

**UNIVERSIDADE DE SOROCABA**  
**PRÓ-REITORIA ACADÊMICA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS**  
**FARMACÊUTICAS**

**Jorge José Marciano**

**ALTERAÇÕES NO PESO E NA GORDURA CORPORAL DE**  
**RATOS SUBMETIDOS A TRATAMENTO COM**  
**TETRACICLINA E *Lactobacillus gasseri***

**SOROCABA/SP**

**2015**

**Jorge José Marciano**

**ALTERAÇÕES NO PESO E NA GORDURA CORPORAL DE  
RATOS SUBMETIDOS A TRATAMENTO COM  
TETRACICLINA E *Lactobacillus gasseri***

Dissertação apresentada à Banca Examinadora do Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade de Sorocaba, como exigência parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Orientador: Prof. Dr. Fernando de Sá Del Fiol

**Sorocaba/SP**

**2015**

Jorge José Marciano

**ALTERAÇÕES NO PESO E NA GORDURA CORPORAL DE  
RATOS SUBMETIDOS A TRATAMENTO COM  
TETRACICLINA E *Lactobacillus gasseri***

Dissertação aprovada como requisito  
parcial para obtenção do grau de  
Mestre no Programa de Pós-  
Graduação em Ciências Farmacêuticas  
da Universidade de Sorocaba

Aprovada em: 31/ 03 /2015

BANCA EXAMINADORA:

---

Prof. Dr. Fernando de Sá Del Fiol

Universidade de Sorocaba

---

Profa. Dra. Raquel de Mendonça Rosa Castro

Universidade de Sorocaba

---

Profa. Dra. Cristiane de Cássia Bergamaschi Motta

Universidade de Sorocaba

## DEDICATÓRIA

***Dedico este trabalho a minha esposa Wilma pelo incentivo, aos meus filhos Jorge Rafael e Thais, minhas fontes de inspiração e orgulho para novas jornadas.***

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço:

Ao meu cunhado Prof. Edgard Robles Tardelli, que me incentivou a fazer o mestrado em Ciências Farmacêuticas.

À minha sobrinha Alessandra C. Marciano Tardelli Ferreira pelo companheirismo durante o curso de Mestrado em Ciências Farmacêuticas.

À Nutricionista Maria Claudia Marques pela colaboração sem medida na fase experimental deste estudo.

Aos Funcionários dos laboratórios da Universidade de Sorocaba pela colaboração sempre que necessitei.

Ao meu orientador Prof. Dr. Fernando de Sá Del Fiol pela paciência em atender-me quando solicitado e pelos ensinamentos prestados com sabedoria.

## RESUMO

A obesidade tem se tornado um dos maiores desafios na área de saúde pública em todo o mundo, em especial nos países Ocidentais. Apesar da etiologia multifatorial, estudos recentes têm mostrado um importante papel da microbiota intestinal no desenvolvimento da doença. O uso de antibióticos nos últimos 70 anos pode ter tido um importante papel na alteração da microbiota intestinal humana, aumentando o ganho de peso e acúmulo de gordura corporal. OBJETIVOS: Avaliar a interferência da Tetraciclina e de *Lactobacillus gasseri* no peso e composição corporal de ratos. Para avaliar essa possibilidade, dividimos 45 animais (*Rattus norvegicus*) em três grupos e administrou-se os seguintes tratamentos por duas semanas: (1) (n=15) tetraciclina 75mg/kg/dia; (2) (n=15) tetraciclina 75mg/kg/dia +  $1.10^9$  u.f.c. de *Lactobacillus gasseri*; e (3) (n=15) 0.1 mL de NaCl (0.9%). Os animais foram pesados durante 8 semanas e ao final dessas semanas, os animais foram submetidos à antropometria e bioimpedância. Os resultados mostraram que o grupo que recebeu tetraciclina isoladamente apresentou o maior Índice de Massa Corporal ( $p=0.030$ ), o maior Índice de Lee ( $p = 0.008$ ), e ainda um menor percentual de água corporal, indicando um grande acúmulo de gordura no corpo, em relação ao Grupo Controle(CONTR). O grupo que recebeu o probiótico - *L. gasseri*, associado com a tetraciclina apresentou resultados similares aos do grupo controle, indicando um possível efeito protetor do probiótico no acúmulo de gordura apresentado pelo grupo que recebeu a tetraciclina isoladamente. Em conclusão a tetraciclina aumentou a concentração de gordura corporal e o uso do probiótico associado ao antibiótico, foi capaz de proteger os animais do efeito pró-obesidade. Faz-se necessário elucidar o mecanismo envolvido no binômio microbiota/peso.

**Palavras-chave:** Antimicrobianos; Obesidade; Microbiota intestinal; Probióticos

## ABSTRACT

Obesity has been considered a major public health challenge worldwide, especially in Western countries. Although multifactorial etiology, recent studies have shown the important role of gut microbiota in obesity. The increased contact that humans have had to antibiotics in the last seventy years may have had an important role in gut microbiota changes, leading to weight gain and body fat accumulation. **OBJETIVE:** Evaluate the interference of the Tetracyclin and *Lactobacillus gasseri* in weight and body composition of rats. To evaluate this possibility, we divided 45 animals (*Rattus norvegicus*) into three groups and administered the following treatments over two weeks: (1) TETRA (n = 15) tetracycline 75mg/kg/day; (2) TETRA+LG (n = 15) tetracycline 75mg/kg/day +  $1.10^9$  cfu of *Lactobacillus gasseri*; and (3) CONTR (n = 15) 0.1 mL NaCL (0.9%). The animals were weighed over 8 weeks and, at the end of the treatment period, they underwent anthropometric measurements and bioelectrical impedance. The results showed that the group receiving tetracycline alone had a higher Body Mass Index ( $p = 0.030$ ), a greater Lee Index ( $p = 0.008$ ), and an even smaller percentage of body water than the control group, indicating a greater accumulation of body fat. The group receiving the probiotic *L. gasseri* associated with tetracycline presented similar results to the control group, indicating a possible protective effect of the probiotic to the accumulation of body fat seen in the group receiving tetracycline alone. The results of the study show that tetracycline increased the concentration of body fat and that the use of probiotics associated with the antibiotic was able to protect the animals from this pro-obesity effect. It is necessary to elucidate the mechanism involved in the binomial microbiota/weight.

**Key words:** antimicrobials; obesity; gut microbiota, probiotics.

## SUMÁRIO

<b>1.Introdução.....</b>	<b>8</b>
<b>2. Referencial Teórico.....</b>	<b>10</b>
<b>2.1 Obesidade.....</b>	<b>10</b>
2.1.1 Microbiota.....	11
2.1.2 Interferência de antibióticos na microbiota intestinal.....	11
2.1.3 Interferência do probiótico na microbiota intestinal.....	14
<b>3. Objetivos.....</b>	<b>18</b>
3.1 Objetivo Geral.....	18
3.2 Objetivos específicos.....	18
<b>4. Resultados.....</b>	<b>19</b>
4.1 Artigo: Change in weigth and body fatg after use of Tetracyclin and <i>Lactobacillus gasseri</i> ir rats.....	20
<b>5. Considerações Finais.....</b>	<b>34</b>
<b>Referências Bibliográficas.....</b>	<b>35</b>
<b>Anexo : Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa Animal.....</b>	<b>40</b>



## 1. INTRODUÇÃO

A obesidade já é considerada uma pandemia, sendo a doença crônica não transmissível que mais cresce no mundo (MURPHY et al.,2013). Nos Estados Unidos da América, metade da população tem sobrepeso, na Espanha e na maioria dos países europeus a porcentagem de obesos aumentou entre 20% a 40% nos últimos 10 anos e de forma alarmante, também afetou a população infantil (MILLION et al., 2012; RILEY et al.,2013).

Trata-se de um dos mais graves problemas de saúde pública mundial, por estar acompanhada do desenvolvimento de patologias metabólicas e crônicas, como diabetes, hipertensão, enfermidades cardiovasculares, câncer, entre outras (KARAGOZIAN, 2014; MURPHY, 2013).

É uma disfunção multifatorial associada à excessiva ingestão de energia na dieta em comparação com o gasto calórico, influenciada por fatores fisiológicos, metabólicos, sociais, e culturais (MILLION et al., 2012; NEWNHAM et al., 2009; RILEY et al., 2013).

Recentemente observou-se que a microbiota que coloniza o intestino animal e humano, tem um papel importante no desenvolvimento da obesidade e outras enfermidades metabólicas e imunológicas do hospedeiro (CHO et al., 2012; MILLION et al., 2013; NEWNHAM et al.,2009). Esta afirmação está embasada em estudos recentes que encontraram diferenças na microbiota intestinal de indivíduos magros e obesos (MILLION et al.,2013; YIN et al., 2010).

