

ACTIVIDAD BIOLÓGICA DEL POLISACÁRIDO DE KEFIR (KEFIRAN) EN EL CONTEXTO INTESTINAL Y SU EFECTO EN LA SALUD DEL CONSUMIDOR

BIOLOGICAL ACTIVITY OF KEFIR POLYSACCHARIDE (KEFIRAN) IN THE INTESTINAL CONTEXT AND ITS EFFECT ON CONSUMER HEALTH

Medrano Micaela^a, Gangoiti María Virginia^b, Simonelli Nicolas^a, Abraham Analía Graciela^{a,c}

^a Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecología de Alimentos (CIDCA); Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata - CONICET CCT La Plata – CIC. 47 y 116, La Plata, Buenos Aires, Argentina.

^b Laboratorio de Investigación en Osteopatías y Metabolismo Mineral (LIOMM) - Facultad de Ciencias Exactas Universidad Nacional de La Plata. 50 y 116, La Plata, Buenos Aires, Argentina.

^c Área Bioquímica y Control de Alimentos - Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata. 47 y 115, La Plata, Buenos Aires, Argentina.

*Correspondencia: Micaela Medrano: mmedrano@biol.unlp.edu.ar / María Virginia Gangoiti: mvgangoiti@biol.unlp.edu.ar/

Nicolás Simonelli: nicosimonelli94@gmail.com/ Analía Graciela Abraham: aga@biol.unlp.edu.ar

Resumen

El interés por el consumo de alimentos saludables y poco procesados ha crecido en los últimos años. Al mismo tiempo, también se ha incrementado la evidencia científica que afirma que una población bacteriana intestinal saludable es responsable de la buena salud. Dentro de los alimentos que favorecen el desarrollo de un microbiota intestinal saludable están los polisacáridos no digeribles y dentro de estos, los exopolisacáridos bacterianos.

En este artículo de revisión se aborda el estudio del polisacárido kefiran, presente en la leche fermentada artesanal denominada kéfir. El mecanismo de acción de este polisacárido y su acción benéfica para la salud podrían explicarse a través de tres mecanismos que actuarían solos o de manera sinérgica: i) interacción directa del polímero con las células intestinales; ii) estimulación de poblaciones bacterianas benéficas y producción de metabolitos con actividad biológica; y/o iii) modulación del sistema inmune y respuesta sistémica. Se desarrollan los tres mecanismos haciendo un recorrido por la evidencia científica que los sustenta.

Teniendo en cuenta la gran cantidad de efectos biológicos demostrados, así como la versatilidad que tiene este biopolímero para mejorar las características funcionales de los alimentos, se concluye que el kefiran tiene gran potencialidad para ser utilizado como aditivo alimentario. Por otro lado, el consumo de la leche fermentada kefir producida artesanalmente en los hogares es una fuente natural de este polisacárido.

Palabras claves: kefir - kefiran - exopolisacáridos - actividad biológica

Abstract

Interest in healthy and under processed foods has grown in recent years; and so did scientific evidence showing that a healthy gut microbiota is responsible for good health. Among the foods that promote the development of a healthy gut microbiota are non-digestible polysaccharides and within them, bacterial exopolysaccharides.

This review article discusses the health benefits of kefiran, the bacterial exopolysaccharide present in artisanal fermented milk called kefir. The mechanism of action of this polysaccharide and its beneficial action for health could be explained through three mechanisms that would act alone or synergistically: (i) direct interaction of the biopolymer with intestinal cells; (ii) stimulation of beneficial bacterial populations and production of metabolites with biological activity; and/or (iii) modulation of the immune system and systemic response. All three mechanisms are developed by taking a tour of the scientific evidence that underpins them.

Considering the large number of proven biological effects, as well as the versatility that this biopolymer has to improve the functional characteristics of food, it can be concluded that kefiran has great potential to be used as a food additive. On the other hand, the consumption of kefir-fermented milk produced in households is a natural source of this biopolymer at appropriate doses.

Keywords: kefir - kefiran - exopolysaccharide - biological activity

Introducción

En los últimos años, la investigación sobre aditivos alimentarios naturales y compuestos bioactivos capaces de aportar un beneficio en la salud del consumidor ha crecido de manera exponencial. En este sentido, los polisacáridos obtenidos de fuentes naturales (vegetales, hongos, algas y bacterias) han recibido especial atención. En particular, los exopolisacáridos (EPS) producidos por bacterias ácido lácticas (BAL) han demostrado encajar en la categoría de ingredientes funcionales dados sus demostrados efectos beneficiosos para la salud (Lynch et al., 2018).

