

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMÁCIA (FISIOPATOLOGIA E
TOXICOLOGIA)
ÁREA DE FISIOPATOLOGIA

AMANDA SODRÉ MOTA

**Composição da microbiota intestinal durante a gestação e puerpério em mulheres com
diferentes intensidades de sintomas depressivos**

SÃO PAULO

2024

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMÁCIA (FISIOPATOLOGIA E
TOXICOLOGIA)
ÁREA DE FISIOPATOLOGIA

AMANDA SODRÉ MOTA

Composição da microbiota intestinal durante a gestação e puerpério em mulheres com diferentes intensidades de sintomas depressivos

Versão Corrigida

Tese apresentada a Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências.

Área de Concentração:
Fisiopatologia

Orientadora: Dra. Carla
Taddei

SÃO PAULO

2024

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Ficha Catalográfica elaborada eletronicamente pelo autor, utilizando o programa desenvolvido pela Seção Técnica de Informática do ICMC/USP e adaptado para a Divisão de Biblioteca e Documentação do Conjunto das Químicas da USP

Bibliotecária responsável pela orientação de catalogação da publicação: Marlene Aparecida Vieira -
CRB - 8/5562

M917c Mota, Amanda Sodré
Composição da microbiota intestinal durante a
gestação e puerpério em mulheres com diferentes
intensidades de sintomas depressivos / Amanda Sodré
Mota. - São Paulo, 2024.
105 p.

Tese (doutorado) - Faculdade de Ciências
Farmacêuticas da Universidade de São Paulo.
Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas -
Programa de Pós-Graduação em Farmácia (Fisiopatologia
e Toxicologia).
Orientador: Taddei, Carla

1. Microbiota. 2. Eixo cérebro-intestino. 3.
Depressão. 4. Obstetrícia. 5. Depressão Perinatal.
I. T. II. Taddei, Carla, orientador.

Amanda Sodré Mota

Título: Composição da microbiota intestinal durante a gestação e puerpério em mulheres com diferentes intensidades de sintomas depressivos

Tese apresentada para obtenção do título de Doutor em Ciências; Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo; área de concentração: Fisiopatologia.

Comissão Julgadora

Prof. Dr.
orientador/presidente

1o. Examinador

2o. Examinador

3o. Examinador

4o. Examinador

São Paulo, _____ de _____ de 2023.

Aqueles que sonharam comigo,
mas não puderam estar presente para a
concretização desse sonho, meus avós:
Maria Herotilde & Raimundo Sodré
Célia & Otacílio Motta

(in Memoriam)

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior -Brasil (CAPES) -Código de Financiamento 001

Difícil imaginar chegar aqui sem todas as pessoas que me construíram, que me inspiraram e que, por diversas vezes, me deram forças quando pensei que não mais as tinha.

As pessoas que sonharam este sonho comigo merecem mais do que os parágrafos aqui escritos. Merecem muito mais do que os obrigados e os abraços. Pois sentimento se retribui com sentimento. E sentimentos são difíceis de se descrever. A todos que me acompanharam, torceram e sonharam comigo, sintam o meu amor e minha gratidão eternos.

A todos da Pós-graduação em Fisiopatologia e Toxicologia e aos demais colaboradores e funcionários da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, agradeço imensamente a oportunidade e privilégio de fazer parte dessa comunidade. Em especial agradeço a minha orientadora **Dra Carla Taddei**, sem a qual nada disso seria possível. Obrigada por ter acreditado em mim, no nosso projeto e não ter medido esforços para que pudéssemos chegar até aqui. Você será para sempre minha maior inspiração.

A toda a equipe do Hospital Universitário, em especial ao ambulatório de obstetrícia em especial as médicas **Dra Suzi, Dra Maria Aparecida e Dra Ana Lúcia** e a equipe do setor de Análises Clínicas na pessoa do Dr **Ricardo Fock**.

Aos meus colegas de laboratório: **Dra. Nathalia Napolini, Dr. Paulo Schuroff, Msc. Pedro Vanzele, Msc. Mariana Prudencio, Msc. Luiz Gustavo Sparvoli, Msc. Cilícia Nascimento, Amanda Graciano, Brenda e Jaqueline** e os antigos colegas de laboratório **Dr Ramon Cortez e Msc Luana Moreira**. Que foram incansáveis em me ajudar e me ensinar tudo o que sei hoje. Foi um prazer ter compartilhado conhecimento, risadas e vitórias com vocês.

Àqueles que me deram mais do que a vida, me deram exemplos e que me inspiram a ser quem sou hoje, meus pais **Tereza e Paulo**. Obrigada por todo amor, apoio, respeito e confiança.

Àquele que compartilha comigo os mesmos pais, a mesma infância, os mesmos sonhos e agora, o mesmo título, meu irmão **Dr. Renan Mota**.

Ao meu grande amor, com quem pude dividir minhas lágrimas, aflições, risadas e com quem agora compartilho esta vitória, meu marido **José Carlos Júnior e nossa filha Lory**.

Aos meus grandes e eternos amores, meus avós: **Maria Herotilde e Raimundo Sodré, Célia e Otacílio Mota**. Que não puderam presenciar esse momento fisicamente, mas que sei que estão, no mundo espiritual, compartilhando essa alegria comigo.

A minha família, incansável em seu amor e apoio, que mesmo distantes, torceram por cada passo meu. Meus sogros: **Ana Célia e José Carlos**. Meus tios: **Sérgio, Márcia, Júnior, Patrícia, Luiz, Vanessa**. Meus primos: **Otacílio, Yuri, Luma, Luisa, Raíssa, Caru, Brenda**. Meus cunhados: **Adrielle, Antonio Neto, Joyce e Bruno**. Meu sobrinho **Arthur**. E aos demais membros da minha grande e linda família que eu amo e tenho muito orgulho.

Aquelas que cresceram comigo, compartilharam sonhos, lágrimas, saudades e que, agora, compartilha essa vitória comigo. Minhas amigas: **Bárbara Cozzi, Dra Ana Carolina Souza, Thamires Veloso, Msc Lorrany Marinho, Lissa de Alexandria, Samantha Pantoja, Nigima Amorim, Msc Jessica Batista e Msc Angelica Menezes** e meu amigo **Augusto Nascimento**.

Aqueles que compartilham comigo não só o Norte mais a vida longe do Pará, minha família paraense em Sp: **Msc Maria Elizabeth, Msc. Gustavo Lopes, Francisco Maia, Samia Flor, Luffe, Gabriel Moises**.

Aos meus vizinhos do Condomínio Altos do Butantã, que me socorreram sempre que precisei, em especial: **Dra Patricia Camargo, Pamela, Fábio, Lohanna, Mylena, Maju, Paulo, Gustavo, Júlia e Gabi**.

A minha equipe médica maravilhosa a quem só tenho a agradecer por poder estar aqui, com saúde, para realizar este sonho: **Luiz Coutinho e Leticia** e, em especial meu psiquiatra: **Leonardo** e minha psicóloga **Angélica**. Vocês não sabem o quanto me salvaram.

Minhas educadoras físicas que me ajudaram a tentar manter uma vida saudável e leve: **Gabriela, Debora Rayssa, Majori, Débora Oliva** e meus amigos: **Pedro “Bruno”, Maria Helena, Thainá, Cris, Adriana, Nathalia Pacheco, Júlia, Leia, Fábio**.

A toda a equipe dos ambulatórios de Obstetrícia e Ginecologia do Hospital das Clínicas e do Hospital Universitário. Especialmente nos nomes do **Dr. Marco Galleta, Dra Suzi, Dra Maria Aparecida, Dra Ana Lúcia, Dr Tadashi e Dra Rossana**.

A toda a equipe do Instituto de Psiquiatria, em especial a equipe do ambulatório de gestantes e puérperas nos nomes da **Dra Vera Tess, Dra Cilly Issler, Dra Kelly Prado, Dra Carolina Uchôa, Dra Aline, Dra Ana Carolina Carvalho, Dra Daniela**. Toda a minha gratidão e reconhecimento pelo trabalho incrível que realizam.

Ao grupo de Pesquisa em Compostos Bioativos coordenado pelos professores **Dr Franco Maria Lajolo e Dra. Neuza Mariko Aymoto Hassimotto**, em especial ao **Dr Eric de Castro Tobaruela**.

E por fim, agradeço, também, a todas as participantes que se propuseram a participar deste trabalho fornecendo amostras para que pudéssemos entender um pouco mais sobre a relação entre gestação, microbiota e depressão. Muito Obrigada!

“Dizem que não há amor eterno.

Há sim.

O amor de mãe é eterno.”

(Otacílio Motta)

RESUMO

MOTA, A. S. **Composição da microbiota intestinal durante a gestação e puerpério em mulheres com diferentes intensidades de sintomas depressivos.** 2023. Tese (Doutorado em Ciências — Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2023.

Os sintomas depressivos durante a gravidez e o período pós-parto (PP) são prevalentes e podem ter implicações profundas para o bem-estar materno e infantil. Evidências emergentes sugerem que a microbiota intestinal pode desempenhar um papel na regulação do humor. Este estudo explora a relação entre a composição da microbiota intestinal e os sintomas depressivos em mulheres grávidas e no pós-parto com diferentes intensidade de sintomas.

Foram recrutadas gestantes que faziam acompanhamento nos hospitais HCFMUSP e HU- USP. A partir do preenchimento do questionário de Escala de Edimburgo as participantes foram triadas para os grupos de sintomas ausentes ou leves (AL) e sintomas graves ou moderados (MG). Para a análise de microbiota, as participantes forneceram amostras de fezes em três momentos diferentes. Uma no terceiro trimestre de gestação (G) e duas no período pós-parto. A primeira amostra deste período foi coletada durante a internação do pós-parto (P1), e a segunda durante a consulta de retorno um mês após o parto (P2). A composição da microbiota intestinal foi analisada usando técnicas de sequenciamento de alto rendimento e os ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) foram quantificados por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS). Análises bioinformáticas e estatísticas foram realizadas utilizando os softwares QIIME 2 (2022.2) e R (4.3.1) para identificar possíveis associações entre a composição da microbiota intestinal e a gravidade dos sintomas depressivos. Os resultados indicam que a família Enterobacteriaceae aparece com maior abundância nas mulheres do grupo MG, especialmente durante o período P1 ($p < 0,05$) e que há uma diminuição significativa ($p < 0,05$) de sintomas depressivos nas participantes do grupo MG desde sua triagem até o fim do acompanhamento do estudo, indicando que conduta terapêutica está sendo eficaz. Apesar de não ter sido estabelecida diferença estatística na abundância relativa da microbiota entre os grupos durante a gestação e nos índices de alfa e beta diversidade entre grupos e entre os períodos, é possível observar uma tendência de mudança de microbiota ao longo do tratamento com aumento do gênero *Bifidobacterium*, diminuição da família Enterobacteraceae e é possível observar uma aparente correlação inversa entre a diminuição da intensidade de sintomas depressivos e o aumento da abundância

dos gêneros *Bifidobacterium* e *Clostridium*, além do aumento das concentrações de AGCC. Em conclusão, a composição da microbiota intestinal parece ser influenciada pela gravidade dos sintomas depressivos em mulheres grávidas e no pós-parto. Pesquisas adicionais são necessárias para explorar a relação entre a microbiota intestinal e a depressão perinatal e determinar as implicações clínicas dessas descobertas para a saúde materna e infantil.

Palavras-chave: Eixo cérebro-intestino. Microbioma. Depressão. Obstetrícia.

ABSTRACT

MOTA, A. S. **Composition of Gut Microbiota During Pregnancy and Postpartum in Women with Varying Degrees of Depressive Symptoms.** 2023. Tese (Doutorado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2023.

Depressive symptoms during pregnancy and the postpartum period (PP) are prevalent and can have profound implications for maternal and infant well-being. Emerging evidence suggests that the gut microbiota may play a role in mood regulation. This study explores the relationship between gut microbiota composition and depressive symptoms in pregnant and postpartum women with different symptom severities. A cohort of pregnant women were recruited from HCFMUSP and HU-USP. Participants completed standardized depression assessment tools and were allocated in groups of absent or mild depressive symptoms (AL) and moderate or severe depressive symptoms (MG) and provided stool samples in three different time periods. One at the third gestation trimester (G) and two at the postpartum period. The first sample from this period was collected during postpartum hospitalization (P1), and the second during the one-month postpartum follow-up appointment (P2). Their gut microbiota composition was analyzed using high-throughput sequencing techniques and Gas chromatography–mass spectrometry (GS-MS) for quantification of short-chain fatty acids (SCFA's). Bioinformatic and statistical analyses were performed using software's QIIME 2 (2022.2) and R (4.3.1) to identify potential associations between gut microbiota composition and depressive symptom severity. Findings that the Enterobacteriaceae family appears more abundantly in women of the MG group, especially during period P1 ($p < 0.05$), and that there is a significant decrease ($p < 0.05$) in depressive symptoms among the participants of the MG group from their screening to the end of the study follow-up, suggesting that the therapeutic approach is effective. Although no statistical differences in alpha and beta diversity indices were established between groups and across periods, it is possible to observe a trend of microbiota change during the treatment, with an increase in the *Bifidobacterium* genus, a decrease in the Enterobacteriaceae family, and an apparent inverse correlation between the reduction in the intensity of depressive symptoms and the increased abundance of the *Bifidobacterium*, *Clostridium*, and *Dorea* genera, as well as an increase in the concentrations of SCFAs. In conclusion, composition of gut microbiota appears to be influenced by the severity of depressive symptoms in pregnant and postpartum women. Further research is

warranted to explore links between gut microbiota and perinatal depression and to determine the clinical implications of these findings for maternal and infant health.

Key words: Gut-brain axis. Microbiome. Obstetrics.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: . Delineamento do estudo. Grupo MG : moderado/grave; Grupo AL: ausente/leve; G: período gestacional; P1: período do pós-parto imediato; P2: 1 mês do pós-parto.....	28
Figura 2: Composição da microbiota de participantes gestantes pertencentes aos grupos AL e MG. Teste de Wilcoxon. $p > 0,05$	38
Figura 3: Índices de alfa e beta diversidade dos grupos AL e MG. a) Índice de Chao1 de riqueza estimada, teste de Wilcoxon $p = 0,6$. b) Índice de diversidade de Shannon, teste de Wilcoxon, $p = 0,6$. c) Índice de dominância de Simpson, teste de Wilcoxon, $p = 0,3$. d) Índice de dissimilaridade de Bray curtis, PERMANOVA, $p = 0,2, r^2 = 0,02$. e) PcoA de métrica ponderada, PERMANOVA, $p = 0,5, r^2 = 0,01$. f) PcoA de métrica não ponderada. PERMANOVA, $p = 0,08, r^2 = 0,02$	41
Figura 4: .Concentração de AGCC em gestantes pertencentes os grupos AL e MG. a) concentração de acetato $p = 0,9$; b) propionato $p = 0,1$; c) butirato $p = 0,2$. Teste de Wilcoxon	42
Figura 5: Correlação de Pearson entre as concentrações de AGCC e a pontuação na escala de Edimburgo. a) Correlação entre a concentração de acetato e a pontuação na escala, $p = 0,5$, $cor = -0,1$. b) Correlação entre a concentração de propionato e a pontuação na escala, $p = 0,3$, $cor = -0,1$. c) Correlação entre a concentração de butirato e a pontuação na escala, $p = 0,8$, $cor = -0,04$	43
Figura 6: Abundância relativa da microbiota de puérperas (P1). Teste de Wilcoxon, $p < 0,05$ *	47
Figura 7: Índices de alfa e beta diversidade dos grupos AL e MG. a) Índice de Chao1 de riqueza estimada, teste de Wilcoxon $p = 0,8$. b) Índice de diversidade de Shannon, teste de Wilcoxon, $p = 0,4$. c) Índice de dominância de Simpson, teste de Wilcoxon, $p = 0,2$. d) Índice de dissimilaridade de Bray curtis, PERMANOVA, $p = 0,8, r^2 = 0,05$. e) PcoA de métrica ponderada, PERMANOVA, $p = 0,5, r^2 = 0,04$. f) PcoA de métrica não ponderada. PERMANOVA, $p = 0,4, r^2 = 0,06$	48
Figura 8: Concentração de AGCC em puérperas (P1). a) Concentração de acetato em P1. Teste de Wilcoxon com Bonferroni, $p = 0,09$. b) Concentração de propionato em P1. Teste de Wilcoxon com Bonferroni, $p = 0,3$. c) Concentração de butirato em P1. Teste de Wilcoxon com Bonferroni, $p = 0,5$	49
Figura 9: Abundância relativa segundo filas e gêneros presentes em pacientes dos grupos AL e MG. Teste de Wilcoxon, $p > 0,05$	52
Figura 10: Concentração de AGCC. Teste de Wilcoxon., $p > 0,05$	53
Figura 11: Composição da microbiota de recém-nascidos e lactentes das participantes do grupo MG em filo e gêneros. Wilcoxon, $p < 0,05$ *, $p < 0,01$ ** , $p < 0,001$ ***	57

Figura 12: Índices de alfa e beta diversidade dos grupos AL e MG. a) Índice de Chao1 de riqueza estimada, teste de Wilcoxon $p=0,5$. b) Índice de diversidade de Shannon, teste de Wilcoxon, $p<0,05^*$. c) Índice de dominância de Simpson, teste de Wilcoxon, $p=0,056$. d) Índice de dissimilaridade de Bray curtis, PERMANOVA, $p<0,01^{**}, r^2=0,26$. e) PcoA de métrica ponderada, PERMANOVA, $p<0,05^*, r^2=0,16$. f) PcoA de métrica não ponderada, PERMANOVA, $p=0,1, r^2=0,06$ 58

Figura 13: Variação de sintomas depressivos no Grupo MG. EB = pontuação no momento da triagem, G= após entrega da amostra na gestação, P1=após entrega da amostra do pós-parto imediato, P2= após entrega da amostra de 1 mês pós-parto. Anova de medidas repetidas com post hoc Bonferroni. $<0,01^{***}$ 59

Figura 14: Abundância relativa de filos e gêneros em amostras de pacientes do grupo MG ao longo do tratamento e dos períodos de gestação e pós-parto. Teste de Wilcoxon $p>0,05$. 61

Figura 15: Variação do filo Actinobacteria e do gênero Bifidobacterium em pacientes do grupo MG ao longo do tempo. Teste de anova, $p=0,07$ e $p=0,06$ 62

Figura 16: . Índices de alfa e beta diversidade do grupo MG. ao longo dos períodos a) Índice de Chao1 de riqueza estimada, teste de Wilcoxon $p=0,9$. b) Índice de diversidade de Shannon, teste de Wilcoxon, $p=0,9$. c) Índice de dominância de Simpson, teste de Wilcoxon, $p=0,9$. d) Índice de dissimilaridade de Bray curtis, PERMANOVA, $p=0,9, r^2=0,33$. e) PcoA de métrica ponderada, PERMANOVA, $p=0,2, r^2=0,06$. f) PcoA de métrica não ponderada, PERMANOVA, $p=0,5, r^2=0,02$ 63

Figura 17: Concentração de AGCC em diferentes períodos da gestação e do puerpério. Teste anova com post hoc Tukey $p>0,05$ 64

Figura 18: De a- n) Abundância relativa dos gêneros encontrados em cada paciente do grupo MG com mais de três amostras, onde G indica a amostra coletada no terceiro trimestre gestacional, P1 no período de 1ª 3 dias após o parto, P2 o período de 1 mês pós-parto, R1 é amostra de mecônio e R2 amostra de 1 mês de vida do lactente. A linha preta indica a variação de sintomas segundo o Edimburgo aplicado em cada período parto, P2 o período de 1 mês pós-parto, R 67

LISTA DE ABREVIATURAS

AL	Sintomas ausentes ou leves
DA	Dopamina
DAMPS	Padrão molecular associado a dano
DPP	Depressão pós-parto
EPDS	Escala de depressão pós-parto de Edimburgo
GABA	Ácido gama-aminobutírico
LPS	Lipopolissacarídeo
MG	Sintomas graves ou moderados
NA	Noradrenalia
PAMPS	Padrões moleculares associados a patógenos
PP	Período pós-parto
PRRs	Receptores de reconhecimento padrão
SNC	Sistema Nervoso Central
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	18
2. JUSTIFICATIVA	25
3. OBJETIVOS	26
3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	26
4. DELINEAMENTO DO ESTUDO	27
4.1 GRUPO MG (SINTOMAS MODERADOS/GRAVES).....	27
4.2 GRUPO AL (SINTOMAS AUSENTES/LEVES).....	27
4.3 COLETAS	27
5. MATERIAL E MÉTODOS	29
5.1 ASPECTO ÉTICO.....	29
5.2 PARTICIPANTES	29
5.3 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO	30
5.4 INSTRUMENTOS DE AVALIAÇÃO	30
5.4.1 Questionário de dados sociodemográfico e clínicos.....	30
5.4.2 Escala de depressão de Edimburgo (EPDS)	30
5.4.3 Coleta de amostras.....	31
5.5 EXTRAÇÃO DE DNA BACTERIANO DAS AMOSTRAS DE FEZES E LEITE ...	31
5.6 DETERMINAÇÃO DA MICROBIOTA FECAL POR SEQUENCIAMENTO DO GENE 16S rRNA.....	31
5.7 DOSAGEM DE ÁCIDOS GRAXOS DE CADEIA CURTA (AGCC).....	32
5.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	33
6. RESULTADOS	34
6.1 GESTANTES	34
6.1.1 Composição da microbiota	36
6.2. PUÉRPERAS	44
6.2.1. Puerpério imediato (P1)	44
6.2.2. Puerpério -1º mês (P2)	49
6.3 LACTENTES	53
6.4 ACOMPANHAMENTO DO GRUPO MG	59
7. DISCUSSÃO	74
8. CONCLUSÃO	81
REFERÊNCIAS	82
APÊNDICE	88

1. INTRODUÇÃO

A gravidez e o período pós-parto são momentos caracterizados por mudanças tanto fisiológicas e sociais, como psicológicas para a mulher. Tais modificações podem ocasionar alterações de humor significativas que podem se agravar caso não seja providenciado o apoio psicológico e psiquiátrico adequado. A falta de diagnóstico precoce da condição psiquiátrica, crises em relacionamentos interpessoais e falta de rede de apoio familiar e financeira agravam o estado psíquico da gestante, tornando-a mais vulnerável e possibilitando a manifestação de algum transtorno mental como a depressão na gestação e no pós-parto (CAROSIO, 2021; PETROZZI; GAGLIARDI, 2013; WAQAS et al., 2018)

A depressão é uma desordem debilitante e potencialmente letal que acomete cerca de 280 milhões de pessoas no mundo inteiro e que vem apresentando um crescimento acentuado nos últimos anos (WHO, 2012, WHO, 2014; WHO, 2017). Sua sintomatologia é diversa e pode compreender desde perda de interesse, baixa autoestima e apatia, até o aumento da sensibilidade à dor e pensamentos recorrentes de suicídio. Apesar de sua etiologia ser multifatorial, seus mecanismos patofisiológicos possuem hipóteses já bem estabelecidas e que são bases do tratamento farmacológico como a teoria do sistema monoaminérgico. Essa teoria tem por base o desequilíbrio neuroquímico das monoaminas endógenas como a serotonina (5-HT), noradrenalina (NA) e dopamina (DA). Bell, Abrams e Nutt (2001) conseguiram exemplificar o desequilíbrio neuroquímico demonstrando que a diminuição da síntese da serotonina após a depleção do seu aminoácido precursor, triptofano, gera diminuição de 5-HT no plasma e possivelmente no sistema nervoso central (SNC) o que pode ser ligado ao aparecimento de sintomas depressivos. Além disso, essas monoaminas estão inter-relacionadas e alterações em suas concentrações podem afetar uma à outra levando a desregulações no circuito neuronal. Recentemente, o neurotransmissor ácido gama-aminobutírico (GABA) tem sido o novo alvo terapêutico para pacientes resistentes ao tratamento com monoaminas (DEAN; KESHAVAN, 2017; STRINGARIS, 2017; VILLAS BOAS et al., 2019).

Segundo o Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais 5-DSM-V (American Psychiatric Association, 2014) o diagnóstico de depressão deve considerar ao menos 5 sintomas listados no manual, entre eles, humor deprimido, perda de interesse, distúrbios do sono, fadiga ou perda de energia e alterações no apetite. A quantidade de sintomas e a intensidade podem ser medidas em pontuações em questionários autopreenchidos, como por exemplo “Escala de depressão pós-parto de Edinburgo” (EPDS) ou questionários

aplicados por profissionais da saúde, por exemplo o “Questionário de saúde do paciente” (PHQ-9), e podem servir para classificar os sintomas depressivos em ausentes/leves e moderada/grave. Apesar de alguns estudos identificarem subtipos de depressão, o manual caracteriza a depressão como unidimensional adicionando especificidades como período de início para diferenciar a depressão da depressão pós-parto (BURGER et al., 2020; RANTALA et al., 2018; TOLENTINO; SCHMIDT, 2018) .

Apesar de ser recomendada, a investigação psiquiátrica durante os períodos gestacional e pós-parto, esta prática ainda necessita de uma disseminação mais ampla. Apenas entre 31 e 50% das mulheres com ansiedade e depressão são diagnosticadas durante este período. Dessas, apenas 14-16% conseguem receber o tratamento adequado e apenas 3% a 5% apresentam remissão. Uma saúde materna debilitada pode afetar diretamente no neurodesenvolvimento fetal visto que a depressão, durante este período, pode gerar consequências como o nascimento de bebês prematuros e com baixo peso nutricional, comprometimento no desenvolvimento psicológico e intelectual da criança, desenvolvimento de distúrbios comportamentais e psiquiátricos, perda de massa muscular, além de aumentar os riscos de diarreia e de doenças respiratórias (RAHMAN et al., 2004; SONMEZ et al., 2019; WAQAS et al., 2022). Além disso, a depressão durante a gestação pode contribuir para a evasão da paciente em consultas do pré-natal e negligência com a própria saúde e, conseqüentemente, com a saúde do bebê. Ainda que sejam tratadas, mães que desenvolveram depressão durante a gravidez possuem maior risco de desenvolver depressão pós-parto (AGAMPODI; AGAMPODI, 2013; SANDERS; RACKERS; KIMMEL, 2019; WAQAS et al., 2018).

A depressão pós-parto (DPP) é uma das mais comuns e ao mesmo tempo uma das mais sub diagnosticadas complicações que ocorrem após o parto. A condição pode evoluir para o suicídio materno que, por sua vez, representa cerca de 20% das mortes no período pós-parto. Sua classificação é atípica, pois além de apresentar sintomas depressivos regulares, também podem exibir perda de interesse pelo bebê, picos de desesperança e raiva, pensamentos suicidas e de agressão contra o bebê. Além disso, a DPP está condicionada a um determinado período da vida da mulher (MEKY et al., 2020; PETROZZI; GAGLIARDI, 2013; RANTALA et al., 2018; STEWART; VIGOD, 2019).

A prevalência está relacionada com o nível de desenvolvimento do país, histórico de depressão da paciente e de como o parto é realizado. Os maiores índices de ocorrência estão presentes em países em desenvolvimento, no qual a prevalência chega a 40%, enquanto em países desenvolvidos os níveis de prevalência ficam entre 10% e 15% (LOBATO; MORAES;

REICHENHEIM, 2011; MEKY et al., 2020). A etiologia sendo multifatorial acaba por dificultar o registro da doença, portanto, a necessidade de maior discussão e elucidação dos mecanismos fisiopatológicos da doença se faz primordial para o tratamento, controle e prevenção.

Uma das formas recomendadas para o rastreio da depressão durante o pré-natal é a aplicação de testes padronizados como o questionário auto aplicado denominado “Escala de depressão pós-parto de Edimburgo” (Apêndice D). Esse teste, mesmo tendo sido desenvolvido e validado em meados dos anos 80, ainda tem pouquíssima aderência em consultas de pré-natal. Ele consiste em apenas 10 perguntas com 4 alternativas cada e que podem pontuar de 0 a 3 pontos, a depender da resposta da paciente. A escala, portanto, possui uma pontuação mínima de 0 pontos, indicando a ausência de sintomas depressivos, e máxima de 30 pontos, indicando uma grande severidade no quadro de sintomas depressivos. É importante salientar que o EPDS é um questionário para fins de rastreio e não é capaz de inferir diagnóstico e sim apenas de acusar a presença ou ausência de sintomas depressivos e suas intensidades. As perguntas feitas no questionário são diretas e abordam a qualidade de sono, sentimentos de tristeza, culpa e ansiedade, itens que estão presentes dentro do quadro depressivo segundo o DSM-V (CHORWE-SUNGANI; CHIPPS, 2017; LOPES ARAÚJO et al., 2015; RUBERTSSON et al., 2011).