Um estudo realizado por FEI e ZHAO (2013), na Universidade de Xangai confirmou que havia relação entre micro-organismos da microbiota intestinal e obesidade. O estudo envolveu humanos. E para confirmação dos resultados, o experimento foi reproduzido em ratos. Os resultados demonstraram que a manipulação, tanto da dieta como da microbiota intestinal por meio de fármacos, pode apresentar uma nova estratégia para tratamento da obesidade e suas complicações (FEI et al., 2013).

Há mais de 50 anos, a microbiota do trato gastrointestinal dos animais de abate, como aves, suínos e bovinos, tem sido manipulada empiricamente, mediante o uso de doses subterapêuticas de antibióticos promotores de crescimento, como aditivos para ganho de peso (CHO et al., 2012).

A proibição dos antibióticos promotores de crescimento na União Europeia, urgiu o desenvolvimento de alternativas que fossem eficazes para produção animal e seguras para a saúde humana, animal e o meio ambiente (LIN et al., 2014). As opções foram surgindo como: ácidos orgânicos, enzimas, extratos vegetais e especialmente os probióticos e prebióticos. O uso de probióticos em animais de corte (aves, suínos e bovinos) modulou a microbiota do trato intestinal, melhorou a barreira intestinal, os processos metabólicos, imunológicos, conseqüentemente diminuíram as enfermidades infecciosas, o bem estar animal e melhorou a taxa de conversão de peso em carne, aumento de massa muscular e não em tecido adiposo (DIBNER et al., 2005; LIN et al., 2014).

Desta forma, há elementos claros na literatura recente, que indicam um papel fundamental na microbiota intestinal no metabolismo de alimentos e no ganho calórico. A alteração não intencional dessa microbiota pelo uso de antibióticos, aumenta o ganho calórico, com conseqüente excesso de peso, e aumento de gordura na composição corporal. O uso dos probióticos e prebióticos mostrou que também é uma opção para modular a microbiota intestinal, por aumentar a massa muscular e não tecido adiposo.

De posse desses dados, buscamos com este estudo, obter mais informações a respeito da interferência da tetraciclina e do probiótico (*Lactobacillus gasseri*), no ganho de peso e composição corporal de ratos.

A Tetraciclina foi o antibiótico eleito por ser um agente bacteriostático de largo espectro, que promove grandes alterações na microbiota intestinal (CHO et al., 2012). A escolha do *Lactobacillus gasseri* se deu em virtude de trabalhos que mostraram sua atividade na diminuição de peso (JI-HEE KANG, et al., 2013).

## 2. REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 OBESIDADE

É uma doença multifatorial, associada a uma excessiva ingestão de calorias na dieta, em relação ao gasto, devido ao sedentarismo, a carga genética, e a fatores ambientais e culturais. (NEWNHAM et al., 2009; RYLEY, et al., 2013), tem ainda componentes de etiologia geográfica e etária (ANGELAKIS et al., 2012).

A obesidade, para adultos, é definida como sendo o IMC (Índice de Massa Corporal) maior ou igual a 30 Kg/m<sup>2</sup>, peso em Kg dividido pela altura em metros, elevada ao quadrado. (RILEY et al., 2013) .

Segundo estimativas globais da OMS (Organização Mundial da Saúde) de 2008, mais de 1,4 bilhões de adultos estavam com sobrepeso, destes mais de 200 milhões de homens e 300 milhões de mulheres eram obesos (GO RE, et al. 2014). A obesidade é considerada ainda como uma doença grave e dispendiosa, para o sistema de Saúde Público. Hospitalizações relacionadas à doença quase triplicaram entre 1996 a 2009, e se a tendência continuar crescendo, os custos atribuídos a obesidade, poderão subir de 861 para 957 bilhões de dólares em 2030. Nos Estados Unidos, a Associação Médica Americana reconheceu oficialmente a obesidade como uma doença, que causa uma crise na saúde pública, atingindo cerca de 33% da população norte-americana com um custeio para o sistema de saúde de mais de 190 milhões dólares por ano (MAHGEREFTEH et al.,2013).

Sabemos que a obesidade é fator de alto risco para o desenvolvimento varias doenças como a diabetes (NEWNHAM et al., 2009) patologias cardiovasculares, desordens respiratórias e câncer (KARAGOZIAN et al., 2014). Como a prevalência e a gravidade e suas complicações aumentaram significativamente em populações em todo mundo, as intervenções comportamentais isoladas, têm sido inconsistentes em promover suficiente perda de peso.

Consequentemente, tem havido grande interesse no desenvolvimento de medicamentos anti-obesidade (GUZMAN et al. 2014).

### **2.1.1 A MICROBIOTA**

Microbiota se refere a uma população de organismo microscópicos que habitam um órgão do corpo ou uma parte do corpo de uma pessoa (THOMAS et al., 2010), portanto a microbiota intestinal é a população de micro-organismos que habita o intestino.

O intestino do homem aloja trilhões de bactérias, muitas das quais desempenham um importante papel na digestão dos alimentos ao torná-los assimiláveis pelo organismo. Sabemos que os antibióticos alteram a microbiota, principalmente a intestinal, interferindo em nosso metabolismo e balanço energético (MILLION et al., 2013; MURPHY et al., 2013; RILEY et al., 2013). Alguns autores têm atribuído a essa alteração da microbiota intestinal pelos antibióticos, uma possível explicação para a ocorrência da epidemia mundial de obesidade (RILEY et al., 2013).

Estudos têm demonstrado que existem diferenças na composição da microbiota intestinal de humanos obesos e magros e ratos obesos e magros. O intestino de humanos e ratos obesos é, basicamente, colonizado por uma quantidade maior de Firmicutes e menos de Bacteroidetes (LEY RE, et al., 2005; LEY RE, et al., 2006).

### **2.1.2 Interferência de antibióticos na microbiota intestinal e obesidade**

O desenvolvimento de compostos químicos para tratamento de doenças infecciosas pode ser dividido em três fases:

1<sup>a</sup> A descoberta em 1600 na América do Sul de extratos de alcalóides, a partir da casca da árvore cinchona e de extrato seco da raiz do arbusto ipecacuanha, que provaram ser eficazes contra, respectivamente a malária e a disenteria amebiana. 2<sup>a</sup> O desenvolvimento de drogas sintéticas, que aconteceram principalmente na Alemanha (1854-1915). 3<sup>a</sup> A descoberta de antibióticos: tendo

como principal exemplo a descoberta da Penicilina no final da década de 1920, por Alexander Fleming, médico microbiologista (YAZDANKHAH et al., 2013).

Desde a década de 1940, os antibióticos têm tido um importante papel na diminuição da morbidade e mortalidade humana e animal. Agentes antibacterianos foram e são prescritos, em grandes quantidades em todo mundo, adequada e inadequadamente, contrariando as orientações de especialistas que defendem mais limitações na utilização (CHO et al., 2012; TRASANDE et al., 2013).

Há mais de 50 anos, a microbiota intestinal de animais para abate (aves, suínos e bovinos) para consumo humano tem sido manipulada com o uso de antibióticos em doses subterapêuticas para aumentar o ganho de peso (CHO et al., 2012; LIBBY et al., 1955, LIN J. et al., 2013); principalmente se administrados nos primeiros dias de vida (TRASANDE et al., 2013).

A primeira nação a proibir o uso de antibióticos na alimentação animal, como promotor de ganho de peso foi a Suécia, em 1986. A proibição foi embasada em estudos que demonstraram que havia uma relação no consumo da carne desses animais que eram alimentados com antibióticos como promotores de ganho de peso e transferências aos humanos das bactérias resistentes a antibióticos (DIBNER et al., 2005).

Mais recentemente tivemos uma melhor compreensão do microbioma humano, composto por milhares de espécies de bactérias, que ajudam no metabolismo humano, levantando assim uma questão: o uso de antibióticos em crianças pode alterar a ecologia microbiana? Enquanto a composição da microbiota de adultos parece relativamente estável, a microbiota de crianças até seis meses de idade, é mais vulnerável à perturbação dos antibióticos e de outras interferências (TRASANDE et al., 2013). Embora altamente estável ao longo do tempo, a composição e a atividade da microbiota intestinal pode ser influenciada por certo número de fatores como: idade, dieta e tratamento com antibióticos (POWER et al., 2014).

No útero, os bebês são estéreis e colonizados nos primeiros dias de vida, quando entram em contato com a microbiota vaginal, fecal e cutânea

(REINHARDT et al., 2009), além do contato com membros da família. Essas exposições, juntamente com a dieta (BACKHED et al., 2005), idade (AGANS et al., 2011; VAEL et al., 2011), sexo (MARKLE et al., 2013), localização geográfica (GRZESKOWIAK 2012), e fatores ambientais, como a exposição precoce a antibióticos, dão início à formação de uma microbiota intestinal que será a base para o final da infância e vida adulta (VAEL et al., 2011).