Concomitantemente, la relevancia que presenta la microbiota intestinal en patologías intestinales, así como en otros tipos de afecciones, la ha convertido en un tema de investigación de sumo interés e importancia. (Cani & Delzenne, 2009, Zmora et al., 2019). Ciertas patologías intestinales como la enfermedad inflamatoria intestinal y el cáncer colorrectal están relacionadas con el desequilibrio microbiano (Fernandez et al., 2016; Gao et al., 2015), y en particular, con la disminución de ciertas bacterias productoras de butirato pertenecientes principalmente a los géneros *Roseburia*, *Faecalibacterium* y otros (Candela et al., 2014; Lopez-Siles et al., 2015).

La fibra dietaria puede inducir cambios en la microbiota intestinal. Dentro de este grupo, algunos polisacáridos no digeribles son capaces de estimular específicamente ciertos microorganismos beneficiosos en el colon, como bifidobacterias y lactobacilos. Ya que el incremento de estos microorganismos es generalmente acompañado por un efecto benéfico sobre la salud, tales polisacáridos se consideran "prebióticos".

Los EPS sintetizados por BAL también son candidatos para ser utilizados como ingredientes prebióticos ya que son producidos por microorganismos de status GRAS (generalmente reconocidos como seguros), por lo que podrían ser fácilmente incluidos como aditivo en alimentos funcionales (Salazar et al., 2016; Zannini et al., 2016).

Muchos EPS producidos por BAL no son hidrolizados por enzimas digestivas humanas y pueden llegar al intestino grueso e interactuar con las células del consumidor por contacto directo con el epitelio intestinal y/o modulando la microbiota intestinal y la posterior producción de metabolitos con actividad biológica. Esta modulación de la microbiota intestinal y/o su metabolismo, cuando es censado por las células del epitelio intestinal, podría desencadenar una respuesta biológica (Medrano et al., 2009).

El kefiran es un polisacárido natural que se encuentra en la leche fermentada artesanal llamada "kefir", y también está presente en los "gránulos de kefir" que son el cultivo starter o iniciador con el cual se produce la leche fermentada en los hogares. El kefir tiene una larga trayectoria de consumo y está asociado a numerosos efectos beneficiosos para la salud de los consumidores (Abraham et al., 2010; 2020). El kefiran le otorga viscosidad al producto fermentado que se consume y se encuentra presente en una concentración aproximada de 300 mg/L, dependiendo de factores como el tiempo de incubación de los gránulos, la proporción gránulos/leche y la temperatura, entre otros (Rimada y Abraham, 2003).

Químicamente, el kefiran es un glucogalactano de alto peso molecular (superior a 106 Da), constituido por unidades de D-glucosa y D-galactosa que forman una cadena lineal $\alpha 1-4$ con ramificaciones $\alpha 1-6$ (La Rivière et al., 1967; Abraham et al., 2010). El kefiran podría utilizarse como aditivo alimentario ya que tiene propiedades tecnológicas interesantes tales como mejorar las propiedades viscoelásticas de geles (Rimada & Abraham, 2006), presentar capacidad de gelificante (Piermaria et al., 2008) y formar películas comestibles (Piermaria et al., 2009), entre otras (Abraham et al., 2020).

La actividad biológica de los EPS en general y del kefiran en particular, en el contexto intestinal, podría desencadenarse por -al menos- tres mecanismos:

- i) interacción directa del polímero con las células intestinales;
- ii) estimulación de poblaciones bacterianas benéficas y producción de metabolitos con actividad biológica); y/o
- iii) modulación del sistema inmune y respuesta sistémica.

Además, estos mecanismos podrían presentar una actividad sinérgica.

A continuación, se desarrollará una Revisión de los principales resultados científicos sobre el kefiran referentes a los mecanismos mencionados.

