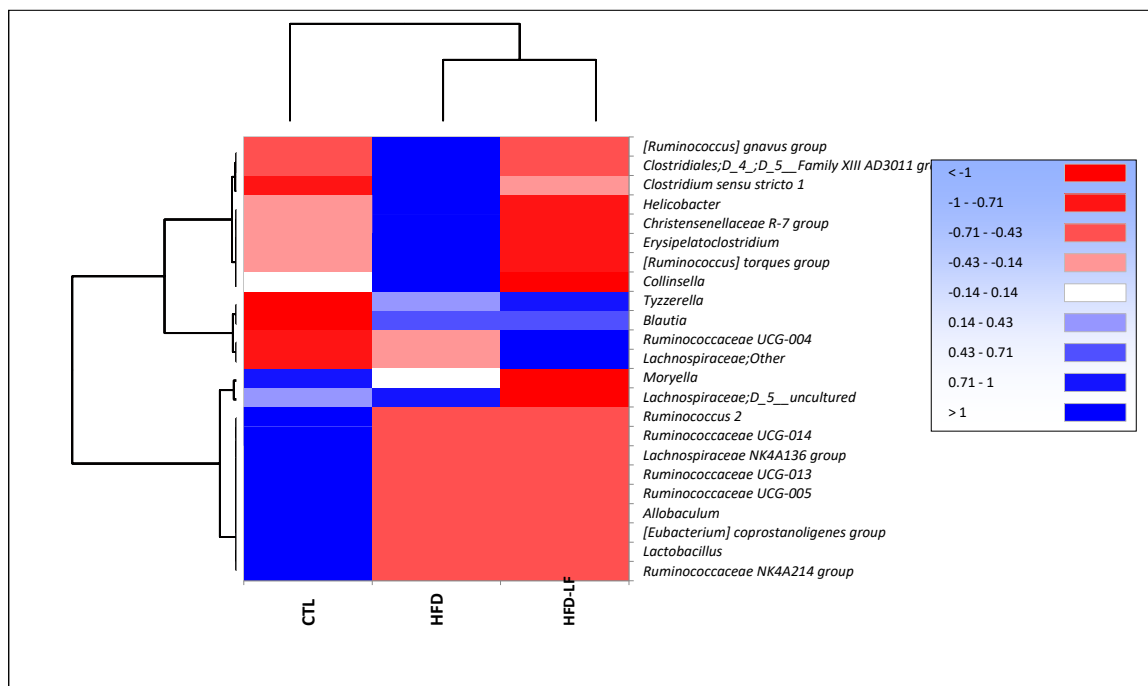


Figura 9. Mapa de calor dos grupos taxonômicos mais significativamente diferentes em abundância nos ratos CTL, HFD e HFD-LF. O agrupamento hierárquico nas linhas é baseado nas abundâncias relativas microbianas em cada grupo; enquanto as colunas são baseadas na composição microbiana em cada grupo. A escala de cor ao lado direito do gráfico mostra a abundância relativa (%) dos gêneros bacterianos.

6 DISCUSSÃO

Considerando o microbioma intestinal, a administração de probióticos que suportem as etapas do processo digestivo pode repercutir em respostas benéficas a nível intestinal e/ou sistêmico em prol do hospedeiro, seja através de metabólitos secundários ou por mecanismos competitivos com microorganismos patogênicos para favorecer as bactérias comensais (LE CHATELIER et al., 2013; SHANAHAN, 2012). Nessa perspectiva, a modulação da microbiota intestinal apresenta potencial terapêutico no tratamento de dislipidemias, doenças inflamatórias, marcadores de estresse oxidativo e

melhora nos níveis de pressão arterial (CAVALCANTE et al., 2019; DE OLIVEIRA et al., 2020; ETTINGER et al., 2014; GÓMEZ-GUZMÁN et al., 2015).

Analisando o perfil lipídico, a administração da formulação probiótica de *L. fermentum* atenuou o quadro dislipidêmico em ratos alimentados com dieta rica em AGS, visto que houve redução dos níveis séricos de colesterol total, LDL-colesterol e triglicerídeos no grupo tratado que recebeu dieta rica em AGS. Além disso, as cepas propiciaram um aumento da concentração plasmática de HDL-colesterol, o que contribui de forma positiva no sistema cardiovascular, devido à sua ação antiaterogênese e estímulo à produção de óxido nítrico (AUSTIN et al., 1990).

Xie e colaboradores também encontraram mudanças significativas no perfil lipídico com a suplementação de *Lactobacillus plantarum* 9-41-A e *Lactobacillus fermentum* M1-16 em ratos expostos à dieta dislipidêmica, com redução dos níveis de colesterol total, LDL-colesterol e triglicerídeos (XIE et al., 2011). No entanto, não houve alteração no HDL-colesterol, o que sugere uma atuação das cepas bacterianas em diferentes vias metabólicas, já que eles também administraram uma cepa de *L. fermentum*. Nossos achados corroboram com outros estudos que identificaram cepas probióticas com potencial terapêutico não medicamentoso na melhora do perfil lipídico (CAVALCANTE et al., 2019; DE OLIVEIRA et al., 2020; YADAV et al., 2018).

Vários mecanismos têm sido propostos para esse efeito hipocolesterolêmico das cepas probióticas, como a inibição da formação das micelas, a partir da produção dos AGCC pela microbiota intestinal, excreção de hidrolase dos sais biliares pelas espécies bacterianas podendo aumentar a excreção biliar nas fezes, o que demonstra a variabilidade mecanicista das cepas (BUBNOV et al., 2017; HOU et al., 2020; ISHIMWE et al., 2015).

Dietas com padrão ocidental pode favorecer a RI concomitante ao desenvolvimento da dislipidemia e disbiose intestinal. No presente estudo foi encontrado prejuízo da sensibilidade insulínica no grupo que recebeu dieta dislipidêmica. O prejuízo do receptor de insulina pode ser causado tanto pela elevada ingestão de AGS, como pela inflamação crônica de baixo grau instalada a partir de uma disbiose intestinal (BORDALO TONUCCI et al., 2017; HAMPE; ROTH, 2017; SHAH et al., 2003).