A interferência dos antibióticos administrados às crianças na infância e sua alteração na microbiota intestinal poderia ser a responsável pelo aumento significativo nos indicadores de obesidade infantil e adulta (BIBILONI et al., 2013).

A exposição a antibióticos durante os primeiros 12 meses de vida esteve associada a um pequeno aumento do IMC em meninos entre 5-8 anos. Esta exposição precoce fornece importantes alterações na microbiota intestinal e consequente risco de obesidade (MURPHY et al., 2013).

Com a administração de antibióticos obtemos a alteração da microbiota intestinal, promovendo mudanças na fisiologia do corpo, causando a disbiose (RILEY, 2013). Cerca de 75% dos antibióticos administrados aos animais em confinamento não são absorvidos pelo organismo e, portanto excretados através das fezes, contaminando o meio ambiente. Assim, se os seres humanos são de fato expostos cronicamente á antibióticos de baixa dosagem a partir do meio ambiente ou através da exposição a um desses animais contaminados, há uma boa razão para acreditar que eles também podem sofrer com o fenômeno da disbiose e ter efeito sobre o ganho de peso (RILEY, 2013).

Embora os seres humanos estejam interessados em manipular a microbiota para ajudar na perda de peso, a indústria de alimento animal tem se empenhado na manipulação microbiota para o ganho de peso, usando antibióticos promotores de crescimento, como aditivo alimentares (LIN, 2011).

O mecanismo da manipulação da microbiota com os agentes antibacterianos melhoram o desempenho no ganho de peso. Esse mecanismo ainda não é bem conhecido, mas varias hipóteses são propostas: a) Nutrientes são eficientemente mais absorvidos por causa de um epitélio do intestino delgado mais

fino; b) Os nutrientes são poupados, pois os micro-organismos concorrentes são reduzidos; c) Os micro-organismos responsáveis pelas infecções subclínicas são reduzidos ou eliminados; d) Alterações na atividade de enzimas bacterianas melhoram a eficiência alimentar (THUNY et al., 2010).

### **2.1.3 Interferência do probiótico na microbiota intestinal**

A palavra probiótico foi utilizada pela primeira vez por Lillye Stillwellem em 1965. Definimos probióticos como “micro organismo vivos com efeitos benéficos ao hospedeiro, através do equilíbrio da sua microbiota intestinal” (BUTEL et al., 2013).

O intestino humano é um grande e complexo ecossistema onde os micro-organismos, nutrientes, e as células hospedeiras interagem extensivamente, um processo crucial para a homeostase intestinal (BUTEL et al.,2013).

O primeiro alimento que entramos em contato é o leite materno, onde encontramos probióticos e prebióticos. Os probióticos são utilizados como reguladores dietéticos para influenciar a composição da microbiota intestinal. (TURNBAUGH et al., 2008S).

Prebiótico é o termo utilizado para determinados componentes de alimentos vegetais, que não são digeríveis em qualquer das etapas do processo digestivo, portanto, resistente à ação das enzimas. São carboidratos (oligossacarídeos) ou fibras solúveis em água (hidrossolúveis), encontradas em certos alimentos (BACKED et al.,2004; KOTZAMPASSI et al., 2014). Os prebióticos apresentam as seguintes funções: ajudar na manutenção e regulação da microbiota intestinal, estimular a motilidade intestinal, contribuir com a consistência e qualidade das fezes, colaborar para que somente sejam absorvidas pelo intestino as substâncias necessárias, eliminando assim o excesso de glicose e colesterol, possuem efeito bifidogênico, isto é, estimulam o crescimento das bifidobactérias, responsáveis por inibirem a atividade de outras bactérias que são putrefativas e intoxicantes, reduzir o risco de gastroenterites e infecções, e diminuir a incidência de sintomas alérgicos, como eczema atópico. (CARNAHAN et al., 2014; EVERARD et al., 2014; ROBERFROID et al., 2010; VRESE et al.,2008).

Os efeitos dos probióticos estão bem estabelecidos: 1. Prevenção e ou redução da duração de diarreias induzidas por rotavirus ou associadas a antibióticos. 2. Redução da concentração de enzimas que causam câncer e/ou metabólitos de putrefação (bacterianas) no intestino. 3. Prevenção e a redução de queixas inespecíficas e irregulares das vias gastrointestinais em pessoas saudáveis. 4. Efeitos benéficos sobre aberrações microbianas, inflamação e outras patologias: como doenças inflamatórias do trato gastrointestinal, infecção por *Helicobacter pylori* ou crescimento excessivo de bactérias. 5. Normalização de passagem das fezes e de sua consistência em indivíduos que sofrem com constipação ou cólon irritável. 6. Prevenção ou alívio de alergias e doenças atópicas em crianças 7. Prevenção de infecções do trato respiratório (resfriado comum, gripe) e outras doenças infecciosas, assim como o tratamento de infecções urogenitais (VRESE et al., 2008).

A utilização terapêutica potencial de micro-organismos é feita há quase 200 anos e é anterior a confirmação experimental da teoria das doenças microbianas. Os mecanismos benéficos dos probióticos ainda não estão totalmente claros, mas incluem efeitos não específicos, tais como a inibição do crescimento de patógenos de alteração da composição de ácidos graxos de cadeia curta no lúmen intestinal, estimulação da produção de mucina do cólon, ou potencialização das respostas imunológica e secretora da atividade antibiótica (ANGELASKIS et al., 2013).

Os autores de uma meta-análise relataram um significativo benefício dos próbióticos para a diarreia aguda, com diminuição de um dia para diarreia que persiste por mais de quatro dias, além da diminuição de sua frequência (ALLEN et al., 2010).

Evidências recentes explicam o mecanismo de regulação do metabolismo microbiano do hospedeiro, tanto na saúde quanto na doença. Estudos em animais explicam como as mudanças quantitativas/qualitativas na composição da microflora são capazes de afetar a absorção dos nutrientes e a distribuição de energia. Antibióticos, prebióticos e probióticos, são instrumentos utilizados na prática clínica atual para modular a microbiota bacteriana intestinal no homem, com resultados preliminares promissores na prevenção e tratamento da obesidade e doenças metabólicas relacionadas (SCARPELLINI, et al., 2010).



A manipulação da composição do ecossistema microbiano no intestino pode ser uma nova abordagem para o tratamento da obesidade. Tal tratamento consiste em alterar a composição da microbiota de um indivíduo obeso, administrando probióticos (MEKKES et al., 2014).

Essas propostas de manipulação surgem de evidências mostrando que a microbiota intestinal do magro difere da microbiota do obeso, a qual tem uma maior capacidade de produzir energia a partir da dieta, e um aumento significativamente maior na gordura corporal total (TURNBAUGH et al., 2006).

As bactérias mais comumente utilizadas para modular a microbiota intestinal pertencem aos gêneros *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus* e *Streptococcus* sendo as mais significativas a *Bifidobacterium* e *Lactobacillus* (MILLION et al., 2012).

Os *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus fermentum* e *Lactobacillus reuteri* são os mais comumente utilizados na pecuária. Estes dados sugerem fortemente que o probióticos contendo *Lactobacillus* podem ter impacto na alteração do peso em seres humanos e animais. (MILLION et al., 2012). Os *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus fermentum* e *Lactobacillus ingluviei* foram associados ao ganho de peso, enquanto os *Lactobacillus plantarum* e *Lactobacillus gasseri*, à perda de peso (ANGELAKIS et al., 2013; MILLION et al., 2012; TURNBAUGH et al., 2008).

A *Bifidobacterium* é uma bactéria comensal, encontrada em maior número no intestino dos mamíferos (YIN, et al., 2010). É a primeira bactéria a colonizar o intestino do recém-nascido (AGANS et al., 2011; KOTZAMPASSI et al., 2014). Esta bactéria ainda pode auxiliar a cepa de *Bacteroidetes* a degradar polissacarídeos e inibir a absorção de colesterol exógeno na porção do intestino delgado, reduzindo assim os níveis séricos de colesterol (YIN et al., 2010).

Recentemente, estudos têm relatado a atividade preventiva de bactérias lácticas, sobre a obesidade e síndrome metabólica. *Bifidobacteria* e *Lactobacillus* são os principais membros da flora intestinal, e, portanto, sendo útil a investigação do efeito dos probióticos, sobre a relação entre flora intestinal e

obesidade ou doenças relacionadas com a obesidade (JI-HEE KANG et al.,2013). Estudos em humanos foram realizados para avaliar os efeitos do Probiótico *Lactobacillus gasseri*, na redução da adiposidade abdominal (perímetro abdominal), peso corporal e outras medidas, com resultados significantes, sugerindo sua influência benéfica sobre os distúrbios metabólicos, com redução de peso (Y KADOOKA et al., 2010).