- i) interacción directa del polímero con las células intestinales

Siendo que el kefiran es un polisacárido no digerible que puede llegar al intestino grueso donde puede ejercer cierta actividad biológica in situ, la capacidad de asociarse a las células de epitelio intestinal es una característica relevante. La misma ha sido demostrada in vitro en células intestinales de la línea Caco-2 (Medrano et

al., 2009). Esta unión podría darse a través de interacciones químicas estrechas entre este polisacárido hidrofílico y receptores de superficie que se encuentran en las microvellosidades de las células intestinales adaptados a la interacción estrecha con el mucus.

Como consecuencia de esta asociación -que de algún modo enmascara al enterocito-, el kefiran podría proteger al epitelio intestinal frente a la acción de patógenos. En este sentido, se demostró que este polisacárido puede antagonizar *in vitro* la virulencia de un patógeno alimentario intestinal como *Bacillus cereus*, ya sea evitando que los diversos factores extracelulares (toxinas) dañen a las células (Medrano et al., 2008) así como también disminuyendo el daño generado por la misma bacteria (Medrano et al., 2009).

Otra consecuencia de esta íntima asociación del kefiran con el epitelio intestinal podría estar relacionada con cierta actividad antitumoral. Algunos resultados preliminares *in vitro* indican que el kefiran tendría un efecto antiproliferativo en células de colon tumorales altamente invasivas de la línea HT-29 (Medrano et al., 2015) y esto podría explicar -en parte- la actividad antitumoral asociada tradicionalmente al consumo de kefir. Esta actividad antiproliferativa está en concordancia con resultados obtenidos *in vitro* para otras líneas tumorales no intestinales, como las de cáncer de cuello de útero (HeLa), cáncer hepático (HepG2) (Elsayed et al., 2017) y células de cáncer de mama (MCF-7) (Jenab et al., 2020).

ii) estimulación de poblaciones bacterianas benéficas y producción de metabolitos con actividad biológica

Al ser el kefiran un EPS capaz de llegar al colon, puede ser utilizado como sustrato fermentable por bacterias residentes. Esto ha sido demostrado en estudios *in vitro* e *in vivo*, ya sea para grupos específicos de bacterias como para poblaciones totales y producción de metabolitos.

Se demostró que el kefiran favorece el crecimiento de Bifidobacterias. Se estudió *in vitro* la capacidad de una cepa de *Bifidobacterium bifidum* para crecer en un medio de cultivo con kefiran (Serafini et al., 2014). *Bifidobacterium* representa, junto con *Lactobacillus*, una de las poblaciones de bacterias benéficas para la salud más estudiadas (Arbolea et al., 2016; O'Callaghan y van Sinderen, 2016). También se ha demostrado *in vivo* que el kefiran incrementa el número de bifidobacterias intestinales en ratones después de 2 y 7 días de consumo de kefiran en el agua de bebida, comparado con el grupo control (Hamet et al., 2016), lo cual representa un hallazgo importante en lo que respecta al efecto prebiótico del kefiran.

Recientemente se ha publicado el primer trabajo científico que demuestra que este EPS es capaz de ser fermentado por bacterias intestinales humanas presentes en barros fecales de niños sanos con dieta omnívora, y que sus productos de fermentación consisten en ácidos orgánicos de cadena corta (ácidos láctico, acético, propiónico y butírico). Además, se demostró *in vitro* que estos ácidos tienen un efecto antiproliferativo en células tumorales de cáncer de colon de la línea HT-29; esto permite aportar evidencia para la comprensión de las propiedades antitumorales que se le atribuyen tradicionalmente al kefir (Medrano et al., 2020).

Los ácidos orgánicos de cadena corta producidos por las poblaciones bacterianas intestinales, así como otros metabolitos, pueden alcanzar el torrente sanguíneo y tener diversos efectos a nivel sistémico (Peredo-Lovillo et al., 2020).

iii) modulación del sistema inmune y otras respuestas sistémicas asociadas.

Finalmente, de manera directa o bien a través de la estimulación de poblaciones bacterianas, este polisacárido puede generar una respuesta sistémica mediada por el sistema inmune, teniendo en cuenta que esta correlación ha sido demostrada (Arbolea et al., 2016).

