

## INTELIGÊNCIA ARTIFICIAL MAPEIA MUDANÇAS NA MICROBIOTA DE CÃES COM DOENÇA INFLAMATÓRIA INTESTINAL E IDENTIFICA BIOMARCADORES

ANDRESSA R AMARAL<sup>1</sup>, MARIANA Q DO NASCIMENTO<sup>2</sup>, VANESSA R OLSZEWSKI<sup>2</sup>, ADRIANA N FIGUEIREDO<sup>2</sup>, MARCIO A BRUNETTO<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centro de pesquisa em Nutrologia de Cães e Gatos (Cepen Pet), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, USP, São Paulo/Pirassununga, SP-Brasil; <sup>2</sup>Aleris Nutrição Animal, Jundiaí, SP-Brasil.

Contato: andressa.r.amaral@gmail.com / Apresentador: ANDRESSA AMARAL

**Resumo:** A inteligência artificial (IA) surge como uma solução para compilar, analisar dados científicos volumosos e tirar conclusões em tempo recorde a respeito de assuntos complexos por vias de aprendizado automático. A IA já foi aplicada em pesquisas humanas sobre doença de Crohn, colite ulcerativa e câncer de cólon e reto, embora ainda não na medicina veterinária para estes propósitos. Por isso, dados obtidos de um estudo que avaliou os efeitos da suplementação de parede celular de levedura (PCL) foram analisados por meio do software EZbiome®. Estes dados foram oriundos do sequenciamento da microbiota fecal (Illumina®) de cães com DII que consumiram suplemento de parede celular de levedura (PCL; n=6) por 60 dias e foram comparados com um grupo controle que ingeriu placebo (Placebo; n=6). A análise linear discriminante do tamanho do efeito (LEfse) identificou biomarcadores da doença e do tratamento. As bactérias *Collinsella aerofaciens*, *Clostridium ramosum* e *Lactonifactor* spp. foram identificadas como marcadoras da doença inflamatória intestinal no grupo controle e estão relacionadas à processos inflamatórios de mucosa. O tratamento com PCL identificou *Blautia* e *Veillonellales* como biomarcadores, as quais são associadas à mecanismos antiinflamatórios.

**PalavrasChaves:** biomarcadores; disbiose; inteligência artificial

## ARTIFICIAL INTELLIGENCE MAPS CHANGES IN THE MICROBIOTA OF DOGS WITH INFLAMMATORY BOWEL DISEASE AND IDENTIFIES BIOMARKERS

**Abstract:** Artificial intelligence (AI) emerges as a solution to compile, analyze large amounts of scientific data and draw conclusions in record time regarding complex subjects through automatic machine learning. AI has already been applied in human research on Crohn's disease, ulcerative colitis, colon and rectal cancer, although it has not yet been applied in veterinary medicine yet for these purposes. Therefore, data obtained from a study that evaluated the effects of yeast cell wall supplementation (YCW) were analyzed using the EZbiome® software. These data came from the sequencing of the fecal microbiota (Illumina®) of dogs with IBD that consumed a yeast cell wall supplement (PCL; n=6) for 60 days and were compared with a control group that ingested a placebo (Placebo; n= 6). Discriminant linear effect size analysis (LEfse) identified disease and treatment biomarkers. The bacteria *Collinsella aerofaciens*, *Clostridium ramosum* and *Lactonifactor* spp. were identified as markers of inflammatory bowel disease in the control group and are related to inflammatory processes of the mucosa. PCL treatment provided the identification of *Blautia* and *Veillonellales* bacteria as biomarkers, which are associated with anti-inflammatory mechanisms.

**Keywords:** biomarkers; dysbiosis; artificial intelligence.

**Introdução:** Por ser capaz de avaliar grandes quantidades de dados e fornecer soluções em tempo reduzido, a inteligência artificial (IA) captou a atenção da medicina (CENK SIDAR, 2023; DIACONU et al., 2023). Nesta área, os estudos sobre microbiota intestinal ganharam atenção, pois a composição desta já foi relacionada com diversas afecções crônicas como a doença inflamatória intestinal (DII) (CHEUNG; LIN, 2023). A parede celular de levedura (PCL) e seus componentes já demonstraram potencial no controle da inflamação intestinal em humanos, cães e modelos animais de DII (ZYLA et al., 2019), embora os resultados ainda necessitem do refinamento que somente a IA pode proporcionar por reduzir vieses metodológicos. O presente estudo objetivou avaliar a microbiota de cães com DII controlada e suplementados com PCL por meio de uma ferramenta de IA e em estudo padronizado e randomizado.