O probiótico *Lactobacillus gasseri*, uma estirpe probiótica isolada a partir de leite materno humano, inibiu o aumento de peso corporal e peso do tecido adiposo em ratos alimentados com dieta rica em sacarose, e reduziu os níveis de glicose em ratos diabéticos tipo 2. Aumentou a expressão de genes de oxidação de ácidos graxos e reduziu os níveis de leptina e insulina no sangue de ratos obesos, induzidos por dieta rica e sacarose (JI-HEE KANG et al.,2013).

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 OBJETIVO GERAL**

Avaliar a interferência do uso do antibiótico (Tetraciclina) de forma isolada ou associada ao probiótico (*Lactobacillus gasseri*) no peso e composição corporal de ratos.

#### **3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

Determinar as variações nas medidas antropométricas e de bioimpedância em ratos, após uso dos medicamentos.

Avaliar a proteção oferecida do probiótico *Lactobacillus gasseri*, no ganho de peso e composição corporal de ratos durante o tratamento com a Tetraciclina.

## 4. Resultados

Os resultados estão no formato artigo científico.

O artigo está em avaliação na revista Biomedicine & Pharmacotherapy,  
conforme email abaixo

Editor handles BIOPHA-D-15-00128

ees.biopha.0.2f27df.1a24d594@eesmail.elsevier.com

dom 08/02/2015 14:24

Ms. Ref. No.: BIOPHA-D-15-00128

Title: Changes in Weight and Body Fat after Use of Tetracycline and  
Lactobacillus gasseri in Rats  
Biomedicine & Pharmacotherapy

Dear Dr. Fernando Sa Del Fiol,

Your submission "Changes in Weight and Body Fat after Use of Tetracycline  
and Lactobacillus gasseri in Rats" will be handled by Editor in Chief (1) Haim  
Tapiero, Dr..

You may check the progress of your paper by logging into the Elsevier  
Editorial System as an author at <http://ees.elsevier.com/biopha/>.

Thank you for submitting your work to this journal.

Kind regards,

Elsevier Editorial System  
Biomedicine & Pharmacotherapy

**4.1 TITLE:** Changes in Weight and Body Fat after Use of Tetracycline and  
*Lactobacillus gasseri* in Rats

**AUTHORS:** Fernando Sá Del Fiol\*<sup>1</sup> Ph.D.

Jorge José Marciano<sup>1</sup> D.D.

Alessandra Cristina Marciano Tardelli Ferreira<sup>1</sup> M.D.

Maria Cláudia Marques<sup>1</sup> N.D.

Luciane Lopes Santana<sup>1</sup> N.D.

<sup>1</sup>Pharmacology Dept., University of Sorocaba, Rod. Raposo Tavares, Km 92,5  
Sorocaba, Brazil.

**Corresponding author:**

\*Prof. Dr. Fernando de Sá Del Fiol. University of Sorocaba Rodovia Raposo  
Tavares, Km 92,5 CEP: 18023-000 Telephone: 55 15 996170589 Fax: 55 15  
21017074 E-mail: [fernando.fiol@prof.uniso.br](mailto:fernando.fiol@prof.uniso.br)

**Key words:** antimicrobials; obesity; gut microbiota

We wish to confirm that there are no known conflicts of interest associated with this publication and there has been no significant financial support for this work that could have influenced its outcome.

**Running Head:** Changes in Weight and Body Fat after Use of Tetracycline

## Changes in Weight and Body Fat after Use of Tetracycline and *Lactobacillus gasseri* in Rats

**Abstract:** Obesity has been considered a major public health challenge worldwide, especially in Western countries. Although multifactorial etiology, recent studies have shown the important role of gut microbiota in obesity. The increased contact that humans have had to antibiotics in the last seventy years may have had an important role in gut microbiota changes, leading to weight gain and body fat accumulation. To evaluate this possibility, we divided 45 animals (*Rattus norvegicus*) into three groups and administered the following treatments over two weeks: (1) TETRA (n = 15) tetracycline 75mg/kg/day; (2) TETRA+LG (n = 15) tetracycline 75mg/kg/day +  $1.10^9$  cfu of *Lactobacillus gasseri*; and (3) CONTR (n = 15) 0.1 mL NaCL (0.9%). The animals were weighed over 8 weeks and, at the end of the treatment period, they underwent anthropometric measurements and bioelectrical impedance. The results showed that the group receiving tetracycline alone had a higher Body Mass Index ( $p = 0.030$ ), a greater Lee Index ( $p = 0.008$ ), and an even smaller percentage of body water than the control group, indicating a greater accumulation of body fat. The group receiving the probiotic *L. gasseri* associated with tetracycline presented similar results to the control group, indicating a possible protective effect of the probiotic to the accumulation of body fat seen in the group receiving tetracycline alone. The results of the study show that tetracycline increased the concentration of body fat and that the use of probiotics associated with the antibiotic was able to protect the animals from this pro-obesity effect. It is necessary to elucidate the mechanism involved in the binomial microbiota/weight, so we can develop mechanisms for the control of two major global problems: obesity and malnutrition.

**Key words:** antimicrobials; obesity; gut microbiota

## 1. Introduction

Obesity is currently considered one of the greatest global public health challenges since the number of obese people has risen dramatically, especially in Western countries.[1] Only in the United States has the number of overweight people doubled, from an average of 15.1% in 1976–80 to 31.2% in 2001–04.[2] Related to obesity are other grave medical conditions such as cancer, diabetes, hypertension, and cardiovascular disease.[3]

The diet and physical inactivity, certainly are important causes of obesity, but are not the only ones. The multifactorial etiology of obesity[1 4], includes among other causes, changes in the human microbiota [1 5-9]

Human gut microbiota has about 100 trillion bacterial cells that belong predominantly to four bacterial phyla: Proteobacteria, Actinobacteria, Firmicutes, and Bacteroidetes. These last two are responsible for about 90% of the organisms found in the gut microbiota.[1 10] Intestinal bacterial cells are ten times higher than the cells in an adult human. This large number of microorganisms, associated with numerous functions developed and mediated by gut microbiota, leads some authors to refer to gut microbiota as another human organ [1 11-13].

Although relatively stable, gut microbiota is altered by age, gender, geography, diet, and environmental factors such as exposure to antibiotics, especially in children and newborns [14-19].

The literature contains numerous studies relating to gut microbiota changes (dysbiosis) caused by antibiotics and probiotics, with human and animal weight modifications [20-23] The relationship between Bacteroidetes and Firmicutes seems to be a major factor in the increase or decrease of energy gain, although there is no consensus on the role of each microorganism in the development of obesity or weight loss.[24-27]

In the last seventy years, we have been exposed to large amounts of antibiotics: as therapy against infections,[28] in antibiotic-contaminated food,[29] or

by the large amounts dumped in the environment.[30] This increased exposure, especially in children, may be responsible for the recent obesity epidemic.

Studies show that the increase in body weight caused by microbial antibiotics is becoming more frequent, particularly when the antibiotic has a broad spectrum of activity. Alternatively, the use of probiotics has been associated with weight loss and, presumably, would protect against the effect caused by antibiotics in the microbiota.[19 31-34]

In a recent meta-analysis which involved the review of eighty-two studies on the effect of *Lactobacillus* species in weight of animals and humans, Million et al. showed that some *Lactobacillus* species were associated with weight gain—*L. acidophilus*, *L. ingluviei*, *L. fermentum*, and others with weight loss—*L. plantarum* and *L. gasseri*.[35]

With the intent to discover more information about this phenomenon and to search for possible treatments with the combination of probiotics, this study evaluated the interference of the administration of tetracycline, with or without a probiotic, on the weight and body composition of rats.

## 2. Materials and Methods

2.1 Animal Care: We used 45 male rats (*Rattus norvegicus* Wistar) that were 15 days old. The animals were housed in the animal house at the University of Sorocaba, where they stayed for a 10 day adaptation period before the experimental phase. They were fed with standard rodent chow (Presence®) and water ad libitum.

The project was approved by the Ethics Committee on Animal Research of the University of Sorocaba, n.010/2013. It was conducted in accordance with the Brazilian Regulations for Animal Experiment. The animals were housed in cages, each holding 3 rats each, with free access to chow and water and with a cycle of 12 hours light and 12 hours dark and kept at 22°C. The animals were divided into 3 groups of 15 animals each: the TETRA Group, the TETRA+LG Group, and the CONTR Group.