El consumo de kefiran en concentraciones equivalentes a las que se encuentran en la leche fermentada demostró inducir cambios en el balance de células inmunes *in vivo* (Medrano et al., 2011). En el contexto intestinal, se encontró un incremento de células productoras de anticuerpos IgA, lo cual podría representar una contribución a la defensa del epitelio. Al mismo tiempo, se encontró un aumento de células presentadoras de antígenos (macrófagos y células dendríticas). Cabe destacar que este incremento de células inmunes no estuvo acompañado por anomalías morfológicas ni histológicas en los intestinos de los animales, lo cual indicaría

que este EPS es capaz de modular el sistema inmune sin desencadenar una respuesta inflamatoria. Al mismo tiempo, se encontró un aumento de las células productoras de mucus en los animales que consumieron el kefiran, lo que indica una estimulación de producción de mucina y la consecuente estimulación de poblaciones de Bifidobacterias (Pokusaeva et al., 2011) y posible efecto en la disminución de la constipación (Maeda et al., 2004). El incremento de la producción de algunos mediadores de la respuesta inmune (citoquinas y anticuerpos) luego del consumo de kefiran fue demostrado *in vivo* (Vinderola et al., 2006). En general, se observó que el kefiran indujo una respuesta inmune en la mucosa intestinal, y también tuvo efecto en la inmunidad sistémica a través de las citoquinas liberadas a la sangre circulante. En línea con estos resultados, Jenab et al., (2020) demostraron *in vitro* que el kefiran incrementa la producción de citoquinas (IL-6) de células mononucleares de sangre periférica.

La respuesta inmune está íntimamente relacionada con la respuesta inflamatoria. En este sentido, Furuno y Nakanishi (2012) estudiaron el efecto antiinflamatorio de kefiran en mastocitos derivados de la médula ósea de ratones. Descubrieron que el kefiran tiene un efecto supresor sobre la función inflamatoria de los mastocitos, al inhibir la desgranulación y la producción de citoquinas. En línea con esto, Kwon et al., (2008) obtuvieron resultados similares con relación al efecto antiinflamatorio del kefiran en una de las condiciones alérgicas e inflamatorias más conocidas, el asma.

Otro de los aspectos relacionados con la inmunomodulación y los procesos inflamatorios, corresponde a los procesos tumorales. La actividad antitumoral del kefiran ha sido tal vez una de las primeras en ser abordadas, sin embargo, aún no hay mecanismos propuestos para su modo de acción. Shiomi et al., (1982) estudiaron la inhibición del crecimiento de tumores sólidos inducidos en ratones. Encontraron que el crecimiento de los tumores fue inhibido por la administración oral e intraperitoneal de kefiran; estos autores concluyeron que el efecto antitumoral del kefiran estaría mediado por una respuesta del hospedador, aunque no se profundizó en estas observaciones ni se propusieron mecanismos de acción. Otro acercamiento a la actividad antitumoral del kefiran fue abordado por Murofushi et al., (1983) quienes estudiaron la respuesta de hipersensibilidad y la inhibición del crecimiento de tumores inducidos en ratones, luego de ser tratados con kefiran. Se observó una correlación entre la respuesta de hipersensibilidad y la actividad antitumoral en los ratones; sin embargo, el mecanismo de acción del kefiran no fue dilucidado.

Durante muchos años la actividad antitumoral de kefiran no fue nuevamente abordada hasta los últimos años, en los que algunos estudios *in vitro* recuperaron el interés por este efecto usando líneas tumorales no intestinales, tal como se mencionó en el ítem i).

Otros efectos beneficiosos para la salud a nivel sistémico y relacionados de alguna manera con el contexto intestinal se estudiaron en diferentes modelos *in vivo*. El efecto del kefiran sobre la hipertensión, el contenido de lípidos y glucosa en la sangre (modelos de colesterol y diabetes) y el estreñimiento (Maeda et al., 2004); aterosclerosis, propiedades antiinflamatorias (Uchida et al., 2010) y actividad antioxidante (Radhouani et al., 2018).