Park e Kim (2023) realizaram uma meta análise no qual compararam as ferramentas de rastreio de sintomas depressivos no pré-natal e no puerpério e concluíram que EPDS é uma ótima ferramenta de rastreio além de recomendarem seu uso em consultas de pré-natal em detrimento de outras ferramentas por sua aplicabilidade e rapidez. A adesão maior do EPDS no sistema de saúde e, em especial, nas consultas regulares do pré-natal também já foi discutida e recomendada por Figueira et al. (2009) uma vez que o pré-natal não possui nenhum tipo de entrevista psiquiátrica ou investigação da saúde mental da gestante. O reconhecimento prévio dos sintomas depressivos pode auxiliar na abordagem terapêutica mais rápida e eficaz, reduzindo o número de casos de depressão pós-parto e auxiliando tanto no melhor bem-estar tanto da gestante quanto do feto.

Sabe-se que a depressão é caracterizada por um aumento do nível de cortisol e isso também pode ser visto em gestantes com sintomas depressivos. Essa desregulação endócrina pode levar a perturbação do sistema imunológico e, conseqüentemente, afetar a circulação sanguínea do feto, promovendo uma maior concentração de citocinas inflamatórias capazes de promover distúrbios no neurodesenvolvimento fetal. As vias mais comuns envolvem o desenvolvimento de fatores inflamatórios e a exacerbação da resposta imunológica envolvem

a ativação de receptores Toll-like ativados por padrões moleculares relacionados a patógenos (PAMPs) e padrões moleculares associados a dano (DAMPs). O envolvimento de PAMPs pode ser associado a microbiota, uma vez que seus componentes possuem lipopolissacarídeo (LPS) e ele pode estimular respostas imunológicas quando em contato com células imunológicas na lâmina própria (FANG et al., 2023; HAN et al., 2021; MIRPURI, 2021; SELMA-ROYO et al., 2020; TINCANI et al., 2005). Tanto PAMPs como DAMPs são essenciais para interação microbiota-hospedeiro e são produtos da microbiota que ativam os receptores de reconhecimento padrão (PRRs) que permitem o começo da cascata da via inflamatória (DUKIĆ et al., 2023).

Recentemente, Valles - Colomer *et al.* (2019) observaram que a microbiota intestinal poderia estar ligada a doenças psiquiátricas como a depressão e possivelmente pela comunicação bidirecional entre a microbiota e o eixo cérebro–intestino, que liga o sistema nervoso entérico (SNE) com o SNC. Através desse eixo, o SNC consegue modular algumas funções gastrointestinais e exercer influência no comportamento do indivíduo. Essa rota de interlocução pode acontecer por várias vias que, são consideradas hipotéticas, como a hipótese do mecanismo de comunicação neuronal através do nervo vago e outras hipóteses de comunicação por vias complexas, que envolvem o sistema imunológico, o sistema endócrino, o eixo hipotálamo –pituitária –adrenal (HPA) e a microbiota intestinal (BRAVO et al., 2011; CARABOTTI et al., 2015; FLOWERS; ELLINGROD, 2015; KIM et al., 2018; ZORZO, 2017).

A hipótese de mecanismo de comunicação neural tem como principal componente o nervo vago que é um nervo misto composto de 80% de fibras aferentes e 20% de fibras eferentes. Dentre suas variadas funções, o nevo vago é capaz de ser sensibilizado pelos metabólitos da microbiota e transmitir essa informação para o cérebro. Alguns compostos neuroativos podem ser liberados por bactérias da microbiota intestinal como o ácido gama-aminobutírico (GABA), monoaminas, acetilcolina, entre outras. Esses compostos podem alcançar o cérebro por intermédio dessa comunicação entre o eixo cérebro – intestino através das fibras aferentes do nervo vago. Apesar de estarem próximas, as fibras aferentes não cruzam a camada epitelial da parede intestinal, portanto não entram em contato direto com a microbiota presente no lúmen. Consequentemente, os sinais são recebidos através de difusão de compostos e metabólitos bacterianos ou através de outras células como as células enterocromoafins que liberam 5-HT que, por sua vez, interagem com os receptores 5-HT₃ localizados nas fibras aferentes (BONAZ; BAZIN; PELLISSIER, 2018; BREIT et al., 2018; STRANDWITZ, 2018).

Apesar de várias bactérias intestinais serem conhecidas por produzir neurotransmissores como, por exemplo, a espécie *Bifidobacterium infantis*, capaz de produzir GABA, algumas como a *Lactobacillus plantarum* e *Bifidobacterium dentium* apenas modulam a produção de 5-HT por meio de sinalização com a célula enterocromoafim. Por meio da produção de acetato,

algumas espécies do gênero *Bifidobacterium*, como *Bifidobacterium dentium*, afetam diretamente a via triptofano/serotonina uma vez que é o acetato produzido que irá estimular a liberação de 5-HT produzida para sinalização de neurônios entéricos e receptores do nervo vago (ENGEVIK et al., 2021; KWON et al., 2019; STRANDWITZ, 2018).

Um exemplo de que o nervo vago pode ser um dos caminhos para que essa comunicação aconteça, é o fato de que animais tratados com *Lactobacillus rhamnosus* apresentaram diminuição do comportamento depressivo e aumento na concentração de GABA no córtex cingulado e diminuição no hipocampo, amígdala e locus coeruleus. No entanto, ele não foi observado em animais que passaram por vagotomia. Ou, seja, o nervo vago pode ser um dos caminhos dessa comunicação, mas provavelmente não é o único (BONAZ; BAZIN; PELLISSIER, 2018; BRAVO et al., 2011).

Outros possíveis mecanismos do eixo cérebro – intestino são as vias metabólica e via neuroendócrina. Elas consistem na exposição de metabolitos bacterianos e hormônios intestinais como moduladores da comunicação, os mecanismos imunológicos e suas citocinas inflamatórias que podem atravessar a barreira hematoencefálica e envolvem a modulação do eixo Hipotálamo- pituitária- adrenal (HPA) (FARZI; FRÖHLICH; HOLZER, 2018; LOGSDON et al., 2018; STILLING; DINAN; CRYAN, 2014).

O estresse, profundamente relacionado com a depressão, pode influenciar a microbiota através da desregulação do eixo HPA tornando o ambiente mais favorável para a colonização de *Escherichia*, *Serratia* e a *Enterobacteriaceae*, bactérias que favorecem a inflamação (DINAN; CRYAN, 2015; FOSTER; MCVEY NEUFELD, 2013; LATALOVA; HAJDA; PRASKO, 2017; ZALAR; HASLBERGER; PETERLIN, 2018; ZORZO, 2017).

Mudanças presentes na microbiota fecal de pacientes diagnosticados com depressão foram identificados por Jiang *et al.* (2015), a exemplo do aumento na abundância de bactérias disbióticas como a família Enterobacteriaceae e o gênero *Alistipes*, a redução de bactérias benéficas como o gênero *Faecalibacterium* indicando uma modulação da microbiota. Alterações na microbiota também podem implicar em modificações no metabolismo de triptofano, principal precursor da 5-HT afetando, assim, a produção desse neurotransmissor (AGUS; PLANCHAIS; SOKOL, 2018). Além disso, Tianet al. (2019), observaram que o gênero *Bifidobacterium* é capaz de modular a sinalização glutamatérgica, além de aumentar a via de biossíntese de triptofano e aliviar a disbiose causada pelo estresse.

Hu *et al.* (2019), demonstraram que o estado psiquiátrico da mãe altera a colonização do bebê, sugerindo uma ligação entre o eixo cérebro – intestino e a composição da microbiota do

recém-nascido. Dawson et al. (2021) observaram em uma coorte de 213 mulheres, uma associação entre o aumento de abundância de algumas famílias como Lachnospiracea e Ruminococcacea e o comportamento normativo de seus filhos após o nascimento, enquanto o aumento de *Bacteroides* e *Lachnospiraceae* foram associados ao aumento da conectividade da rede neuronal em recém-nascidos (KELSEY et al., 2021).

Estudos sobre o eixo cérebro – intestino e o desenvolvimento de doenças psiquiátricas já vêm sendo realizados e novas opções terapêuticas, como a classe de probióticos conhecida como psicobióticos, já estão sendo testados como novas possíveis opções de tratamento para a depressão.

O termo psicobiótico é relativamente recente e foi cunhado por Dinan, Stanton e Cryan em 2013, e se refere a uma nova classe de probióticos que podem ser usados para o alívio de sintomas neuropsiquiátricos. Os gêneros mais utilizados e mais estudados, por possuírem um potencial terapêutico, são os gêneros *Bifidobacterium* e *Lactobacillus* e seus neuroativos como GABA e 5-HT, que são capazes de atuar no eixo cérebro intestino. Muitos ainda permanecem em estudos clínicos para verificação de eficácia e segurança (DINAN, STANTON e CRYAN, 2013; SHARMA et al., 2021; BARRIO, ARIAS-SÁNCHEZ E MARTIN-MONZÓN, 2022).

Apesar do uso de probióticos ter sido sugerido como terapia adjuvante desde 2005, pouco se sabe sobre o seu mecanismo de ação. No entanto, recentes estudos usando psicobióticos no tratamento da depressão tem se mostrado promissores, como o *Lactobacillus rhamnosus* HN001 que se mostrou eficaz ao melhorar os sintomas depressivos de mulheres diagnosticadas com depressão pós-parto. (DE LA FUENTE-NUNEZ et al., 2018; EVRENSEL; CEYLAN, 2015; MESSAOUDI et al., 2011; SLYKERMAN et al., 2017; ZORZO, 2017).

Nesse contexto, se faz importante caracterizar a microbiota fecal de pacientes diagnosticadas com depressão durante e após o parto, assim como caracterizar a microbiota do seu bebê, a fim de que possamos entender melhor as mudanças que ocorrem e se, porventura, existe alguma conexão com o eixo cérebro – intestino, o que permitiria inclusive novas abordagens terapêuticas.

O presente estudo foi realizado em colaboração com a Dra. Vera Lúcia Carvalho Tess, coordenadora do Grupo de Gestantes do Serviço de Interconsulta do Instituto de Psiquiatria (IPq) do Hospital das Clínicas da FMUSP e do Dr. Marco Aurélio Knippel Galletta, coordenador do Ambulatório de Neuropsicopatologia e Gravidez do Hospital das Clínicas da

FMUSP além, também do Dr Carlos Tadashi, coordenador do ambulatório de obstetrícia do Hospital Universitário da Universidade de São Paulo.

2. JUSTIFICATIVA

Embora já se tenha conhecimento de que a microbiota da mulher passa por alterações durante o período perinatal, ainda são escassos os estudos que descrevem as mudanças ocorridas em gestantes que possuem alguma condição psiquiátrica como a depressão. É importante ressaltar que a depressão no período perinatal é considerada um grave problema de saúde pública, responsável por uma parcela significativa da morbidade e mortalidade tanto da mãe quanto do recém-nascido. Portanto, torna-se crucial investigar detalhadamente a composição da microbiota intestinal das mulheres que apresentam sintomas depressivos em diferentes intensidades a fim de abrir caminho para novas pesquisas e possíveis abordagens terapêuticas, como o uso de psicobióticos.

Este estudo foi desenvolvido em colaboração entre os departamentos de Psiquiatria e Ginecologia e Obstetrícia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HCFMUSP), do Hospital Universitário da USP e da Faculdade de Ciências Farmacêuticas (FCF-USP). Essa abordagem interdepartamental foi de extrema importância para o desenvolvimento do estudo, triagem de participantes, coleta e armazenamento de amostras biológicas e os demais recursos que foram necessários para o estudo.

3. OBJETIVOS

O presente estudo tem como objetivo caracterizar a microbiota intestinal durante os períodos perinatal e pós-natal de mulheres com diferentes intensidades de sintomas depressivos.

3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- i. Identificar e classificar a intensidade de sintomas depressivos nas pacientes gestantes através da escala de Edimburgo, acompanhá-las até o puerpério e coletar amostras fecais nos períodos pré e pós-natal.
- ii. Analisar a composição da microbiota intestinal das pacientes por sequenciamento do gene *16S rRNA*, nas amostras fecais dos períodos perinatal e pós-natal.
- iii. Através de análises estatísticas, verificar se existe alguma diferença significativa entre as pacientes com sintomas ausentes/leves (AL) e pacientes com sintomas moderado/grave (MG) nas amostras dos períodos relatados.
- iv. Analisar se existe uma possível correlação entre a pontuação na escala de edimburgo e a modulação da microbiota intestinal das participantes.
- v. Quantificar e comparar os ácidos graxos de cadeia nas amostras fecais utilizando GS-MS e identificar se existe uma possível correlação entre os sintomas e a quantidade de cada composto.
- vi. Identificar a composição da microbiota de lactentes das mulheres do grupo moderado/grave e verificar possível associação com a microbiota de suas mães.

4. DELINEAMENTO DO ESTUDO

O presente estudo se caracteriza como um estudo observacional, longitudinal e prospectivo. Dessa forma, o grupo amostral foi estabelecido através de questionário pré-estabelecido e condições clínicas da paciente. Para que participasse do projeto, era imprescindível que a participante estivesse no terceiro trimestre de gestação e que realizasse seu pré-natal no HCFMUSP ou no HU-USP.

4.1 GRUPO MG (sintomas moderados/graves)

As participantes que compuseram o grupo MG, foram recrutadas logo após a primeira consulta psiquiátrica no ambulatório de gestantes e puérperas do Instituto de psiquiatria - HCFMUSP. Todas as participantes deste grupo passaram por avaliação psiquiátrica e tiveram acompanhamento clínico, no qual puderam ser diagnosticadas e tratadas terapeuticamente por médicos psiquiatras. Além disso, preencheram o questionário de Edimburgo no qual obtiveram uma pontuação acima ou igual a 10 pontos classificando seus sintomas depressivos como moderado ou grave.

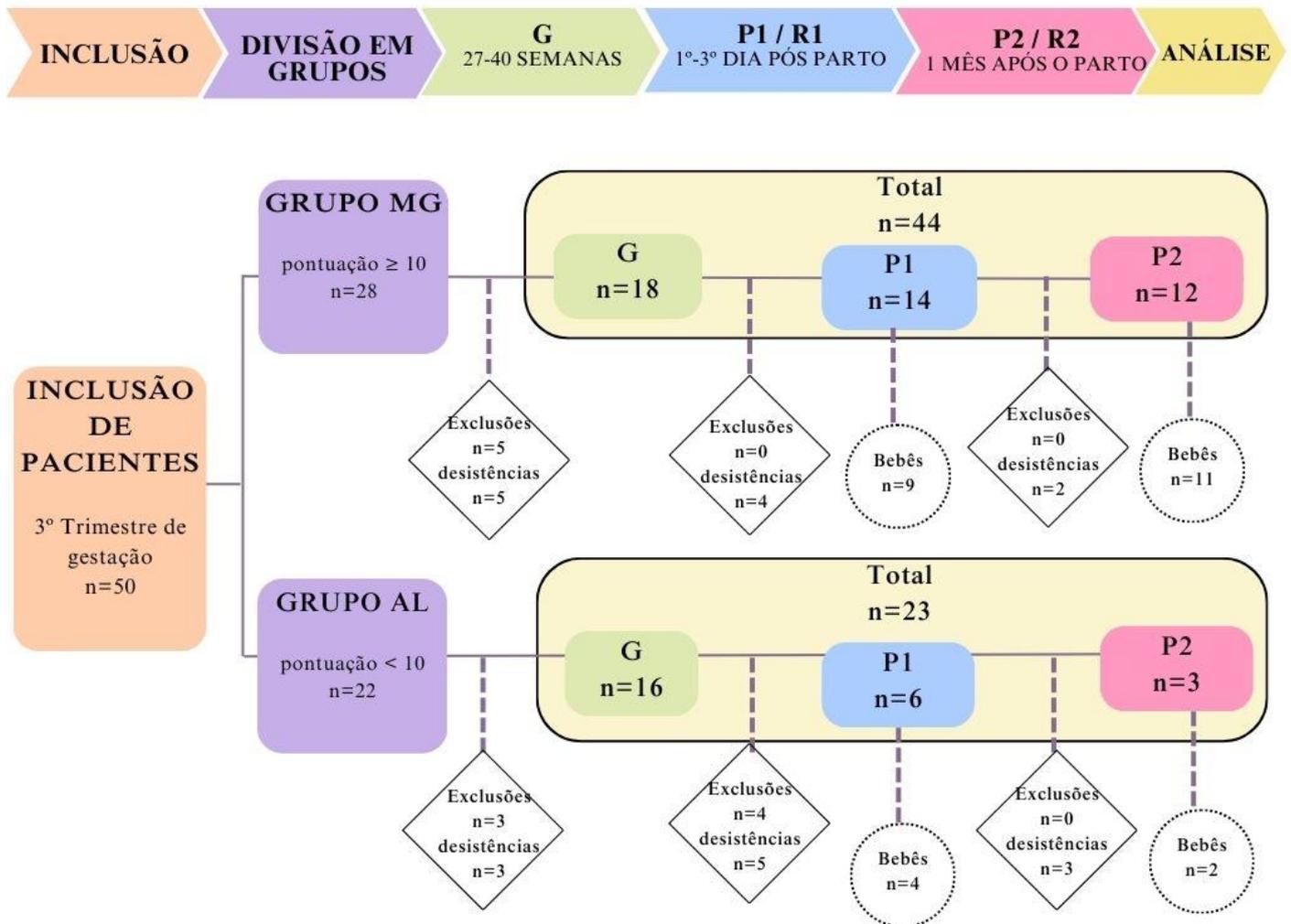
4.2 GRUPO AL (sintomas ausentes/leves)

As participantes do grupo AL foram recrutadas após a consulta do pré-natal no ambulatório de obstetrícia do HU-USP. Como não apresentavam nenhuma queixa psiquiátrica, não foram submetidas a uma avaliação especializada da área fazendo apenas os exames e avaliações pertinentes ao pré-natal. Como não foi possível a avaliação médica psiquiátrica as participantes deste grupo não possuíam qualquer diagnóstico psiquiátrico naquele momento sendo impossível afirmar a ausência da patologia uma vez que a investigação para doenças psiquiátricas não é comum no pré-natal. Entretanto, todas as participantes preencheram o questionário de Edimburgo. Foram incluídas no estudo apenas as pacientes que pontuaram de 0-9 dentro da escala, sinalizando sintomas depressivos ausentes ou leves. As demais pacientes foram encaminhadas para maior investigação médica.

4.3 COLETAS

Foram coletadas amostras de cada grupo nos períodos gestacional e puerpério. Sendo a primeira coleta dos grupos no terceiro trimestre de gestação (G), a segunda no pós-parto imediato, ainda na internação hospitalar do pós-parto (P1) e a última ocorrendo no primeiro mês do pós-parto (P2). Em posse das amostras, procederemos com as análises descritas a seguir (Figura 1).

Figura 1: . Delineamento do estudo. Grupo MG : moderado/grave; Grupo AL: ausente/leve; G: período gestacional; P1:período do pós-parto imediato; P2: 1 mês do pós-parto



Fonte: Elaborado pelo autor.

5. MATERIAL E MÉTODOS

5.1 ASPECTO ÉTICO

As pacientes receberam informações detalhadas por escrito e verbalmente sobre os procedimentos, riscos, objetivo e importância do estudo e, quando de acordo, assinaram um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (Apêndice II). Elas também foram instruídas de como coletar as amostras tanto verbalmente quanto por meio de panfleto e vídeo tutorial produzido pela aluna, como acessório de apoio para coleta. Os procedimentos foram conduzidos de acordo com a Declaração de Helsinque e as normas éticas do Ministério da Saúde (Conselho Nacional de Saúde - Resolução nº 466/2012). O presente estudo foi enviado para o Comitê de Ética do Universidade de São Paulo e aprovado pela plataforma Brasil no número CAAE: 22725119130030076 (Apêndice I). Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, Hospital Universitário da Universidade de São Paulo e da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da

5.2 PARTICIPANTES

Foram incluídas nesse estudo, mulheres grávidas que estavam no terceiro trimestre gestacional e que estavam fazendo o acompanhamento do pré-natal tanto no HCFMUSP quanto no HU-USP, ambos em São Paulo -SP. As pacientes foram incluídas após a assinatura do TCLE e preenchimento dos questionários pré-estabelecidos. Todas as participantes do grupo MG tiveram entrevistas com a equipe médica do ambulatório de gestantes e puérperas do Instituto de Psiquiatria-HCFMUSP para confirmação diagnóstica psiquiátrica seguida de tratamento e acompanhamento psiquiátrico de acordo com o diagnóstico. As participantes, que desejaram permanecer no projeto, foram acompanhadas desde a triagem até o primeiro mês pós-parto. Também foram incluídos os bebês das pacientes do grupo MG para análise de microbiota intestinal e possível relação com a microbiota de suas mães. As participantes do grupo AL foram incluídas após assinatura do TCLE durante a consulta regular do pré-natal no HU-USP. As que desejaram permanecer no projeto também foram acompanhadas até o primeiro mês do pós-parto e foram incluídos seus lactentes. No total, 50 mulheres foram abordadas e se dispuseram a participar do estudo.

5.3 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

- Pacientes com idade inferior a 18 anos e superior a 45 anos.
- Pacientes em uso de antibióticos.
- Pacientes com certas doenças que já foram relacionadas com alteração da microbiota intestinal, a saber: Diabetes Mellitus, doenças gastro-intestinais como Doença de Crohn, infecções agudas ou crônicas.
- Diagnóstico de malformação fetal grave.

Os dados aqui obtidos foram comparados com os dados obtidos da literatura e de nossos estudos prévios. As limitações dessas comparações foram consideradas nas análises, como por exemplo, diferente local de origem das amostras.

As amostras de pacientes que foram excluídas ou que desistiram de participar do projeto não foram incluídas no estudo.

5.4 INSTRUMENTOS DE AVALIAÇÃO

5.4.1 Questionário de dados sociodemográfico e clínicos

Foram coletadas informações abrangentes, incluindo características sociodemográficas gerais, dados clínicos e antecedentes relevantes. As características sociodemográficas compreenderam idade, estado civil e nível de escolaridade. Os dados clínicos incluíram a presença de outras doenças, consumo de álcool e tabaco, tipo de parto, idade gestacional, peso do neonato, intercorrências obstétricas, presença de ruptura de membranas e tempo decorrido até o parto. Também foram registrados os antecedentes obstétricos e psiquiátricos dos participantes, e, se aplicável, os medicamentos em uso (Apêndice III).

5.4.2 Escala de depressão de Edimburgo (EPDS)

Para identificar pacientes com sintomas relacionados à depressão, foi utilizado o Questionário de Escala de Depressão de Edimburgo (SANTOS et al., 2004). Todas as pacientes responderam a este questionário no início da entrevista, com o objetivo de classificá-las em seus respectivos grupos. A pontuação total da Escala de Edimburgo varia de 0 a 30 pontos, com uma pontuação igual ou superior a 10 indicando triagem para o grupo MG, enquanto aquelas com pontuação abaixo de 10 foram triadas para o grupo AL. Vale destacar que os questionários foram auto

aplicados, mas houve supervisão durante a entrevista caso houvesse alguma dúvida a ser sanada pela entrevistadora (Apêndice IV).

5.4.3 Coleta de amostras

Cada pacientes que concordou em participar da pesquisa, levou para casa um kit com os materiais da coleta que constavam em: um panfleto com informações sobre a coleta, cuidados a serem tomados e informações para contato em caso de dúvidas, um kit com luvas, espátula e máscara esterilizados para serem utilizados na coleta, uma etiqueta de identificação, uma caixa de poliestireno expandido (EPS), um coletor universal onde as amostras foram armazenadas assim que coletadas, além de um acessório de apoio para coleta chamado Coloff®™. As amostras de fezes recém coletadas foram armazenadas em freezer até a entrega. Essas amostras foram coletadas em 3 momentos. Para ambos os grupos, a primeira coleta ocorreu no terceiro trimestre de gestação, segunda amostra foi coletada entre o primeiro e o terceiro dia do puerpério e a última amostra foi coletada ao completar 1 mês do puerpério. As amostras de fezes dos bebês foram coletadas em dois momentos do puerpério: entre o primeiro e o terceiro dia do puerpério e ao completar o primeiro mês de vida. As amostras foram armazenadas em congelamento a -20°C até o envio da amostra ao Laboratório de pesquisa em Microbiologia Molecular do Serviço de Laboratório Clínico do Hospital Universitário da USP, esse processo ocorreu nas 24 horas seguintes à coleta. No Laboratório, as amostras foram separadas em alíquotas e armazenadas a -80°C até o momento do uso.

5.5 EXTRAÇÃO DE DNA BACTERIANO DAS AMOSTRAS DE FEZES

O DNA total das amostras de fezes coletadas foi extraído com o kit QIAamp Power Fecal Pro DNA Kit (QIAGEN, Hilden, Germany), de acordo com as recomendações do fabricante, e armazenados a -20°C até o momento do uso. Após a extração de DNA total, as amostras de fezes foram quantificadas em relação a concentração de DNA presente na amostra pelo equipamento Qubit (Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA).

5.6 DETERMINAÇÃO DA MICROBIOTA FECAL POR SEQUENCIAMENTO DO GENE 16S *rRNA*

Após a extração do DNA, foi realizada a amplificação do domínio V4 do segmento 16S ribossômico bacteriano, conforme previamente estabelecido por Kozich et al. (2013). O

protocolo seguido para esta região envolveu o uso de sequências iniciadoras de acordo com a nomenclatura de nucleotídeos IUPAC padrão, as quais foram as seguintes:

Sequência	Iniciadora	16S	Forward	(5'-
TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGCCTACGGGNGGCWGCAG-3')				
Sequência	Iniciadora	16S	Reverse	(5'-GTCTCGTGGGC
TCGGAGATGTGTATAAGAGACAGGACTACHVGGGTATCTAATCC-3')				

Todas as etapas do procedimento foram executadas seguindo as orientações do fabricante (Illumina-16S Metagenomic Sequencing Library Preparation). Após a obtenção das sequências, realizou-se a demultiplexação das amostras com base nas sequências dos barcodes correspondentes.

Para a análise dos resultados das bibliotecas de 16S rRNA obtidas por sequenciamento, utilizou-se o software QIIME 2.0 (Quantitative Insights Into Microbial Ecology), uma ferramenta de bioinformática de código aberto, conforme descrito por Caporaso et al. (2010). Neste estudo, empregou-se o método "Amplicon Sequence Variant" (ASV) para análise das sequências.

Os programas computacionais foram empregados em várias etapas do processo, incluindo a remoção das sequências de barcodes e primers, eliminação de artefatos quiméricos, alinhamento das sequências, construção da matriz de distância, agrupamento das ASVs e cálculo de índices de diversidade, bem como a condução de testes de hipóteses. As sequências das bibliotecas resultantes foram agrupadas em ASVs com o objetivo de identificar semelhanças de 97% em relação à base de dados Silva versão 128.

5.7 DOSAGEM DE ÁCIDOS GRAXOS DE CADEIA CURTA (AGCC)

As dosagens de AGCC (acetato, propionato e butirato). foram efetuadas na Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo (FCF-USP), em colaboração com o grupo de Pesquisa em Compostos Bioativos coordenado pelos professores Dr Franco Maria Lajolo e Dra. Neuza Mariko Aymoto Hassimotto. A extração de AGCC das amostras de fezes foi feita através de água acidificada com Ácido fosfórico 0,5% e acetato de etila adicionado de padrão interno (ácido 2-metil pentanoico) e analisados em cromatógrafo gasoso acoplado a espectrômetro de massas (GC-MS; Agilent 5977, CA, EUA) em condições otimizadas a partir. Condições cromatográficas: injeção de 1 µL de amostra empregando o modo de injeção splitless e temperatura do injetor em 240 °C; hélio como gás carreador em fluxo constante de 2.9

mL.min⁻¹; coluna cromatográfica CPWax (30 m x 0,32 µm x 0,2 µm); programa de temperatura iniciando com uma rampa de temperatura a 15 °C.min⁻¹ de 50 °C a 180 °C, seguido de uma aumento de 35 °C.min⁻¹ até 200 °C e de 50 °C.min⁻¹ até 250 °C; temperatura da interface entre cromatógrafo e espectrômetro de massas de 250 °C; ionização por impacto de elétrons (70 eV) com a fonte de íons mantida a 230 °C; intervalo de massa de 70-600 *m/z* a 20 scans.s⁻¹.

5.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística foi realizada através do software Rstudio (4.3.1) que utiliza a linguagem R. Os dados obtidos foram testados quanto à normalidade, por meio do Teste de Shapiro- Wilk. Quando as variáveis apresentaram distribuição normal, foi utilizado o Teste T de Student ou o Teste Anova. Para variáveis que apresentaram distribuição não normal e não homogênea, foi utilizado o teste não paramétrico de Mann-Whitney na variação Wilcoxon presente no software R. Para calcular associação entre duas variáveis categóricas, foi empregado o teste Qui-quadrado de Pearson ou Exato de Fisher. Para análise de regressão foi aplicado o pacote MAaslin2 e para análise de correlação, foi aplicado o teste de Spearman. Para amostras pareadas com distribuição não normal, foi utilizado o teste de Friedman com post-hoc de Dunn. Para a análise de diversidade beta, foi aplicado o teste de PERMANOVA e as análises de diversidade alfa (Shannon, Chao1 e Simpson) foram submetidas a análise de Wilcoxon. O nível de significância considerado foi de $p \leq 0,05$.