No presente estudo, a administração da formulação probiótica de *L. fermentum* preveniu a RI em ratos alimentados com a dieta rica em AGS. Tem sido demonstrado que a inoculação de probióticos restaura a função de barreira intestinal, o que reduz a permeabilidade intestinal, reduz a endotoxemia e melhora a sensibilidade à insulina (HAMPE; ROTH, 2017).

Em estudos experimentais com dietas ricas em gorduras e hiperinsulinemia, a intervenção com cepas de *Lactobacillus* foi capaz de melhorar a função vascular, evitar a hiperinsulinemia, reduzir marcadores inflamatórios, melhorar esteatose hepática e genes associados à RI (HSIEH et al., 2016; TORAL et al., 2014; ZHANG et al., 2014).

Um achado interessante foi a prevenção da degeneração das ilhotas pancreáticas e indução da regeneração analisadas histologicamente em um estudo que comparou os efeitos hipoglicemiantes e redução da insulinemia utilizando *Lactobacillus casei* versus pioglitazona, um fármaco hipoglicemiante, em animais diabéticos. O que sugere a forte influência da microbiota intestinal no metabolismo da glicose (LI et al., 2017b).

Há evidências crescentes sugerindo que o comprometimento da microbiota intestinal desempenha um papel importante no desenvolvimento e patogênese da HAS. Intervenções direcionadas à microbiota intestinal com administração de probióticos foram reconhecidas como uma estratégia promissora para a redução da pressão arterial (AVERY et al., 2021; CAVALCANTE et al., 2019; DE OLIVEIRA et al., 2020; ROMÃO DA SILVA et al., 2020).

No presente estudo, em ratos alimentados com uma dieta rica em AGS por 4 semanas sugere-se um aumento no tônus simpático a partir de uma queda significativa da Δ PAM após administração do hexametônio. Outro indicativo da hiperatividade simpática no grupo HFD foi um aumento da faixa LF da PAS e da relação LF/HF.

Na dislipidemia, a elevada produção de EROS tem sido associada a danos celulares através de interações com DNA e proteínas, assim como peroxidação lipídica alterando a estrutura e função vascular (DINH et al., 2014). A neuroinflamação gerada pelo aumento de EROS no SNC, sobretudo na área rostral ventrolateral da medula (RVLM) de onde surgem impulsos simpáticos primários, correlaciona-se ao aumento do fluxo simpático e consequentemente

dos níveis de pressão arterial (CHASWAL et al., 2011; ROBLES-VERA et al., 2018; SERAVALLE; GRASSI, 2016; WANG XUE-RUI et al., 2018).

Nessa perspectiva, a formulação com *L. fermentum* diminuiu PAM, PAS, PAD e Δ PAM, preveniu o aumento da faixa LF da PAS e da razão LF/HF do intervalo cardíaco, sugerindo uma redução do tônus simpático nos animais dislipidêmicos. Este achado sugere que as cepas bacterianas atenuam a hiperatividade simpática apresentada pelo grupo dislipidêmico em comparação ao grupo que não recebeu tratamento, o que corrobora com outros estudos em ratos hipertensos (CAVALCANTE et al., 2019; TUNAPONG et al., 2018).

Sabe-se que a maior exposição do intestino ao *Lactobacillus* aumenta os níveis de ácido ribonucleico mensageiro (RNAm) de enzimas antioxidantes, o que contribui positivamente no balanço oxidativo, aumentando a produção de enzimas antioxidantes e minimizando as cascatas inflamatórias, sendo associada, portanto, a uma melhora de parâmetros cardiovasculares e proteção vascular (CAO et al., 2018; HERSOUG; MØLLER; LOFT, 2016; ROBLES-VERA et al., 2020).

A composição da microbiota intestinal do hospedeiro orchestra a produção de metabólitos e fragmentos microbianos para o estado de saúde ou doença do hospedeiro. Por sua vez, o padrão de dieta ocidental pode prejudicar a diversidade e composição da microbiota intestinal, alterando a comunidade microbiana para uma maior abundância relativa do filo *Firmicutes* e menor do filo *Bacteroidetes* (DANIEL et al., 2014).

No presente estudo, avaliando Chao1, um índice que avalia a diversidade microbiana, e o índice de Shannon, uma medida da riqueza da amostra, encontramos uma baixa diversidade e riqueza fecal da microbiota do grupo HFD-LF em comparação com o grupo CTL. Contudo, os efeitos das cepas de *L.fermentum* na diversidade do microbioma continua sem elucidação, tendo em vista que, estudos mostram desequilíbrios metabólicos, como perfil dislipidêmico, RI e inflamação diminuindo a variabilidade bacteriana (LE CHATELIER et al., 2013). Enquanto outros estudos mostram diminuição da alfa diversidade com a administração de *Lactobacillus DR9* em ratos (HOR et al., 2019). Embora a alfa diversidade tenha sido reduzida, a administração de cepas de *L. fermentum* 139, 263 e 296 reduziu vários grupos bacterianos implicados em danos à saúde.

Lachnospiraceae e *Ruminococcaceae* são duas das famílias mais abundantes da ordem *Clostridiales* e do filo *Firmicutes* encontradas no ambiente intestinal de mamíferos, que têm sido associadas à manutenção da saúde intestinal. Os membros da família *Lachnospiraceae* contribuem na saúde intestinal aumentando a produção de AGCC e competindo com patógenos resistentes à medicamentos (SORBARA et al., 2020; VACCA et al., 2020).

No presente estudo, no grupo HFD foi encontrada menor abundância relativa de *Lachnospiraceae* e após o tratamento com *L. fermentum* não houve recuperação desta população microbiana. No grupo HFD demonstramos correlação negativa com bactérias produtoras de AGCC como *Ruminococcaceae* NK4A214, *Ruminococcaceae*_UCG-010, *Ruminococcaceae*_UCG-014, *Ruminococcaceae*_UCG-013 e *Ruminococcaceae*_UCG-013 e *Ruminococcaceae*_UCG-005. Após o tratamento com *L. fermentum* encontramos correlação positiva *Ruminococcaceae*_UCG-004, produtora de AGCC, mas não encontramos com os demais membros da família *Ruminococcaceae*. Isso demonstra que, embora a administração de cepas probióticas promova mudanças benéficas do padrão microbiano, algumas alterações causadas por uma dieta rica em AGS não podem ser recuperadas e a microbiota intestinal não é reestabelecida de forma integral.