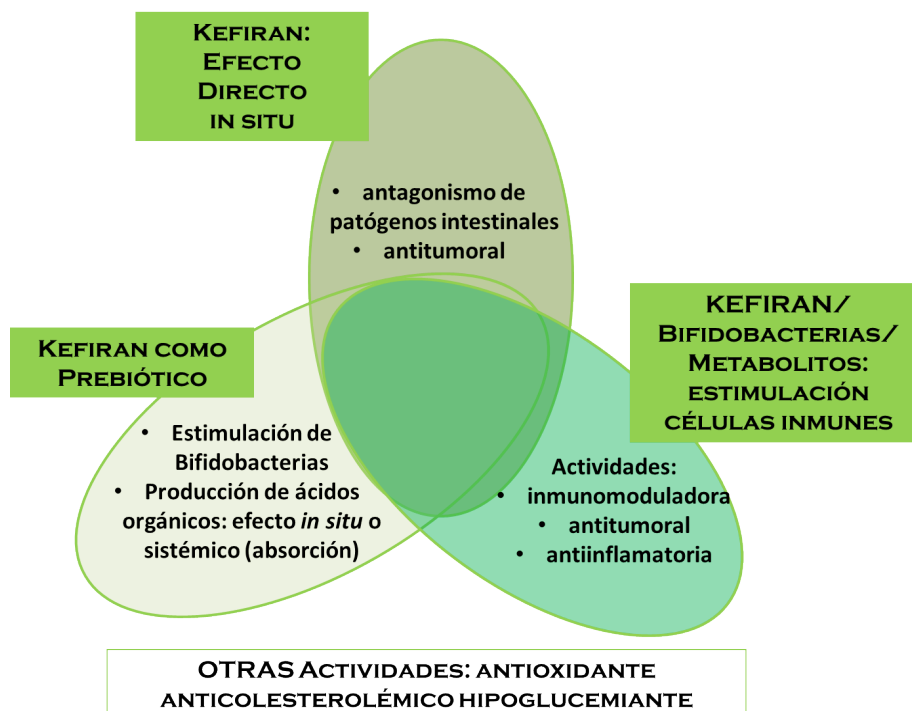
Cabe mencionar que no se ha reportado ninguna actividad adversa en relación con el consumo de este polisacárido (excepto en el caso de células tumorales, donde parece sí tener efecto), al menos en las dosis en las que se encuentra en el producto fermentado.

CONCLUSIONES

Teniendo en cuenta la gran cantidad de evidencia científica que se ha presentado, sumado a los efectos benéficos para la salud que están sustentados empíricamente por años de consumo de la bebida fermentada que contiene kefiran, no es ambicioso postular que este biopolímero tiene gran potencialidad para ser utilizado como aditivo alimentario debido a su versatilidad y a la gran cantidad de efectos biológicos demostrados. Probablemente la mayoría de ellos se inicien en el contexto intestinal a través del efecto directo del polisacárido (i), o de la estimulación de poblaciones bacterianas y de sus metabolitos (ii), así como del efecto sistémico mediado por el sistema inmune (iii), no descartando que estos mecanismos puedan actuar de manera sinérgica (FIGURA 1). El consumo de la leche fermentada kefir producida artesanalmente en los hogares es una

fFuente natural de este polisacárido en dosis adecuadas.

Figura 1: ACTIVIDAD BIOLÓGICA DEL KEFIRAN EN EL CONTEXTO INTESTINAL



: se representan los tres ejes principales a través de los cuales el kefiran podría ejercer su actividad biológica en el contexto intestinal. Cada uno de los ejes podría ejercer su efecto de manera individual o sinérgica.

BIBLIOGRAFÍA

Abraham, A, Medrano, M, Piermaria, JA, Mozzi, F. Novel applications of polysaccharides from lactic acid bacteria: A focus on kefiran (Review article). En *Food Hydrocolloids: Characteristics, Properties and Structures*. Ed: Clarence S. Hollingworth. New York, EEUU. Nova Publishers, Inc (2010) 253-271

Abraham, A, Simonelli, N, Gagliarini, N, Medrano, M, Piermaria, J. Kefiran (Review article). En: *Polysaccharides of Microbial Origin. Biomedical Applications*. Editores: Joaquim Miguel Oliveira, Hajer Radhouani y Rui L. Reis. Switzerland Editorial Springer (2020). En prensa.

Arbolea, S, Stanton, C, Ryan, CA, Dempsey, E, Ross, PR. (2016) *Bosom Buddies: the symbiotic relationship between infants and Bifidobacterium longum ssp. longum and ssp. infantis*. Genetic and probiotic features. *Annu Rev Food Sci Technol* 7:1-21.