2.2 Treatment: The treatments were given to each group once daily, by oral route: TETRA was given Tetracycline in a dose of 75 mg/kg/day; TETRA+LG was given a dose of Tetracycline 75 mg/kg/day and 2 hours later a treatment of 0.1 mL  $10^9$  cfu of *L. gasseri* suspension; and CONTR group was given 0.1 mL NaCL solution (0.9%). The treatments were given for two weeks on days 0, 2, 4, 7, 9, and 11. The *L. gasseri* was dissolved in saline solution of 0.9% NaCL.

2.3 Weight gain and body composition: Animal weight (AW): The rats were weighed weekly for 8 weeks, on days 0, 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49, and 56. To assess body composition, the rats underwent anthropometry and bioelectrical impedance.

2.4 Anthropometry: For evaluation of anthropometric data, the animals were anesthetized with sodium pentobarbital (30 mg/kg) and measurements were taken as described by Novelli et al. [36] Abdominal circumference (AC) was measured immediately anterior to the forefoot, thoracic circumference (TC) was measured immediately behind the foreleg, and body length (BL) was the nose-anus length. We use a nonelastic strap with an accuracy of 0.1 cm.

2.5 Bioelectrical impedance: Tetrapolar bioelectrical impedance analysis (TBIA) was performed according to the procedure described by Hall et al.[37] Whole-body reactance (WBXc) and whole-body resistance (WBR) were measured using a tetrapolar phase-sensitive bioelectrical impedance analyzer that introduced a 425  $\mu$ A current at 50 kHz (Bioelectrical Body Composition Analyzer, Model: Quantum II). The anesthetized animals were placed in prone position on a nonconductive surface. The hair was removed and four electrodes (i.e., two sources and two detectors) made from hypodermic needles were placed as described by Hall et al. [37] and Yokoi et al. [38] Electrode 1 (i.e., a source) was placed at the anterior edge of the orbit, electrode 2 (i.e., a source) was placed 4 cm from the base of the tail, electrode 3 (i.e., a detector) was placed at the anterior opening of the pinna, and electrode 4 (i.e., a detector) was placed at the midpelvis.

Using the data obtained from the TBIA (i.e., WBXc and WBR), the anthropometry (i.e., AC, TC, and BL), and the animal weights (i.e., AW) we evaluated the following parameters for all animals:

-the body mass index (BMI) was calculated by dividing the weight of the animal in grams (AW) by the square of its length in centimeters (BL).<sup>[36]</sup>

-the Lee index was determined by dividing the cubic root of the animal weight in grams (AW) by the length in centimeters (BL).<sup>[39]</sup>

-the AC/TC ratio was determined by dividing the AC in centimeters by the TC in centimeters.

-the total body water in grams (TBW) was estimated using the empirical formula described by Hall et al.:<sup>[37]</sup>  $TBW = 15.47 + 97.44 \text{ BL}^2/\text{WBR}$ , where BL is body length in centimeters and WBR is WBR in  $\Omega$  from the TBIA.

-the percentage of body water (% BW) was calculated by dividing the TBW in grams by the animal weight in grams (AW) and multiplying the result by 100.

2.6 Statistical Analysis: All measurements were taken twice. The statistical significance between the three groups was calculated using a two-way analysis of variance (ANOVA), followed by the Tukey-Kramer test. A difference between groups was considered statistically significant when the p value was <0.05.

### 3. Results

Weight Gain: The rats were weighed weekly. Table 1 shows the initial weight average (day zero), the final weight media (day 56), the average weight gain, and the standard deviation. We observed no difference in weight gain among the three groups.

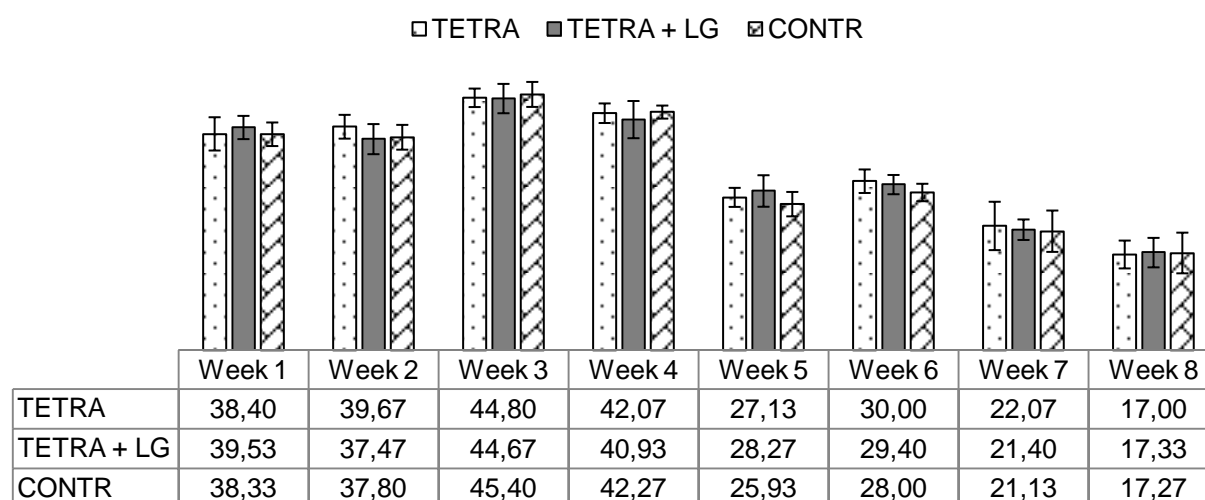
**Table 1. Initial weight, final weight, and weight gain of animals [mean ( $\pm$  SD)] according to group.**

	TETRA	TETRA+LG	CONTR	p
Initial weight (g)	74.05 ( $\pm$ 5.11) <sup>a</sup>	77.53 ( $\pm$ 7.94) <sup>a</sup>	76.33 ( $\pm$ 3.84) <sup>a</sup>	0.7161
Final weight (g)	336.06 ( $\pm$ 11.34) <sup>a</sup>	336.53 ( $\pm$ 14.78) <sup>a</sup>	332.46 ( $\pm$ 10.09) <sup>a</sup>	0.8835

Weight gain (g)	261.13 ( $\pm 7.38$ ) <sup>a</sup>	259.00 ( $\pm 11.66$ ) <sup>a</sup>	256.13 ( $\pm 7.63$ ) <sup>a</sup>	0.7538
-----------------	------------------------------------	-------------------------------------	------------------------------------	--------

Different superscripted letters indicate statistical significance  $p < 0.05$ .

Equal superscripted letters indicate no statistical significance  $p > 0.05$ .



**Figure 1.** Weekly average weight gain (g) and standard deviation.

The data in Figure 1 show that there was no variation in the weekly weight of the animals in any of the groups. The animals in all groups showed a fairly homogenous weight gain, with higher gain between the third and fourth week after the beginning of the experiment.

Table 2 shows the results of the bioelectrical impedance for the WBXc and the WBR data. There was no difference between any groups tested in the parameters evaluated by bioelectrical impedance.

**Table 2.** Bioelectrical impedance: whole body reactance (WBXc) and whole body resistance (WBR) for the three groups.

	TETRA	TETRA+LG	CONTR	p
WBXc	26.67 ( $\pm 2.35$ ) <sup>a</sup>	23.00 ( $\pm 2.38$ ) <sup>a</sup>	24.40 ( $\pm 2.30$ ) <sup>a</sup>	0.1104
WBR	227.03 ( $\pm 7.00$ ) <sup>a</sup>	216.67 ( $\pm 10.89$ ) <sup>a</sup>	212.87 ( $\pm 9.74$ ) <sup>a</sup>	0.1067

Different superscripted letters indicate statistical significance  $p < 0.05$ .  
Equal superscripted letters indicate no statistical significance  $p > 0.05$ .

**Table 3. BMI, Lee index, AC/TC ratio, TBW, and BW in all groups.**

	<b>TETRA</b>	<b>TETRA+LG</b>	<b>CONTR</b>	<b>p</b>
BMI (g/cm <sup>2</sup> )	0.615 ( $\pm 0.029$ ) <sup>a</sup>	0.576 ( $\pm 0.031$ ) <sup>a,b</sup>	0.562 ( $\pm 0.019$ ) <sup>b</sup>	0.0302
Lee index	0.297 ( $\pm 0.006$ ) <sup>a</sup>	0.287 ( $\pm 0.006$ ) <sup>b</sup>	0.284 ( $\pm 0.008$ ) <sup>b</sup>	0.0082
AC/TC ratio	1.16 ( $\pm 0.032$ ) <sup>a</sup>	1.121 ( $\pm 0.035$ ) <sup>a,b</sup>	1.110 ( $\pm 0.025$ ) <sup>b</sup>	0.0144
TBW (g)	252.1 ( $\pm 13.70$ ) <sup>a</sup>	280.7 ( $\pm 12.16$ ) <sup>b</sup>	288.8 ( $\pm 15.62$ ) <sup>b</sup>	0.0024
BW (%)	76.42 ( $\pm 4.25$ ) <sup>a</sup>	84.50 ( $\pm 4.41$ ) <sup>b</sup>	87.29 ( $\pm 5.47$ ) <sup>b</sup>	0.0052

Different superscripted letters indicate statistical significance  $p < 0.05$ .