**Material e Métodos:** Foram incluídos cães adultos com DII confirmada por histopatológico em fase controlada da doença, tratados somente com ciclosporina. Todos os animais foram previamente adaptados por 30 dias a uma mesma dieta hipoalergênica a base de proteína hidrolisada e esta foi mantida durante todo o período experimental. Doze animais dividiram-se em dois grupos experimentais, os quais receberam cápsulas com parede celular de levedura (PCL) ou alimento comercial hipoalergênico triturado, considerado como placebo para formar o grupo controle (CON), o qual era o mesmo alimento utilizado ao longo do estudo. Os animais ingeriram a dose correspondente de  $13,14 \pm 2,01$  mg/kg de PCL ou de placebo. As fezes foram coletadas no tempo 0 (T0) (prévio ao início da suplementação) e no tempo 60 (T60) (após 60 dias de suplementação). A análise da microbiota foi realizada utilizando-se o sistema de sequenciamento de nova geração Illumina® e as sequências foram analisadas por um software de IA (EZbiome®) que realizou análises de bioinformática e estatística. As sequências foram filtradas por um escore de acurácia das leituras dos pares de bases (QPHRED) para atingir 99% de confiabilidade. Este software aplicou a análise linear discriminante do tamanho do efeito (LEfSe) para a identificação de biomarcadores da doença e associados ao melhor tratamento. Para as demais análises de comparação de médias, o teste de Tukey foi aplicado e valores de  $p < 1,0\%$  foram considerados significativos.

**Resultado e Discussão:** O programa identificou os grupos taxonômicos *Blautia* spp. (*Blautia glaucerosea*) e *Veillonellales* (*Veillonellaceae*) como biomarcadores do tratamento com PCL, e *Collinsella aerofaciens*, *Lactonifactor* spp. e *Clostridium ramosum* como marcadores da doença inflamatória intestinal (Figura 1). As bactérias *Blautia* spp. são considerados como um

gênero funcional com potencial probiótico (LIU et al., 2021). Elas participam do processo de fermentação de carboidratos e produção de butirato (YANG et al., 2021). O aumento das bactérias do grupo Veillonellaceae já foi sugerido como biomarcador da DII em humanos (GEVERS et al., 2014) juntamente com a redução de Bacteroidetes (MAIOLI et al., 2022) e a sua redução, portanto, é favorável e alcançada por meio do fornecimento de PCL. As bactérias *Clostridium ramosum* foram associadas à metaplasia maligna. Elas são capazes de produzir proteases de IgA (LEGARIA et al., 2020). O gênero *Lactonifactor* spp. é capaz de metabolizar lignina em enterolignanos que possuem efeito antioxidante e protetor contra o câncer de cólon em humanos (MABROK et al., 2012). As *Collinsella aerofaciens* foram relacionadas à DII em cães, doença de Crohn e colite ulcerativa em humanos. Em estudo desenvolvido por Soontarak et al. (2019) em cães, esta espécie correlacionou-se com a piora clínica da doença, avaliada através do escore de severidade de enteropatia (CCECAI).