Candela, M, Turrone, S, Biagi, E, Carbonero, F, Rampelli, S, Fiorentini, C, et al. (2014) *Inflammation and colorectal cancer when microbiota-host mutualism breaks*. *World J Gastroenterol* 20(4):908-922.

Cani, PD, Delzenne, NM. (2009) *The role of the gut microbiota in energy metabolism and metabolic disease*. *Curr Pharm Des* 15(13):1546-1558.

Elsayed, EA, Farooq, M, Dailin, D, El-Enshasy, HA, Othman, NZ, Malek, R, et al. (2017) *In vitro and in vivo biological screening of kefiran polysaccharide produced by Lactobacillus kefiranofaciens*. *Biomed Res* 28(2):594-600.

Fernández, J, Redondo-Blanco, S, Gutiérrez-del-Río, I, Miguélez, EM, Villar, CJ, Lombó, F. (2016) *Colon microbiota fermentation of dietary prebiotics towards short-chain fatty acids and their roles as anti-inflammatory and antitumour agents: A review*. *J Funct Foods* 25:511-522.

Furuno, T, Nakanishi, M. (2012) *Kefiran suppresses antigen-induced mast cell activation*. *Biol Pharm Bull* 35:178-183.

Gao, Z, Guo, B, Gao, R, Zhu, Q, Qin, H. (2015) *Microbiota dysbiosis is associated with colorectal cancer*. *Front*

Microbiol 6:20.

Hamet, MF, Medrano, M, Perez, PF, Abraham, AG. (2016) Oral administration of kefiran exerts a bifidogenic effect on Balb/c mice intestinal microbiota. *Benef Microbes* 7:237-246.

Hasheminya, SM, Dehghannya, J. (2020) Novel ultrasound-assisted extraction of kefiran biomaterial, a prebiotic exopolysaccharide, and investigation of its physicochemical, antioxidant and antimicrobial properties. *Mater Chem Phys.* 243:122645.

Jenab, A, Roghanian, R, Ghorbani, N, Ghaedi, K, Emtiazi, G. (2020) The Efficacy of Electrospun PAN/Kefiran Nanofiber and Kefir in Mammalian Cell Culture: Promotion of PC12 Cell Growth, Anti-MCF7 Breast Cancer Cells Activities, and Cytokine Production of PBMC. *Int J Nanomedicine* 15:717-728.

Kwon, OK, Ahn, KS, Lee, MY, Kim, SY, Park, BY, Kim, MK, Lee, IY, OH, SR, Lee HK. (2008) Inhibitory effect of kefiran on ovalbumin-induced lung inflammation in a murine model of asthma. *Arch Pharm Res* 31(12):1590-1596.

La Rivière, JW, Kooiman, P, Schmidt, K. (1967) Kefiran, a novel polysaccharide produced in the kefir grain by *Lactobacillus brevis*. *Arch Microbiol* 59:269-278.

Lopez-Siles, M, Martinez-Medina, M, Abellà, C, Busquets, D, Sabat-Mir, M, Duncan, SH, et al. (2015) Mucosa-associated *Faecalibacterium prausnitzii* phylotype richness is reduced in patients with inflammatory bowel disease. *Appl Environ Microbiol* 81(21):7582-7592.

Lynch, KM, Zannini, E, Coffey, A, Arendt EK. (2018) Lactic acid bacteria exopolysaccharides in foods and beverages: isolation, properties, characterization, and health benefits. *Annu Rev Food Sci Technol* 9:155-176.

Maeda, H, Zhu, X, Omura, K, Suzuki, S, Kitamura, S. (2004). Effects of an exopolysaccharide (kefiran) on lipids, blood pressure, blood glucose, and constipation. *Biofactors* 22:197-200.

Medrano, M, Gangoiti, MV, Pastor, DA; Abraham, AG. (2015) Actividad antitumoral in vitro del kefiran y sus productos de fermentación. XV Congreso CYTAL 2015 AATA-. Trabajo publicado en el libro de actas in extenso del congreso. Trabajo premiado FANUS (Ed. 2016).

Medrano, M, Gangoiti, MV, Simonelli, N, Abraham, AG. (2020) Kefiran fermentation by human faecal microbiota: Organic acids production and in vitro biological activity. *Bioact Carbohydr Diet Fibre* 24:100229.