6. RESULTADOS

Ao todo, aceitaram participar do projeto cinquenta gestantes. Através da avaliação dos resultados obtidos por meio da escala de Edimburgo, vinte oito foram triadas para o grupo MG enquanto vinte e duas foram alocadas no grupo AL. Durante o período de condução do estudo, esse número diminuiu para 18 no grupo MG e 16 no grupo AL.

6.1 GESTANTES

As pacientes do Grupo MG foram recrutadas a partir do momento em que compareciam a primeira consulta psiquiátrica. Todas elas já chegavam na consulta entre o fim do segundo trimestre e o começo do terceiro trimestre de gestação. Dessa forma, todas as amostras de fezes coletadas e utilizadas no estudo foram correspondentes a esse trimestre de gestação. A partir da assinatura do TCLE, todas as participantes preencheram o questionário de dados sócio demográficos e clínicos e os resultados podem ser observados na Tabela 1.

Tabela 1. Dados socio-demográficos e clínicos de participantes gestantes

Dados Sócio-demográficos e Clínicos							
<u>Variáveis</u>	<u>Grupo AL</u>		<u>Grupo MG</u>		<u>Total</u>		<i>p</i>
<u>quantitativas</u>	<u>(N=16)</u>		<u>(N=18)</u>		<u>N=(34)</u>		
	min- máx	Média (±)	min- máx	Média (±)	min- máx	Média (±)	
Idade	21- 38	30,9(±5,4)	18-43	32,722(±6,2)	18- 43	31,882 (±5,8)	0,351
Escala de Edimburgo							
EB	0-9	4,8(±2,6)	10-27	19,5(±4,4)	0-27	12,6(±8,2)	<0,001***
ES	0-7	3,8(±2,2)	6-23	14,1(±4,2)	0-23	9,2(±6,2)	<0,001***
<u>Variáveis</u>	N	%	N	%	N	%	<i>p</i>
<u>categoricas</u>							
Escolaridade							
Sem ensino superior completo	7	46,7	13	72,2	20	60,6	0,135
Com ensino superior completo	8	53,3	5	27,8	13	39,4	
Sem registro (1)							
Estado civil							
Solteira	4	25	6	33,3	10	29,4	0,595
Casada	12	75	12	66,7	24	70,6	
Histórico Gestacional							
Primigesta	11	68,8	5	27,8	16	47,1	0,017*
Multigesta	5	31,2	13	72,2	18	52,9	
Abortos							
Não	15	93,8	10	58,8	25	75,8	0,019*

Sim	1	6,2	7	41,2	8	24,2	
Sem registro (1)							
Histórico psiquiátrico							
Não	15	93,8	5	27,8	20	58,8	<0,001***
Sim	1	6,2	13	72,2	14	41,2	
Antidepressivo							
Não	16	100	0	0	16	47,1	<0,001***
Sim	0	0	18	100	18	52,9	
Medicação psiquiátrica complementar							
Não	16	100	9	50%	25	73,5%	<0,001***
Sim	0	0	9	50%	9	26,5%	
Avaliação de Edinburgo							
Alto (≥ 10)	0	0	16	88,9%	16	47,1%	<0,001***
Baixo (<10)	16	100	2	11,1%	18	52,9%	

AL: sintomas ausentes/ leves, MG: sintomas moderados/graves. Utilizado o pacote “arsenal” no software Rstudio, aplicado Teste de Qui-quadrado de Pearson aplicado a variáveis categóricas e teste de Kruskal-Wallis aplicado nas variáveis quantitativas. * $p < 0,05$, *** $p < 0,001$. Fonte: Elaborado pelo autor

A faixa etária média ficou entre 30-35 anos em ambos os grupos o que torna a população estudada mais homogênea e descartando a variação de idade. Apesar disso, pode-se notar que os maiores extremos de idade (18 anos e 43 anos) estão presentes no grupo MG. Os valores da escala de Edimburgo são significativos entre os grupos demonstrando que existe uma variação na intensidade de sintomas de forma mais perceptível nas participantes do grupo MG. Os demais fatores sociais não apresentaram associação em relação aos grupos. Os dados clínicos, por sua vez, demonstraram uma forte associação do estado depressivo das pacientes quanto a paridade, histórico de abortos e histórico psiquiátrico. Em relação a medicação, apenas as pacientes diagnosticadas com Depressão, fizeram uso de tratamento terapêutico e farmacológico. No geral, apenas uma participante do grupo AL não preencheu nenhuma das alternativas de escolaridade e uma do grupo MG não respondeu sobre histórico de aborto.

6.1.1 Composição da microbiota

Durante a análise da microbiota intestinal, pudemos observar que, apesar de ambos os grupos apresentarem os mesmos gêneros bacterianos como mais predominantes, suas abundâncias se diferenciam. Ambos os grupos possuem o gênero *Blautia* como mais abundante e suas médias, mesmo com o desvio padrão, são bem próximas. No entanto, alguns gêneros acabam se destacando por possuírem uma diferença em sua abundância média entre os grupos, como pode ser constatado pela média do gênero *Bacteroides*, no qual se mostra mais abundante no grupo MG. Outros gêneros são notadamente aumentados, quando comparamos a abundância relativa entre os grupos, como o gênero *Oscillospira* que parece dobrar em abundância quando comparado com o grupo AL, a família Enterobacteriaceae que possui uma média de abundância relativa maior no grupo MG, além do gênero *Bifidobacterium* que parece estar mais abundante no grupo AL em detrimento ao grupo MG. Apesar destas diferenças, nenhum dos resultados apresentou diferença estatística significativa. A composição da microbiota de gestantes no terceiro trimestre de gestação pode ser observada na Figura 2 e Tabela 2.

Figura 2: Composição da microbiota de participantes gestantes pertencentes aos grupos AL e MG. Teste de Wilcoxon. $p > 0,05$.

Composição da microbiota de participantes gestantes

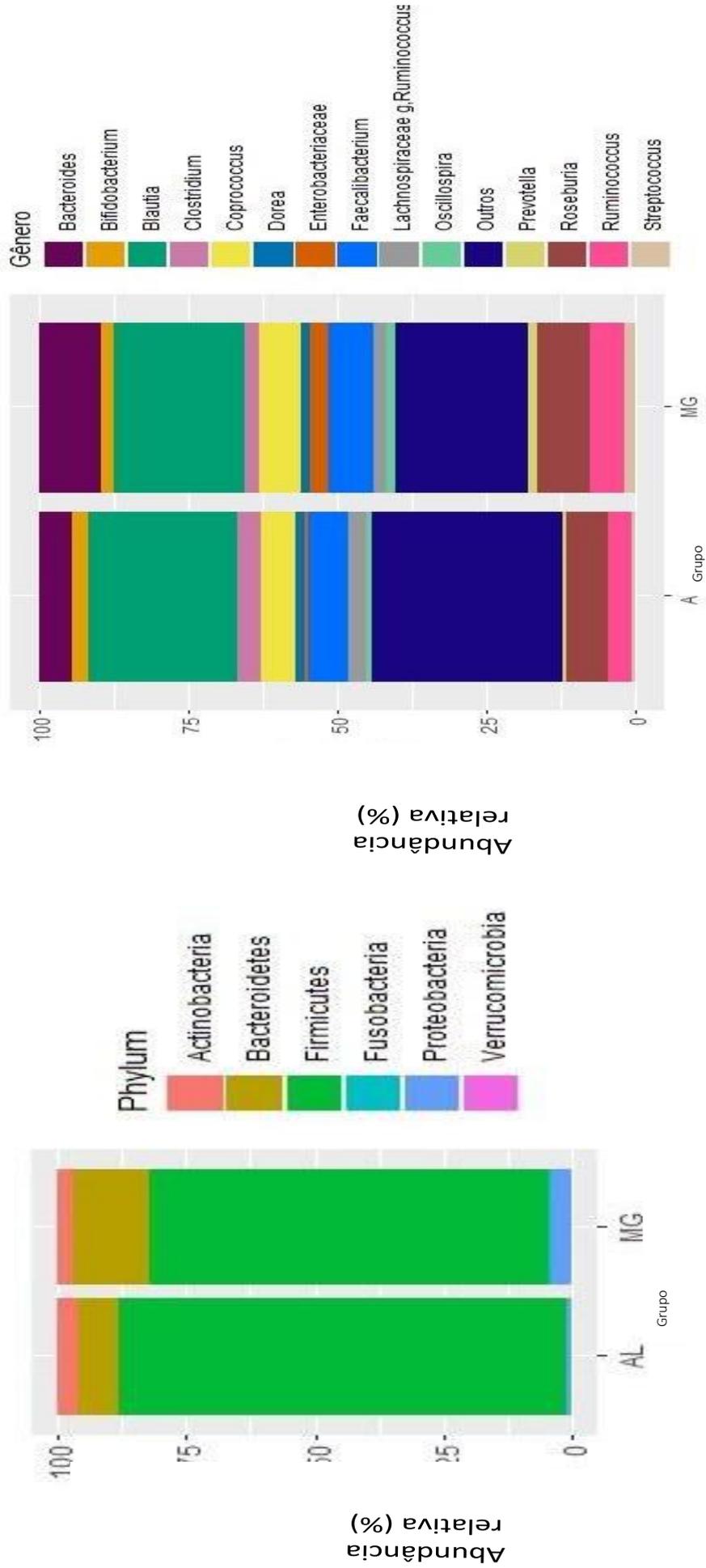


Tabela 2. Dados da composição da microbiota das participantes gestantes dos grupos AL e MG.

Microbiota -Gestação (G)							
Principais Gêneros	Grupo AL (N=16)		Grupo MG (N=18)		Total (N=34)		P
	min- máx	Média (±)	min- máx	Média (±)	min- máx	Média (±)	
	<i>Blautia</i>	4,0- 49,6	24,2 (±13,5)	3,3- 50,6	21,8 (±15,1)	3,3-50,6	
<i>Bacteroides</i>	0,04 - 39,9	5,3 (±9,8)	0-50,9	19,5 (±4,4)	0-27	12,6 (±8,2)	0,2
<i>Roseburia</i>	0,3 - 19,3	6,8 (±6,2)	0-28	8,6 (±8,3)	0-28	7,8 (±7,3)	0,5
<i>Faecalibacterium</i>		6,9 (±5,1)		7,3 (±5,5)		7,1 (±5,2)	0,7
<i>Coprococcus</i>	0,4- 11,2	6,1 (±3,3)	1,2- 21,4	6,9 (±5,4)	0,4- 21,4	6,5 (±4,5)	1
<i>Ruminococcus</i>	0- 10,7	4,0 (±3,8)	0,7 - 14,0	5,7 (±4,3)	0- 14,0	4,9 (±4,1)	0,1
<i>Bifidobacterium</i>	0- 13,7	3,2 (±4,9)	0-7,8	2,2 (±2,1)	0- 13,7	2,7 (±3,6)	0,5
<i>Clostridium</i>	0,2- 11,7	3,8 (±3,6)	0- 5,3	2,3 (±1,5)	0,06- 11,7	3,0 (±2,8)	0,3
<i>Lachnospiraceae</i>	0,2- 8,8	3,0 (±2,6)	0,1- 9,8	2,2 (±2,5)	0,1 - 9,8	2,6 (±2,5)	0,3
<i>f.Enterobacteriaceae</i>		0,4 (±0,6)		3,2 (±11,5)		1,9 (±8,4)	0,1
<i>Prevotella</i>		0,9 (±1,9)		1,8 (±4,7)		1,4 (±3,6)	0,7
<i>Streptococcus</i>	0,07 - 2,1	0,6 (±0,6)	0-21,4	1,7 (±4,9)	0- 21,4	1,2 (±3,6)	0,6
<i>Oscillospira</i>		0,8 (±0,9)	0,09 - 7,6	1,6 (±1,8)	0- 7,6	1,2 (±1,5)	0,1

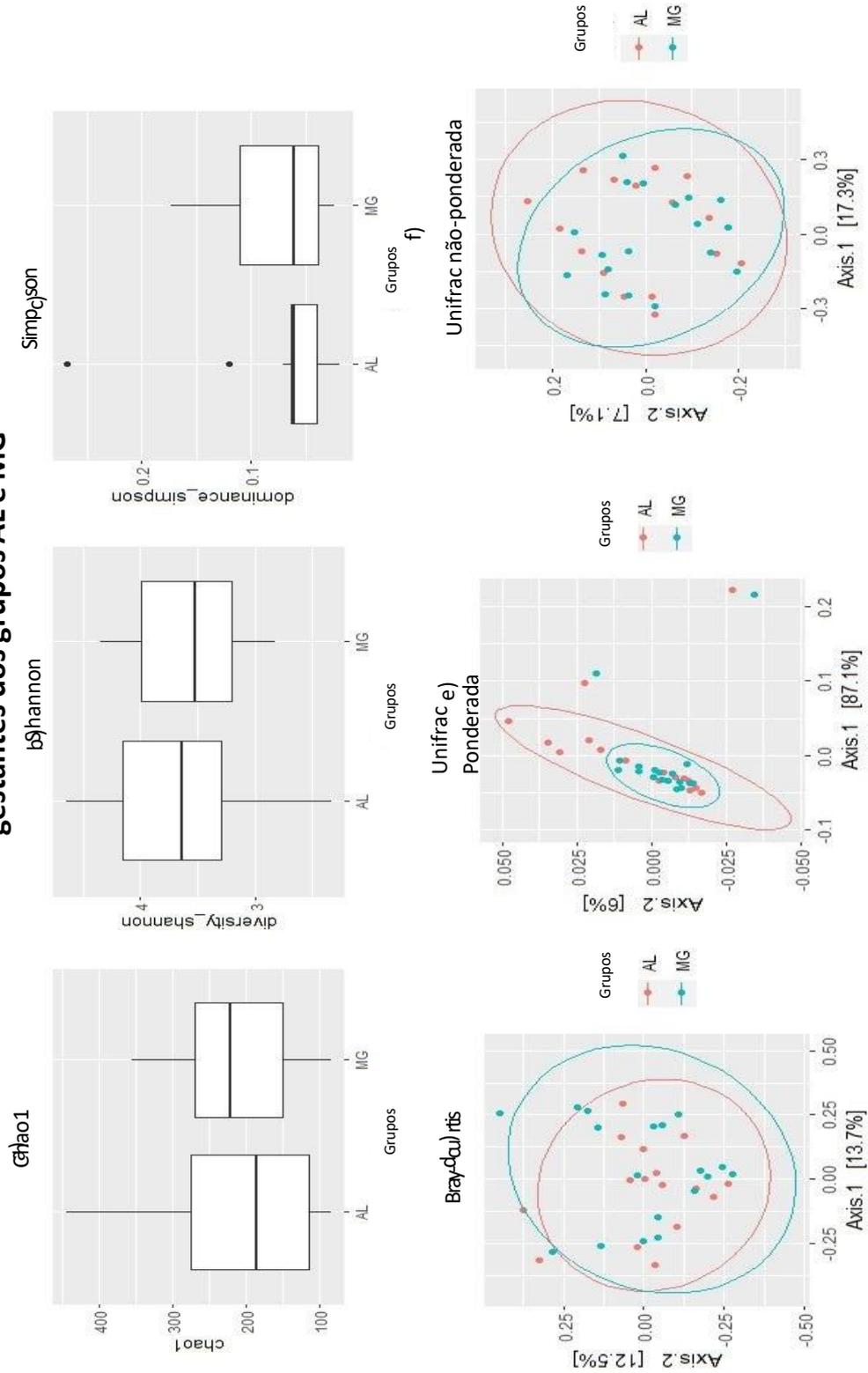
<i>Dorea</i>	0,3- 4,6	1,5 (±1,0)	0,1- 4,4	1,5 (±1,2)	0,1- 4,6	1,5 (±1,1)	0,8
Outros	9,6- 62,9	31,9 (±14,7)	7,8- 35,5	22,0 (±8,3)	7,8- 62,9	26,7 (±12,6)	0,058
Ácidos Graxos de Cadeia Curta (µg/g)							
Acetato	0,3- 15,6	5,0 (±5,3)	0,2- 10,8	4,5 (±3,5)	0,2-15,6	4,8 (±4,4)	0,9
Propionato	0,6- 9,6	2,4 (±2,8)	0,1- 6,3	2,1 (±1,5)	0,1-9,6	2,2 (±2,1)	0,5
Butirato	0,1- 2,3	0,9 (±0,6)	0,2- 2,2	1,0 (±0,5)	0,1-2,3	1,0 (±0,6)	0,5

AL: sintomas ausentes/ leves, MG: sintomas moderados/graves. Teste de Shapiro- Wilke <0,05. Utilizado o teste de Kruskal-Wallis para variáveis não paramétricas. Fonte: Elaborado pelo autor

A presença de outros gêneros bacterianos que possuíam abundância relativa menor que 1 % foi representada na legenda como “Outros” e demonstra estar ligeiramente aumentado no grupo AL, o que pode indicar um aumento na diversidade microbiológica deste grupo. Para avaliação mais profunda da diversidade, foram realizados os testes de alfa diversidade e beta diversidade e seus resultados podem ser observados na Figura 3.

Índices de alfa e beta diversidade em amostras de gestantes dos grupos AL e MG

Figura 3: Índices de alfa e beta diversidade dos grupos AL e MG. a) Índice de Chao1 de riqueza estimada, teste de Wilcoxon $p=0,6$. b) Índice de diversidade de Shannon, teste de Wilcoxon, $p=0,6$. c) Índice de dominância de Simpson, teste de Wilcoxon, $p=0,3$. d) Índice de dissimilaridade de Bray curtis, PERMANOVA, $p=0,2, r^2=0,02$. e) Pcoa de métrica ponderada, PERMANOVA, $p=0,5, r^2=0,01$. f) Pcoa de métrica não ponderada, PERMANOVA, $p=0,08, r^2=0,02$.



Através das análises de alfa diversidade conseguimos observar que, de fato, existe uma tendência do grupo AL em ter uma microbiota mais rica e mais diversa que o grupo MG, apesar de não termos encontrado diferenças estatísticas significativas. Já nas análises de beta diversidade, apesar de também não terem sido observadas mudanças significativas, observamos a formação de dois clusters que se diferenciam por suas distâncias através das análises de coordenadas principais (PCoA) e a existência de uma tendência de que os clusters possam exibir composições distintas entre os grupos quanto a presença e ausência de espécies dentro das amostras observadas pela análise Unifrac não ponderada (Figura 3, letra f).

Quanto aos ácidos graxos de cadeia curta dosados a partir das amostras de fezes coletadas, também não foi encontrada nenhuma diferença significativa tanto nas concentrações de acetato, propionato e butirato entre os grupos (Figura 4) quanto a correlação de suas concentrações com a pontuação na escala de Edimburgo para presença de sintomas depressivos. No entanto, conseguimos observar uma tendência à diminuição de concentração desses ácidos a medida em que a pontuação na escala aumenta, obtendo, portanto, uma relação inversa entre a concentração de AGCC e a quantidade de sintomas depressivos. (Figura 5).

Figura 4: .Concentração de AGCC em gestantes pertencentes os grupos AL e MG. a) concentração de acetato $p=0,9$; b) propionato $p=0,1$; c) butirato $p=0,2$. Teste de Wilcoxon.

Concentração de AGCC em participantes gestantes dos grupos AL e MG

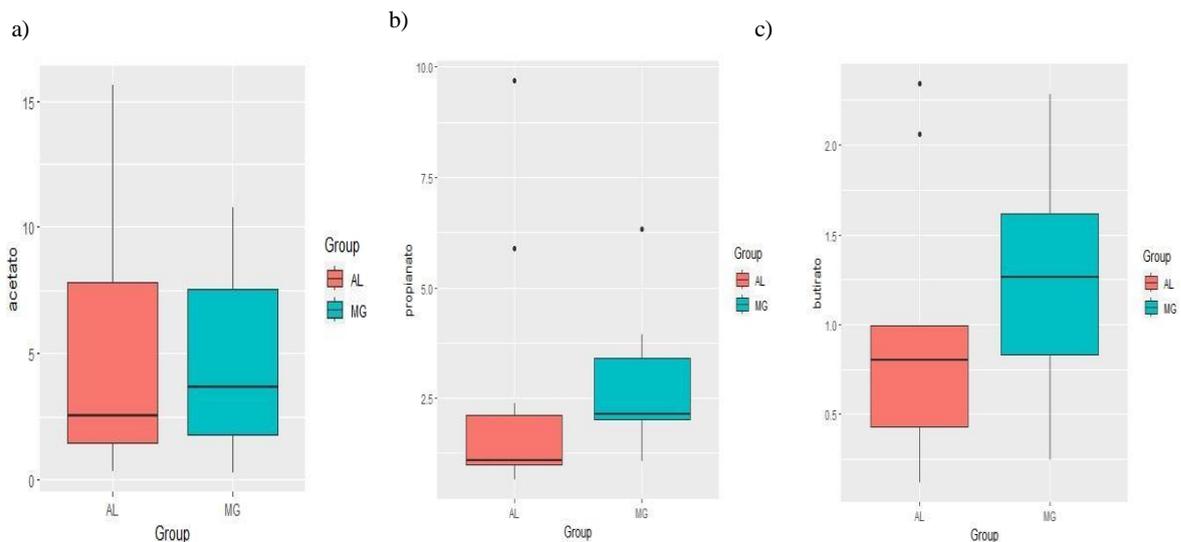
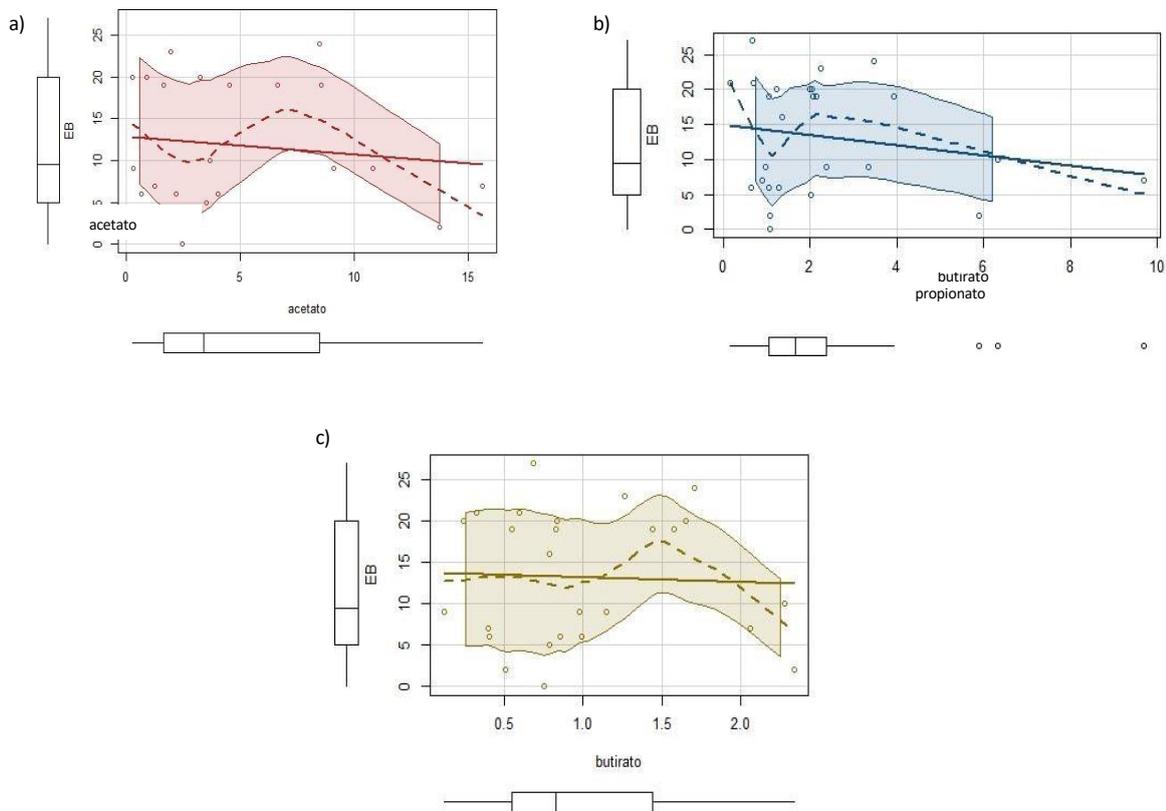


Figura 5: Correlação de Pearson entre as concentrações de AGCC e a pontuação na escala de Edimburgo. a) Correlação entre a concentração de acetato e a pontuação na escala, $p=0,5$, $cor=-0,1$. b) Correlação entre a concentração de propionato e a pontuação na escala, $p=0,3$, $cor=-0,1$. c) Correlação entre a concentração de butirato e a pontuação na escala, $p=0,8$, $cor=-0,04$.

Correlação entre as concentrações de AGCC e a pontuação na Escala de Edimburgo



6.2 PUÉRPERAS

6.2.1. Puerpério imediato (P1)

Todas as participantes que escolheram prosseguir com o projeto eram orientadas a informar quando ocorreria o parto, além disso, as participantes adquiriram um adesivo colocado na carteira de pré-natal para que a equipe obstétrica soubesse da sua participação na pesquisa e pudesse informar sobre a ocorrência dos partos. Mesmo assim, muitas pacientes perderam o contato nesse período. Resultando em uma diminuição drástica principalmente no grupo AL. No grupo MG, no entanto, a perda foi menor uma vez que as participantes faziam acompanhamento médico psiquiátrico e eram assistidas de perto pela equipe médica. As amostras foram coletadas pela participante no período do pós-parto imediato, correspondente ao primeiro até o terceiro dias após o parto, ainda em internação hospitalar. Os números totais e a composição da microbiota de pacientes do período do pós-parto imediato (P1) podem ser observados na Tabela 3 e Figura 6.

Tabela 3 Dados da composição da microbiota e concentração de AGCC.