Ruminococcus torques group e *Ruminococcus gnavus* group foram associados positivamente com uma menor diversidade microbiana, maior sobrevivência de bactérias do filo *Proteobacteria*, além de estarem envolvidas na fisiopatologia da doença inflamatória intestinal e na doença de Crohn apresentando contribuição no fenótipo pró-inflamatório (HALL et al., 2017; LE CHATELIER et al., 2013). A espécie *Ruminococcus gnavus* foi identificada como bactéria mucinolítica agravando a patologia da doença de Crohn (MANCABELLI et al., 2017).

No presente estudo, demonstramos que o grupo HFD apresentou uma correlação positiva com *Ruminococcus torques* e *Ruminococcus gnavus* e o tratamento com *L. fermentum* demonstrou uma correlação negativa no conteúdo fecal dos animais do grupo HFD-LF.

O aumento da abundância relativa da família *Clostridiaceae*, da ordem *Clostridiales*, foi correlacionado positivamente com a doença inflamatória

intestinal e artropatias associadas, como a artrite reumatóide (MUÑIZ PEDROGO et al., 2019). No presente estudo, houve um aumento da abundância relativa dessa família no grupo HFD em comparação ao grupo CTL e a formulação de *L.fermentum* diminuiu a abundância relativa, o que contribui na prevenção da inflamação intestinal.

Ainda na ordem *Clostridiales*, dois grupos (*Clostridiales* família XIII AD3011, *Clostridium sensu stricto* 1) foram correlacionados positivamente com o grupo que recebeu dieta rica em AGS e após o tratamento com a formulação de *L. fermentum* no grupo HFD-LF houve uma associação negativa. Tal achado corrobora com o estudo de Robles-Vera e colaboradores, o qual mostra os efeitos cardiovasculares induzidos pelas cepas de *Lactobacillus* a partir de uma mudança de gêneros bacterianos, como por exemplo, redução da abundância relativa do gênero *Clostridium* na microbiota intestinal do grupo hipertenso tratado (ROBLES-VERA et al., 2020).

No entanto, os efeitos preventivos sobre a PA provocados pela administração da formulação de *L. fermentum* em ratos alimentados com dieta rica em AGS podem estar associados a várias mudanças na composição da microbiota intestinal e não apenas devido aos efeitos em um grupo microbiano específico.

Nesta ordem *Clostridiales*, espécies da família *Peptostreptococcaceae* foram associadas positivamente ao câncer cólon retal, favorecendo um ambiente pró-inflamatório (LONG et al., 2019; SHEN et al., 2021). Safari e colaboradores, observaram um aumento da abundância relativa da família *Peptostreptococcaceae* após administração de uma dieta rica em gorduras em animais, o que corrobora com o presente estudo no qual houve aumento desta no grupo HFD (SAFARI et al., 2020). A formulação probiótica de *L. fermentum* conferiu benefícios ao grupo tratado, visto que no grupo HFD-LF diminuiu a abundância relativa dessa família.

No filo *Firmicutes*, ordem *Erysipelotrichales*, família *Erysipelotrichaceae* a espécie *Allobaculum* está relacionada à maior produção de AGCC e contribuição na função de barreira intestinal (WU et al., 2020; ZHANG et al., 2012). Encontramos uma correlação negativa do grupo HFD com a espécie *Allobaculum* e grupo HFD-LF apresentou menor abundância relativa que o grupo

CTL, ou seja, mesmo com o tratamento esse prejuízo não foi revertido após uma dieta rica em AGS.

No filo *Firmicutes*, ordem *Lactobacillales* em sua maioria apresenta potencial probiótico, como já foi descrito anteriormente, e no presente estudo houve uma tendência à redução no grupo HFD, enquanto no grupo HFD-LF a tendência foi a não recuperação das bactérias dessa ordem ($p>0.05$). Resultados similares foram encontrados nas famílias *Lactobacillaceae* e *Streptococcaceae* da mesma ordem ($p>0.05$). O que corrobora com o achado de Robles-vera e colaboradores, indicando que os efeitos do *L. fermentum* não depende do aumento da abundância relativa do seu próprio gênero, ele exerce efeitos positivos em toda a comunidade bacteriana (ROBLES-VERA et al., 2020).

No filo *Bacteroidetes*, a ordem *Bacteroidales* se correlaciona negativamente com a obesidade e a baixa riqueza pode prejudicar a imunidade do hospedeiro (HILDEBRANDT et al., 2009; LEY et al., 2005; MAZMANIAN et al., 2005). Encontramos uma tendência à redução desta ordem no grupo HFD ($p>0.05$) e uma diminuição da abundância relativa no grupo HFD-LF em relação ao grupo CTL, indicando que o tratamento não a recuperou.

Em estudos anteriores, o aumento da abundância relativa do filo *Proteobacteria*, como o *Helicobacter* pertencente à ordem *Campylobacteriales*, foi associado com marcador microbiológico da disfunção epitelial da mucosa do cólon, indicando que a permeabilidade intestinal aumenta favorecendo o quadro de disbiose intestinal e endotoxemia metabólica (QIAN; HUANG; QIN, 2020). Dentro do gênero *Helicobacter*, o *Helicobacter pylori* favorece a gastrite crônica, úlceras gastroduodenais e predispõe células carcinogênicas e o tratamento com antibiótico em combinação com probióticos melhorou a eficácia do tratamento, além disso *L. fermentum* demonstrou *in vitro* capacidade de sintetizar EPS com atividade anti-*Helicobacter pylori*, o que diminui sua adesão (GARCIA-CASTILLO et al., 2018; OH et al., 2016). Na mesma ordem, *Campylobacteriales*, a infecção por *Campylobacter jejuni* causa sintomas como dores abdominais, diarreia e sangue nas fezes em humanos e a administração de probióticos, como o *L. fermentum*, atua de forma antagônica reduzindo sua adesão (LEHRI; SEDDON; KARLYSHEV, 2017).

No presente estudo foi possível observar efeito positivo nesse gênero de bactérias, visto que no grupo HFD que não recebeu tratamento houve uma maior

abundância relativa bacteriana em comparação ao grupo CTL e ao administrar a formulação de *L. fermentum* a abundância relativa do grupo HFD+LF foi reduzida, o que nos mostra a relação competitiva entre as bactérias com potencial patogênico do gênero *Helicobacter* com o potencial probiótico das cepas administradas.