Medrano, M, Pérez PF, Abraham, AG. (2008) Kefiran antagonizes cytopathic effects of *Bacillus cereus* extracellular factors. *Int J Food Microbiol* 122(1-2):1-7.

Medrano, M, Hamet, MF, Abraham, AG, Pérez, PF. (2009) Kefiran protects Caco-2 cells from cytopathic effects induced by *Bacillus cereus* infection. *Antonie Van Leeuwenhoek* 96(4), 505.

Medrano, M, Racedo, S, Rolny, I, Abraham, AG, Pérez, PF. (2011) Oral administration of kefiran modulates the immune cell balance of lymphoid tissues associated to intestinal mucosa. *J Agri Food Che* 59:5299-5304.

Murofushi, M, Shiomi, M, Aibara, K. (1983) Effect of orally administered polysaccharide from kefir on delayed-type hypersensitivity and tumor growth in mice. *Jpn J Med Sci Biol* 36:49-53.

O'Callaghan, A, van Sinderen, D. (2016) Bifidobacteria and their role as members of the human gut microbiota. *Front Microbiol* 7:925.

Peredo-Lovillo, A, Romero-Luna, HE, Jiménez-Fernández, M. (2020) Health promoting microbial metabolites produced by gut microbiota after prebiotics metabolism. *Food Res Int:* 109473.

Piermaria, JA, La Canal, M, Abraham, AG. (2008) Gelling properties of kefiran, a food-grade polysaccharide obtained from kefir grain. *Food Hydrocoll* 22(8):520-1527.

Piermaria, JA., Pinotti, A, Garcia, MA, Abraham, AG. (2009) Films based on kefiran, an exopolysaccharide obtained from kefir grain: Development and characterization. *Food Hydrocoll* 23(3):684-690.

Pokusaeva, K, Fitzgerald, GF, van Sinderen, D. (2011) Carbohydrate metabolism in bifidobacteria. *Genes Nutr* 6:285-306.

- Radhouani, H, Gonçalves, C, Maia, FR, Oliveira, JM, Reis, RL. (2018) *Biological performance of a promising Kefiran-biopolymer with potential in regenerative medicine applications: a comparative study with hyaluronic acid.* *J Mater Sci Mater Med* 29(8):124.
- Rimada, PS, Abraham, AG. (2003) *Comparative study of different methodologies to determine the exopolysaccharide produced by kefir grains in milk and whey.* *Le Lait*, 83(1):79-87.
- Rimada, PS, Abraham, AG. (2006) *Kefiran improves rheological properties of glucono- δ -lactone induced skim milk gels.* *Int Dairy J* 16(1):33-39.
- Salazar, N, Gueimonde, M, de los Reyes-Gavilan, CG, Ruas-Madiedo, P. (2016) *Exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria and bifidobacteria as fermentable substrates by the intestinal microbiota.* *Crit Rev Food Sci Nutr* 56(9):1440-1453.
- Serafini, F, Turrone, F, Ruas-Madiedo, P, Lugli, GA, Milani, C, Duranti, S, et al. (2014) *Kefir fermented milk and kefiran promote growth of Bifidobacterium bifidum PRL2010 and modulate its gene expression.* *Int J Food Microbiol* 178:50-59.
- Shiomi, M, Sasaki, K, Murofushi, M, Aibara, K. (1982) *Antitumor activity in mice of orally administered polysaccharide from Kefir grain.* *Jpn J Med Sci Biol* 35:75-80.
- Uchida, M, Ishii, I, Inoue, C, Akisato, Y, Watanabe, K, Hosoyama, et al. (2010) *Kefiran reduces atherosclerosis in rabbits fed a high cholesterol diet.* *J Atheroscler Thromb* 17(9):980-988.
- Vinderola, G, Perdigon, G, Duarte, J, Farnworth, E, Matar, C. (2006) *Effects of the oral administration of the products derived from milk fermentation by kefir microflora on immune stimulation.* *J Dairy Res* 73(4):472-479.
- Zannini, E, Waters, DM, Coffey, A, Arendt, EK. (2016) *Production, properties, and industrial food application of lactic acid bacteria-derived exopolysaccharides.* *Appl Microbiol Biotechnol* 100(3):1121-1135.
- Zamora, N, Suez, J, Elinav, E. (2019) *You are what you eat: diet, health and the gut microbiota.* *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 16(1):35-56.