Microbiota -Pós parto imediato (P1)							
Principais Gêneros	Grupo AL (N=6)		Grupo MG (N=14)		Total (N=20)		p
	min- máx	Média (±)	min- máx	Média (±)	min- máx	Média (±)	
<i>Blautia</i>	12,1- 52,2	26,7 (±14,2)	0,4- 36,3	17,9 (±10,7)	0,4-50,2	20,5 (±12,2)	0,2
<i>Bacteroides</i>	0,4 - 18,9	5,7 (±6,8)	0,6 - 66,3	11,8 (±17,1)	0,4- 66,3	10 (±14,8)	0,2
<i>Roseburia</i>	0,1 - 13,5	6,4 (±5,6)	0-31	5,3 (±8,7)	0-31	5,7 (±7,8)	0,3
<i>Faecalibacterium</i>		8,2 (±6,4)	0,02- 38,3	6,7 (±10)	0,02 - 38,3	7,2 (±8,9)	0,4
<i>Coprococcus</i>	3,2- 15,1	6,4 (±4,5)	0- 17,5	5,9 (±4,6)	0- 17,5	6,1 (±4,5)	1

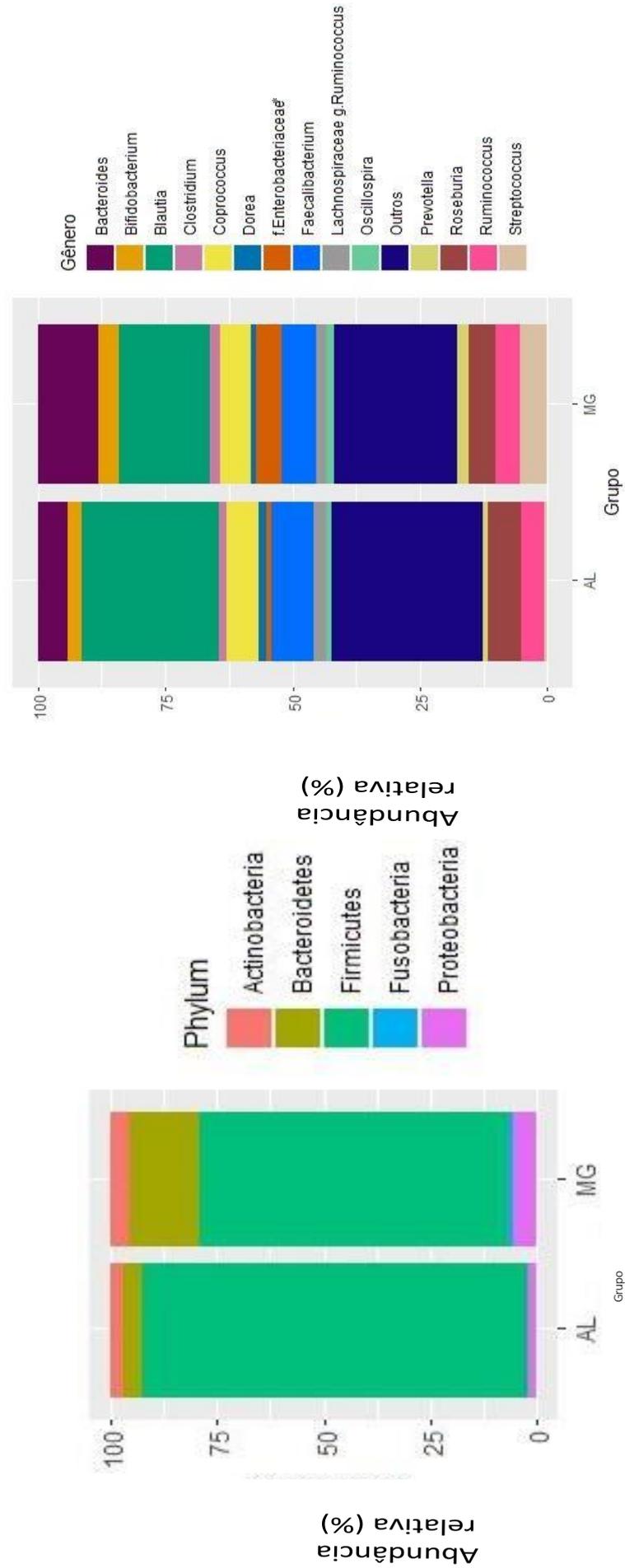
<i>Ruminococcus</i>	1,2 - 10,6	4,6 (±3,4)	0,2 - 15,5	4,8 (±4,5)	0,2 - 15,5	4,7 (±4,1)	1
<i>Bifidobacterium</i>	0,1 - 8,5	2,9 (±3,8)	0,05 - 24,1	4,0 (±6,8)	0,05 - 24,1	3,7 (±6)	0,7
<i>Clostridium</i>	0,1- 4	1,5 (±1,5)	0,1 - 5,2	1,9 (±1,7)	0,1 - 5,2	1,8 (±1,6)	0,6
Lachnospiraceae	0,5 - 6,9	2,4 (±2,3)	0,07 - 10,6	2 (±2,7)	0,07 - 10,6	2,1 (±2,5)	0,5
<i>g.Ruminococcus</i>							
f.Enterobacteriaceae		1		4,9		3,7	0,02**
e	0-6,1	(±2,4)	0-17,9	(±6,4)	0-17,9	(±5,7)	
<i>Prevotella</i>		0,9		2,2		1,8	0,9
	0- 4,8	(±1,9)	0-10,2	(±3,7)	0-10,2	(±3,2)	
<i>Streptococcus</i>	0,01 - 2	0,5 (±0,7)	0- 56,2	5,3 (±14,8)	0- 56,2	3,8 (±12,5)	0,3
<i>Oscillospira</i>	0- 2,5	1,1 (±1)	0,01- 3,5	1,5 (±1,2)	0- 3,5	1,4 (±1,1)	0,2
<i>Dorea</i>	0,6- 2,5	1,4 (±0,7)	0,02 - 2,7	1 (±0,7)	0,02 - 2,7	1,1 (±0,7)	0,2
Outros	9,8 - 44,1	29,6 (±13,3)	3,0 - 50,1	24 (±14,1)	3,0 - 50,1	25,7 (±13,8)	0,5
Ácidos Graxos de Cadeia Curta (µg/g)							
Acetato	3,1- 6,1	4,5 (±1,4)	0,9-10	6,3 (±2,9)	0,9-10	5,7 (±2,6)	0,2
Propionato	0,8-3,1	1,7 (±1,2)	0,04- 3,2	1,3 (±1)	0,04-3,2	1,4 (±1)	0,6
Butirato	0-0,9	0,6 (±0,4)	0,05- 1,7	0,7 (±0,5)	0-1,7	0,7 (±0,5)	0,7

AL: sintomas ausentes/ leves, MG: sintomas moderados/graves. Teste de Shapiro- Wilke <0,05. Comparação entre grupos. Teste de wilcoxon.p<0,05**. Fonte: Elaborado pelo autor

Blautia ainda foi a bactéria com maior abundância, encontrada nos dois grupos estudados. Assim como nos resultados de abundância relativa observado nas amostras de gestantes, *Bacteroides* foi encontrado com maior abundância no grupo MG e *Faecalibacterium* foi encontrada em maior abundancia no grupo AL, apesar dos resultados

não serem significativos. A família Enterobacteriaceae aparece como uma diferença significativa entre os grupos. No entanto, não se pode afirmar qual ou quais gêneros podem estar associados ao aumento da abundância dessa família em participantes do grupo MG, possivelmente por um artefato da análise de bioinformática. Essa diferença encontrada na abundância não foi refletida na estrutura de comunidade analisada na beta diversidade, nem nos índices de alfa diversidade, como observado na Figura 7.

**Composição da microbiota de participantes no primeiro período do puerpério (P1)
Segundo filo e gêneros mais abundantes**



*

Índices de alfa e beta diversidade em amostras Puérperas (P1) dos grupos AL e MG

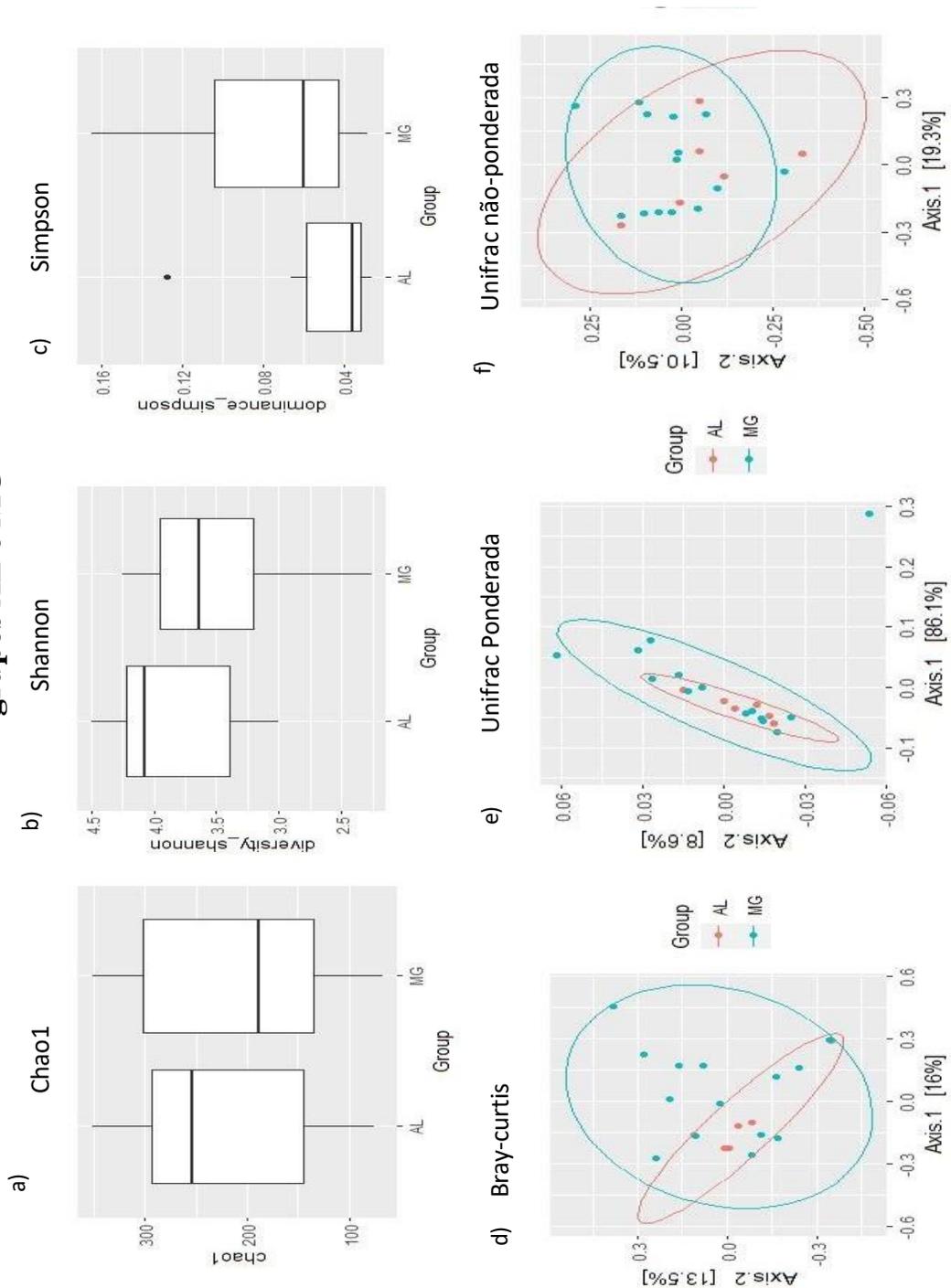
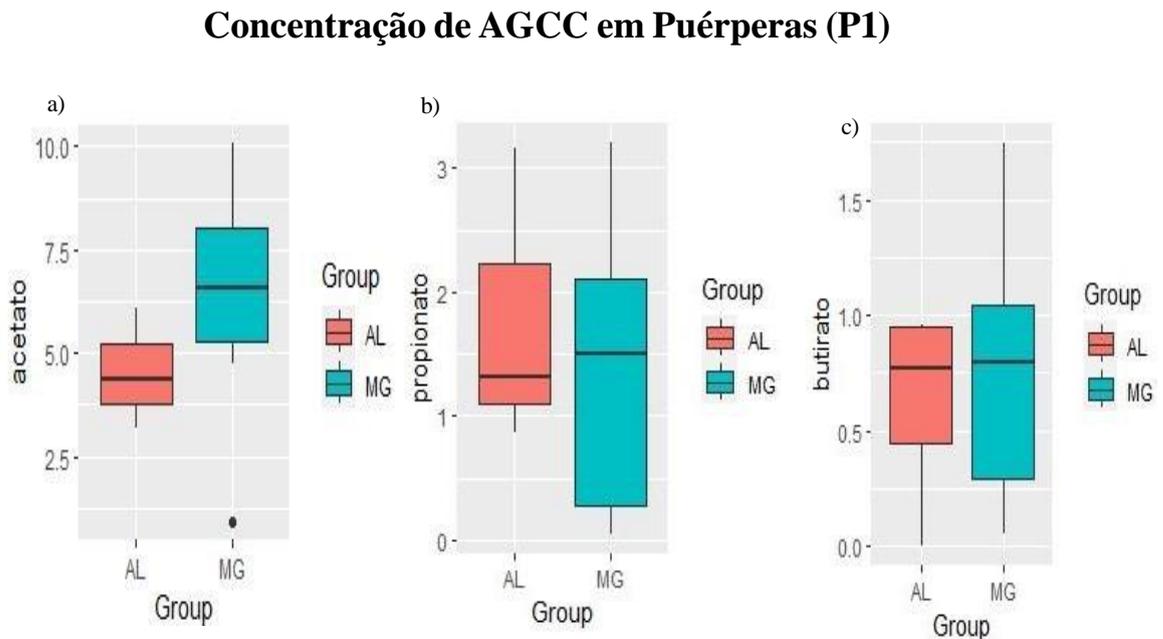


Figura 7: Índices de alfa e beta diversidade dos grupos AL e MG. a) Índice de Chao1 de riqueza estimada, teste de Wilcoxon $p=0,8$. b) Índice de diversidade de Shannon, teste de Wilcoxon, $p=0,4$. c) Índice de dominância de Simpson, teste de Wilcoxon, $p=0,2$. d) Índice de dissimilaridade de Bray curtis, PERMANOVA, $p=0,8, r^2=0,05$. e) PcoA de métrica ponderada, PERMANOVA, $p=0,5, r^2=0,04$. f) PcoA de métrica não ponderada. PERMANOVA, $p=0,4, r^2=0,06$.

Não houve diferença estatística nas concentrações de AGCC entre os grupos, muito embora se possa observar uma tendência ao aumento de acetato no grupo MG. (Figura 8.)

Figura 8: Concentração de AGCC em puérperas (P1). a) Concentração de acetato em P1. Teste de Wilcoxon com Bonferroni, $p=0,09$. b) Concentração de propionato em P1. Teste de Wilcoxon com Bonferroni, $p=0,3$. c) Concentração de butirato em P1. Teste de Wilcoxon com Bonferroni, $p=0,5$.



6.2.2. Puerpério -1º mês (P2)

Apesar de nossos esforços, a grande maioria das pacientes evadiu do estudo após o parto.

Com isso, tivemos uma grande redução do número de participantes do grupo AL, uma vez que o hospital universitário encaminhou as pacientes sem vínculo com a universidade para Unidade Básica de Saúde, impossibilitando o retorno da paciente com a amostra. A descrição da microbiota das pacientes encontra-se na tabela 4. Abundância relativa de filo e gênero encontram-se na Figura 9.

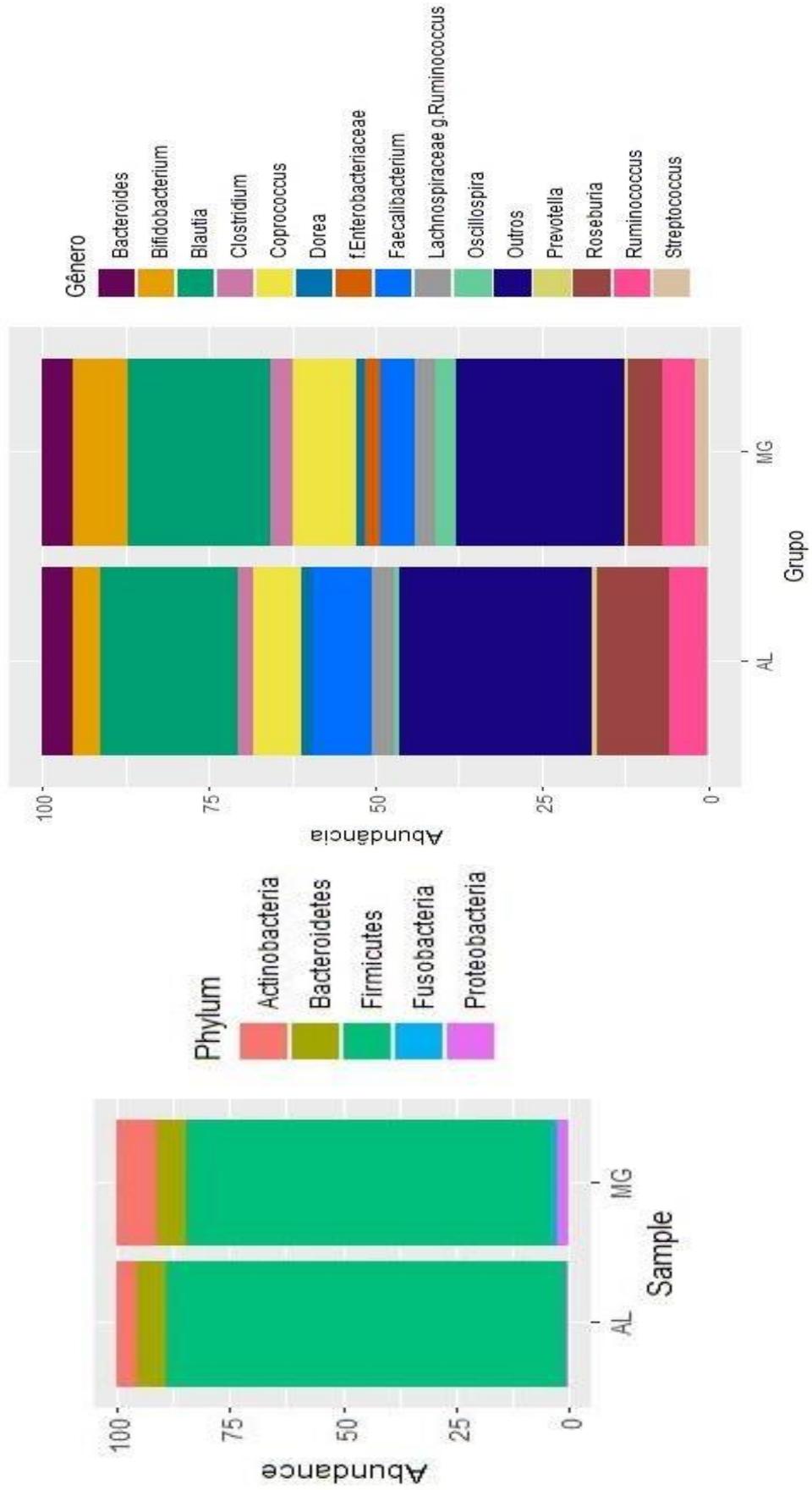
Tabela 4. Composição da microbiota de pacientes após 1 mês do pós-parto (P2). Teste de Wilcoxon.

Microbiota -1 mês após parto (P2)							
Principais Gêneros	Grupo AL (N=3)		Grupo MG (N=14)		Total (N=20)		p
	min- máx	Média (±)	min- máx	Média (±)	min- máx	Média (±)	
<i>Blautia</i>	12,1- 52,2	20,5 (±1,8)	0,4- 36,3	21,4 (±12,4)	0,4-50,2	21,2 (±11)	0,6
<i>Bacteroides</i>	0,6 - 11,3	4,4 (±5,9)	0,07 - 15	4,6 (±4,7)	0,07 - 15	4,6 (±4,7)	1
<i>Roseburia</i>	3,8 - 21,8	10,6 (±9,7)	0,09 - 22,1	5 (±6,5)	0,09 - 22,1	6,1 (±7,2)	0,1
<i>Faecalibacterium</i>	5,8 - 14	8,6 (±4,6)	0,1 - 13	5,7 (±4,9)	0,1 - 14	5,7 (±4,9)	0,1
<i>Coprococcus</i>	5,2 - 10,3	7,2 (±2,6)	1,1 - 20,6	9,4 (±5,4)	1,1 - 20,6	8,9 (±4,9)	0,5
<i>Ruminococcus</i>	3,4 - 10	5,7 (±3,7)	0,4 - 10,3	5 (±3)	0,4 - 10,3	5,2 (±3)	0,8
<i>Bifidobacterium</i>	0,6 - 8,7	4,2 (±4)	0,03 - 28,3	8,1 (±10,7)	0,03 - 28,3	7,3 (±9,7)	0,7
<i>Clostridium</i>	0,5 - 5,2	2,3 (±2,4)	0,06 - 10,6	3,4 (±3,7)	0,06 - 10,6	3,2 (±3,4)	0,7
<i>Lachnospiraceae</i>	2,3 -	3,4	0,4 -	3,3	0,4 -	3,3	0,7
<i>g.Ruminococcus</i>	5	(±1,3)	6,6	(±2,5)	6,6	(±2,3)	
<i>f.Enterobacteriaceae</i>		0,03	0-	2,4	0-	1,9	0,08
	0-0,8	(±0,04)	12,7	(±4,5)	12,7	(±4,1)	
<i>Prevotella</i>	0- 2,5	0,8 (±1,4)	0- 2,5	0,4 (±0,7)	0- 2,5	0,5 (±0,8)	0,8
<i>Streptococcus</i>	0,05- 0,7	0,2 (±0,3)	0,01 - 19,6	1,9 (±5,5)	0,01 - 19,6	1,6 (±5)	0,5

<i>Oscillospira</i>	0,1 1,4	0,8 (±0,6)	0 - 18,8	2,8 (±5,1)	0 - 18,8	2,4 (±4,6)	0,3
<i>Dorea</i>	1,2- 2	1,7 (±0,4)	0,07 - 3,5	1,1 (±1)	0,07 - 3,5	1,3 (±0,9)	0,2
Outros	22,5 - 38	28,7 (±8,1)	3,9 - 48,4	25,4 (±13,4)	3,9 - 48,4	26 (±12,4)	0,4
Ácidos Graxos de Cadeia Curta (µg/g)							
Acetato	2,8 - 9,8	6,4 - (±3,4)	0,3 - 9,2	4,1 (±3,3)	0,3 - 9,8	4,7 (±3,3)	0,4
Propionato	1,3 - 4,9	2,8 (±1,8)	0,08 - 2,9	1,4 (±0,9)	0,08- 4,9	1,7 (±1,2)	0,2
Butirato	0,6- 1,5	1,1 (±1,5)	0,06- 1,7	0,6 (±0,5)	0,06 - 1,7	0,7 (±0,5)	0,2

Figura 9: Abundância relativa segundo filós e gêneros presentes em pacientes dos grupos AL e MG. Teste de Wilcoxon, $p > 0,05$.

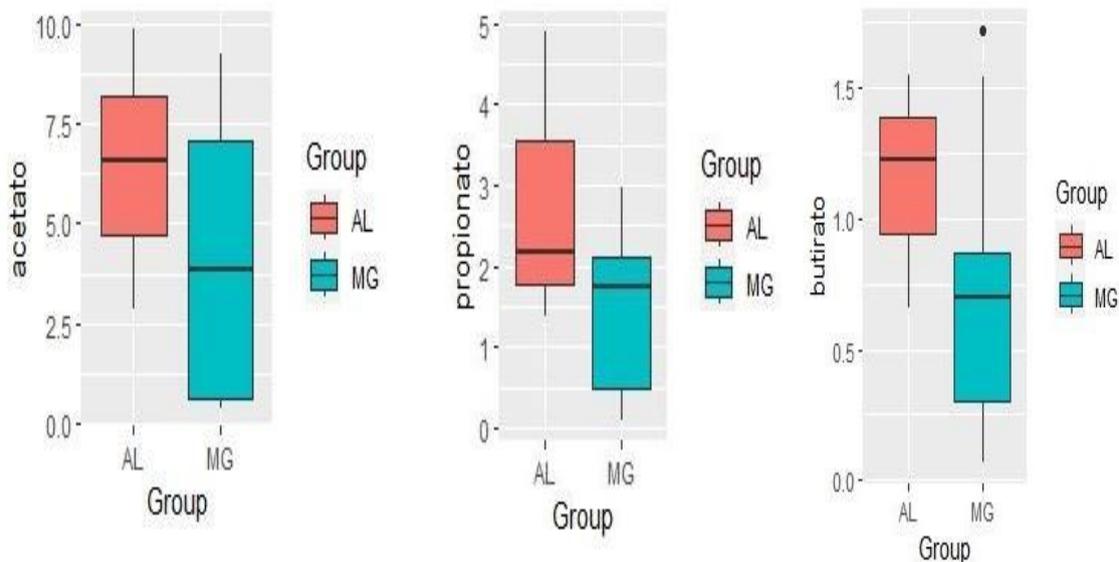
Abundância relativa da microbiota de participantes após 1 mês do pós-parto (P2)



Podemos notar uma tendência ao aumento na abundância relativa do filo Actinobacteria e do gênero *Bifidobacterium* no grupo MG. Além disso, nota-se mais fortemente a presença do gênero *Oscillospira* e da família Enterobacteriaceae no grupo MG, enquanto o grupo AL apresenta uma aparente maior diversidade. Novamente, não observamos diferenças estatísticas entre os grupos. Os índices de diversidade alfa e beta não apresentaram nenhuma diferença estatística uma vez que o número de participantes do grupo AL não foi suficiente para que fossem feitas as elipses das métricas de beta diversidade. Outro parâmetro que não mostrou diferença significativa foi a concentração de AGCC. (Figura 10)

Figura 10: Concentração de AGCC. Teste de Wilcoxon., $p > 0,05$

Concentração de AGCC em Puérperas (P2)



6.3 LACTENTES

Durante todo o estudo, ambos os grupos foram acompanhados, no entanto, o grupo MG por ter um diagnóstico clínico, foi mais frequente na sua ida ao hospital, dessa forma, tanto a entrega de amostras como de troca de informações foi mais eficiente.

Ao final do estudo, foi analisado os dados clínicos de cada lactente das gestantes que optaram por continuar no projeto (Tabela 5). No entanto, apenas os bebês das participantes do grupo MG obtiveram um número de amostras suficiente o bastante para a realização a descrição de sua microbiota intestinal (Figura 11). Como o grupo MG tinha a variável de tratamento, foi feito um teste de anova de medidas repetidas para rastrear a variação da

pontuação na escala de Edimburgo (Figura 12) ao longo do tratamento assim como a análise de comparação da microbiota durante esse período (Figuras 13,14 e 15).

Tabela 5. Dados clínicos dos recém-nascidos do grupo AL e do grupo MG.

Dados Clínicos - Recém-nascidos (R1)							
<u>Variáveis</u> <u>categoricas</u>	<u>Grupo AL</u> <u>(N=4)</u>		<u>Grupo MG</u> <u>(N=9)</u>		<u>Total</u> <u>(N=13)</u>		<u>p</u>
	<u>N</u>	<u>%</u>	<u>N</u>	<u>%</u>	<u>N</u>	<u>%</u>	
Forma de parto							
Cesária	1	25	8	88,9	9	69,2	0,02*
Vaginal	3	75	1	11,1	4	30,8	
Amamentação							
Fórmula	0	0	2	22,2	2	15,4	0,3
Leite materno	4	100	7	77,8	11	84,6	
Idade Gestacional							
Pré-termo	0	0	3	33,3	3	23,1	0,1
Termo	4	100	6	66,7	10	76,9	
Peso ao nascer							
<u>Variáveis</u> <u>quantitativas</u>	<u>Grupo AL</u> <u>(N=4)</u>		<u>Grupo MG</u> <u>(N=9)</u>		<u>Total</u> <u>N=(13)</u>		<u>p</u>
	<u>min- máx</u>	<u>Média (dp)</u>	<u>min- máx</u>	<u>Média (dp)</u>	<u>min- máx</u>	<u>Média (dp)</u>	
Peso	2.910- 3.700kg	3.292kg (±331g)	2.050- 3.730kg	2.895kg (±582g)	2.050- 3.730kg	3017kg (±538g)	0,2

AL: sintomas ausentes/ leves, MG: sintomas moderados/graves. R1: recém -nascido. R2: bebê com 1 mês de vida. Teste de Shapiro- Wilke <0,05. Comparação entre grupos. Teste de Wilcoxon, p<0,05*. Fonte: Elaborado pelo autor

Apesar do menor número de lactentes em comparação com o de participantes recrutadas no início do estudo, podemos observar que o grupo MG teve uma maior quantidade de partos cesáreos do que o grupo AL sendo possível uma associação entre sintomas depressivos e a forma de parto ($p < 0,05$).

Em relação a composição da microbiota dos lactentes das participantes do grupo MG, a sucessão bacteriana fica evidente já na análise de abundância relativa de filos. A redução do filo Proteobacteria e o aumento de Actinobacteria presentes nos lactentes com 1 mês de vida (R2) é visível e o filo Actinobacteria diferença significativa entre os grupos ($p < 0,001^{***}$). A sobreposição de gêneros especialmente de bactérias anaeróbias facultativas como *Enterococcus* para bactérias anaeróbias estritas como *Bifidobacterium*, além da mudança na abundância de alguns gêneros como a *Veillonella*, *Clostridium*, *Lactobacillus*, *Ruminococcus*, *Blautia* e *Streptococcus* que apresentaram diferença em suas abundâncias de forma significativa e podem ser observadas na Figura 11.

Corroborando com os dados de abundância relativa, os índices de alfa e beta diversidade também mostraram a diferença na riqueza e diversidade da microbiota (Figura 12).