No mesmo filo *Proteobacteria*, a ordem *Enterobacteriales* está relacionada com potencial patogênico envolvendo doenças inflamatórias intestinais (LUPP et al., 2007; RÍOS-COVIÁN et al., 2016). No grupo HFD houve maior abundância relativa da ordem *Enterobacteriales* e sua família *Enterobacteriaceae* em relação ao grupo CTL ($p < 0.05$), no entanto no grupo HFD-LF foi encontrada uma tendência à redução ($p > 0.05$). Quian e colaboradores encontraram resultados semelhantes, administrando uma dieta rica em AGS houve aumento de bactérias do filo *Proteobacteria* e com *Lactobacillus acidophilus* reduziu a abundância relativa deste filo (QIAN; HUANG; QIN, 2020).

No grupo *Terrabacteria*, a ordem *Gastranaerophilales* modula positivamente a microbiota intestinal, fortalecendo sua função de barreira e atuação antimicrobiana (GAO et al., 2020). Encontramos uma redução de sua abundância relativa no grupo HFD, porém não houve aumento da abundância no grupo tratado com *L.fermentum*.

No filo *Tenericutes* a maior abundância da classe *Mollicutes* favorece à resposta imunológica às alergias e contribui para a integridade da mucosa intestinal (ATARASHI et al., 2013; SMIT et al., 2011). Nesse sentido encontramos no grupo HFD menor abundância da ordem *Mollicutes RF39* ao comparar ao grupo CTL e o tratamento com *L.fermentum* não recuperou o quadro.

Diante do que foi observado, a formulação de *L. fermentum* foi capaz de aumentar a diversidade de bactérias produtoras de butirato, diminuir a população patogênica, aumentar a resistência à colonização patogênica, diminuir a abundância relativa de microorganismos envolvidos em um fenótipo pró-inflamatório e diminuir bactérias mucinolíticas, o que reflete em uma melhora do microbioma intestinal com seus consequentes benefícios ao hospedeiro frente a um ambiente dislipidêmico.

7 CONCLUSÃO

Identificar uma formulação probiótica com potencial terapêutico na HAS é de grande benefício no seu tratamento não-medicamentoso. As cepas de *L.fermentum* utilizadas no presente estudo demonstrou boas propriedades probióticas a partir da modulação da microbiota intestinal dos animais repercutindo em melhoria de parâmetros cardiometabólicos. A partir de uma alteração da população microbiana intestinal, embora a oferta nutricional tenha continuado dislipidêmica, houve melhora do perfil lipídico, atenuação da pressão arterial e do tônus simpático, e sugeriu uma diminuição da resistência insulínica.

Entender a conexão do intestino com diversos órgãos, o mecanismo de ação das cepas probióticas e quais respostas metabólicas cada uma desempenha pode auxiliar no tratamento de várias DNCT em elucidações futuras. Dessa forma, os achados do presente estudo podem encorajar ensaios clínicos randomizados de longo prazo em indivíduos com sobrepeso, obesidade e comorbidades cardiometabólicas utilizando como tratamento microorganismos com potencial probiótico.

REFERÊNCIAS

- AIRES, M. M. **Fisiologia/Margarida de Mello Aires**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.
- ANDRESEN, M. C.; KUNZE, D. L. Nucleus tractus solitarius--gateway to neural circulatory control. **Annual Review of Physiology**, v. 56, p. 93–116, 1994.
- ATARASHI, K. et al. Treg induction by a rationally selected mixture of Clostridia strains from the human microbiota. **Nature**, v. 500, n. 7461, p. 232–236, 2013.
- AUSTIN, M. A. et al. Atherogenic lipoprotein phenotype. A proposed genetic marker for coronary heart disease risk. **Circulation**, v. 82, n. 2, p. 495–506, 1990.
- AVERY, E. G. et al. The Gut Microbiome in Hypertension: Recent Advances and Future Perspectives. **Circulation Research**, v. 128, n. 7, p. 934–950, 2021.
- BAYNES, J.W.; DOMINICZAK, M.H. **Bioquímica Médica**. 4 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2015.
- BEN-AICHA, S.; BADIMON, L.; VILAHUR, G. Advances in HDL: Much More than Lipid Transporters. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 3, p. E732, 2020.
- BENJAMIN, E. J. et al. Heart Disease and Stroke Statistics-2019 Update: A Report From the American Heart Association. **Circulation**, v. 139, n. 10, p. e56–e528, 2019.
- BIDDINGER, S. B. et al. Hepatic Insulin Resistance is Sufficient to Produce Dyslipidemia and Susceptibility to Atherosclerosis. **Cell metabolism**, v. 7, n. 2, p. 125–134, 2008.
- BORDALO TONUCCI, L. et al. Gut microbiota and probiotics: Focus on diabetes mellitus. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 57, n. 11, p. 2296–2309, 24 jul. 2017.
- BUBNOV, R. V. et al. Comparative study of probiotic effects of Lactobacillus and Bifidobacteria strains on cholesterol levels, liver morphology and the gut microbiota in obese mice. **The EPMA journal**, v. 8, n. 4, p. 357–376, 2017.
- CAESAR, R. et al. Crosstalk between Gut Microbiota and Dietary Lipids Aggravates WAT Inflammation through TLR Signaling. **Cell Metabolism**, v. 22, n. 4, p. 658–668, 2015.
- CAO, Z. et al. In Vitro Evaluation of Probiotic Potential of Lactic Acid Bacteria Isolated from Yunnan De'ang Pickled Tea. **Probiotics and Antimicrobial Proteins**, 2018.

CASTRO-BRAVO, N. et al. Interactions of Surface Exopolysaccharides From Bifidobacterium and Lactobacillus Within the Intestinal Environment. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, p. 2426, 2018.

CAVALCANTE, R. G. S. et al. The probiotic Lactobacillus fermentum 296 attenuates cardiometabolic disorders in high fat diet-treated rats. **Nutrition, metabolism, and cardiovascular diseases: NMCD**, v. 29, n. 12, p. 1408–1417, 2019.

CAVALCANTI NETO, M. P. et al. Gut microbiota and probiotics intervention: A potential therapeutic target for management of cardiometabolic disorders and chronic kidney disease? **Pharmacological Research**, v. 130, p. 152–163, 2018.

