

**UNIVERSIDADE DO EXTREMO SUL CATARINENSE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

EDUARDA BEHENCK MEDEIROS

**EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO COM PROBIÓTICOS EM
INDIVÍDUOS IDOSOS COM DECLÍNIO COGNITIVO LEVE E
DOENÇA DE ALZHEIMER: ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO
CONTROLADO POR PLACEBO E TRIPLO CEGO**

CRICIÚMA

2025

EDUARDA BEHENCK MEDEIROS

**EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO COM PROBIÓTICOS EM
INDIVÍDUOS IDOSOS COM DECLÍNIO COGNITIVO LEVE E
DOENÇA DE ALZHEIMER RESIDENTES NO SUL DO BRASIL**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde para obtenção do título de Doutor em Ciências da Saúde.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a. Josiane Budni

Coorientadora: Prof.^a Dr.^a. Consuelo Walss-Bass

CRICIÚMA

2025

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

M488e Medeiros, Eduarda Behenck.

Efeito da suplementação com probióticos em indivíduos idosos com declínio cognitivo leve e Doença de Alzheimer residentes no sul do Brasil / Eduarda Behenck Medeiros. - 2025.

113 p. : il.

Tese (Doutorado) - Universidade do Extremo Sul Catarinense, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Criciúma, 2025.

Orientação: Josiane Budni.

Coorientadora: Consuelo Walss-Bass.

1. Probióticos - Uso terapêutico. 2. Probióticos - Efeito fisiológico. 3. Memória. 4. Inflamação. 5. Disfunção cognitiva. 6. Alzheimer, Doença de. I. Título.

CDD 23. ed. 615.329

Bibliotecária Eliziane de Lucca Alosilla - CRB 14/1101
Biblioteca Central Prof. Eurico Back - UNESC



UNIVERSIDADE DO EXTREMO SUL CATARINENSE – UNESC
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA, PÓS-GRADUAÇÃO, INOVAÇÃO E EXTENSÃO
DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO STRICTO SENSU
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde (Mestrado e Doutorado)
Recomendado pela CAPES – Homologado pelo CNE – Portaria N° 609 de 14.03.2019

PARECER

No dia 24 (vinte e quatro) do mês de fevereiro de 2025, às 14 (quatorze) horas, no Bloco R1/Sala 204, após o cumprimento legal de conclusão das disciplinas do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde (Mestrado e Doutorado), realizaram-se a apresentação e a consequente defesa da tese intitulada: **“EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO COM PROBIÓTICOS EM INDIVÍDUOS IDOSOS COM DECLÍNIO COGNITIVO LEVE E DOENÇA DE ALZHEIMER RESIDENTES NO SUL DO BRASIL”**, da candidata **Eduarda Behenck Medeiros**. A Banca examinadora foi composta pelos(as) professores(as): **Dra. Gislaine Zilli Réus** (Membro Relator – UNESC), **Dra. Fabricia Petronilho** (Membro Interno – UNESC), **Dra. Michelle Lima Garcez** (Membro Externo – UFSC) e **Dra. Tatiani Bellettini Dos Santos** (Membro Externo – Centro Universitário do Espírito Santo). Após a apresentação, a candidata foi arguida pela Banca Examinadora, que assim expressou o resultado final da tese:

Trabalho aprovado

Trabalho não aprovado

Observações:

Criciúma, SC, 24 de fevereiro de 2025.

Documento assinado digitalmente
gov.br GISLAINE ZILLI REUS
Data: 27/02/2025 13:47:49-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. GISLAINE ZILLI RÉUS
Membro Relator – UNESC

Documento assinado digitalmente
gov.br FABRICIA CARDOSO PETRONILHO
Data: 02/04/2025 15:43:21-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. FABRICIA PETRONILHO
Membro Interno – UNESC

Documento assinado digitalmente
gov.br MICHELLE LIMA GARCEZ
Data: 02/04/2025 17:11:32-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. MICHELLE LIMA GARCEZ
Membro Externo – UFSC

Documento assinado digitalmente
gov.br TATIANI BELLETTINI DOS SANTOS
Data: 03/04/2025 08:16:39-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. TATIANI BELLETTINI
Membro Externo – Centro Universitário do
Espírito Santo

Documento assinado digitalmente
gov.br JOSIANE BUDNI
Data: 27/02/2025 11:11:59-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. JOSIANE BUDNI
Orientador(a)

Documento assinado digitalmente
gov.br SAMIRA DA SILVA VALVASSORI
Data: 08/04/2025 10:36:52-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. SAMIRA DA SILVA VALVASSORI
Coordenadora Adjunta do PPGCS

FOLHA INFORMATIVA

A tese foi elaborada seguindo o estilo ABNT e será apresentada no formato tradicional. Este trabalho foi realizado nas instalações do Laboratório de Neurologia Experimental do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da UNESC.