Abundância relativa da microbiota de recém-nascidos (R1) e Lactentes de 1 mês de vida (R2)

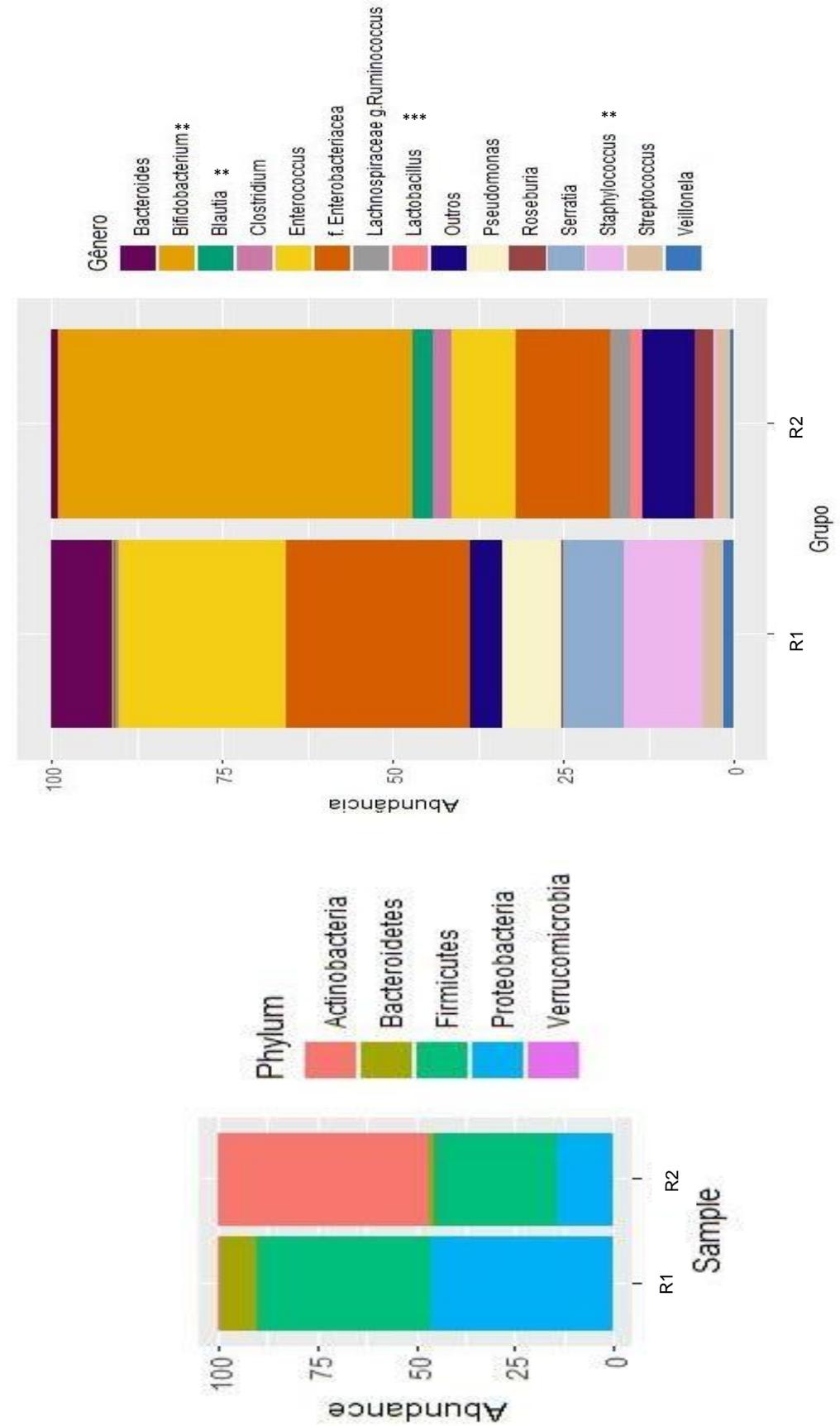
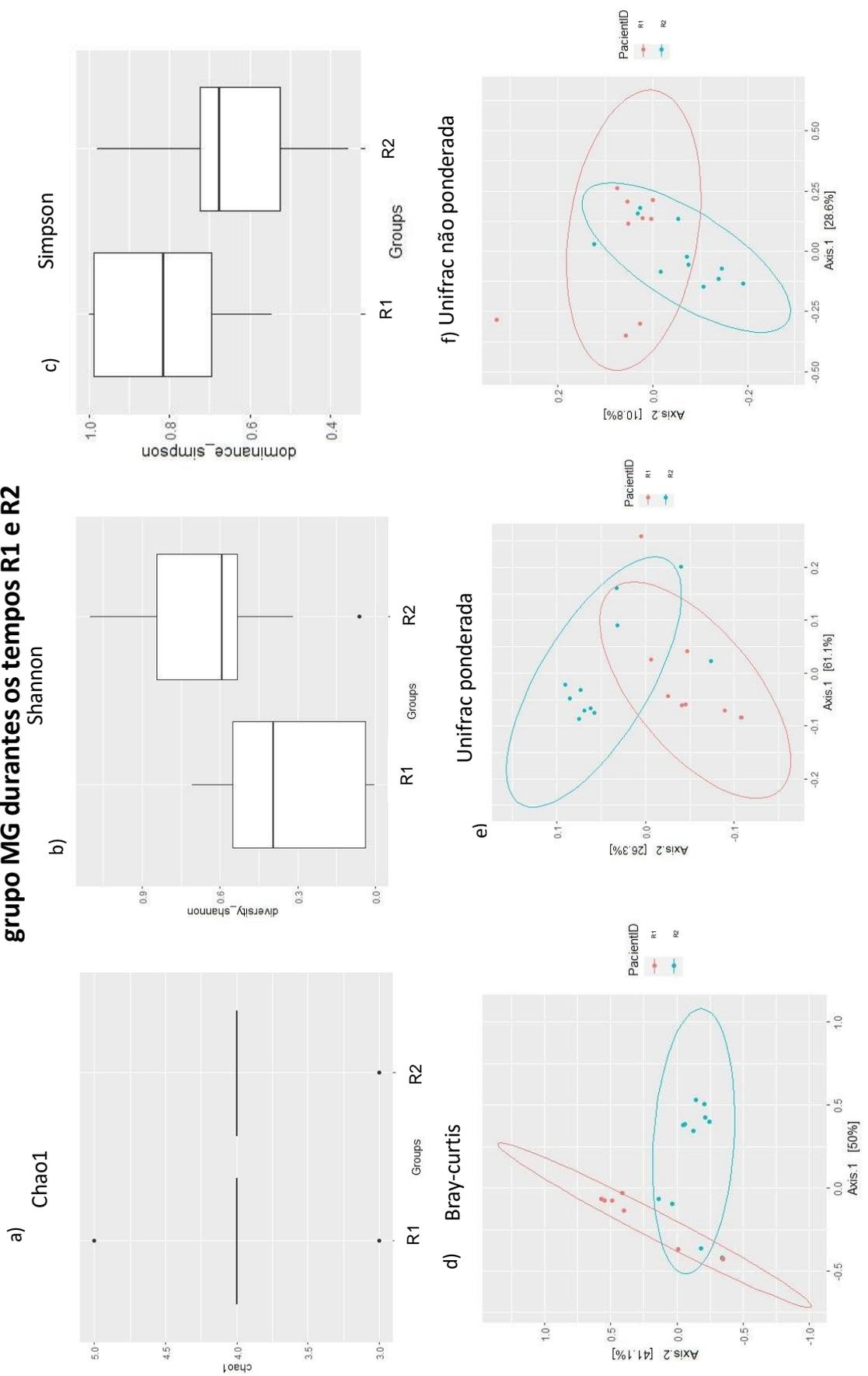


Figura 11: Composição da microbiota de recém-nascidos e lactentes das participantes do grupo MG em filo e gêneros. Wilcoxon, $p < 0,05^*$, $p < 0,01^{**}$, $p < 0,001^{***}$

Figura 12: Índices de alfa e beta diversidade dos grupos AL e MG. a) Índice de Chao1 de riqueza estimada, teste de Wilcoxon $p=0,5$. b) Índice de diversidade de Shannon, teste de Wilcoxon, $p<0,05^*$. c) Índice de dominância de Simpson, teste de Wilcoxon, $p=0.056$. d) Índice de dissimilaridade de Bray curtis, PERMANOVA, $p<0,01^{**}$, $r^2=0,26$. e) PcoA de métrica ponderada, PERMANOVA, $p<0,05^*$, $r^2=0,16$. f) PcoA de métrica não ponderada, PERMANOVA, $p=0,1$, $r^2=0,06$

Índices de alfa e beta diversidade em amostras de lactentes do grupo MG durante os tempos R1 e R2



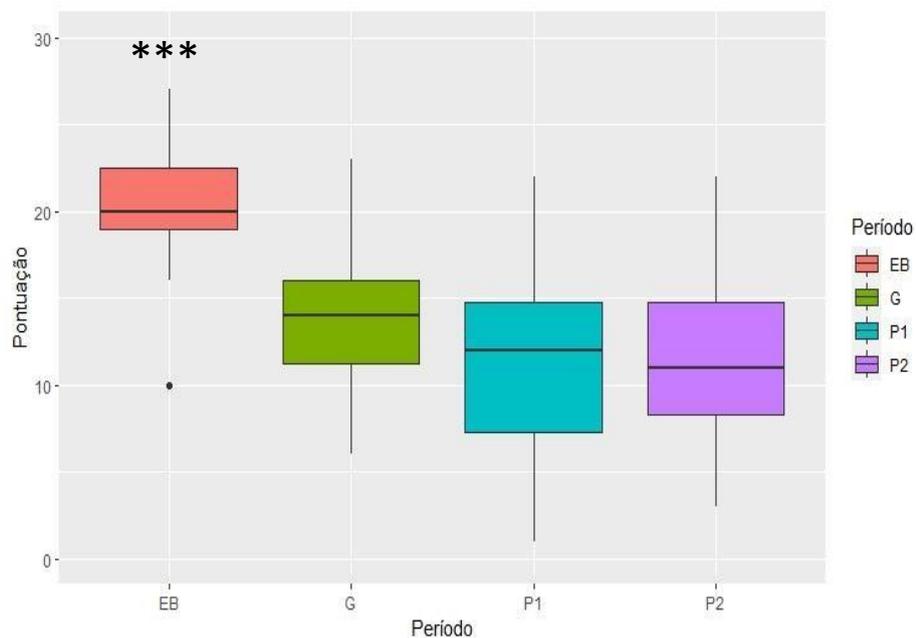
6.4 ACOMPANHAMENTO DO GRUPO MG

Como o grupo MG se manteve quase que constante em número de participantes, foram realizadas análises para fins de acompanhamento e descrição da microbiota das pacientes deste grupo em relação aos períodos de gestação e puerpério e, conseqüentemente ao tempo de tratamento psiquiátrico.

Primeiramente é possível constatar que todas as pacientes do grupo apresentavam sintomas depressivos moderados ou graves o suficiente para que fossem acompanhadas pela equipe psiquiátrica do IPq-HC. Os sintomas depressivos dessas pacientes foram registrados em forma de pontuação pela escala de Edimburgo assim que a paciente passava pela primeira consulta psiquiátrica, o qual foi denominada de Edimburgo base (EB). Durante essa primeira consulta, as pacientes eram acolhidas, esclarecidas quanto a sua condição mental e física e orientadas quanto ao uso das medicações prescritas. O retorno da paciente para uma nova consulta acontecia cerca de 1 mês após a primeira consulta e novamente as pacientes respondia ao questionário de Edimburgo para verificação da presença de sintomas depressivos e sua intensidade. A variação dos sintomas depressivos durante a progressão do tratamento e períodos da gestação e puerpério podem ser visualizados na Figura 13.

Figura 13: Variação de sintomas depressivos no Grupo MG. EB = pontuação no momento da triagem, G= após entrega da amostra na gestação, P1=após entrega da amostra do pós-parto imediato, P2= após entrega da amostra de 1 mês pós-parto. Anova de medidas repetidas com post hoc Bonferroni. <0,01***

Varição da pontuação no questionário de Edimburgo de pacientes do Grupo MG durante o estudo



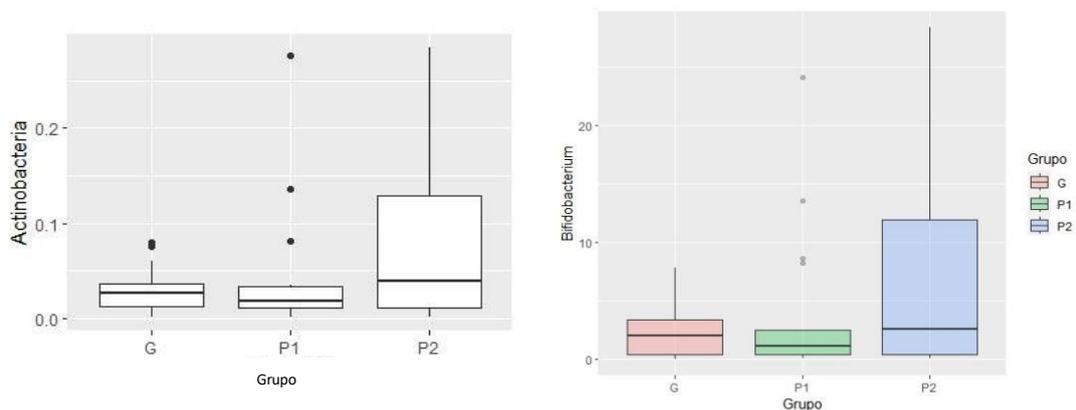
Os sintomas depressivos das pacientes do grupo MG diminuíram em sua intensidade de forma significativa quando comparados com o início do tratamento. No entanto, não houve mudança estatística durante os períodos tratados, apesar de que se pode visualizar uma queda progressiva na quantidade e intensidade desses sintomas de acordo com o tempo de tratamento.

Em relação a composição da microbiota das pacientes do grupo MG, quando comparado com os períodos gestacional e puerpério e, conseqüentemente, com o tempo de tratamento, observamos uma modulação da microbiota entre os períodos com uma aparente diminuição dos filos Bacteroidetes e Proteobacteria em detrimento do aumento progressivo de Actinobacteria e Firmicutes (Figura 14).

Além disso, a visível diminuição dos gêneros *Bacteroides* e *Prevotella* parece confirmar que a modulação está ocorrendo de acordo com a já vista na abundância relativa de filos. A diminuição da família Enterobacteriaceae também é um marco importante durante a progressão do tratamento. Apesar de não apresentar nenhuma diferença significativa durante os períodos de gestação e puerpério tanto na abundância relativa quanto nos índices de diversidade alfa e beta, nota-se que o gradual aumento do filo Actinobacteria ($p=0,07$) e mais especificamente do seu membro, o gênero *Bifidobacterium* ($p=0,06$) durante o mesmo período no grupo MG (Figura 15).

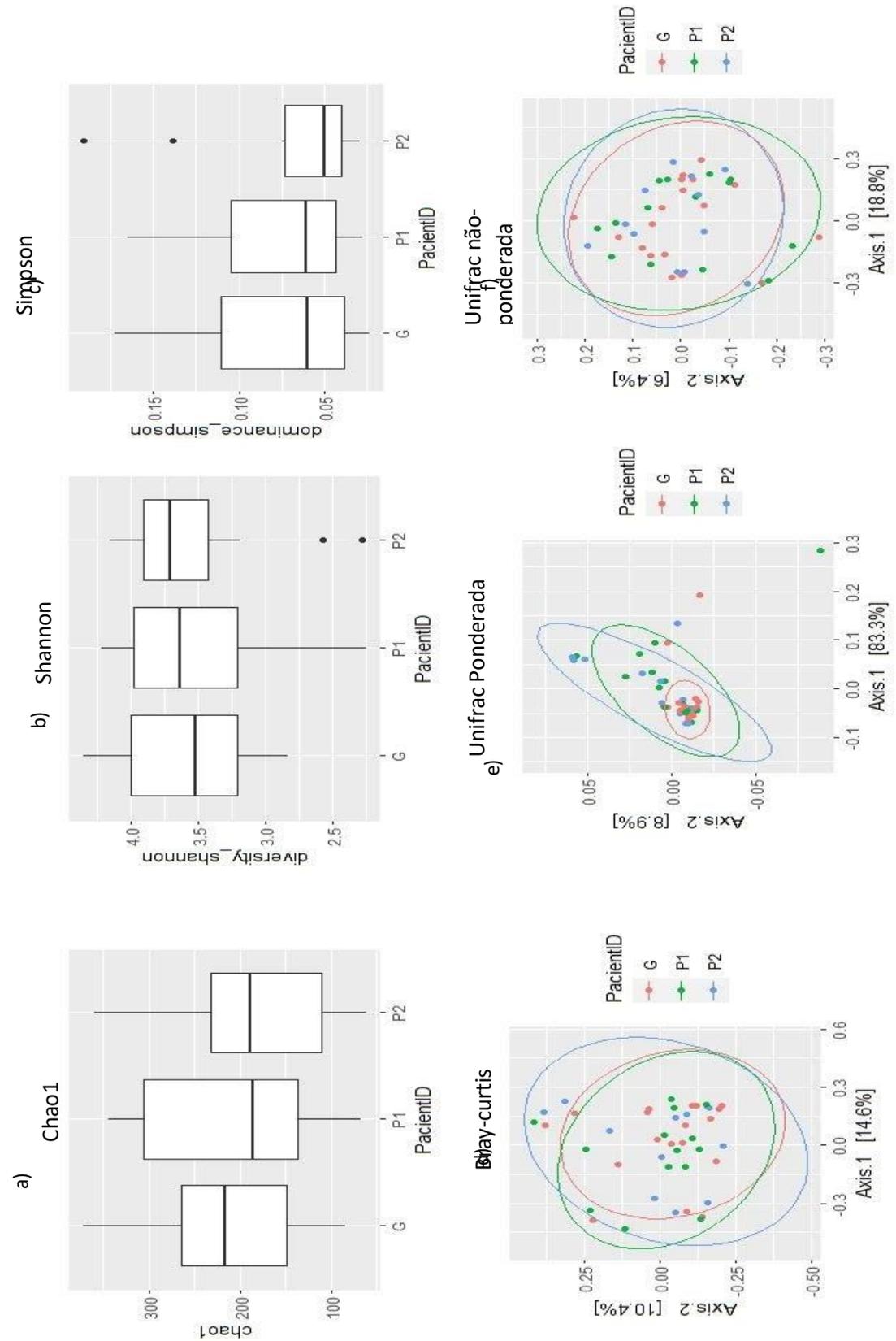
Figura 15: Variação do filo Actinobacteria e do gênero *Bifidobacterium* em pacientes do grupo MG ao longo do tempo. Teste de anova, $p=0,07$ e $p=0,06$.

Abundância relativa do filo Actinobacteria e do gênero *Bifidobacterium* em pacientes do grupo MG nos diferentes períodos de gestação e puerpério



Apesar de não apresentar diferença estatística nos índices de alfa e beta diversidade entre os períodos (Figura 16), a diversidade também pode ser notada com um ligeiro, porém progressivo aumento no decorrer dos períodos e se apresentar em forma de diferentes clusters em especial no índice de Shannon no qual o período P2 apresenta uma mediana já superior a dos outros períodos, e na análise de Unifrac ponderada no qual os clusters formados parecem diferir em abundância apesar de compartilharem as mesmas espécies.

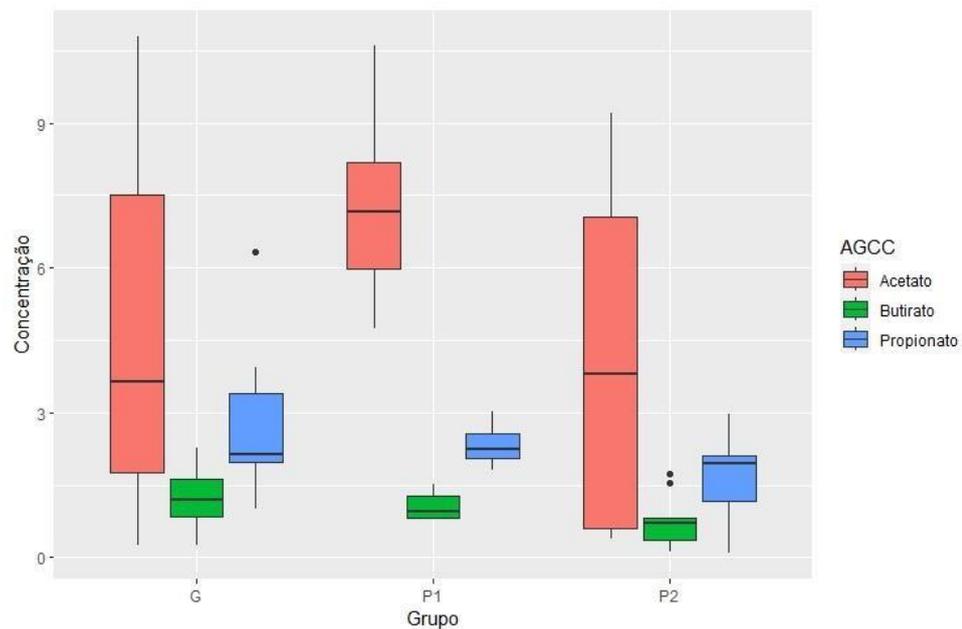
Índices de alfa e beta diversidade em amostras de pacientes do grupo MG ao longo do tempo



Não houve mudança significativa na concentração de AGCC durante os períodos em que o grupo MG foi acompanhado, no entanto, conseguimos visualizar uma maior variação na concentração de acetato, além disso, a mediana no período P2 consegue ser superior ao do período G porém inferior ao grupo P1 (Figura 15).

Figura 17: Concentração de AGCC em diferentes períodos da gestação e do puerpério. Teste anova com post hoc Tukey $p > 0,05$.

Concentração de AGCC durante os diferentes períodos de gestação e puerpério no grupo MG



Apesar dos resultados não demonstrarem diferenças significativas, foi possível verificar que a microbiota tem variações entre esses períodos e acabam, consequentemente, refletindo na concentração de seus metabólitos como os AGCC. Nesse estudo, foi possível acompanhar a modulação da microbiota em pacientes gestantes com diagnóstico clínico de Depressão e em tratamento com antidepressivos e descrevê-las de acordo com a abundância relativa dos principais gêneros que a compõem. O acompanhamento frequente com a equipe de psiquiatria e a adesão aos protocolos do estudo por parte das pacientes, possibilitou a construção de gráficos individuais contendo as abundâncias relativas dos gêneros presentes nas amostras das pacientes do grupo MG, coletadas durante os períodos da gestação e do puerpério, e as presentes nas amostras dos seus lactentes. Além disso, cada amostra coletada era

acompanhada do preenchimento do questionário de Edimburgo para verificação da existência e da intensidade de sintomas depressivos. Isso possibilitou a visualização da variação desses sintomas acompanhados da variação da microbiota durante os períodos (Figura 18).

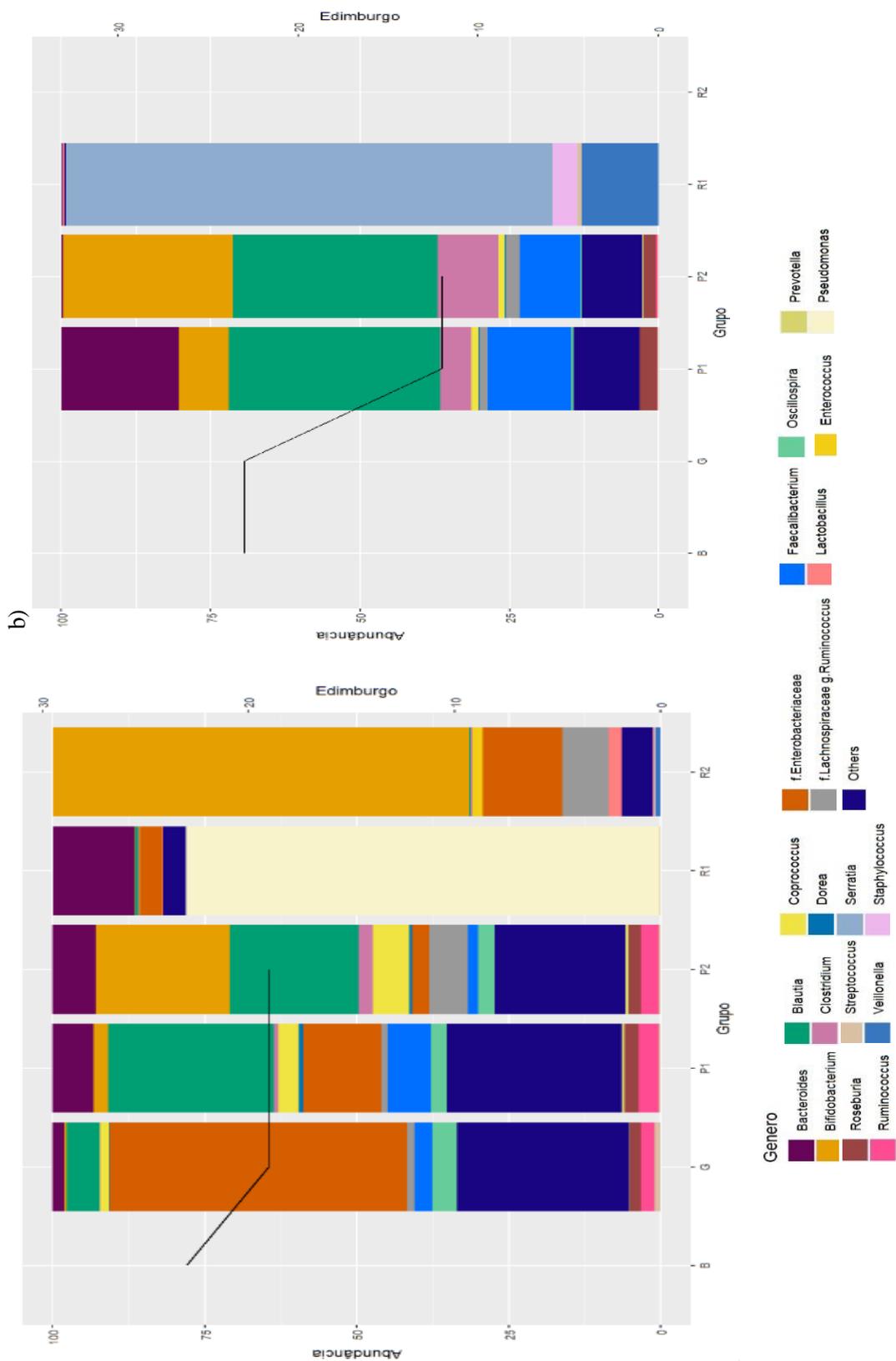
Mesmo sem diferenças significativas, pode-se visualizar um aumento progressivo do gênero *Bifidobacterium* em muitas pacientes ao longo dos períodos, esse aumento frequentemente aparece associado a queda na pontuação da escala de Edimburgo demonstrando uma diminuição de sintomas depressivos. Outro fator que pode ser visualizado é a correlação entre *Bifidobacterium* e a família Enterobacteriaceae. No qual podemos ver uma correlação inversa, especialmente durante o período P2. Além disso, o gênero *Clostridium* também demonstra uma correlação inversa com a pontuação de Edimburgo, uma vez que sua abundância parece aumentar à medida que há uma diminuição de sintomas depressivos. Essa correlação com os sintomas também pode ser observada com o gênero *Dorea* que parece aumentar à medida que a pontuação na escala, diminui.