CAVIERES, V. et al. Vascular hypercontractility and endothelial dysfunction before development of atherosclerosis in moderate dyslipidemia: role for nitric oxide and interleukin-6. **American Journal of Cardiovascular Disease**, v. 4, n. 3, p. 114–122, 2014.

CHAN, S.; CHAN, J. Brain stem oxidative stress and its associated signaling in the regulation of sympathetic vasomotor tone. - **PubMed - NCBI**. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22837172>>. Acesso em: 19 abr. 2019.

CHASWAL, M. et al. Cardiac autonomic function in acutely nitric oxide deficient hypertensive rats: role of the sympathetic nervous system and oxidative stress. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 89, n. 12, p. 865–874, 2011.

CHAVEZ, J. A.; SUMMERS, S. A. Characterizing the effects of saturated fatty acids on insulin signaling and ceramide and diacylglycerol accumulation in 3T3-L1 adipocytes and C2C12 myotubes. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 419, n. 2, p. 101–109, 2003.

CORR, S. C. et al. Bacteriocin production as a mechanism for the antiinfective activity of Lactobacillus salivarius UCC118. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 104, n. 18, p. 7617–7621, 2007.

DALIRI, E. B.-M.; LEE, B. H.; OH, D. H. Current Perspectives on Antihypertensive Probiotics. **Probiotics and Antimicrobial Proteins**, v. 9, n. 2, p. 91–101, 2017.

DANIEL, H. et al. High-fat diet alters gut microbiota physiology in mice. **The ISME journal**, v. 8, n. 2, p. 295–308, 2014.

DE ALBUQUERQUE, T. M. R. et al. In Vitro Characterization of Lactobacillus Strains Isolated from Fruit Processing By-Products as Potential Probiotics. **Probiotics and Antimicrobial Proteins**, p. 1–13, 2017.

DE ALBUQUERQUE, T. M. R. et al. In Vitro Characterization of Lactobacillus Strains Isolated from Fruit Processing By-Products as Potential Probiotics. **Probiotics and Antimicrobial Proteins**, v. 10, n. 4, p. 704–716, 2018.

DE BRITO ALVES, J. L. et al. Short- and long-term effects of a maternal low-protein diet on ventilation, O₂/CO₂ chemoreception and arterial blood pressure in male rat offspring. **The British Journal of Nutrition**, v. 111, n. 4, p. 606–615, 2014.

DE BRITO ALVES, J. L. et al. Maternal protein restriction induced-hypertension is associated to oxidative disruption at transcriptional and functional levels in the medulla oblongata. **Clinical and Experimental Pharmacology & Physiology**, v. 43, n. 12, p. 1177–1184, 2016a.

DE BRITO ALVES, J. L. et al. New Insights on the Use of Dietary Polyphenols or Probiotics for the Management of Arterial Hypertension. **Frontiers in Physiology**, v. 7, n. October, 2016b.

DE OLIVEIRA, Y. et al. Oral administration of Lactobacillus fermentum post-weaning improves the lipid profile and autonomic dysfunction in rat offspring exposed to maternal dyslipidemia. **Food & Function**, v. 11, n. 6, p. 5581–5594, 2020.

DI CAGNO, R. et al. Selection and use of autochthonous mixed starter for lactic acid fermentation of carrots, French beans or marrows. **International Journal of Food Microbiology**, v. 127, n. 3, p. 220–228, 2008.

DINH, Q. N. et al. Roles of Inflammation, Oxidative Stress, and Vascular Dysfunction in Hypertension. **BioMed Research International**, v. 2014, 2014.

DONNELLY, K. L. et al. Sources of fatty acids stored in liver and secreted via lipoproteins in patients with nonalcoholic fatty liver disease. **Journal of Clinical Investigation**, v. 115, n. 5, p. 1343–1351, 2005.

DURGAN, D. J. et al. Role of the Gut Microbiome in Obstructive Sleep Apnea-Induced Hypertension. **Hypertension**, v. 67, n. 2, p. 469–474, 2016.

ETTINGER, G. et al. The influence of the human microbiome and probiotics on cardiovascular health. **Gut Microbes**, v. 5, n. 6, p. 719–728, 2014.

FIORUCCI, S.; DISTRUTTI, E. Bile Acid-Activated Receptors, Intestinal Microbiota, and the Treatment of Metabolic Disorders. **Trends in Molecular Medicine**, v. 21, n. 11, p. 702–714, 2015.

FURUSAWA, Y. et al. Commensal microbe-derived butyrate induces the differentiation of colonic regulatory T cells. **Nature**, v. 504, n. 7480, p. 446–450, 2013.

GANGARAPU, V. et al. Role of gut microbiota: Obesity and NAFLD. **Turkish**

Journal of Gastroenterology, v. 25, n. 2, p. 133–140, 2014.

GAO, X. et al. Correlations between α -Linolenic Acid-Improved Multitissue Homeostasis and Gut Microbiota in Mice Fed a High-Fat Diet. **mSystems**, v. 5, n. 6, p. e00391-20, 2020.

GARCIA-CASTILLO, V. et al. Lactobacillus fermentum UCO-979C beneficially modulates the innate immune response triggered by Helicobacter pylori infection in vitro. **Beneficial Microbes**, v. 9, n. 5, p. 829–841, 2018.

GAU, G. T.; WRIGHT, R. S. Pathophysiology, diagnosis, and management of dyslipidemia. **Current Problems in Cardiology**, v. 31, n. 7, p. 445–486, 2006. GOMEZ-ARANGO, L. F. et al. Increased Systolic and Diastolic Blood Pressure Is Associated With Altered Gut Microbiota Composition and Butyrate Production in Early Pregnancy. **Hypertension**, v. 68, n. 4, p. 974–981, 2016.

GÓMEZ-GUZMÁN, M. et al. Antihypertensive effects of probiotics Lactobacillus strains in spontaneously hypertensive rats. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 59, n. 11, p. 2326–2336, 2015.

GOURINE, A. V. et al. Cardiac vagal preganglionic neurones: An update. **Autonomic Neuroscience: Basic & Clinical**, v. 199, p. 24–28, 2016.

GRUNDY, S. M. Hypertriglyceridemia, atherogenic dyslipidemia, and the metabolic syndrome. **The American Journal of Cardiology**, v. 81, n. 4A, p. 18B–25B, 1998.