Equal superscripted letters indicate no statistical significance  $p > 0.05$ .

Table 3 shows the results obtained from anthropometry and TBIA. The BMI was significantly higher in the TETRA group as compared to the CONTR group ( $p = 0.0302$ ). The Lee index was significantly higher in the TETRA group, which received only tetracycline, as compared to the TETRA+LG and the CONTR group ( $p = 0.0082$ ); but there was no difference between the TETRA+LG and the CONTR group.

The results for the AC/TC ratio were similar to BMI, showing a difference between only the TETRA group and the CONTR group ( $p = 0.0144$ ).

The TBW and the BW results showed that the TETRA group, which received only the antibiotic, had a lower amount of body water (252.1 g) and the lowest percentage of body water (76.42%), therefore it had a greater amount of fat ( $p = 0.0024$  and  $p = 0.0052$ ). The administration of *L. gasseri* associated with tetracycline in the TETRA+LG group was able to protect against the accumulation of body fat that occurred in TETRA animals that received tetracycline alone, with a similar performance to CONTR group.

#### 4. Discussion

Data from this study shows that animals treated with tetracycline alone had a percent body water significantly less than the other groups, although the weight gain was equal for all groups.

Other studies have shown similar results. Cho's study[7] using a different methodology shows that, despite not finding differences in weight, giving animals antibiotics increased their body fat. There is ample evidence in the literature to show that the use of antibiotics may be causing weight gain in humans, especially when administered to children.[19 40-43]

This adverse effect should not limit the use of antibiotics. During the first years of life, when respiratory infections most often occur, antibiotic use is more frequent and necessary.[44 45] However, the use of antibiotics in this age group is of even greater concern because it is this time when the microbiota are more susceptible to changes (dysbiosis).[46 47]

Therefore, it is very important to understand that probiotics would provide protection against the adverse effect of antibiotics and to ensure that an effective antibacterial therapy protects the microflora of these children. *L. gasseri* could be used as an alternative for protection against reverse microbiota and the weight gain resulting from it.

Studies using *L. gasseri* in humans have shown decreases in abdominal adiposity, body weight, and waist and hip circumferences after oral use of probiotics.[48 49] In rats, there are several studies showing that the use of this microorganism decreased visceral fat through enhancement of lipid excretion,[50] reduced adipocyte size,[51 52] and body weight.[53 54]

## 5. Conclusion

The role of the microbiota in obesity and the interference of antibiotics are widely documented. We have demonstrated with this study that tetracycline, as in

other studies, increases the fat mass of treated animals and that probiotics, in this case *L. gasseri*, could act as a protector of the microbiota by preventing or decreasing fat accumulation after use of antibiotics.

Other studies are necessary to elucidate the mechanism by which some probiotics interfere with weight loss or gain so we can use these resources to combat two major problems that afflict the world health: malnutrition and obesity.

## 6. References

1. L.W. Riley, E. Raphael, E. Faerstein, Obesity in the United States - dysbiosis from exposure to low-dose antibiotics?, *Front Public Health* 2013; 1: 69.
2. T. Christian, I. Rashad, Trends in U.S. food prices, 1950-2007, *Econ Hum Biol* 2009; 7: 113-20.
3. *Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D*. Washington DC: National Academy of Sciences., 2011.
4. J.P. Newnham, C.E. Pennell, S.J. Lye, et al., Early life origins of obesity, *Obstet Gynecol Clin North Am* 2009; 36: 227-44, xii.
5. M. Million, J.C. Lagier, D. Yahav, et al., Gut bacterial microbiota and obesity, *Clin Microbiol Infect* 2013; 19: 305-13.
6. A.P. Boroni Moreira, T. Fiche Salles Teixeira, C.G.P.M. do, et al., Gut microbiota and the development of obesity, *Nutr Hosp* 2012; 27: 1408-14.
7. I. Cho, S. Yamanishi, L. Cox, et al., Antibiotics in early life alter the murine colonic microbiome and adiposity, *Nature* 2012; 488: 621-6.
8. F.D. Martinez, The human microbiome. Early life determinant of health outcomes, *Ann Am Thorac Soc* 2014; 11 Suppl 1: S7-S12.
9. G. Musso, R. Gambino, M. Cassader, Interactions between gut microbiota and host metabolism predisposing to obesity and diabetes, *Annu Rev Med* 2011; 62: 361-80.
10. H. Tilg, A. Kaser, Gut microbiome, obesity, and metabolic dysfunction, *J Clin Invest* 2011; 121: 2126-32.

11. J.M. Lankelma, M. Nieuwdorp, W.M. de Vos, et al., [The gut microbiota in sickness and health], *Ned Tijdschr Geneeskd* 2014; 157: A5901.
12. L. Putignani, F. Del Chierico, A. Petrucca, et al., The human gut microbiota: a dynamic interplay with the host from birth to senescence settled during childhood, *Pediatr Res* 2014; 76: 2-10.
13. E.M. Quigley, Gut bacteria in health and disease, *Gastroenterol Hepatol (N Y)* 2013; 9: 560-9.
14. R. Agans, L. Rigsbee, H. Kenche, et al., Distal gut microbiota of adolescent children is different from that of adults, *FEMS Microbiol Ecol* 2011; 77: 404-12.
15. C. Vael, S.L. Verhulst, V. Nelen, et al., Intestinal microflora and body mass index during the first three years of life: an observational study, *Gut Pathog* 2011; 3: 8.
16. J.G. Markle, D.N. Frank, S. Mortin-Toth, et al., Sex differences in the gut microbiome drive hormone-dependent regulation of autoimmunity, *Science* 2013; 339: 1084-8.
17. L. Grzeskowiak, M.C. Collado, C. Mangani, et al., Distinct gut microbiota in southeastern African and northern European infants, *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2012; 54: 812-6.
18. F. Backhed, R.E. Ley, J.L. Sonnenburg, et al., Host-bacterial mutualism in the human intestine, *Science* 2005; 307: 1915-20.
19. L. Trasande, J. Blustein, M. Liu, et al., Infant antibiotic exposures and early-life body mass, *Int J Obes (Lond)* 2013; 37: 16-23.
20. R.E. Ley, P.J. Turnbaugh, S. Klein, et al., Microbial ecology: human gut microbes associated with obesity, *Nature* 2006; 444: 1022-3.
21. P. Xu, M. Li, J. Zhang, et al., Correlation of intestinal microbiota with overweight and obesity in Kazakh school children, *BMC Microbiol* 2012; 12: 283.
22. P.J. Turnbaugh, F. Backhed, L. Fulton, et al., Diet-induced obesity is linked to marked but reversible alterations in the mouse distal gut microbiome, *Cell Host Microbe* 2008; 3: 213-23.
23. M.D. Bibiloni, A. Pons, J.A. Tur, Prevalence of Overweight and Obesity in Adolescents: A Systematic Review, *ISRN Obes* 2013; 2013: 392747.
24. P.J. Turnbaugh, M. Hamady, T. Yatsunenko, et al., A core gut microbiome in obese and lean twins, *Nature* 2009; 457: 480-4.
25. M. Li, B. Wang, M. Zhang, et al., Symbiotic gut microbes modulate human metabolic phenotypes, *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105: 2117-22.