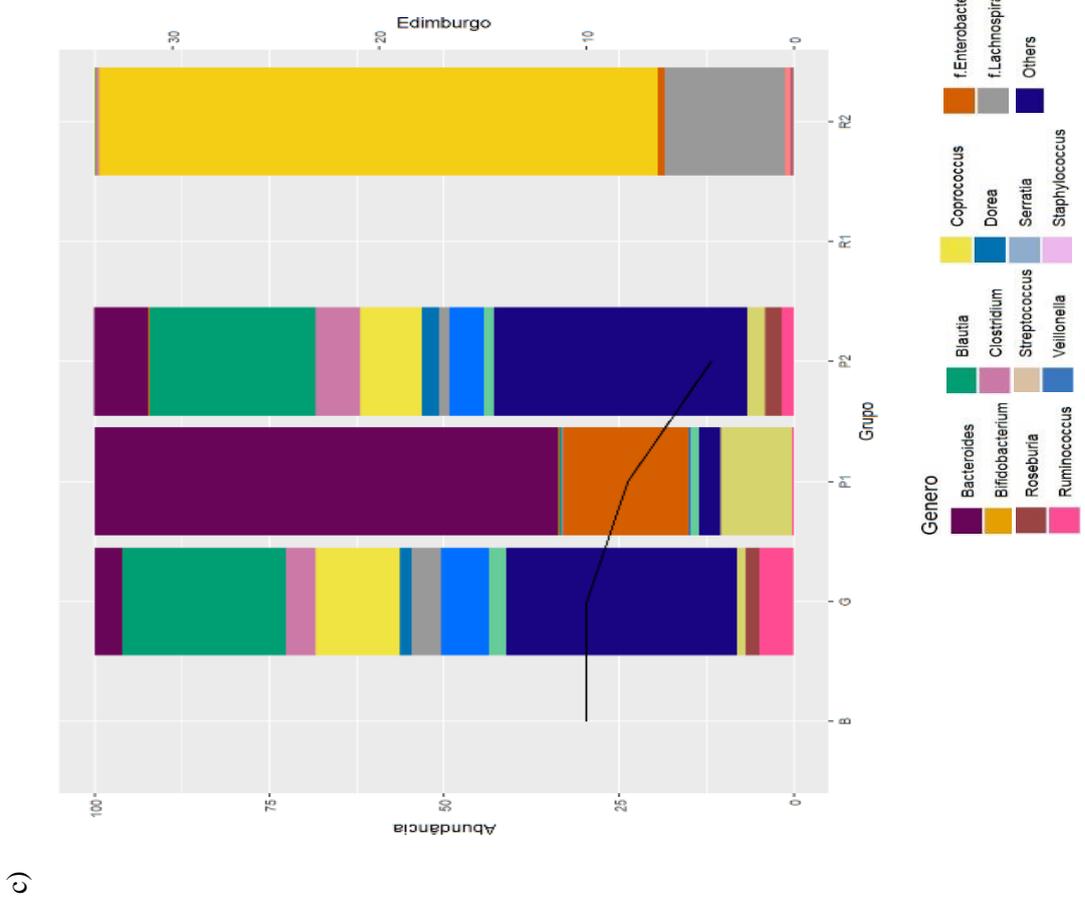
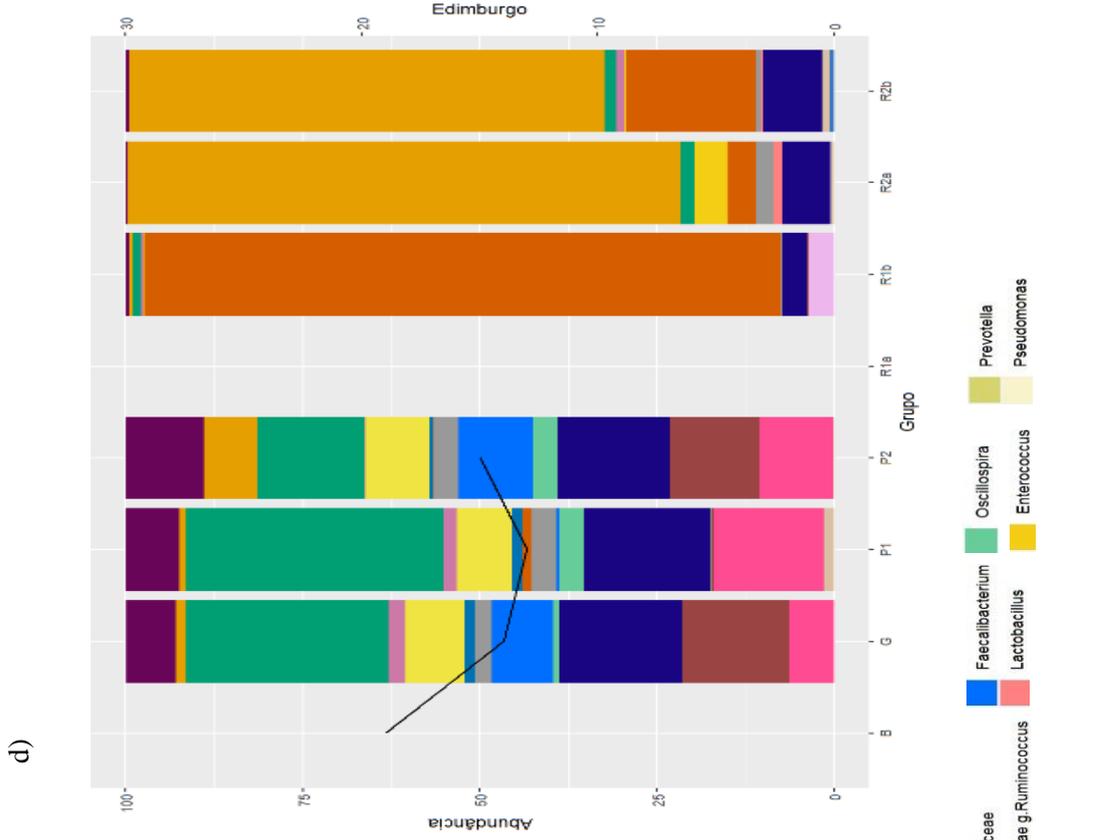
Independentemente do resultado do Edimburgo, as variações da escala demonstram que as pacientes acabam vivenciando o tratamento de forma individual, algumas respondendo ao tratamento de forma mais rápida e eficaz enquanto outras respondiam de forma mais lenta e até mesmo necessitando do acréscimo de medicação complementar essa sendo, geralmente da classes dos antipsicóticos, muitas vezes a fim de melhorar a qualidade do sono das pacientes que tinham a insônia como um sintoma frequente. Isso também pode ser levado em consideração quando observamos as variações da microbiota, uma vez que observamos que à medida que a escala se mantém contínua, em alguns pacientes, podemos observar que a microbiota também parece se manter constante, havendo apenas algumas flutuações na abundância relativa dos gêneros (Figura 18, letras a, b, g, j). O contrário também parece ocorrer, uma vez que quando a mudança na escala acontecia de forma quase que abrupta, as variações na abundância também se tornavam mais aparentes. Isso pode ser observado na Figura 18 em especial nas letras f, h, l, m, n.

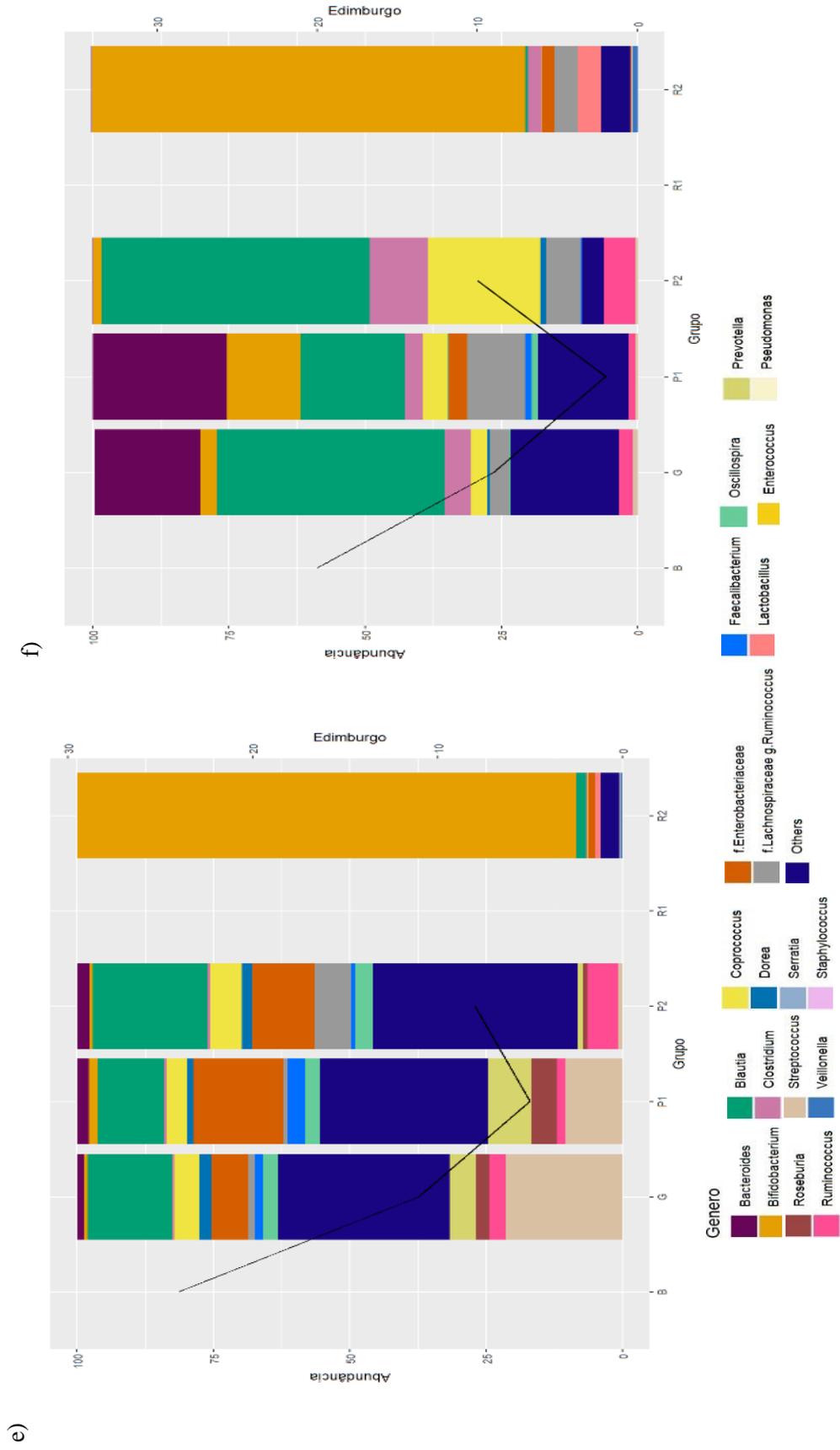
Nesse estudo, apenas as pacientes dos gráficos k, l, n não tiveram parto cesáreo, e a forma de parto está refletida na microbiota dos lactentes das pacientes com o aumento da abundância de *Staphylococcus* e *Streptococcus*. Embora a maioria dos partos do grupo MG tenham sido cirúrgicos, a amamentação no primeiro mês foi exclusiva de leite materno para a maioria dos bebês. Apenas os lactentes dos gráficos f, i, j fizeram uso exclusivo de fórmula infantil.

Mesmo sem apresentar significância estatística, podemos observar que os sintomas depressivos demonstrados pela escala de Edimburgo, parecem sofrer variações que podem ser refletidas na microbiota das pacientes do grupo MG

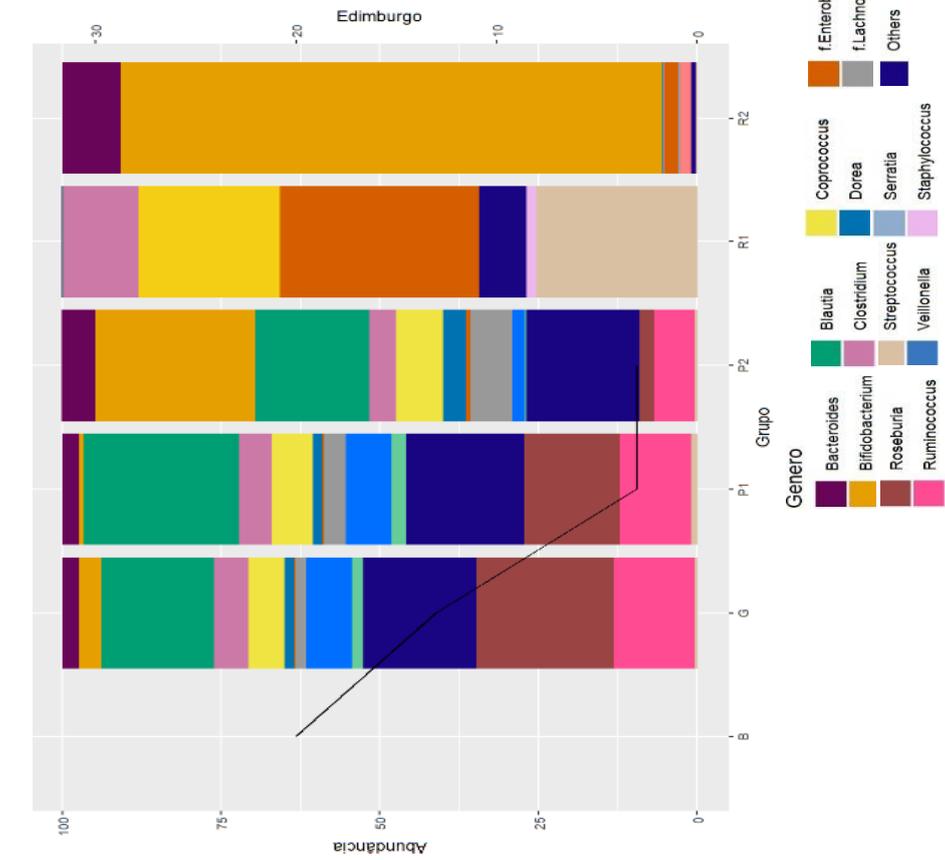
Figura 18: De a- n) Abundância relativa dos gêneros encontrados em cada paciente do grupo MG com mais de três amostras, onde G indica a amostra coletada no terceiro trimestre gestacional, P1 no período de 1ª 3 dias após o parto, P2 o período de 1 mês pós-parto, R1 é amostra de mecônio e R2 amostra de 1 mês de vida do lactente. A linha preta indica a variação de sintomas segundo o Edimburgo aplicado em cada períodoparto, P2 o período de 1 mês pós-parto, R



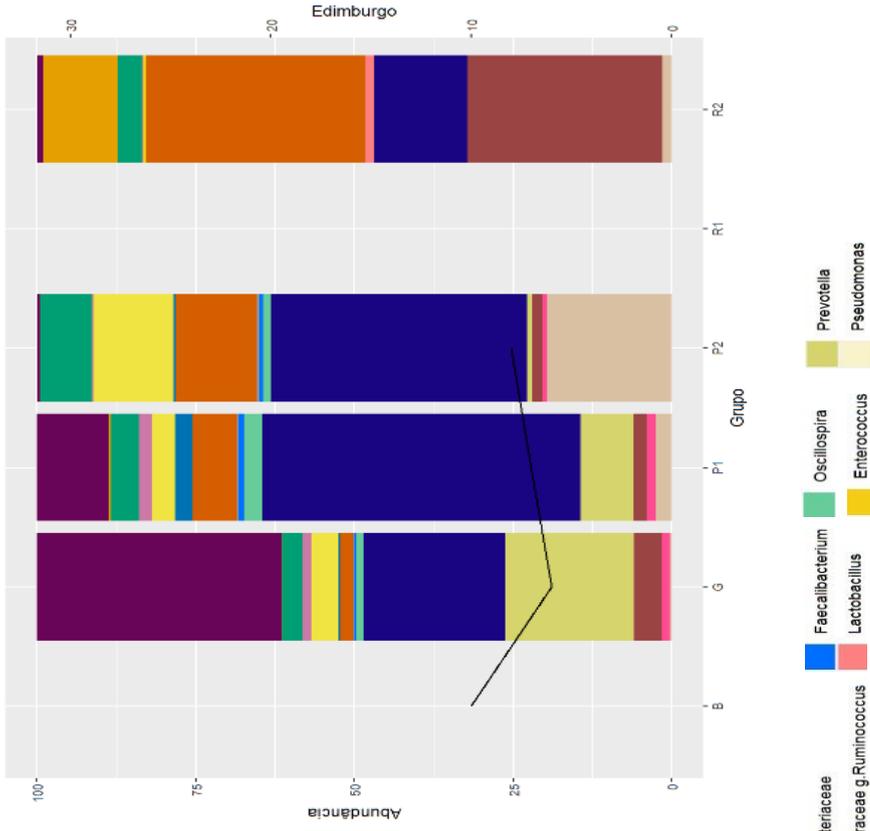


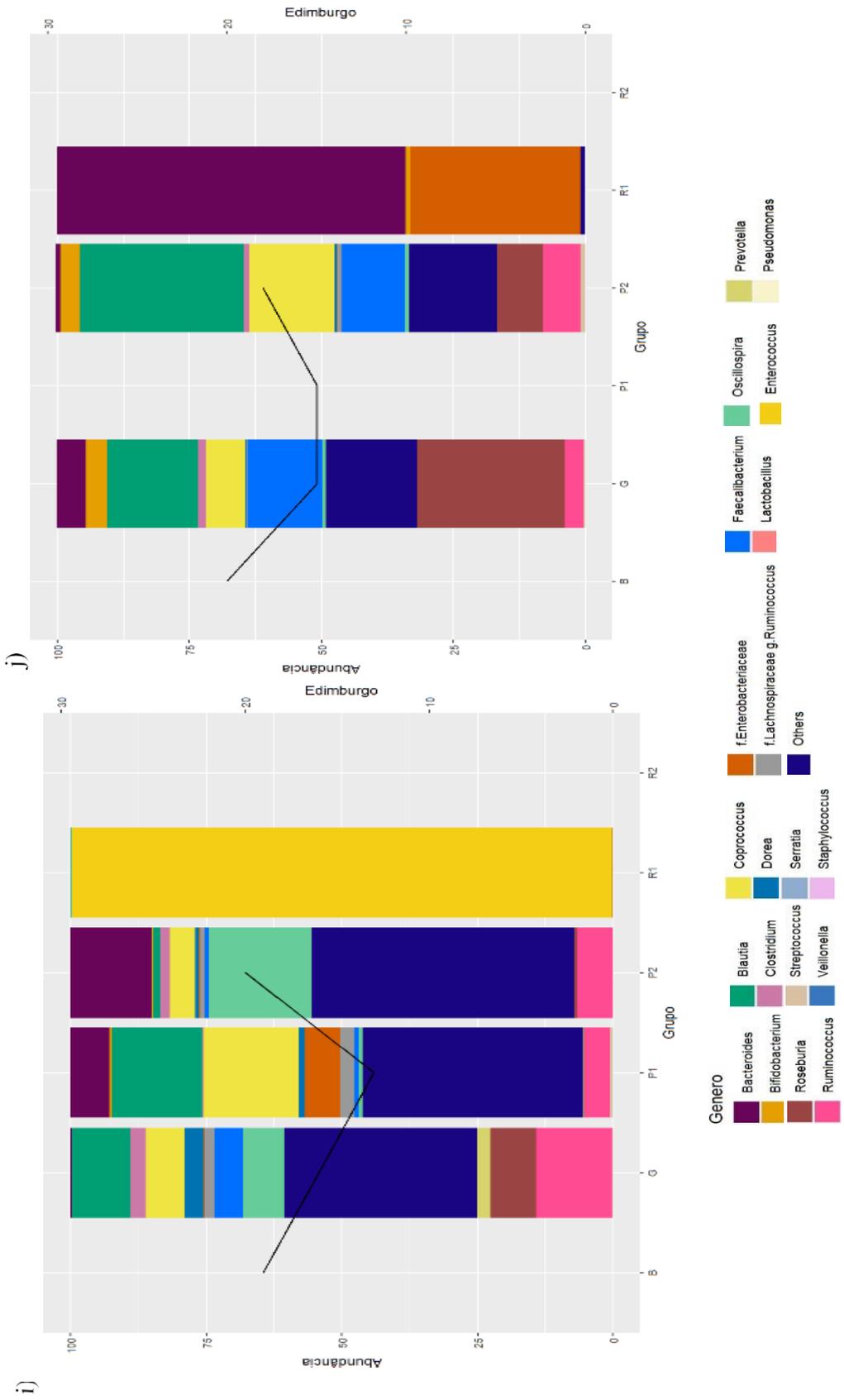


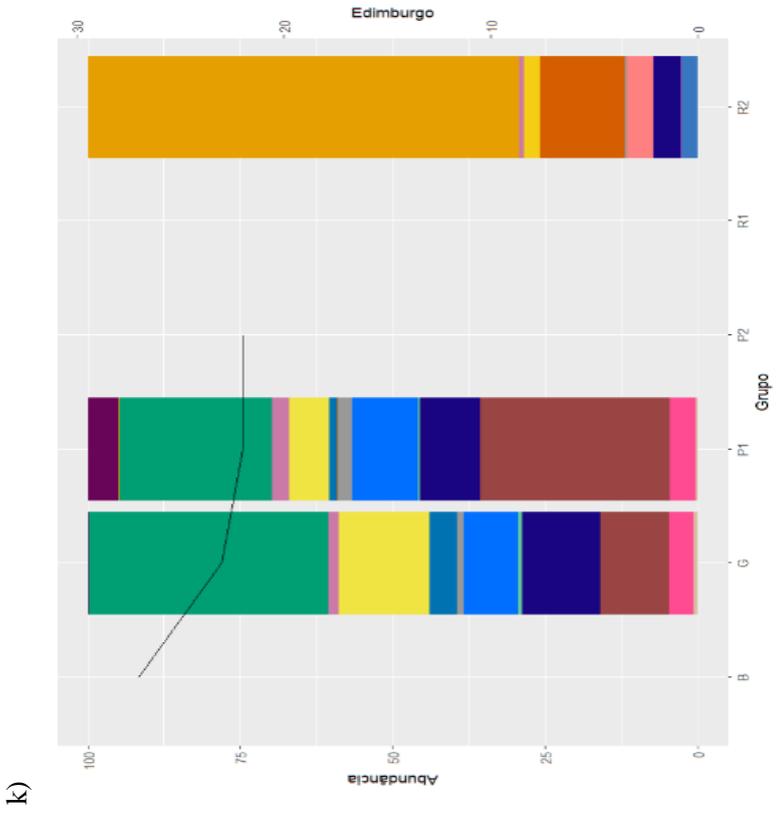
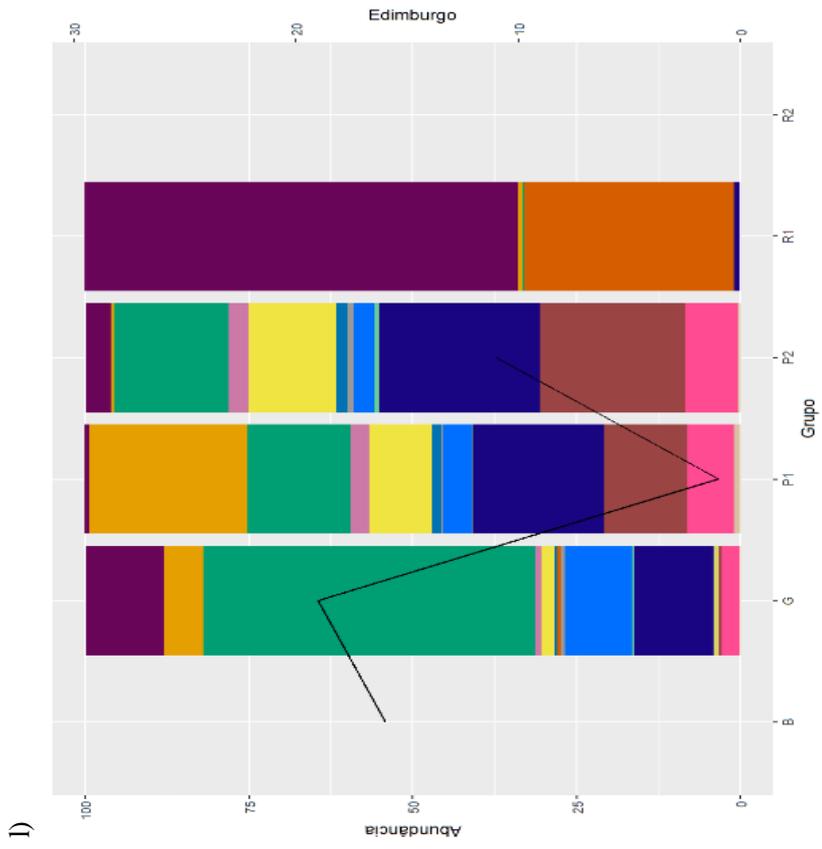
h)

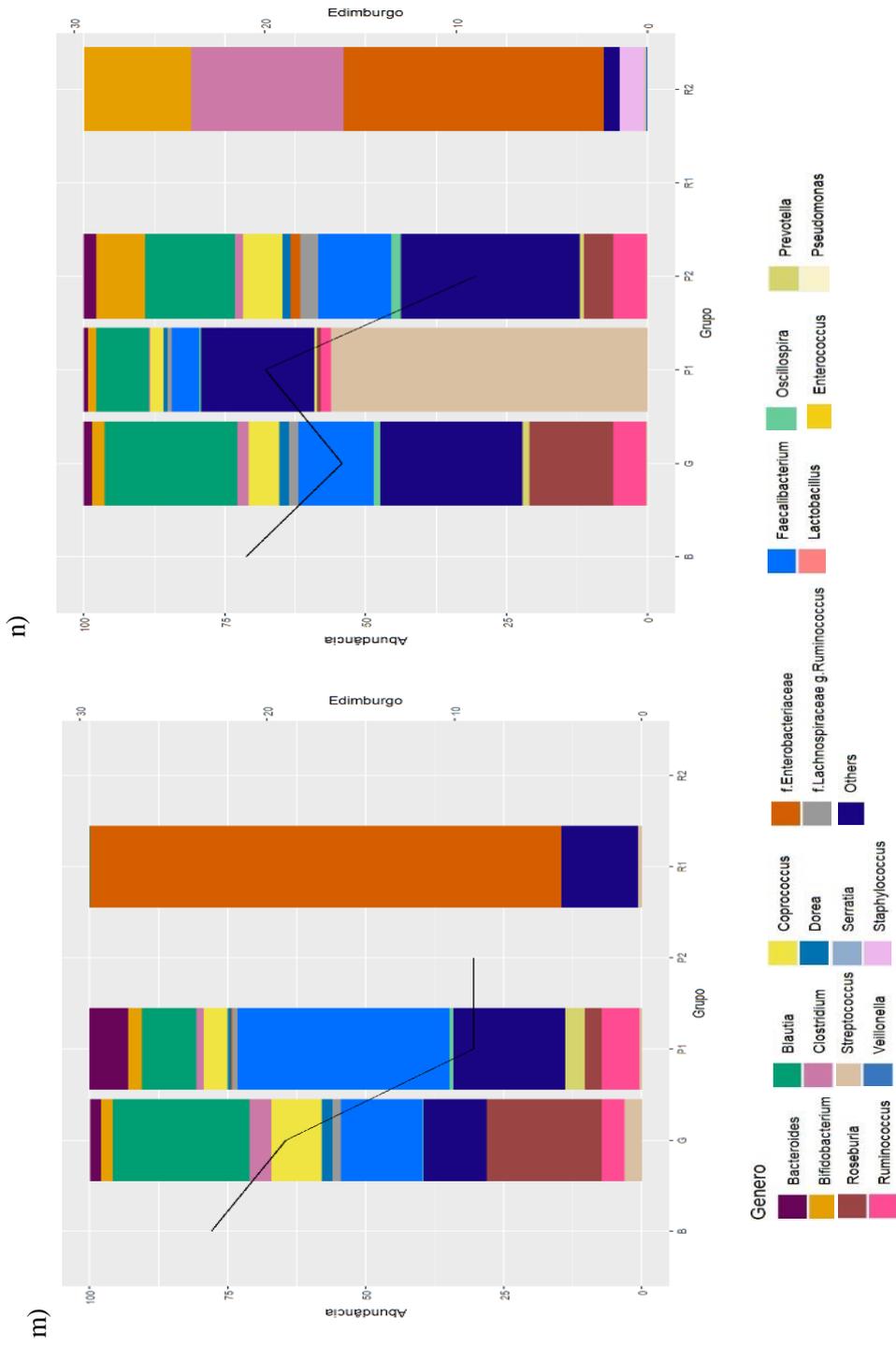


g)









7. DISCUSSÃO

A depressão durante a gestação e o pós-parto está presente em ao menos 20% da população mundial. Os riscos da falta de diagnóstico e tratamento podem gerar efeitos indesejáveis tanto no desenvolvimento do feto quanto nos desfechos obstétricos como partos prematuros e baixo peso. Além disso, em casos extremos, a depressão pode induzir tanto ao suicídio materno quanto ao infanticídio. Portanto, o rastreio, acompanhamento e tratamento adequado tornam -se fundamentais no cuidado a saúde da mulher nessa fase de extrema vulnerabilidade e transformação (BERNABÉ et al., 2019; EDWARDS et al., 2017; FANG et al., 2023).

Dessa forma, durante este estudo, foram recrutadas gestantes do terceiro trimestre que faziam acompanhamento de pré-natal nos ambulatórios de obstetrícia do Hospital das Clínicas-FMUSP e no Hospital Universitário- USP. Para triagem de pacientes, foi utilizada a escala de Edimburgo que possui uma escala de pontuação que vai de 0 a 30 pontos. Essa escala possui um ponto de corte que pode variar dependendo da localidade. Neste estudo, foi aplicado o ponto de corte de valor ≥ 10 pontos, uma vez que esse é o ponto de corte mais recomendado e adotado em estudos brasileiros (EDIPOGLU; ASLAN, 2021; SANTOS et al. 2007). Portanto, participantes que obtiveram a pontuação igual ou acima de 10 pontos na escala foram designadas para o grupo de sintomas moderados ou graves (MG) e as demais para o grupo de sintomas ausentes ou leves (AL).

Dentre os fatores de risco para o desenvolvimento de uma depressão durante a gestação e puerpério encontram-se: mães solteiras, apresentação de pouco suporte social, multiparidade, baixa escolaridade, baixa renda ou desemprego, evento traumático nos últimos 12 meses, histórico psiquiátrico, e conflitos conjugais. Todas as nossas participantes do grupo MG se encaixavam em pelo menos três dos riscos acima citados (CAMACHO et al., 2006; KOSHCHAVTSEV; MUL'TANOVSKAYA; LORER, 2008; MAGALHÃES et al., 2021; TAKAHASHI; TAMAKOSHI, 2014).

Os resultados observacionais a partir do preenchimento de questionários de dados sociodemográficos, obstétricos e psiquiátricos, apontam para um perfil de pacientes que corrobora com o encontrado na literatura (MAGALHÃES et al., 2021). Segundo Alves *et al.* (2017) há uma tendência observada na sociedade de que as gestações estão acontecendo mais tardiamente na vida da mulher uma vez que a mesma busca por uma educação mais especializada e, portanto, posições profissionais melhores, esses fatores acabam por adiar a

gestação e isso corrobora com a média de idade de cerca de 30 -35 anos em ambos os grupos estudados.