GUIMARÃES, K. S. L. et al. Effect of maternal dyslipidaemia on the cardiorespiratory physiology and biochemical parameters in male rat offspring. **The British Journal of Nutrition**, v. 118, n. 11, p. 930–941, 2017.

GUYTON, A. C. et al. Physiologic control of arterial pressure. **Bulletin of the New York Academy of Medicine**, v. 45, n. 9, p. 811–830, 1969.

HALL, A. B. et al. A novel Ruminococcus gnavus clade enriched in inflammatory bowel disease patients. **Genome Medicine**, v. 9, n. 1, p. 103, 2017.

HAMPE, C. S.; ROTH, C. L. Probiotic strains and mechanistic insights for the treatment of type 2 diabetes. **Endocrine**, v. 58, n. 2, p. 207–227, 2017.

HAN, X. Lipidomics for studying metabolism. **Nature Reviews. Endocrinology**, v. 12, n. 11, p. 668–679, 2016.

HAVEL, R. J. Postprandial hyperlipidemia and remnant lipoproteins. **Current Opinion in Lipidology**, v. 5, n. 2, p. 102–109, 1994.

HE, Y. et al. Linking gut microbiota, metabolic syndrome and economic status based on a population-level analysis. **Microbiome**, v. 6, p. 172, 2018.

HENRIKSEN, O. Sympathetic reflex control of blood flow in human peripheral tissues. **Acta Physiologica Scandinavica. Supplementum**, v. 603, p. 33–39, 1991.

HERSOUG, L.-G.; MØLLER, P.; LOFT, S. Gut microbiota-derived lipopolysaccharide uptake and trafficking to adipose tissue: implications for inflammation and obesity. **An Official Journal of the International Association for the Study of Obesity**, v. 17, n. 4, p. 297–312, 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. 1716–1724.e1–2, 2009.

HOOPER, L. V.; MIDTVEDT, T.; GORDON, J. I. How host-microbial interactions shape the nutrient environment of the mammalian intestine. **Annual Review of Nutrition**, v. 22, p. 283–307, 2002.

HOR, Y.-Y. et al. Lactobacillus sp. improved microbiota and metabolite profiles of aging rats. **Pharmacological Research**, v. 146, p. 104312, 2019.

HOU, G. et al. Lactobacillus delbrueckii Interfere With Bile Acid Enterohepatic Circulation to Regulate Cholesterol Metabolism of Growing–Finishing Pigs via Its Bile Salt Hydrolase Activity. **Frontiers in Nutrition**, v. 7, 2020.

HSIEH, F.-C. et al. Heat-killed and live Lactobacillus reuteri GMNL-263 exhibit similar effects on improving metabolic functions in high-fat diet-induced obese rats. **Food & Function**, v. 7, n. 5, p. 2374–2388, 2016.

HU, F. B. et al. Dietary fat intake and the risk of coronary heart disease in women. **The New England Journal of Medicine**, v. 337, n. 21, p. 1491–1499, 1997.

HUANG, Q. et al. AIP1 suppresses atherosclerosis by limiting hyperlipidemia-induced inflammation and vascular endothelial dysfunction. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 33, n. 4, p. 795–804, 2013.

ISHIMWE, N. et al. The perspective on cholesterol-lowering mechanisms of probiotics. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 59, n. 1, p. 94–105, 2015.

JACKSON, K. G.; POPPITT, S. D.; MINIHANE, A. M. Postprandial lipemia and cardiovascular disease risk: Interrelationships between dietary, physiological and genetic determinants. **Atherosclerosis**, v. 220, n. 1, p. 22–33, 2012.

JAMA, H. A. et al. The effect of diet on hypertensive pathology: is there a link via gut microbiota-driven immunometabolism? **Cardiovascular Research**, v. 115, n. 9, p. 1435–1447, 2019.

JAMA, H. A.; KAYE, D. M.; MARQUES, F. Z. The gut microbiota and blood pressure in experimental models. **Current Opinion in Nephrology and**

Hypertension, v. 28, n. 2, p. 97–104, 2019.

KANG, C. et al. Gut Microbiota Mediates the Protective Effects of Dietary Capsaicin against Chronic Low-Grade Inflammation and Associated Obesity Induced by High-Fat Diet. **mBio**, v. 8, n. 3, p. e00470-17, 2017.

KOSKA, J. et al. A human model of dietary saturated fatty acid induced insulin resistance. **Metabolism: Clinical and Experimental**, v. 65, n. 11, p. 1621–1628, 2016.

KULLISAAR, T. et al. The use of probiotic *L. fermentum* ME-3 containing Reg'Activ Cholesterol supplement for 4 weeks has a positive influence on blood lipoprotein profiles and inflammatory cytokines: an open-label preliminary study. **Nutrition Journal**, v. 15, p. 93, 2016.

LE CHATELIER, E. et al. Richness of human gut microbiome correlates with metabolic markers. **Nature**, v. 500, n. 7464, p. 541–546, 2013.

LEHRI, B.; SEDDON, A. M.; KARLYSHEV, A. V. *Lactobacillus fermentum* 3872 as a potential tool for combatting *Campylobacter jejuni* infections. **Virulence**, v. 8, n. 8, p. 1753–1760, 2017.

LEY, R. E. et al. Obesity alters gut microbial ecology. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 102, n. 31, p. 11070–11075, 2005.

LI, J. et al. Gut microbiota dysbiosis contributes to the development of hypertension. **Microbiome**, v. 5, 2017a.

LI, X. et al. Effects of *Lactobacillus casei* CCFM419 on insulin resistance and gut microbiota in type 2 diabetic mice. **Beneficial Microbes**, v. 8, n. 3, p. 421–432, 2017b.

LIBBY, P. Inflammation in atherosclerosis. **Nature**, v. 420, n. 6917, p. 868–874, 2002.

LIM, S.-M. et al. *Lactobacillus fermentum* IM12 attenuates inflammation in mice by inhibiting NF- κ B-STAT3 signalling pathway. **Beneficial Microbes**, v. 8, n. 3, p. 407–419, 2017.

LIU, H.-N. et al. Altered molecular signature of intestinal microbiota in irritable bowel syndrome patients compared with healthy controls: A systematic review and meta-analysis. **Official Journal of the Italian Society of Gastroenterology and the Italian Association for the Study of the Liver**, v. 49, n. 4, p. 331–337, 2017a.