Dedico esta tese às minhas bisavós Madalena (*In memoriam*) e Belmira Carolina (*In memoriam*) por terem sido meu primeiro contato com idosos bem como com a doença de Alzheimer; aos meus avôs Osvaldo (*In memoriam*) e Roque (*In memoriam*), e às minhas avós Olga e Tereza. Foi principalmente por eles e para eles que eu me dediquei inteiramente a esta pesquisa.

AGRADECIMENTOS

Esta sessão, com toda certeza poderia ser mais extensa do que a tese inteira, pois são 9 anos dedicados à pesquisa e uma vida inteira rodeada de pessoas especiais, mas, prometo que serei o mais breve possível!

Sendo eu, uma pessoa de muita fé, não há forma melhor de iniciar a não ser agradecendo a Deus, por ter guiado todo meu caminho, iluminado meus passos e ter me feito devota de Nossa Senhora Aparecida e São Miguel Arcanjo, permitindo que minha vida pessoal e acadêmica sempre fosse repleta de muita luz!

Agradeço minha família, minha mãe, meu pai, meu irmão, a amora (minha cachorrinha), meus primos (incluindo a Bá, Léo e Dani), tios, dindos e minhas avós. A família sempre foi um pilar muito importante na minha vida, sempre entenderam minhas ausências nos eventos e eles permitiram que eu pudesse seguir meus sonhos e chegar até aqui sempre rodeada de muito amor e aconchego. Pai, mãe, mano e amora, a minha vida não teria sentido sem o amor e a companhia de vocês, muito obrigada por existirem e me amarem incondicionalmente (é totalmente recíproco)! Helo, querida prima, agradeço nominalmente a ti, mas estendo a todos os outros primos que também amo de paixão, mas eles sabem que nossa conexão sempre foi maior. Ao longo de 7 dos 9 anos de pesquisa tu foste meu porto seguro, muito obrigada! Também agradeço a minha afilhada Laurinha, que foi motivo de muita saudade, mas sempre me retribuiu os momentos juntinhas com muito amor!

A minha maravilhosa orientadora, talvez todas as palavras que eu use não sejam suficientes para expressar meu carinho e gratidão a ti. Josi, tu estiveste ao meu lado desde o início da minha vida na pesquisa, me inspirou, me incentivou, me permitiu crescer e me permitiu alcançar voos sempre mais altos. Se não fosse a tua orientação repleta de amor, ciência e cuidado, eu não seria tão feliz e grata na minha vida acadêmica! Muito obrigada! Como tu mesma diz, tu és minha orientadora para sempre!

A minha psicóloga Isadora Miranda, sou eternamente grata, pois, não só me auxiliou a tornar minha vida mais leve, como também me tornou uma pessoa mais leve e em busca de um equilíbrio constante.

Seguirei os agradecimentos por ordem cronológica na minha vida científica. Acho que assim será mais fácil de não esquecer ninguém, e de mostrar quantas pessoas me inspiraram e ajudaram até aqui!

Mi e Tati, minhas doutorandas lá em 2016 e atualmente duas grandes pesquisadoras. Muito obrigada por terem acreditado que eu tinha potencial, e por me inspirarem

e ensinarem tanto! Vocês foram peças fundamentais para que eu chegasse até aqui! Vocês sempre terão um lugar especial na minha vida!

A banca interna Gi e Fá, não escolhi vocês apenas pela competência científica, mas também por toda admiração e carinho pessoal que tenho pelas duas, vocês seguem sendo motivo de muita inspiração para mim! Além de vocês alguns profs do PPGCS foram extremamente importantes na minha formação, como as prof.^a Cinara, Jaque e Samira e os profs. Paulo e Eduardo. Também sinto a importância de citar aqui alguns professores da época da graduação como os prof^o Willians e Sandro e as prof^a Flávia, Hérica, Elaine, Daniela e Talita.