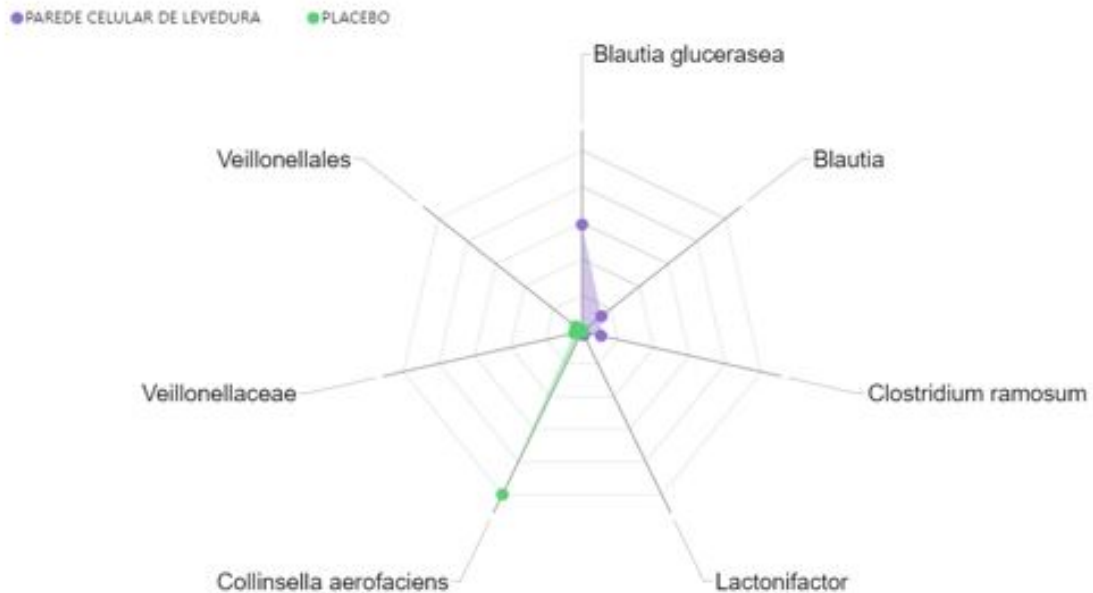


Figura 1. Biomarcadores identificados pela análise LEfse do tratamento com parede celular de levedura e de cães com DII do grupo controle (placebo).

**Conclusão:** O uso da inteligência artificial foi capaz de identificar as bactérias *Collinsella aerofaciens*, *Clostridium ramosum* e *Lactonifactor* spp. como marcadoras da DII na ausência de tratamento e o gênero *Blautia* spp. e a ordem *Veillonellales* como marcadoras do uso da PCL que são relacionadas com processos antinflamatórios

**Referências Bibliográficas:** CENK SIDAR. 2023 Will Be A Defining Year For AI And The Future Of Work. Forbes Technology Council. CHEUNG, H.; LIN, Y. Machine Learning on Microbiome Research in Gastrointestinal Cancer. *Microb in Gastr Cancer*, v. 36, 193–200, 2023. DIACONU, C. et al. The Role of Artificial Intelligence in Monitoring Inflammatory Bowel Disease—The Future Is Now. *Diagnostics*, v. 13, 2023. GEVERS, D. et al. The treatment-naive microbiome in new-onset Crohn’s disease. *Cell Host and Microbe*, v. 15, 382–392, 2014. LEGARIA, M. C. et al. *Clostridium ramosum* rapidly identified by MALDI-TOF MS. A rare gram-variable agent of bacteraemia. *Access Microbiology*, v. 2, 2020. LIU, X. et al. *Blautia*—a new functional genus with potential probiotic properties? *Gut Microbes*, 2021. . MABROK, H. B. et al. Lignan transformation by gut bacteria lowers tumor burden in a gnotobiotic rat model of breast cancer. *Carcinogenesis*, v. 33, 203–208, 2012. MAIOLI, T. U. et al. Non-pharmacologic strategies for the management of intestinal inflammation. *Biomand Pharmacot*, v. 145, 2022. RAFFAELLI B, HOIKKALA A, LEPPÄLÄ E, W. K. Enterolignans. *Biomed Life Sci*, v. 25, 29–43, 2002. SOONTARARAK, S. et al. Humoral immune responses against gut bacteria in dogs with inflammatory bowel disease. *PLoS ONE*, v. 14, 2019. YANG, J. et al. *Oscillospira* - a Candidate for the next-Generation Probiotics. *Gut Microbes*, v. 13, 2021. ZYLA, E. et al. Beneficial effects of oat beta-glucan dietary supplementation in colitis depend on its molecular weight. *Molecules*, v. 24, 2019.