LIU, R. et al. Gut microbiome and serum metabolome alterations in obesity and after weight-loss intervention. **Nature Medicine**, v. 23, n. 7, p. 859–868, 2017b.

LONG, X. et al. *Peptostreptococcus anaerobius* promotes colorectal

carcinogenesis and modulates tumour immunity. **Nature Microbiology**, v. 4, n. 12, p. 2319–2330, 2019.

LUPP, C. et al. Host-mediated inflammation disrupts the intestinal microbiota and promotes the overgrowth of Enterobacteriaceae. **Cell Host & Microbe**, v. 2, n. 2, p. 119–129, 2007.

MAGDER, S. Volume and its relationship to cardiac output and venous return. **Critical Care**, v. 20, n. 1, p. 271, 2016.

MAGDER, S. The meaning of blood pressure. **Critical Care**, v. 22, p. 257, 2018.

MANCABELLI, L. et al. Identification of universal gut microbial biomarkers of common human intestinal diseases by meta-analysis. **FEMS microbiology ecology**, v. 93, n. 12, 2017.

MAZMANIAN, S. K. et al. An immunomodulatory molecule of symbiotic bacteria directs maturation of the host immune system. **Cell**, v. 122, n. 1, p. 107–118, 2005.

MERCADO, J. et al. Enhancement of tight junctional barrier function by micronutrients: compound-specific effects on permeability and claudin composition. **PloS One**, v. 8, n. 11, p. e78775, 2013.

MUKDSI, M. C. A. et al. Administration of Lactobacillus fermentum CRL1446 increases intestinal feruloyl esterase activity in mice. **Letters in Applied Microbiology**, v. 54, n. 1, p. 18–25, 2012.

MUÑIZ PEDROGO, D. A. et al. An Increased Abundance of Clostridiaceae Characterizes Arthritis in Inflammatory Bowel Disease and Rheumatoid Arthritis: A Cross-sectional Study. **Inflammatory Bowel Diseases**, v. 25, n. 5, p. 902–913, 2019.

NAGPAL, R.; YADAV, H. Bacterial translocation from the gut to the distant organs: An overview. **Annals of Nutrition and Metabolism**, v. 71, n. 1, p. 11–16, 2017.

NEISH, A. S. Microbes in Gastrointestinal Health and Disease. **Gastroenterology**, v. 136, n. 1, p. 65–80, 2009.

NETTO CANDIDO, T. L.; BRESSAN, J.; ALFENAS, R. DE C. G. Dysbiosis and metabolic endotoxemia induced by high-fat diet. **Nutricion Hospitalaria**, v. 35, n. 6, p. 1432–1440, 2018.

OH, B. et al. The Effect of Probiotics on Gut Microbiota during the Helicobacter pylori Eradication: Randomized Controlled Trial. **Helicobacter**, v. 21, n. 3, p. 165–174, 2016.

OLIVECRONA, G. Role of lipoprotein lipase in lipid metabolism. **Current Opinion in Lipidology**, v. 27, n. 3, p. 233–241, 2016.

PARK, D. S.; FISHMAN, G. I. Basic Science for Clinicians: The Cardiac Conduction System. **Circulation**, v. 123, n. 8, p. 904–915, 2011.

QIAN, L.; HUANG, J.; QIN, H. Probiotics and dietary intervention modulate the colonic mucosa-associated microbiota in high-fat diet populations. **The Turkish Journal of Gastroenterology**, v. 31, n. 4, p. 295–304, 2020.

RADDING, C. M.; BRAGDON, J. H.; STEINBERG, D. The synthesis of low- and high-density lipoproteins by rat liver in vitro. **Biochimica Et Biophysica Acta**, v. 30, n. 2, p. 443–444, 1958.

RÍOS-COVIÁN, D. et al. Intestinal Short Chain Fatty Acids and their Link with Diet and Human Health. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, p. 185, 2016.

ROBLES-VERA, I. et al. Antihypertensive Effects of Probiotics. **Current Hypertension Reports**, v. 19, n. 4, 2017.

ROBLES-VERA, I. et al. The Probiotic *Lactobacillus fermentum* Prevents Dysbiosis and Vascular Oxidative Stress in Rats with Hypertension Induced by Chronic Nitric Oxide Blockade. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 62, n. 19, p. e1800298, 2018.

ROBLES-VERA, I. et al. Probiotics Prevent Dysbiosis and the Rise in Blood Pressure in Genetic Hypertension: Role of Short-Chain Fatty Acids. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 64, n. 6, p. e1900616, 2020.

RODRÍGUEZ-MONFORTE, M. et al. Metabolic syndrome and dietary patterns: a systematic review and meta-analysis of observational studies. **European Journal of Nutrition**, v. 56, n. 3, p. 925–947, 2017.

ROMÃO DA SILVA, L. DE F. et al. Effects of probiotic therapy on cardio-metabolic parameters and autonomic modulation in hypertensive women: a randomized, triple-blind, placebo-controlled trial. **Food & Function**, v. 11, n. 8, p. 7152–7163, 2020.

SACHIDANANDAM, K. et al. Differential Effects of Diet-Induced Dyslipidemia and Hyperglycemia on Mesenteric Resistance Artery Structure and Function in Type 2 Diabetes. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 328, n. 1, p. 123–130, 2009.

SAFARI, Z. et al. Murine Genetic Background Overcomes Gut Microbiota Changes to Explain Metabolic Response to High-Fat Diet. **Nutrients**, v. 12, n. 2, p. 287, 2020.

SALVETTI, E.; TORRIANI, S.; FELIS, G. E. The Genus *Lactobacillus*: A Taxonomic Update. **Probiotics and Antimicrobial Proteins**, v. 4, n. 4, p. 217–226, 2012.

SERAVALLE, G.; GRASSI, G. Sympathetic Nervous System, Hypertension,

Obesity and Metabolic Syndrome. **The Official Journal of the Italian Society of Hypertension**, v. 23, n. 3, p. 175–179, 2016.

SHAH, P. et al. Elevated free fatty acids impair glucose metabolism in women: decreased stimulation of muscle glucose uptake and suppression of splanchnic glucose production during combined hyperinsulinemia and hyperglycemia. **Diabetes**, v. 52, n. 1, p. 38–42, 2003.