Também sinto a necessidade de agradecer as professoras que tive na época da escola, que sempre entenderam a minha sede por estudos e me inspiraram a ler e estudar sempre mais. A educação transforma o mundo e tem o poder de salvar vidas. Ter tido bons professores desde a infância foi o que me permitiu amar estudar e sonhar em compartilhar esses saberes para as outras pessoas.

Agora agradeço a todos aqueles que passaram pelo grupo de pesquisa da prof^a Josi ou de outros profs. do PPGCS e por motivos individuais alçaram novos voos e não estiveram mais tão presentes no meu dia a dia, mas seguiram sempre no meu coração: Ana Daniela, Anita Mussi, Ana Falchetti, Henrique Teza, Lisienny Rempel, Karolyne de Pieri, Luísa Grings, Marina Magenis, Bárbara Napolini, Laura Ceolin, Hemelin Resende, Matheus Rodrigues, Gabriel Zobot e Amanda Goulart.

E aqueles que seguiram fazendo meus dias mais felizes até o presente momento, e seguirão juntamente com os demais no meu coração: Em especial aos amigos do lab 007, Vic, Cris, Bia, Gui, Flavinha, Maria Fernanda, Sofi, Germano, Gizela, Amanda Duarte, Nathan, Carlinha, Khiany, Léo, Anita, Amanda Kursancew, e ao pessoal dos outros labs que sempre me acolheram tão bem, Laura, João, Rubia, Ligia, Camilinha, Alice, Gabriel Paulino, Lucas, Flávia, Laísa, Taise, Jorge, Bela, Nicolas e Otávio.

Aos meus colegas de grupos, também preciso de fazer agradecimentos individuais. Adry, minha amiga, sem você meu caminho não teria sido tão leve, divertido e dinâmico, tu realmente nunca soltaste minha mão e eu prometo que nunca soltarei a tua! Gabi Fenilli e Débora, vocês são maravilhosas e fizeram meu doutorado acontecer tanto quanto eu, ele é nosso! Muito obrigada! Gabi Keller, obrigada por não ter sido apenas uma amiga ao longo desses anos, mas também por ter sido a médica do meu ensaio clínico (e minha), tu és incrível! Isa, minha parceira de ensaio clínico, minha dupla de doutorado, minha grande amiga! Tu me ensinaste tanto, me ajudou tanto e dividiu o peso de um ensaio clínico comigo, não há palavras suficientes para te agradecer! Carolzinha e Luize, obrigada por terem chegado na reta final,

vestido a camisa e me ajudado com tanto amor! Amandinha, obrigada por estar a tantos anos ao meu lado, seja pessoal e cientificamente! Guga, obrigada por me consolar e me fazer sorrir nos momentos que tu mesmo precisasses que eu fizesse isso por ti, eu guardo toda tua acolhida e palavras no meu coração! E agradeço carinhosamente a todos os demais Júlia, Maria, Maitê, Pedro, Laura, Jaque, Cainã e Gielen vocês tiveram grande importância no meu doutorado e na minha vida! Além do pessoal do lab, agradeço ao Bruno, o estatístico que me ajudou em todos os resultados, e após tantos meets juntos, ganhou um espacinho especial no meu coração.

As minhas grandes amigas que conheci através da pesquisa, Mai e Laurinha, vocês com toda certeza me ajudaram a dividir as tristezas e multiplicar as alegrias, eu sou muito feliz em ter encontrado a amizade de vocês no caminho!

As minhas amigas da vida, Duda, Júlia, Mari, Lê e Bruna vocês mais do que todos os outros precisaram aceitar minha amizade EaD, compreenderam a ausência e sempre souberam que estou de braços e coração aberto a vocês. Sou muito feliz por ter a amizade de cada uma!

Por fim, gostaria de agradecer a prof^a Fernanda de Felice, por ter me possibilitado uma bolsa de pós doc, e por estar me acolhendo com tanto carinho juntamente com suas alunas do LInDA, Isa, Tay, Débora e Lisandra.