26. M.C. Collado, E. Isolauri, K. Laitinen, et al., Distinct composition of gut microbiota during pregnancy in overweight and normal-weight women, *Am J Clin Nutr* 2008; 88: 894-9.
27. A. Schwartz, D. Taras, K. Schafer, et al., Microbiota and SCFA in lean and overweight healthy subjects, *Obesity (Silver Spring)* 2010; 18: 190-5.
28. T.P. Van Boeckel, S. Gandra, A. Ashok, et al., Global antibiotic consumption 2000 to 2010: an analysis of national pharmaceutical sales data, *Lancet Infect Dis* 2014; 14: 742-50.
29. A.D. Anderson, J.M. Nelson, S. Rossiter, et al., Public health consequences of use of antimicrobial agents in food animals in the United States, *Microb Drug Resist* 2003; 9: 373-9.
30. A.K. Sarmah, M.T. Meyer, A.B. Boxall, A global perspective on the use, sales, exposure pathways, occurrence, fate and effects of veterinary antibiotics (VAs) in the environment, *Chemosphere* 2006; 65: 725-59.
31. F. Thuny, H. Richet, J.P. Casalta, et al., Vancomycin treatment of infective endocarditis is linked with recently acquired obesity, *PLoS One* 2010; 5: e9074.
32. T.H. Haight, W.E. Pierce, Effect of prolonged antibiotic administration on the weight of healthy young males, *J Nutr* 1955; 56: 151-61.
33. L. Saiman, M. Anstead, N. Mayer-Hamblett, et al., Effect of azithromycin on pulmonary function in patients with cystic fibrosis uninfected with *Pseudomonas aeruginosa*: a randomized controlled trial, *JAMA* 2010; 303: 1707-15.
34. L. Saiman, N. Mayer-Hamblett, M. Anstead, et al., Open-label, follow-on study of azithromycin in pediatric patients with CF uninfected with *Pseudomonas aeruginosa*, *Pediatr Pulmonol* 2012; 47: 641-8.
35. M. Million, E. Angelakis, M. Paul, et al., Comparative meta-analysis of the effect of *Lactobacillus* species on weight gain in humans and animals, *Microb Pathog* 2012; 53: 100-8.
36. E.L. Novelli, Y.S. Diniz, C.M. Galhardi, et al., Anthropometrical parameters and markers of obesity in rats, *Lab Anim* 2007; 41: 111-9.
37. Hall CB, Lukaski HC, Marchello MJ, Estimation of rat body composition using tetrapolar bioelectrical impedance analysis, *Nutr. Rep. Int.* 1989; 39: 627-33.
38. K. Yokoi, H.C. Lukaski, E.O. Uthus, et al., Use of bioimpedance spectroscopy to estimate body water distribution in rats fed high dietary sulfur amino acids, *J Nutr* 2001; 131: 1302-8.



39. L.L. Bernardis, Prediction of carcass fat, water and lean body mass from Lee's "nutritive ratio" in rats with hypothalamic obesity, *Experientia* 1970; 26: 789-90.
40. F. Perrini, [Aureomycin as growth factor in prematures], *Boll Soc Ital Biol Sper* 1951; 27: 1151-2.
41. K.W. Southern, P.M. Barker, A. Solis-Moya, et al., Macrolide antibiotics for cystic fibrosis, *Cochrane Database Syst Rev* 2012; 11: CD002203.
42. L.G. Macdougall, The effect of aureomycin on undernourished African children, *J Trop Pediatr* 1957; 3: 74-81.
43. M.L. Garly, C. Bale, C.L. Martins, et al., Prophylactic antibiotics to prevent pneumonia and other complications after measles: community based randomised double blind placebo controlled trial in Guinea-Bissau, *BMJ* 2006; 333: 1245.
44. S. Del Fiol Fde, L.C. Lopes, S. Barberato-Filho, et al., Evaluation of the prescription and use of antibiotics in Brazilian children, *Braz J Infect Dis* 2013; 17: 332-7.
45. Y. Razon, S. Ashkenazi, A. Cohen, et al., Effect of educational intervention on antibiotic prescription practices for upper respiratory infections in children: a multicentre study, *J Antimicrob Chemother* 2005; 56: 937-40.
46. N. Voreades, A. Kozil, T.L. Weir, Diet and the development of the human intestinal microbiome, *Front Microbiol* 2014; 5: 494.
47. M. Li, M. Wang, S.M. Donovan, Early development of the gut microbiome and immune-mediated childhood disorders, *Semin Reprod Med* 2014; 32: 74-86.
48. Y. Kadooka, M. Sato, K. Imaizumi, et al., Regulation of abdominal adiposity by probiotics (*Lactobacillus gasseri* SBT2055) in adults with obese tendencies in a randomized controlled trial, *Eur J Clin Nutr* 2010; 64: 636-43.
49. S.P. Jung, K.M. Lee, J.H. Kang, et al., Effect of *Lactobacillus gasseri* BNR17 on Overweight and Obese Adults: A Randomized, Double-Blind Clinical Trial, *Korean J Fam Med* 2013; 34: 80-9.
50. Y. Yonejima, K. Ushida, Y. Mori, *Lactobacillus gasseri* NT decreased visceral fat through enhancement of lipid excretion in feces of KK-A(y) mice, *Biosci Biotechnol Biochem* 2013; 77: 2312-5.
51. E.M. Hamad, M. Sato, K. Uzu, et al., Milk fermented by *Lactobacillus gasseri* SBT2055 influences adipocyte size via inhibition of dietary fat absorption in Zucker rats, *Br J Nutr* 2009; 101: 716-24.
52. M. Sato, K. Uzu, T. Yoshida, et al., Effects of milk fermented by *Lactobacillus gasseri* SBT2055 on adipocyte size in rats, *Br J Nutr* 2008; 99: 1013-7.

53. J.H. Kang, S.I. Yun, M.H. Park, et al., Anti-obesity effect of *Lactobacillus gasseri* BNR17 in high-sucrose diet-induced obese mice, *PLoS One* 2013; 8: e54617.
54. J.H. Kang, S.I. Yun, H.O. Park, Effects of *Lactobacillus gasseri* BNR17 on body weight and adipose tissue mass in diet-induced overweight rats, *J Microbiol* 2010; 48: 712-4.

## 5. Considerações finais

Inúmeros estudos têm mostrado e ressaltado a importância da microbiota intestinal no metabolismo energético e na absorção de calorias pelo intestino humano.

O presente estudo mostrou que, uma exposição a um antibiótico de largo espectro, pode interferir na composição da gordura corporal e consequentemente no peso de animais e provavelmente de humanos. Da mesma forma, ou seja, manipulando-se a microbiota, mas com um probiótico, o efeito mostrado foi protetivo, com relação ao aumento da gordura corporal.

Nossos resultados mostram que a manipulação da microbiota, pode ser um importante instrumento de controle de peso, seja para aumentá-lo ou para diminuí-lo.

Outros estudos são necessários para complementação desses mecanismos, em especial para se encontrar caminhos de proteção à microbiota de crianças submetidas a tratamento com antibióticos.

## REFERENCIAS

AGANS, R. et al.. Distal gut microbiota of adolescent children is different from that of adults. **FEMS Microbiol Ecol**, v.77, p. 404-412, 2011.

AJSLEV, T.A. et al.. Childhood overweight after establishment of the gut microbiota: the role of delivery mode, pre-pregnancy weight and early administration of antibiotics. **Int J Obes** (Lond), v. 35, p.522-529, 2011.

ALLEN, S.J., et al. Probiotics for treating acute infectious diarrhea. **Cochrane Database Syst Rev**, Oxford, v.10, n.11, 2010.

ANGELAKIS, E. et al..The relationship between gut microbiota and eighth gain in humans. **Future Microbiol**, v.7, n.1, p. 91-109, 2012.

ANGELAKIS, E. et al. Related actions of probiotics and antibiotics on gut microbiota and weight modification. **Lancet Infect Dis**, vol 13, p. 889-99; 2013.

BACKHED, F. et al... The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. **Proc Natl Acad Sci** , USA, v.101,p.15718-23,2004.

BACKHED, F. et al..Host-bacterial mutualism in the human intestine. **Science**, v.307, p.1915-1920, 2005.

BIBILONI, M.D. et al.. Prevalence of overweight and Obesity in Adolescents: A Systematic review. **ISRN Obes**, Santiago de Compostela, 2013.

BUTEL MJ et al. Probiotics, gut microbiota and health. **Science Direct**, Paris, v.44, n.1, p.1-8, 2013.

CARNAHAN, S. et al. Prebiotics in obesity. **Panminerva Med**, vol. 56, n.2, p. 165-75, 2014.

CHO, I. et al.. Antibiotics in early life alter the murine colonic microbiome and adiposity. **Nature**, v. 488, p.621-626, 2012.

DIBNER, J.J. et al.. Antibiotic growth promoters in agriculture: history and mode of action. **Poult Sci.**, v.84, p.634-643, 2005.

EVERARD, et al. Microbiome of prebiotic-treated mice reveals novel targets involved in host response during obesity. **ISME J.**, v. 10, p. 1038, 2014.

FEI, N; ZHAO, L.. An opportunistic pathogen isolated from gut of an obese human causes obesity in germfree mice. **The ISME Journal**, Shanghai, v. 7, p. 880-884, 2013.

GASKINS, H.R., et al.. Antibiotics as growth promoters: mode of action. **Anim Biotechnol**, v.13, p. 29-42, 2002.

GO, R.E. et al.. Effects of anti obesity drugs, phentermine and mahuang on behavioral patterns in spregue-Dawley rat model. **Lab Anim Re.**, v.30, n.2, p.73-78, 2014.