SHANAHAN, F. The gut microbiota-a clinical perspective on lessons learned. **Nature Reviews. Gastroenterology & Hepatology**, v. 9, n. 10, p. 609–614, 2012.

SHEN, X. et al. Fecal Enterotoxigenic *Bacteroides fragilis*-*Peptostreptococcus stomatis*-*Parvimonas micra* Biomarker for Noninvasive Diagnosis and Prognosis of Colorectal Laterally Spreading Tumor. **Frontiers in Oncology**, v. 11, p. 661048, 2021.

SIRCANA, A. et al. Gut microbiota, hypertension and chronic kidney disease: Recent advances. **Pharmacological Research**, 2018.

SMIT, J. J. et al. The role of intestinal dendritic cells subsets in the establishment of food allergy. **Journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology**, v. 41, n. 6, p. 890–898, 2011.

SORBARA, M. T. et al. Functional and Genomic Variation between Human-Derived Isolates of *Lachnospiraceae* Reveals Inter- and Intra-Species Diversity. **Cell Host & Microbe**, v. 28, n. 1, p. 134–146.e4, 2020.

SURGI, B. S.; TARG, M. E.; ROBINSON, D. S. The degradation of very low density lipoprotein by the extrahepatic tissues of the rat. **Biochimica Et Biophysica Acta**, v. 529, n. 2, p. 331–341, 1978.

TADA, H. et al. Remnant lipoproteins and atherosclerotic cardiovascular disease. **International Journal of Clinical Chemistry**, v. 490, p. 1–5, 2019.

TORAL, M. et al. The probiotic *Lactobacillus coryniformis* CECT5711 reduces the vascular pro-oxidant and pro-inflammatory status in obese mice. **Clinical Science**, v. 127, n. 1, p. 33–45, 2014.

TORAL, M. et al. *Lactobacillus fermentum* Improves Tacrolimus-Induced Hypertension by Restoring Vascular Redox State and Improving eNOS Coupling. **Molecular Nutrition & Food Research**, p. e1800033, 2018.

TUNAPONG, W. et al. Chronic treatment with prebiotics, probiotics and synbiotics attenuated cardiac dysfunction by improving cardiac mitochondrial dysfunction in male obese insulin-resistant rats. **European Journal of Nutrition**, v. 57, n. 6, p. 2091–2104, 2018.

VACCA, M. et al. The Controversial Role of Human Gut *Lachnospiraceae*. **Microorganisms**, v. 8, n. 4, 2020.

VRIEZE, A. et al. Transfer of intestinal microbiota from lean donors increases insulin sensitivity in individuals with metabolic syndrome. **Gastroenterology**, v. 143, n. 4, p. 913- 916.e7, 2012.

WALKER, A. W. et al. High-throughput clone library analysis of the mucosa-associated microbiota reveals dysbiosis and differences between inflamed and non-inflamed regions of the intestine in inflammatory bowel disease. **BMC microbiology**, v. 11, p. 7, 2011.

WANG, A. N. et al. Free radical scavenging activity of *Lactobacillus fermentum* in vitro and its antioxidative effect on growing-finishing pigs. **Journal of Applied Microbiology**, v. 107, n. 4, p. 1140–1148, 2009.

WANG, J.-J. et al. Systemic venous circulation. Waves propagating on a windkessel: relation of arterial and venous windkessels to systemic vascular resistance. **American Journal of Physiology**, v. 290, n. 1, p. H154-162, 2006.

WANG XUE-RUI et al. Inhibition of NADPH Oxidase–Dependent Oxidative Stress in the Rostral Ventrolateral Medulla Mediates the Antihypertensive Effects of Acupuncture in Spontaneously Hypertensive Rats. **Hypertension**, v. 71, n. 2, p. 356–365, 2018.

WANG, Y. et al. Gut Microbiota and Host Plasma Metabolites in Association with Blood Pressure in Chinese Adults. **Hypertension**, v. 77, n. 2, p. 706–717, 2021.

WATERS, J. L.; LEY, R. E. The human gut bacteria Christensenellaceae are widespread, heritable, and associated with health. **BMC Biology**, v. 17, p. 83, 2019.

WEI, S. et al. Determining Gut Microbial Dysbiosis: a Review of Applied Indexes for Assessment of Intestinal Microbiota Imbalances. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 87, n. 11, p. e00395-21, 2021.

WILKINS, T.; SEQUOIA, J. Probiotics for Gastrointestinal Conditions: A Summary of the Evidence. **American Family Physician**, v. 96, n. 3, p. 170–178, 2017.

WINDMUELLER, H. G.; SPAETH, A. E. Fat transport and lymph and plasma lipoprotein biosynthesis by isolated intestine. **Journal of Lipid Research**, v. 13, n. 1, p. 92–105, 1972.

WU, M. et al. Effect of Berberine on Atherosclerosis and Gut Microbiota Modulation and Their Correlation in High-Fat Diet-Fed ApoE^{-/-} Mice. **Frontiers in Pharmacology**, v. 11, 2020.

XIE, N. et al. Effects of two *Lactobacillus* strains on lipid metabolism and intestinal microflora in rats fed a high-cholesterol diet. **BMC complementary and alternative medicine**, v. 11, p. 53, 2011.

YADAV, R. et al. Consumption of Probiotic *Lactobacillus fermentum* MTCC: 5898-Fermented Milk Attenuates Dyslipidemia, Oxidative Stress, and Inflammation in Male Rats Fed on Cholesterol-Enriched Diet. **Probiotics and Antimicrobial Proteins**, 2018.

YAN, Q. et al. Alterations of the Gut Microbiome in Hypertension. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 7, p. 381, 2017.

ZHANG, X. et al. Structural Changes of Gut Microbiota during Berberine-Mediated Prevention of Obesity and Insulin Resistance in High-Fat Diet-Fed Rats. **PLoS ONE**, v. 7, n. 8, 2012.

ZHANG, Y. et al. Probiotic *Lactobacillus casei* Zhang ameliorates high-fructose-induced impaired glucose tolerance in hyperinsulinemia rats. **European Journal of Nutrition**, v. 53, n. 1, p. 221–232, 2014.

ZHAO, L. et al. A combination of quercetin and resveratrol reduces obesity in high-fat diet-fed rats by modulation of gut microbiota. **Food & Function**, v. 8, n. 12, p. 4644–4656, 2017.