Bennet et al. (2004) apontam que existe uma prevalência de depressão na gravidez que varia de acordo com o trimestre de gestação. Esse dado corrobora com o perfil de pacientes encontrado e recrutado para o grupo MG, uma vez que a primeira consulta psiquiátrica ocorria entre o final do segundo trimestre e início do terceiro. Um segundo dado relevante diz respeito ao histórico obstétrico das pacientes do grupo depressão. De acordo com Magalhães *et al.* (2021) pacientes multigestas apresentam maior chance de desenvolver depressão uma vez que quanto maior o número de filhos e mais avançada a idade reprodutiva da mulher, maior o risco do distúrbio psiquiátrico. Esse dado condiz com os achados do estudo que apresentou associação ($p < 0,001$) entre multigestas e o grupo MG em comparação com o grupo AL.

Conforme dados da literatura, pacientes com antecedentes psiquiátricos, em especial episódios depressivos prévios a gestação, apresentam cerca de 50% de chance de desenvolver depressão durante a gestação e o puerpério (HARTMANN; MENDOZA-SASSI; CESAR, 2017). Corroborando com essa informação, a associação entre histórico psiquiátrico prévio foi significativa ($p < 0,001$) onde 72,2% das pacientes do grupo MG já haviam apresentado ao menos um episódio de depressão anterior a gestação atual quando comparado com o grupo AL.

Tanto os dados sociodemográficos quanto os dados obstétricos e psiquiátricos, demonstram um perfil de paciente que pode ser identificado durante o próprio pré-natal. O Colégio Americano de Obstetrícia e Ginecologia recomenda o rastreamento de riscos para depressão como um dos componentes obrigatórios do pré-natal. Para isso, desde 2015, o manual “Saúde mental materna: Depressão e ansiedade no período perinatal” vem resumindo as recomendações para a melhor identificação dessas mulheres e seus sintomas pelos profissionais da saúde. Entre as várias recomendações, o uso de questionários auto aplicados é uma escolha de fácil interpretação e acesso em diversas línguas. Apesar de não ser um instrumento diagnóstico, o questionário de Escalas de Edimburgo possui cerca de 70% de sensibilidade e mais de 90% de especificidade e é capaz de ser usado tanto no período perinatal quanto no pós-parto, sendo um dos mais utilizados tanto em pesquisas quanto na clínica (FIGUEIRA et al., 2009; DE ANDRADE BOSKA; WISNIEWSKI; LENTSCK, 2016; KENDIG et al., 2017; ROJAS et al., 2023; RUBERTSSON et al., 2011).

A identificação precoce de sintomas depressivos logo no início da gestação pode impactar significativamente o prognóstico da paciente no pós-parto, como evidenciado na figura 11, no qual se observa a diminuição dos sintomas depressivos a partir do diagnóstico até o pós-parto. É importante ressaltar que, durante o acompanhamento das gestantes do grupo MG, todas receberam atenção psiquiátrica e obstétrica adequadas o que resultou na ausência do agravamento da doença durante o pós-parto. Isso corrobora com os dados da literatura que demonstram que, a depressão no pós-parto é antecedida pela depressão no perinatal e que o agravamento no pós-parto pode levar a riscos tanto para a mãe quanto para o bebê (BERNABÉ et al., 2019; RUBERTSSON et al., 2011).

O tratamento escolhido para pacientes diagnosticadas com depressão foram os antidepressivos pertencentes a classe dos inibidores seletivos de recaptção de serotonina (ISRS) devido aos poucos efeitos colaterais e baixa concentração encontrada no leite materno (MILGROM et al., 2015). O medicamento de referência no ambulatório das gestantes no IPq é a sertralina havendo mudança para fluoxetina ou outros antidepressivos apenas se a paciente já tiver histórico de uso com a medicação ou apresentar efeitos adversos. A relação entre os antidepressivos e a composição da microbiota já está começando a ser discutida, um exemplo disso foi o achado de Gao et al. (2023) que demonstrou um aumento na abundância relativa dos gêneros *Bifidobacterium*, *Blatiua* e *Coprococcus* apenas em pacientes responsivos ao tratamento com ISRS. No entanto, é importante entender se essa relação se estende para as demais classes de antidepressivos e de que forma acontece essa alteração na composição uma vez que a microbiota pode promover um ambiente para melhor absorção do medicamento, influenciar no metabolismo e na biodisponibilidade das medicações (Xu et al., 2023).

A gestação e o pós-parto são períodos caracterizados por uma série de mudanças na mulher. Desde alterações anatômicas e fisiológicas, como modificações hormonais, metabólicas, imunológicas e, até mesmo, mudanças psicológicas e sociológicas. A microbiota não está isenta dessas mudanças e possui alterações que podem afetar o feto através da interface materno-fetal e por meio de metabólitos microbianos que possam ultrapassar a barreira placentária. Além disso, a microbiota intestinal também é conhecida por sua relação com o sistema imunológico, responsável por promover a proteção do hospedeiro contra bactérias patogênicas e a produção de produtos inflamatórios e anti-inflamatórios (ANTONSON, 2023; GALLEY et al., 2023; KOREN et al., 2013; LONG et al., 2023; URBONAITE et al., 2022).

Durante o terceiro trimestre de gestação, há um aumento na diversidade e uma redução na riqueza dessa microbiota e um aumento na abundância relativa dos filos Proteobacteria e Actinobacteria (SMID et al., 2018; SPARVOLI et al., 2020; TADDEI et al., 2018). Apesar das gestantes desse estudo apresentarem um aparente aumento dos filos Proteobacteria e Actinobacteria, não conseguimos estabelecer uma diferença estatística entre os filos presentes nos grupos AL e MG e nem nos índices de diversidade entre os grupos. Esse fato pode ser

explicado pelo número reduzido de participantes em cada grupo, o que diminui a força estatística dos dados, ou que, para esse grupo de gestantes aqui acompanhadas, as mudanças da microbiota durante a gestação são independentemente do estado psiquiátrico da mulher.

O mesmo período é caracterizado por mudanças na via metabólica do triptofano alterando as proteínas responsáveis por suprimir a rejeição fetal. Essa mesma via, é utilizada por componentes da microbiota como o gênero *Bifidobacterium* que se destacou no estudo por seu aparente aumento da abundância relativa no Grupo MG ao longo do tempo e tratamento (Figura 13). Além disso, como observado na Tabela 2 e Figura 2, o grupo AL possui uma média de abundância relativa desse gênero maior quando comparado com o grupo MG o que indica que pode existir uma tendência à correlação inversa entre os sintomas depressivos e a concentração de *Bifidobacterium* nas participantes do estudo ainda que não se possa estabelecer significância estatística.

O aumento do gênero *Bifidobacterium* e, conseqüentemente do filo Actinobacteria, pode ser visto na Figura 15. Nota-se uma tendência ao aumento da abundância do filo e do gênero no decorrer do período de forma progressiva nas participantes do grupo MG. Huang et al. (2019) também verificaram o aumento do filo Actinobacteria após tratamento com cetamina em animais submetidos a modelos de depressão e sugeriram que o filo possa ser um possível biomarcador de eficácia do tratamento antidepressivo. Apesar de ainda não se ter conhecimento dos mecanismos por trás dessas hipóteses, se sabe que um dos gêneros mais abundantes dentro do filo Actinobacteria é o próprio gênero *Bifidobacterium* que é conhecido pela produção de acetato, um dos ácidos graxos de cadeia curta que também foram identificados como uns metabólitos possivelmente aumentados na Figura 17 e que possui uma provável correlação inversa com a intensidade de sintomas depressivos (Figura 5). Sabe-se que algumas espécies do gênero *Bifidobacterium* juntamente com o acetato estão relacionados a síntese de 5-HT por meio da modulação de células enterocromoafins, aumento dos níveis de BDNF, diminuição dos níveis de cortisol e influência no amadurecimento da micróglia através de regulação gênica (ENGEVIK et al., 2021; TIAN et al., 2019; YE et al., 2021). Apesar disso, não encontramos nenhuma correlação significativa entre as concentrações de acetato e o gênero *Bifidobacterium* em nosso estudo assim como não encontramos diferenças estatísticas quanto a concentração outros AGCC entre os grupos AL e MG e ao longo do tempo de tratamento no grupo MG. O que sugere que esse aparente aumento de *Bifidobacterium* ($p=0.06$) não é refletido na produção de AGCC e que o aparente aumento de AGCC na correlação com a diminuição de sintomas depressivos possa estar envolvendo outros gêneros e outras vias que possam compor o eixo cérebro-intestino.

A conexão entre cérebro-intestino parece estar associada a quadros psiquiátricos como Alzheimer, esquizofrenia e depressão (MORAIS; SCHREIBER; MAZMANIAN, 2021; ZHUANG et al., 2020). Da mesma forma, o período gestacional de pacientes diagnosticadas com depressão pode estar relacionado a um desequilíbrio desse eixo através de uma possível disbiose na microbiota intestinal (KAPOURCHALI; CRESCI, 2020). O desequilíbrio entre gêneros comensais e patobiontes pode ser achada em gestantes acometidas com diabetes, obesidade e depressão (NIKOLOVA et al., 2021; TADDEI et al., 2018). Dentro desse aspecto, podemos observar um aumento da família Enterobacteriaceae nas participantes do grupo MG, sendo significativamente diferente em relação ao grupo AL no puerpério imediato (P1). O achado é corroborado por estudos que também verificaram o aumento da família Enterobacteriaceae em modelos animais de depressão e em pacientes com o diagnóstico (FANG et al., 2023; HUANG et al., 2019; LIU et al., 2022).

A família Enterobacteriaceae habita normalmente no intestino, no entanto, sua proliferação aumenta em estados inflamatórios. Composta por bactérias gram-negativas e com potencial disbiótico, essas bactérias podem se transloucar para os sistemas circulatório e linfático, promovendo um aumento da resposta imunológica e liberação de citocinas inflamatórias que podem atravessar a barreira hematoencefálica e gerar neuroinflamação, estado comum em pacientes com depressão (JIANG et al., 2015; MENEZES-GARCIA et al., 2020). Durante o período do estudo, foi possível a observação da aparente diminuição da abundância dessa família entre os períodos do pós-parto no grupo MG (figura 12). Interessantemente, da mesma forma progressiva que pode ser observada o aumento do gênero *Bifidobacterium*. Isso se dá, muito provavelmente, por conta da produção de acetato pelo *Bifidobacterium*. Esse ácido graxo de cadeia curta é essencial para a proteção contra bactérias patogênicas como *Escherichia-Shigella*, gênero pertencente à família Enterobacteriaceae, que se encontra significativamente aumentada no grupo MG no período P1 observado na Tabela 3 (BINDA et al., 2018; FUNG et al., 2019; TIAN et al., 2019). Toda essa interação pode ser observada nas Figuras 14 e 18.

Já ao que corresponde aos índices de diversidade entre os grupos, a literatura não apresenta um consenso quanto as alterações relacionadas a depressão, no entanto, podemos observar que em sua maioria, não há grandes mudanças entre o grupo AL e MG. Liu et al. (2022) observaram que mais da metade dos estudos envolvendo microbiota e depressão não possuíam diferença significativa entre os grupos quanto a alfa diversidade o que corrobora com os resultados observados nas Figuras 3 e 6.

Apesar de não encontrarmos outras diferenças estatísticas entre os grupos e nem ao longo do tempo, podemos acompanhar e observar as modulações na microbiota da mulher diagnosticada com depressão e tratada com antidepressivos entre os períodos perinatal e pós-parto assim como os primeiros colonizadores da microbiota intestinal de seus lactentes no pós-parto imediato e 1 mês após o parto (Figura 16). Sha et al.(2022) já haviam utilizado a escala de Edimburgo como medidor de sintomas depressivos em gestantes e puérperas, demonstrando que citocinas inflamatórias e metabolitos do triptofano, encontrados em amostras de sangue, podiam estar correlacionados com a predição desses sintomas e de sua intensidade. A presença de citocinas inflamatórias também pode ser encontrada em pacientes gestantes com uma microbiota de perfil disbiótico no qual pode-se encontrar uma diminuição de *Bifidobacterium* e *Faecalibacterium* e aumento de *Escherichia*, *Enterobacteria*, *Bacteroides* (KAPOURCHALI; CRESCI, 2020; TADDEI et al., 2018; URBONAITE et al., 2022), o que é visto nas pacientes do grupo MG neste estudo. A disbiose é conhecida por ser responsável por perturbações no sistema imunológico uma vez que os metabólitos dessas bactérias patobiontes podem estimular a resposta imunológica da lâmina própria através da passagem pela barreira intestinal que, em níveis de grande estresse e de diminuição produção de AGCC podem levar sua maior permeabilidade. Pacientes diagnosticadas com depressão possuem um quadro de estresse caracterizado pelo aumento do nível de cortisol na corrente sanguínea e exibem uma diminuição de produção de AGCC (Wu et al., 2020). Além disso, a depressão também é conhecida como um quadro neuroinflamatório com a apresentação de altas concentrações de citocinas inflamatórias que podem estar presentes na circulação tanto materna quanto fetal e são capazes de induzir mudanças epigenéticas no feto e provocar distúrbios no seu neurodesenvolvimento (KRATIMENOS; PENN, 2019). A presença de bactérias capazes de gerar respostas inflamatórias aparece relativamente aumentada nas pacientes do grupo MG quando comparadas com as pacientes do grupo AL. Esse perfil acaba se modificando com o decorrer do tratamento psiquiátrico dessas pacientes e a melhora de seus sintomas depressivos. O aumento aparente do gênero *Clostridium* e a diminuição dos gêneros *Oscillospira* e *Prevotella* podem estar associados ao aumento de produção de AGCC, que são naturalmente antiinflamatórios e a diminuição de citocinas inflamatórias. Isso também corresponde com a melhora dos sintomas depressivos visto nos gráficos da Figura 18.

No geral, as pacientes do grupo MG apresentaram uma melhora significativa do quadro depressivo no período do tratamento juntamente com uma aparente modulação da microbiota a favor de gêneros já associados na literatura a melhora do quadro depressivo.

A microbiota dos bebês acompanhados nesse estudo mostrou um aumento de abundância de *Bifidobacterium* entre a amostra do terceiro dia de vida e a amostra de um mês de vida. Esse fato pode ser explicado pela amamentação do bebê durante o período com leite materno. *Bifidobacterium* é o principal gênero da microbiota do bebê que metaboliza os oligossacarídeos do leite materno (ZIMMERMANN; CURTIS, 2020). O aumento da abundância deste gênero no bebê amamentado já foi demonstrado anteriormente em coortes brasileiras (CORTEZ et al., 2021), e os nossos dados sugerem que a doença psiquiátrica materna não interfere no aumento da abundância deste gênero, favorecido pelo leite materno. Observamos que houve uma significância estatística na forma de parto entre os grupos, no qual as pacientes do grupo MG, em sua maioria, tiveram parto cesáreo. Isso acabou refletindo na composição microbiota de seus lactentes que obtiveram um predomínio de bactérias como *Staphylococcus*, *Enterococcus* e *Streptococcus*, já relacionados anteriormente com o parto cesáreo (STOKHOLM et al., 2016).

Das limitações que ocorreram durante a elaboração do estudo podemos destacar o número participantes e, conseqüentemente, de amostras coletadas. Além de desistências e exclusões comuns de todo estudo científico, a pandemia de Sars-Cov2 acabou impossibilitou a entrega de amostras além de prejudicar a triagem de participantes do grupo AL, uma vez que não houve permissão do Hospital Universitário para a continuação de pesquisas durante este período. Além disso, a troca de acompanhamento no pré-natal, e a mudança para a UBS após o parto, fizeram com que o grupo AL perdesse mais da metade de suas participantes. Além disso, o acompanhamento do ganho de peso da gestante e a mudança de IMC foi perdido durante o acompanhamento uma vez que a maioria das pacientes do estudo acabavam não reveleando o peso para a pesquisa e a grande quantidade de desistências e abandonos condizem com o que é comum em trabalhos com gestantes e puérperas.

Apesar de todas as dificuldades, o estudo foi capaz de demonstrar a dificuldade de diagnóstico e tratamento da gestante com sintomas depressivos além de observar e descrever a composição da microbiota dessas gestantes e de seus lactentes. Não encontramos nenhum estudo de caracterização da microbiota que acompanhasse essa população até o pós-parto sendo este, portanto, o primeiro trabalho a fazê-lo.

8. CONCLUSÃO

- Os sintomas depressivos refletidos em sua intensidade na escala de Edimburgo, sofrem variações ao longo do tratamento das pacientes do grupo MG, e essas variações parecem ser refletidas na microbiota dessas pacientes.

- Pacientes dos grupos MG apresentaram um aumento significativo da abundância relativa maior da família Enterobacteriaceae nas amostras do perinatal, sugerindo que pode haver uma ligação entre a microbiota e a depressão reforçando a teoria de que pacientes com esse diagnóstico tendem a ter disbiose.

- A presença de bactérias capazes de gerar respostas inflamatórias como as presentes na família Enterobacteriaceae aparece relativamente aumentada nas pacientes do grupo MG quando comparadas com as pacientes do grupo AL. Esse perfil acaba se modificando com o decorrer do tratamento psiquiátrico dessas pacientes e a melhora de seus sintomas depressivos pode ser relacionada com alterações da microbiota das pacientes do grupo MG ao longo do estudo.

- A concentração de ácidos graxos de cadeia curta parece se correlacionar de maneira inversa com a intensidade de sintomas depressivos, apesar de não possuir significância estatística, nota-se a tendência de diminuição de acetato, propionato e butirato em participantes do grupo MG.

- A microbiota dos lactantes refletiu os efeitos da amamentação no primeiro mês de vida, mostrando que esse efeito é independente da doença psiquiátrica da mãe.

- Houve uma diminuição significativa de sintomas depressivos desde sua primeira consulta até a consulta do período P2, evidenciando a importância da inclusão do Edimburgo no Pré Natal.

REFERÊNCIAS

AGAMPODI, S. B.; AGAMPODI, T. C. Antenatal Depression in Anuradhapura, Sri Lanka and the Factor Structure of the Sinhalese Version of Edinburgh Post Partum Depression Scale among Pregnant Women. **PLoS ONE**, v. 8, n. 7, 26 jul. 2013.

AGUS, A.; PLANCHAIS, J.; SOKOL, H. Gut Microbiota Regulation of Tryptophan Metabolism in Health and Disease. **Cell Host and Microbe**, v. 23(6):716-724. 13 jun. 2018.

ANTONSON, A. M. Prenatal programming of the brain: The maternal-fetal interface takes center stage. **Brain, Behavior, and Immunity**, v.109:219-220 1 mar. 2023.

BELL, C.; ABRAMS, J.; NUTT, D. Tryptophan depletion and its implications for psychiatry. **British Journal of Psychiatry**, v.178:399-405. 2001.

BENNETT, H. A. et al. Prevalence of depression during pregnancy: Systematic review. **Obstetrics and Gynecology**, v.103(4):698-709 abr. 2004.

BERNABÉ, B. P. et al. Improving Mental Health for the Mother-Infant Dyad by Nutrition and the Maternal Gut Microbiome. **Gastroenterology Clinics of North America**, v.48(3):433-445. 1 set. 2019.

BINDA, C. et al. Actinobacteria: A relevant minority for the maintenance of gut homeostasis. **Digestive and Liver Disease**, v. 50(5):421-428 1 maio 2018.

BONAZ, B.; BAZIN, T.; PELLISSIER, S. The vagus nerve at the interface of the microbiota-gut-brain axis. *Frontiers in Neuroscience*. **Frontiers in Neuroscience**, v. 7:12:49.7 fev. 2018.

BRAVO, J. A. et al. Ingestion of Lactobacillus strain regulates emotional behavior and central GABA receptor expression in a mouse via the vagus nerve. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 108, n. 38, p. 16050–16055, 20 out. 2011.

BREIT, S. et al. Vagus nerve as modulator of the brain-gut axis in psychiatric and inflammatory disorders. **Frontiers in Psychiatry**, v. 13:9:44. 13 mar. 2018.

BURGER, H. et al. Effects of psychological treatment of mental health problems in pregnant women to protect their offspring: Randomised controlled trial. **British Journal of**

Psychiatry, v. 216, n. 4, p. 182–188, 1 abr. 2020.

CARABOTTI, M. et al. The gut-brain axis: interactions between enteric microbiota, central and enteric nervous systems. **Annals of Gastroenterology**. v 28(2):203-209. 2015.

CAROSIO, A. A. Transtornos mentais em mulheres no período gestacional: uma revisão de literatura. **Revista Interciência-IMES.Catanduva**, v.1, n.6, 86:94.2021.

CHORWE-SUNGANI, G.; CHIPPS, J. A systematic review of screening instruments for depression for use in antenatal services in low resource settings. **BMC Psychiatry**, v. 17, n. 1, 24 mar. 2017.

CORTEZ, R. V. et al. Impact of oropharyngeal administration of colostrum in preterm newborns' oral microbiome. **Nutrients**, v. 13, n. 12, 1 dez. 2021.

DAWSON, S. L. et al. Maternal prenatal gut microbiota composition predicts child behaviour. **EBioMedicine**, v. 68, 1 jun. 2021.

DE ANDRADE BOSKA, G.; WISNIEWSKI, D.; LENTSCK, M. H. Sintomas depressivos no período puerperal: identificação pela escala de depressão pós-parto de Edinburg. *Journal of Nursing and Health*, v.1(1),38:50.2016.

DE LA FUENTE-NUNEZ, C. et al. Neuromicrobiology: How Microbes Influence the Brain. **ACS Chemical Neuroscience**, v. 9(2):141-150.21 fev. 2018.

DEAN, J.; KESHAVAN, M. The neurobiology of depression: An integrated view. **Asian Journal of Psychiatry**, v. 27:101-111. 1 jun. 2017.

DINAN, T. G.; CRYAN, J. F. The impact of gut microbiota on brain and behaviour: Implications for psychiatry. **Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care**, v. 18(6):552-8. 9 out. 2015.

DINAN, T. G.; STANTON, C.; CRYAN, J. F. Psychobiotics: A novel class of psychotropic. **Biological Psychiatry**, v.74(10):720-6.15 nov. 2013.

DUKIĆ, M., RADONJIĆ, T., JOVANOVIĆ, I., ZDRAVKOVIĆ, M., TODOROVIĆ, Z., KRAIŠNIK, N., ARANĐELOVIĆ, B., MANDIĆ, O., POPADIĆ, V., NIKOLIĆ, N., KLAŠNJA, S., MANOJLOVIĆ, A., DIVAC, A., GAČIĆ, J., BRAJKOVIĆ, M., OPRIC, S., POPOVIĆ, M., & BRANKOVIĆ, M. Alcohol, Inflammation, and Microbiota in Alcoholic Liver Disease. **International Journal of Molecular Sciences**, v.24, n. 3735, issue 4, p.1-13,

2023.

EDIPOGLU, I. S.; ASLAN, D. D. Association of postpartum depression and epidural analgesia in women during labor: an observational study. **Brazilian Journal of Anesthesiology (English Edition)**, v. 71, n. 3, p. 208–213, 1 maio 2021.

EDWARDS, S. M. et al. The Maternal Gut Microbiome during Pregnancy. **MCN The American Journal of Maternal/Child Nursing**, v. 42, n. 6, p. 310–316, 2017.

ENGEVIK, M. A. et al. Human-Derived Bifidobacterium dentium Modulates the Mammalian Serotonergic System and Gut–Brain Axis. **CMGH**, v. 11, n. 1, p. 221–248, 1 jan. 2021.

EVRENSEL, A.; CEYLAN, M. E. The gut-brain axis: The missing link in depression. **Clinical Psychopharmacology and Neuroscience**, v. 13(3):239-44. 1 dez. 2015.

FANG, Q. et al. Inflammatory cytokines and prenatal depression: Is there a mediating role of maternal gut microbiota? **Journal of Psychiatric Research**, v. 164, p. 458–467, 1 ago. 2023.

FARZI, A.; FRÖHLICH, E. E.; HOLZER, P. Gut Microbiota and the Neuroendocrine System. **Neurotherapeutics**, v. 15(1):5-22 .1 jan. 2018.

FIGUEIRA, P., CORRÊA, H.; MALLOY-DINIZ, L.; ROMANO-SILVA, M. A. Escala de Depressão Pós-natal de Edimburgo para triagem no sistema público de saúde. **Rev Saúde Pública**, v.43(suppl1), 79:84. 2009.

FLOWERS, S. A.; ELLINGROD, V. L. The Microbiome in Mental Health: Potential Contribution of Gut Microbiota in Disease and Pharmacotherapy Management. **Pharmacotherapy**, v. 35(10):910-6. 1 out. 2015.

FOSTER, J. A.; MCVEY NEUFELD, K. A. Gut-brain axis: How the microbiome influences anxiety and depression. **Trends in Neurosciences**, v. 36(5):305-12. maio 2013.

FUNG, T. C. et al. Intestinal serotonin and fluoxetine exposure modulate bacterial colonization in the gut. **Nature Microbiology**, v. 4(12):2064-2073 .1 dez. 2019.

GALLEY, J. D. et al. Maternal anxiety, depression and stress affects offspring gut microbiome diversity and bifidobacterial abundances. **Brain, Behavior, and Immunity**, v. 107, p. 253– 264, 1 jan. 2023.

GAO, M., TU, H., LIU, P., ZHANG, Y., ZHANG, R., JING, L., & ZHANG, K. Association analysis of gut microbiota and efficacy of SSRIs antidepressants in patients with major depressive disorder. **Journal of Affective Disorders**, v.330, 40–47.2023.

HAN, V. X. et al. Maternal immune activation and neuroinflammation in human neurodevelopmental disorders. **Nature Reviews Neurology**, v. 17(9):564-579. 1 set. 2021.

HARTMANN, J. M.; MENDOZA-SASSI, R. A.; CESAR, J. A. Postpartum depression:

Prevalence and associated factors. **Cadernos de Saude Publica**, v.33(9):e00094016. 2017.

HU, J. et al. Microbiota of newborn meconium is associated with maternal anxiety experienced during pregnancy. **Developmental Psychobiology**, v. 61(5):640-649. 1 jul. 2019.

HUANG, T. T. et al. Current understanding of gut microbiota in mood disorders: An update of human studies. **Frontiers in Genetics**, v. 10, n. FEB, 2019.

JIANG, H. et al. Altered fecal microbiota composition in patients with major depressive disorder. **Brain, Behavior, and Immunity**, v. 48, p. 186–194, 2015.

KAPOURCHALI, F. R.; CRESCI, G. A. M. Early-Life Gut Microbiome—The Importance of Maternal and Infant Factors in Its Establishment. **Nutrition in Clinical Practice**, v. 35(3):386-405. 1 jun. 2020.

KELSEY, C. M. et al. Gut microbiota composition is associated with newborn functional brain connectivity and behavioral temperament. **Brain, Behavior, and Immunity**, v. 91, p. 472–486, 1 jan. 2021.

KENDIG, S. et al. Consensus bundle on maternal mental health perinatal depression and anxiety. **Obstetrics and Gynecology**, v. 129, n. 3, p. 422–430, 2017.

KIM, N. et al. Mind-altering with the gut: Modulation of the gut-brain axis with probiotics. **Journal of Microbiology**, v. 56(3):172-182.1 mar. 2018.

KOREN, O. et al. A Guide to Enterotypes across the Human Body: Meta-Analysis of Microbial Community Structures in Human Microbiome Datasets. **PLoS Computational Biology**, v. 9, n. 1, 2013.

KOSHCHAVTSEV, A. G.; MUL'TANOVSKAYA, V. N.; LORER, V. V. Baby Blues

Syndrome as an Adaptation Disorder in the Early Stages of Formation of the Mother-Child System. **Neuroscience and Behavioral Physiology**, v. 38(4):439-42.2008.

KRATIMENOS, P.; PENN, A. A. Placental programming of neuropsychiatric disease. *Pediatric Research*. **Pediatric Research**, v. 86(2):157-164, 1 ago. 2019.

KWON, Y. H. et al. Modulation of Gut Microbiota Composition by Serotonin Signaling Influences Intestinal Immune Response and Susceptibility to Colitis. **CMGH**, v. 7, n. 4, p. 709–728, 1 jan. 2019.

LATALOVA, K.; HAJDA, M.; PRASKO, J. Can gut microbes play a role in Mental disorders and their treatment?. **Psychiatria Danubina**, v. 29(1):28-30.2017.

LIU, L. et al. Toward a Deeper Understanding of Gut Microbiome in Depression: The Promise of Clinical Applicability. **Advanced Science**, v. 9, n. 35, 19 dez. 2022.

LOBATO, G.; MORAES, C. L.; REICHENHEIM, M. E. Magnitude da depressão pós- parto no Brasil: uma revisão sistemática. **Rev. Bras. Saúde Matern. Infant**, v.11(4):369-379. 2011.

LOGSDON, A. F. et al. Gut reactions: How the blood–brain barrier connects the microbiome and the brain. **Experimental Biology and Medicine**, v. 243, n. 2, p. 159–165, 1 jan. 2018.

LONG, E. S. et al. The microbiota-gut-brain axis and perceived stress in the perinatal period.