GRZESKOWIAK, L. et al.. Distinct gut microbiota in southeastern African and northern European infants. **J Pediatr Gastroenterol Nutr**, v. 54, p.812-816, 2014.

GUZMAN, A.K. et al.. Pharmacogenetics of obesity Drug Therapy, **Curr Mol Med** 2014 August 11.

HALL CB, et al.. Estimation of rat body composition using tetrapolar bioelectrical impedance analysis. **Nutr. Rep. Int.**, v. 39, p.627-633, 1989.

JI-HEE KANG et al..Anti-Obesity Effect of Lactobacillus gasseri BNR17 in High-Sucrose Diet-Induced Obese Mice. **PLoS One**, v. 8, n.1, 2013.

JUN LIN. Effect of antibiotic growth promoters on intestinal microbiota in food animals: a novel model for studying the relationship between gut microbiota and human obesity? **Front Microbiol**, v. 2, p.53, 2011.

KADOOKA, Y.et al.. Regulation of abdominal adiposity by probiotics (Lactobacillus Gasseri SBT2055) in adults with obese tendencies in a randomized controlled trial. . **European Journal of Clinical Nutrition**, v.6, p. 636-643. 2010.

KARAGOZIAN, R. et al.. Obesity associated mechanisms of hepatocarcinogenesis. **Metabolism**, 2014.

KOTZAMPASSI K., et al. Obesity as a Consequence of Gut Bacteria and Diet Interactions.**ISRN Obesity**, Athens, p. 1-8, 2014.

LEE H, KO G. Effect of Metformin on Metabolic improvement and the Gut Microbiota. **Appl Environ Microbiol**, p.01357-14, 2014.

LEY RE, BACKHED F, TURNBAUGH P, LOZUPONDE CA, KNIGHT RD, GODON JI. Obesity alters gut microbiota ecology. **Proc Natl Acad Sci, USA**, v. 102, p.11070-11075, 2005.

LEY, R.E. et al.. Microbial ecology: human gut microbes associated with obesity. **Nature** , v. 444, p.1022-1023, 2006.

LIBBY, D.A. et al.. Observations on growth responses do antibiotics and arsenic acids in poultry feeds. **Science**, v. 1221, p.733-734, 1955.

LIN J, et al. Effect of antibiotic growth promoters on intestinal microbiota in food animals: a novel model for studying the relationship between gut microbiota and human obesity? **Front Microbiol**, Knosville, v. 2, n. 53, 2011.

LIN, J. et al.. Response of intestinal microbiota to antibiotic growth promoter in chickens. **Foodborne Pathog**, v. 10,n.4, p.331-337, 2013.

LIN J.: Antibiotic growth promoters enhance animal production by targeting intestinal bile salt hydrolase and its producers. **Front Microbiol**, Lausanne,v, 5, n.33, 2014.

MAHGEREFTEH, B. et al.. New drug therapies for the treatment of overweight and obese patients. **Am Health Drug Benefits**, v.6, n.7, p.423-430. 2013, Sep.

MARKLE, J.G. et al.. Sex differences in the gut microbiome drive hormone-dependent regulation of autoimmunity. **Science**, v. 339, p.1084-1088, 2013.

MARQUES, T. M. et al.. Gut microbiota modulation and implications for host health: Dietary strategies to influence the gut-brains axis. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**. Irlanda, v. 22, p. 239-247, 2014.

MEKKES, M.C. et al.. The development of probiotic treatment in obesity: a review. **Benef Microbes**. v.5, n.1, p.19-28, 2014 Mar.

MILLION, M. et al.. Comparative meta-analysis of the effect of Lactobacillus species on weight gain in humans and animals. **Microb Pathog**. v.53, n. 2, p.100-8, 2012 Aug.

MILLION, M. Gut bacterial microbiota and obesity. **Clin Microbiol infect**. v.19, p.305-313, 2013

MORERIRA, A. P. B. et al. Obesity-associated gut microbiota is enriched in Lactobacillus reuteri and depleted in Bifidobacterium animalis and Methanobrevibacter smithii. **Int J Obes**. Londres, v. 36, n. 6, p. 817-25, 2012.

MURPHY, E.F. et al.. Antimicrobials: Strategies for targeting obesity and metabolic health? **Gut Microbes**. v. 4, p.48-53, 2013.

NEWNHAM, J.P. et al.. Early life origins of obesity. **Obstet Gynecol Clin North Am**, v.36, p.227-244 ,2009.

POWER, S.E. et al.. Intestinal microbiota, diet and health.**Br J Nutr**, v.111,n.3, p.387-402, 2014 Feb.

RAKITSKIĬ, V.N. et al.. Tolerance in the substantiation of the maximum allowable content of antibiotics in food products.**Vopr Pitan**,v. 82, n.2,p.48-52, 2013.

REINHARDT, C. et al.. Intestinal microbiota during infancy and its implications for obesity. **J Pediatr Gastroenterol Nutr**, v. 48, p.249-256, 2009

RILEY, L.W. et al.. Obesity in the United States-dysbiosis from exposure to low-dose antibiotics? **Front Public health**, v. 1, n.69, 2013.

ROBERFROID, M. et al . Prebiotic effects:metabolic and health benefits. **Br J Nutr**, v. 104, n.2,p.1-63, 2010.

SCARPELLINI, E. et al.. Gut microbiota and obesity. **Intern Emerg Med**, v. 5, n1, p. 53-6, 2010 Oct.

TERNAK G: Antibiotics may act as growth/obesity promoters in humans as an inadvertent result of antibiotic pollution? **Med Hypotheses**, v.64, p.14-16, 2005.

TRASANDE, L. et al.. Infat antibiotic exposures and erarly-life body mas. **Int J Obes (Lond.)**,v. 37, p.16-23, 2013.

THOMAS, D.W. et al.. Probiotics and prebiotics in pediatrics. **Pediatrics**, v.126, p.1217-31, 2010.

THUNY, F. et al.. Vancomycin treatment of infective endocarditis is linked with recently acquired obesity. **PLoS One**,v. 5, n.2, 2010.

TURNBAUGH, P.J. et al.. Obesity associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. **Nature** , 444(7122),p.1027-31, 2006 Dec 21.

TURNBAUCH, P..J. et al.. Diet-induced obesity is linked to marked but reversible alterations in the mouse dital gut microbiome.**Cell Host Microbe**,v. 3,n. 4, p.213-23, 2008.

VAEL, C. et al.. Intestinal microflora and body mass index during the first three years of life: an observational study. **Gut Pathog**, v. 3, n.1, p.8, 2011.

VRESE, M. et al.. Probiotics, prebiotics, and synbiotics. **Adv Biochem Eng Biotechnol**, Vol 104, n2, p. 1-66, 2008.

ZHENG, N. et al.. Occurrence of several main antibiotic residues in raw milk in 10 provinces of China. **Food Addit Contam Part B Surveill**, v. 6, n.2, p.84-9, 2013.

YAZDANKHAH, S. et al..The history of antibiotics. **Tidsskr Nem Laegeforen**, v. 133, p.23-24, 2013.

YIN, Y.N. et al.. Effects of four Bifidobacteria on obesity in high-fat diet induced rats. **World J Gastroenterol**, v. 16,n.27, p.3394-3401, 2010.



**UNIVERSIDADE DE SOROCABA**  
**COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS**  
**CEUA-UNISO**  
**PARECER**

Protocolo nº 010/2013

Interessados: Jorge José Marciano e Alessandra C. Marciano Tardelli Ferreira

Orientador: Fernando de Sá Del Fiol

**Título do Projeto:** Interferência do consumo de antibiótico e repolíticos de micróbios no peso e na composição corporal de ratos

**Título da Experimento:** Interferência do consumo de antibióticos e repolíticos de micróbios no peso e na composição corporal de ratos

Apresentado a Comissão de ética no uso de animais (CEUA) para análise, segundo a Lei No. 11.794, de 8 de outubro de 2008, que regulamenta o inciso VII do parágrafo 1º do artigo 225 da Constituição Federal, foi considerado:

**APROVADO.**

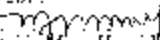
**APROVADO com RECOMENDAÇÃO,** devendo o proponente encaminhar as modificações sugeridas em anexo para complementação do protocolo;

**COM PENDÊNCIA,** devendo o proponente readotar os itens do protocolo;

**REPROVADO**

Manifestação do Parecerista:

Data: 2/04/2013

Assinatura:   
 Nome: Valquíria Mirwa Hama Yashida  
 Coordenadora da CEUA-UNISO

Encaminhar cópia deste parecer para o e-mail [ceua@uniso.br](mailto:ceua@uniso.br) e original assinado para a Seção Técnica Assessoria