Archives of Women's Mental Health, v. 26, n. 2, p. 227–234, 1 abr. 2023.

LOPES ARAÚJO, P. et al. Rastreamento da sintomatologia depressiva em mulheres grávidas do pré-natal de alto risco. **Rev Enferm**, v. 9(2):599-603. 2015.

MAGALHÃES, A. G. et al. Influência da paridade no desenvolvimento da depressão em mulheres brasileiras. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 4, p. e59910414516, 24 abr. 2021.

MEKY, H. K. et al. Prevalence of postpartum depression regarding mode of delivery: a cross- sectional study. **Journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine**, v. 33, n. 19, p. 3300– 3307, 1 out. 2020.

MENEZES-GARCIA, Z. et al. Colonization by Enterobacteriaceae is crucial for acute inflammatory responses in murine small intestine via regulation of corticosterone production. **Gut Microbes**, v. 11, n. 6, p. 1531–1546, 1 nov. 2020.

MESSAOUDI, M. et al. Assessment of psychotropic-like properties of a probiotic formulation (*Lactobacillus helveticus* R0052 and *Bifidobacterium longum* R0175) in rats and human subjects. **British Journal of Nutrition**, v. 105, n. 5, p. 755–764, 14 mar. 2011.

MILGROM, J. et al. Treatment of postnatal depression with cognitive behavioural therapy, sertraline and combination therapy: A randomised controlled trial. **Australian and New Zealand Journal of Psychiatry**, v. 49, n. 3, p. 236–245, 25 mar. 2015.

MIRPURI, J. Evidence for maternal diet-mediated effects on the offspring microbiome and immunity: implications for public health initiatives. **Pediatric Research**, v. 89(2):301-306.1 jan. 2021.

MORAIS, L. H.; SCHREIBER, H. L.; MAZMANIAN, S. K. The gut microbiota–brain axis in behaviour and brain disorders. **Nature Reviews Microbiology**, v. 19(4):241-255.1 abr. 2021.

NIKOLOVA, V. L. et al. Updated review and meta-analysis of probiotics for the treatment of clinical depression: Adjunctive vs. stand-alone treatment. **Journal of Clinical Medicine**, v. 10(4):647, 2 fev. 2021.

PARK, S. H.; KIM, J. I. Predictive validity of the Edinburgh postnatal depression scale and other tools for screening depression in pregnant and postpartum women: a systematic review and meta-analysis. **Archives of Gynecology and Obstetrics**, v. 307(5):1331-1345. 1 maio 2023.

PETROZZI, A.; GAGLIARDI, L. Anxious and depressive components of Edinburgh postnatal depression scale in maternal postpartum psychological problems. **Journal of Perinatal Medicine**, v. 41, n. 4, p. 343–348, jul. 2013.

RAHMAN, A. et al. Impact of Maternal Depression on Infant Nutritional Status and Illness A Cohort Study. **Archives of general Psychiatry**, v. 61(9):946-52.2004.

RANTALA, M. J. et al. Depression subtyping based on evolutionary psychiatry: Proximate mechanisms and ultimate functions. **Brain, Behavior, and Immunity**, v. 69:603-617. 1 mar. 2018.

ROJAS, L. et al. Long-term and trimester-specific effects of prenatal stress on the child gut microbiota. **Psychoneuroendocrinology**, v. 158, 1 dez. 2023.

RUBERTSSON, C. et al. The Swedish validation of Edinburgh Postnatal Depression Scale (EPDS) during pregnancy. **Nordic Journal of Psychiatry**, dez. 2011.

SANDERS, A.; RACKERS, H.; KIMMEL, M. A role for the microbiome in mother–infant interaction and perinatal depression. **International Review of Psychiatry** Taylor and Francis Ltd, , 3 abr. 2019.

SANTOS, I. S. et.al. Validation of the Edinburgh Postnatal Depression Scale (EPDS) in a sample of mothers from the 2004 Pelotas Birth Cohort Study. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 23, n.11, p. 2577–2588, nov 2007.

SELMA-ROYO, M. et al. Maternal microbiota, cortisol concentration, and post-partum weight recovery are dependent on mode of delivery. **Nutrients**, v. 12, n. 6, p. 1–20, 2020.

SHA, Q. et al. Cytokines and tryptophan metabolites can predict depressive symptoms in pregnancy. **Translational Psychiatry**, v. 12, n. 1, 1 dez. 2022.

SHARMA, R. et al. Psychobiotics: The Next-Generation Probiotics for the Brain. **Current Microbiology** , v.78(2):449-463. 1 fev. 2021.

SLYKERMAN, R. F. et al. Effect of Lactobacillus rhamnosus HN001 in Pregnancy on Postpartum Symptoms of Depression and Anxiety: A Randomised Double-blind Placebo- controlled Trial. **EBioMedicine**, v. 24, p. 159–165, 1 out. 2017.

SMID, M. C. et al. Maternal Gut Microbiome Biodiversity in Pregnancy. **American Journal of Perinatology**, v. 35, n. 1, p. 24–30, 1 jan. 2018.

SONMEZ, E. O. et al. Effect of maternal depression on brain-derived neurotrophic factor levels in fetal cord blood. **Clinical Psychopharmacology and Neuroscience**, v. 17, n. 2, p. 308–313, 1 maio 2019.

SPARVOLI, L. G. et al. Women’s multisite microbial modulation during pregnancy. **Microbial Pathogenesis**, v. 147, 1 out. 2020.

STEWART, D. E.; VIGOD, S. N. Annual Review of Medicine Postpartum Depression: Pathophysiology, Treatment, and Emerging Therapeutics. **Annu. Rev. Med.**

2019, v. 70, p. 183–196, 2019.

STILLING, R. M.; DINAN, T. G.; CRYAN, J. F. Microbial genes, brain & behaviour - epigenetic regulation of the gut-brain axis. **Genes, Brain and Behavior**, v. 13, n. 1, p. 69–86, jan. 2014.

STOKHOLM, J. et al. Cesarean section changes neonatal gut colonization. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 138, n. 3, p. 881- 889.e2, 1 set. 2016.

STRANDWITZ, P. Neurotransmitter modulation by the gut microbiota. **Brain Research**, v. 1693(Pt B):128-133.15 ago. 2018.

STRINGARIS, A. Editorial: What is depression? **Journal of Child Psychology and Psychiatry and Allied Disciplines**, v. 58(12):1287-1289 .1 dez. 2017.

TADDEI, C. R. et al. Microbiome in normal and pathological pregnancies: A literature overview. **American Journal of Reproductive Immunology**, v. 80(2):e12993. 1 ago. 2018.

TAKAHASHI, Y.; TAMAKOSHI, K. Factors associated with early postpartum maternity blues and depression tendency among japanese mothers with full-term healthy infants. **Nagoya J. Med. Sci.**, v.76(1-2):129-38.2014.

TIAN, P. et al. Bifidobacterium with the role of 5-hydroxytryptophan synthesis regulation alleviates the symptom of depression and related microbiota dysbiosis. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 66, p. 43–51, 1 abr. 2019.

TINCANI, A. et al. Pregnancy and autoimmunity: Maternal treatment and maternal disease influence on pregnancy outcome. **Autoimmunity Reviews**, v. 4(7):423-8. set. 2005.

TOLENTINO, J. C.; SCHMIDT, S. L. DSM-5 criteria and depression severity: Implications for clinical practice. **Frontiers in Psychiatry**, v. 9, n. OCT, 2 out. 2018.

URBONAITE, G. et al. The impact of maternal high-fat diet on offspring neurodevelopment. **Frontiers in Neuroscience**, v. 16:909762 .22 jul. 2022.

VALLES-COLOMER, M. et al. The neuroactive potential of the human gut microbiota in quality of life and depression. **Nature Microbiology**, v. 4, n. 4, p. 623–632, 1 abr. 2019.

VILLAS BOAS, G. R. et al. Molecular aspects of depression: A review from neurobiology to treatment. **European Journal of Pharmacology**, v. 851:99-121.15 maio 2019.

WAQAS, A. et al. Association between maternal depression and risk of infant diarrhea: a systematic review and meta-analysis. **Public Health**, v. 159:78-88 .1 jun. 2018.

WAQAS, A. et al. Screening programs for common maternal mental health disorders among

perinatal women: report of the systematic review of evidence. **BMC Psychiatry**, v. 22, n. 1, 1 dez. 2022.

WU, M., TIAN, T., MAO, Q., ZOU, T., ZHOU, C. JUAN, XIE, J., & CHEN, J. Associations

between disordered gut microbiota and changes of neurotransmitters and short-chain fatty acids

in depressed mice. **Translational Psychiatry**, 10(1). jun. (2020).

XU, F., XIE, Q., KUANG, W., & Dong, Z. Interactions Between Antidepressants and Intestinal Microbiota. **Neurotherapeutics**, 20(2), 359–371.2023

YE, L. et al. Enteroendocrine cells sense bacterial tryptophan catabolites to activate enteric and vagal neuronal pathways. **Cell Host and Microbe**, v. 29, n. 2, p. 179- 196.e9, 10 fev. 2021.

ZALAR, B.; HASLBERGER, A.; PETERLIN, B. THE ROLE OF MICROBIOTA IN

DEPRESSION - A BRIEF REVIEW. **Psychiatria Danubina**, v. 30, n. 2, p. 136–141, 19 jun. 2018.

ZHUANG, Z. et al. Associations between gut microbiota and Alzheimer’s disease, major depressive disorder, and schizophrenia. **Journal of Neuroinflammation**, v. 17, n. 1, 2 out. 2020.

ZIMMERMANN, P.; CURTIS, N. Breast milk microbiota: A review of the factors that influence composition. **Journal of Infection**, v. 81(1):17-47.1 jul. 2020.

ZORZO, R. A. Impacto do microbioma intestinal no Eixo Cérebro-Intestino. **International Journal of Nutrology**, a.10, n.1, p.298S-305S.mar 2017.

APÊNDICE

Apêndice I – Aprovação do Comitê de ética

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Elaborado pela Instituição Coparticipante

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Caracterização da microbiota do leite e evolução da microbiota fecal de mulheres diagnosticadas com depressão durante os períodos pré-natal e puerpérios e de seus lactentes

Pesquisador: Carla Taddei de Castro

Neves **Área Temática:**

Versão: 1

CAAE: 22725119.1.3003.0076

Instituição Proponente: Hospital Universitário da Universidade de São Paulo

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.499.533

Apresentação do Projeto:

Entre as justificativas apresentadas pelas pesquisadoras estão as seguintes: 1º A depressão e a depressão pós-parto (DPP) são as complicações mais comuns e ao mesmo tempo mais sub diagnosticadas que ocorrem durante o período perinatal e puerpério respectivamente. 2º Recentemente, foi observado que a microbiota intestinal está ligada a doenças psiquiátricas como a depressão, possivelmente pela comunicação entre a microbiota e o eixo cérebro - intestino. O presente trabalho tem como objetivo caracterizar a microbiota fecal e do leite de pacientes diagnosticadas com depressão em diferentes graus nos períodos perinatal e puerpério e analisar a evolução da microbiota fecal dos bebês através do consumo de leite materno.

Apresenta critérios de exclusão muito claros: - Pacientes com idade inferior a 18 anos e superior a 45 anos, -Pacientes com certas doenças que já foram relacionadas com alteração da microbiota intestinal, a saber: Diabetes Mellitus, infecções agudas ou crônicas. - Interrupção do aleitamento materno, - Pacientes com parto prematuro (< 37 semanas), - Diagnóstico de malformação fetal grave. Também não serão incluídos nesse estudo, um grupo de bebês submetidos ao uso restrito de fórmulas infantis.

Objetivo da Pesquisa:

O presente estudo tem como objetivo geral caracterizar a microbiota fecal e o leite materno tanto

de grávidas e puérperas diagnosticadas com depressão, assim como a caracterização e evolução da microbiota fecal do bebê nos primeiros meses de vida e comparação com pacientes sem o diagnóstico. De maneira mais específica elencamos:- Avaliar a composição da microbiota fecal das grávidas e puérperas diagnosticadas com depressão, por sequenciamento do gene 16S rRNA. - Avaliar o estabelecimento da microbiota fecal durante os primeiros meses de vida, em bebês de mães diagnosticadas com depressão pós -parto, por sequenciamento do gene 16S rRNA. - Caracterizar a composição da microbiota do leite de mães diagnosticadas com depressão pós-parto.

- Quantificar e comparar os ácidos graxos de cadeia curta e produtos intermediários (butirato, propionato e lactato) nas amostras fecais. - Comparar os resultados frente aos diferentes grupos incluídos no trabalho. Pretende-se um N de 160 participantes, à saber:- 40 pacientes diagnosticadas com depressão. - 40 pacientes diagnosticadas sem depressão. - 40 bebês de pacientes diagnosticadas com depressão. - 40 bebês de pacientes diagnosticadas sem depressão.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Os riscos de participação são muito baixos, e não se espera um benefício específico para as participantes, mas acredita-se que o conhecimento gerado auxiliará na condução futura de pacientes.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Equipe envolvida: -Pesquisador Executante: Amanda Sodré Mota (Doutoranda) Pesquisador Responsável: Profa. Dra. Carla Taddei de Castro Neves (Orientadora) Pesquisadores Colaboradores: Marco Aurélio Knippel Galletta (Departamento de Obstetrícia e Ginecologia da FMUSP) Hermano Tavares

(Departamento de Psiquiatria da FMUSP) Vera Lúcia Carvalho Tess (Instituto de Psiquiatria do Hospital das Clínicas da FMUSP)

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

As pacientes receberão informações detalhadas por escrito quanto à natureza, objetivos, procedimentos, riscos e relevância do estudo e, se de acordo, assinarão um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).O mesmo está em conformidade com as normas em vigência.

Recomendações:

Não existem recomendações para o projeto em tela.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não foram encontradas nem pendências ou inadequações neste projeto.

Considerações Finais a critério do CEP:

O projeto foi apresentado e aprovado na reunião de hoje. Lembramos que cabe ao pesquisador elaborar e apresentar a este Comitê, relatórios parciais e final, de acordo com a Resolução nº 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde, inciso XI.2, letra “d”.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Outros	CadastroHU_Pesq_CaracterizacaoMicrobiota.pdf	09/12/2020 11:41:21	Wilma Monteiro Frésca	Aceito
Outros	AnuenciaSLC.pdf	17/11/2020 19:08:09	Carla Taddei de Castro Neves	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLEHU.pdf	17/11/2020 19:07:16	Carla Taddei de Castro Neves	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto.pdf	16/01/2020 19:04:31	Carla Taddei de Castro Neves	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.pdf	16/01/2020 19:04:13	Carla Taddei de Castro Neves	Aceito
Outros	CartaCEPFCF Amanda.pdf	16/01/2020 10:56:54	Carla Taddei de Castro	Aceito

			Neves	
Outros	Escala_de_Edimburgo.docx	03/10/2019 13:07:00	Carla Taddei de Castro Neves	Aceito
Outros	QFCA.docx	03/10/2019 13:06:16	Carla Taddei de Castro Neves	Aceito
Outros	Equipe.doc	03/10/2019 13:05:43	Carla Taddei de Castro Neves	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Página 03 de

SAO PAULO, 15 de Janeiro de 2021

Assinado por:
Mauricio Seckler
(Coordenador(a))

Apêndice II- Termo de Consentimento livre e Esclarecido- HCFMUSP

PROJETO: “Caracterização da microbiota do leite e evolução da microbiota fecal de mulheres diagnosticadas com depressão durante os períodos perinatal e puerpério e de seus lactentes”

1. Informações do Participante da Pesquisa

Nome:		
Documento de Identidade (tipo):	Nº.:	Sexo: () M () F
Local de Nascimento:	Data de Nascimento: / /	
Endereço:	Nº.:	
Complementos:	Bairro:	
Cidade:	Estado:	
CEP:	Telefones:	

2. Informações do Responsável Legal

Nome:		
Documento de Identidade (tipo):	Nº.:	Sexo: () M () F
Local de Nascimento:	Data de Nascimento: / /	
Endereço:	Nº.:	
Complementos:	Bairro:	
Cidade:	Estado:	
CEP:	Telefones:	

3. Título do Projeto de Pesquisa

“Caracterização da microbiota do leite e evolução da microbiota fecal de mulheres diagnosticadas com depressão durante os períodos perinatal e puerpério e de seus lactentes”

4. Duração da Pesquisa

04 anos

5. Nome do Pesquisador Responsável

Carla Taddei de Castro Neves

Cargo/ Função: Pesquisadora	Nº de registro do Conselho Regional:
-----------------------------	--------------------------------------

6. Instituição/Instituições

Universidade de São Paulo – Faculdade de Ciências Farmacêuticas Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de São Paulo – Instituto de Psiquiatria

A senhora está sendo convidada para fazer parte do projeto de pesquisa intitulado “Caracterização da microbiota do leite e evolução da microbiota fecal de mulheres diagnosticadas com depressão durante os períodos perinatal e puerpério e de seus lactentes” cuja principal investigadora é a Dra. Carla Taddei da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP. Esse projeto tem como colaboradores os médicos Dr Hermano Tavares, Dra Vera Tess e o Dr Marco Aurélio Knippel Galleta atuantes no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP, onde ocorrerão as coletas de amostras.

O objetivo deste estudo é analisar a composição da microbiota, isto é, a composição de bactérias nas fezes e no leite de pacientes diagnosticadas com depressão, nos períodos da gravidez e no pós-parto e analisar a evolução da composição destas bactérias nas fezes dos bebês através do consumo de leite materno. A depressão é uma doença debilitante que pode aparecer tanto no período gestacional quanto no período pós-parto e as consequências dessa complicação podem afetar não só a mãe como também seu bebê. O estudo da microbiota de pacientes nesta condição poderá auxiliar na investigação do papel da destas bactérias na depressão. Caso concorde, você precisará coletar amostras de fezes e trazer na consulta já agendada. A primeira coleta a acontecer logo após a primeira consulta e a segunda na última consulta antes do parto. Você receberá todas as instruções de como e quando coletar as fezes, além de como proceder para trazer as fezes até o ambulatório. Na consulta do pós-parto, pediremos para coletar fezes do seu bebê diretamente das fraldas, sem a necessidade de incomodar seu bebê. Pediremos também uma pequena quantidade de leite a ser tirada pela senhora no momento da consulta e que você colete fezes suas e traga na próxima consulta agendada. As fezes, tanto suas quanto do seu bebê, e o leite a serem coletados serão espontâneos no momento entre o primeiro e o terceiro dia após o parto, e em alguma consulta a acontecer no prazo de 4 meses após o parto. A cada entrega de amostra, faremos um questionário sobre sua alimentação e, em conjunto com a equipe de psiquiatria, faremos um questionário a fim de sabermos como a senhora está emocionalmente.

Após assinar este Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, você será convidada a responder um questionário sócio demográfico. Não há benefício direto ao participante. Os riscos de sua participação no projeto serão mínimos, apenas relacionados aos incômodos da coleta de fezes. Trata-se de um estudo exploratório testando a hipótese de que mudanças na microbiota da paciente com depressão podem influenciar na colonização inicial da microbiota intestinal do bebê, além de influenciar no comportamento do indivíduo. Somente no final do estudo poderemos concluir se existe ou não alguma alteração que pode ser relacionada à depressão. Em qualquer etapa do estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas. Os médicos Dra Vera Tess e Dr Marco Aurélio Knippel Galleta serão os responsáveis pelo acompanhamento do recrutamento de pacientes, apresentação e esclarecimentos a respeito do presente termo, coleta de amostras e armazenamento até que as amostras sejam levadas ao laboratório da Dra. Carla Taddei. É garantida a liberdade da retirada de consentimento a qualquer momento, assim deixando de participar do estudo, sem qualquer prejuízo à continuidade de seu tratamento na instituição. A pesquisa terá duração de quatro anos, período que poderão ocorrer o recrutamento de pacientes.

Apenas serão utilizados dados referentes a medicação prescrita e condições clínicas psiquiátricas relevantes a pesquisa e obtidas através de consultas ao seu prontuário. As informações obtidas serão analisadas em conjunto com outros pacientes, não sendo divulgada a sua identificação, dados pessoais ou dados do seu acompanhamento no ambulatório. A qualquer momento, você poderá se atualizar sobre os resultados parciais das pesquisas, quando em estudos abertos, ou de resultados que sejam do conhecimento dos pesquisadores. Não há despesas pessoais para o participante em qualquer fase do estudo, incluindo exames e consultas. Também não há compensação financeira relacionada à sua participação. Se existir qualquer despesa adicional, ela será absorvida pelo orçamento da pesquisa. Em caso de dano pessoal, diretamente causado pelos procedimentos ou tratamentos propostos neste estudo, o participante terá direito a assistência imediata bem como assistência integral no que se refere às complicações e danos recorrentes da pesquisa. O participante da pesquisa que vier a sofrer qualquer dano resultante de sua participação na pesquisa tem direito a uma indenização, por parte do pesquisador, do patrocinador e das instituições envolvidas. O pesquisador utilizará os dados e o material coletado somente para esta pesquisa.

Este termo está sendo disponibilizado em duas vias originais; uma ficará com o participante da pesquisa e a outra com o pesquisador. Todas as folhas deverão ser rubricadas (assinadas) pelo pesquisador e pela participante no momento da aplicação do termo de consentimento.

9. Consentimento Pós-Esclarecido

Acredito ter sido suficientemente informada a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo “Caracterização da microbiota do leite e evolução da microbiota fecal de mulheres diagnosticadas com depressão durante os períodos perinatal e puerpério e de seus lactentes”. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia do acesso a tratamento hospitalar disponível quando necessário. Concordo em fornecer meus dados para que a aluna delegada entre em contato comigo a fim de garantir o transporte das amostras. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste serviço.

Li ou leram por mim, e entendi os objetivos, riscos e benefícios de minha participação na pesquisa e concordo em participar.

Declaro que, após ter sido convenientemente esclarecido pelo pesquisador e ter entendido o que me foi explicado, consinto em participar do presente Protocolo de Pesquisa.

São Paulo, _____ de _____ de _____.

Assinatura do Participante de Pesquisa Assinatura do Pesquisador Responsável ou do Responsável Legal

Prof^ª Dr^ª Carla Taddei de Castro Neves - Laboratório Clínico de Biologia Molecular

Endereço: Avenida Professor Lineu Prestes, 2565, Butantã, SP

Hospital Universitário da USP

CEP: 05508-000 – Telefone: 3091-9509

Para qualquer questão, dúvida, esclarecimento ou reclamação sobre aspectos éticos relativos a este protocolo de pesquisa, favor entrar em contato com o **Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo**: Av. Prof. Lineu Prestes, 580, Bloco 13 A, Butantã, São Paulo, CEP 05508-000, Telefones 3091-3622 e 3091-3677, e-mail: **cepfcf@usp.br**.

Apêndice III – Questionário sócio-demográfico

Projeto: Caracterização da microbiota do leite e evolução da microbiota fecal de mulheres diagnosticadas com depressão durante os períodos pré-natal e puerpérios e de seus lactentes

10. FICHA DE DADOS CLÍNICOS E SÓCIO-DEMOGRÁFICOS

Nome: _____

Endereço: _____

CEP: _____ Natural: _____

Telefone: _____ Celular: _____

Data de nascimento ___/___/_____(Idade: _____) N° do prontuário: _____

Peso atual: _____ IMC: _____

Estado civil: () casada () união consensual () solteira () Outras: _____

Escolaridade:

() sem instrução () ensino fundamental incompleto

() ensino fundamental completo () ensino médio incompleto

() ensino médio completo () ensino superior incompleto

() ensino superior completo () pós-graduação **Antecedentes**

Pessoais:

Tabagismo () Não () Sim

Frequência durante a gestação: _____

Etilismo () Não () Sim

Frequência durante a gestação: _____

Antecedentes Clínicos:

() Diabetes tipo I

() Diabetes tipo II

() Hipertensão

() Doença cardíaca

() Doença renal crônica

() Doença hepática crônica

() Hipertireoidismo

() Asma

() Anemia grave ou outra hemoglobinopatia () Convulsões / Epilepsia ()

Acidente Vascular Cerebral

11. FICHA DE DADOS CLÍNICOS E SÓCIO-DEMOGRÁFICOS

Projeto: Caracterização da microbiota do leite e evolução da microbiota fecal de mulheres diagnosticadas com depressão durante os períodos pré-natal e puerpérios e de seus lactentes

() Doença auto-imune (exemplo: Lúpus, artrite reumatóide, febre reumática)

() Doença psiquiátrica. Se sim, qual? _____

() Outros: _____

Faz uso de medicação? () Não () Sim - Se sim, quais? _____

Internações clínicas: () Não () Sim - Motivo: _____

Transfusão sanguínea: () Não () Sim - Motivo: _____

Antecedentes obstétricos (doença durante a gestação):

() Diabetes gestacional

() Infecções agudas ou crônicas (especificar) _____

() Hipertensão gestacional (se sim, em qual período gestacional) _____

() Doença psiquiátrica. (se sim, qual? Indique a duração do tratamento e medicamentos utilizados) _____

Número de gestações anteriores: _____ Número de

abortos anteriores: _____

Resultado perinatal:

Nome: _____

Nº do prontuário: _____

Data do parto: ____/____/____ Idade gestacional: _____ semanas

Tipo: () Normal () Fórcepe () Cesariana Indicação: _____

Tipo de gestação: () Única () Gemelar

Sexo do RN: Masculino () Feminino () Indefinido ()

Peso ao nascer: _____

Apresentou malformação congênita: Não () Sim ()

Uso de medicações no RN: Não () Sim () . Quais: _____

Apêndice IV – Questionário de depressão pós-parto de Edimburgo

12. Questionário para auto-avaliação de Depressão Pós-Parto

Nome:	
Período da gestação/pós-parto:	Data:
Idade do bebê:	Número do questionário
Número da consulta:	Pontuação da escala:
Tipo (s) de amostra (s):	Identificação da (s) amostra (s):

A Escala de depressão de Edimburgo (EPDS) é um questionário de auto-avaliação que contém dez perguntas com quatro opções que são pontuadas de 0 a 3, de acordo com a presença ou intensidade dos sintomas. Você teve um bebê há pouco tempo e gostaríamos de saber como você está se sentindo nos últimos 7 dias e não apenas hoje. **Vamos começar?**

Questionário:

- Eu tenho sido capaz de rir e achar graça das coisas
 Como eu sempre fiz
 Não tanto quanto antes
 Sem dúvida, menos que antes
 De jeito nenhum
- Eu sinto prazer quando penso no que está por acontecer em meu dia-a-dia
 Como sempre senti
 Talvez, menos que antes
 Com certeza menos
 De jeito nenhum
- Eu tenho me culpado sem necessidade quando as coisas saem erradas
 Sim, na maioria das vezes
 Sim, algumas vezes
 Não muitas vezes
 Não, nenhuma vez
- Eu tenho me sentido ansiosa ou preocupada sem uma boa razão
 Não, de maneira alguma
 Pouquíssimas vezes
 Sim, algumas vezes

Sim, muitas vezes

5. Eu tenho me sentido assustada ou em pânico sem um bom motivo

Sim, muitas vezes

Sim, algumas vezes

Não muitas vezes

Não, nenhuma vez

6. Eu tenho me sentido esmagada pelas tarefas e acontecimentos do meu dia-a-dia

Sim. Na maioria das vezes eu não consigo lidar bem com eles

Sim. Algumas vezes não consigo lidar bem como antes

Não. Na maioria das vezes consigo lidar bem com eles

Não. Eu consigo lidar com eles tão bem quanto antes

7. Eu tenho me sentido tão infeliz que eu tenho tido dificuldade de dormir

Sim, na maioria das vezes

Sim, algumas vezes

Não muitas vezes

Não, nenhuma vez

8. Eu tenho me sentido triste ou arrasada

Sim, na maioria das vezes

Sim, muitas vezes

Não muitas vezes

Não, de jeito nenhum

9. Eu tenho me sentido tão infeliz que eu tenho chorado

Sim, quase todo o tempo

Sim, muitas vezes

De vez em quando

Não, nenhuma vez

10. A idéia de fazer mal a mim mesma passou por minha cabeça

Sim, muitas vezes, ultimamente

Algumas vezes nos últimos dias

[] Pouquíssimas vezes, ultimamente

[] Nenhuma vez

Acabamos! Obrigada pela sua participação!



APENAS PARA O APLICADOR:

Pontuação:

Questões 1, 2, e 4

-Se você marcou a primeira resposta, não conte pontos.

-Se você marcou a segunda resposta, marque um ponto.

-Se você marcou a terceira resposta, marque dois pontos. -Se você marcou a quarta resposta, marque três pontos.

Questões 3, 5, 6, 7, 8, 9 e 10

-Se você marcou a primeira resposta, marque três pontos.

-Se você marcou a segunda resposta, marque dois pontos.

-Se você marcou a terceira resposta, marque um ponto. -Se você marcou a quarta resposta, não conte pontos.

Escala de Edimburgo