Agradeço também a nossa UNESC por ter toda a estrutura e incentivo necessário para que eu realizasse a minha pesquisa, aos órgãos de fomento, principalmente a CAPES que financiou minha bolsa de doutorado e ao CNPq que financiará minha bolsa do Pós Doc. A ciência precisa de investimento, e eu sou grata a todos os investimentos recebidos até aqui, pois, sem eles seria impossível fazer pesquisa.

Ao escrever esses agradecimentos revivi inúmeras boas memórias, como é bom ter um cérebro saudável e bons amigos ao meu lado!

Se você conseguir envelhecer, vai precisar passar pelo constrangimento de ser idoso em um mundo de apressados.

- Adaptado de, Martha Medeiros

Tudo que eu queria te dizer

RESUMO

O envelhecimento populacional está em ascensão, trazendo consigo mudanças associadas à senescência ou à senilidade. Entre os órgãos e sistemas mais afetados por esse processo, o sistema nervoso central (SNC) destaca-se como um dos principais, devido à sua vulnerabilidade às alterações funcionais e estruturais associadas ao envelhecimento. Com isso, capacidades funcionais declinam progressivamente, há alteração da capacidade cognitiva e memória. Somado a isso, a doença de Alzheimer (DA) é a demência que mais acomete a população de idosos, e o seu diagnóstico pode em muitos casos ser precedido pelo Declínio Cognitivo Leve (DCL). Além das alterações perceptíveis, há também as alterações que acometem diretamente o SNC, como aumento dos níveis das citocinas pró-inflamatórias, disfunção microglial e morte neuronal. O processo inflamatório relacionado ao envelhecimento é bem descrito, mas nos últimos anos vem se buscando compreender melhor a relação da disbiose, e consequente alteração da microbiota intestinal com essas alterações a nível de SNC no envelhecimento. Somado a essa hipótese os probióticos estão ganhando força como uma estratégia terapêutica. A partir disso, este estudo teve como objetivo a avaliação do efeito dos probióticos nos parâmetros cognitivos, inflamatórios e neurotróficos em idosos controles, com DCL e DA. Para sua execução, foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa sob nº 7.041.292, e registrado no Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos (ReBEC) sob o número RBR-9gccx5c. A pesquisa foi realizada com indivíduos com idade ≥ 60 anos, de ambos os sexos, residentes em instituições de longa permanência, com diagnóstico clínico de DCL ou DA, ou ausência deles para compor o grupo controle. No primeiro momento, também denominado tempo 1 (T1), foi aplicado questionário sociodemográfico, testes cognitivos e coleta de material biológico. Após isso, os idosos foram randomizados de forma aleatória recebendo cápsulas de placebo ou *blend* de probióticos. Após 12 semanas de tratamento todos, tempo 2 (T2), os testes foram repetidos, possibilitando assim um comparativo entre o pré- e pós-tratamento. A amostra foi composta por 53 indivíduos (16 controles, 18 DCL e 19 DA). Os idosos do grupo DA foram significativamente mais velhos, e houve uma homogeneidade entre os sexos. Quando comparado os resultados dos testes cognitivos aplicados (Miniexame do estado mental (MEEM), teste do desenho do relógio (TDR) e teste de fluência verbal (TFV) os idosos do grupo controle apresentaram escores mais altos e significativamente melhores do que os idosos com DCL ou DA. Nas análises de modelos lineares mistos a maior parte dos achados significativos se relacionou com a diferença de tempo, ou seja, T1 e T2, sem influência do tratamento. Foi observado então um aumento de IL-1 β , IL-6, TGF- β e uma diminuição de IL-4, IL-10, e BDNF quando comparado T1 com T2. Nas análises dos níveis da citocina TNF- α , e das neurotrofinas GDNF e NGF houve uma interação entre as variáveis tempo e tratamento, sendo em TNF- α e GDNF um aumento dos níveis desses marcadores no grupo controle suplementado com probiótico e em NGF a diferença esteve presente no grupo DCL. Com os resultados do presente estudo é possível concluir que o tempo possui influência nas alterações-chaves do envelhecimento, e em alguns casos como das neurotrofinas, GDNF e NGF, o probiótico teve uma tendência a elevar seus níveis. No entanto, a heterogeneidade entre os indivíduos e a necessidade de mais pesquisas limitam as conclusões definitivas. Os resultados destacam a importância de estudos personalizados para explorar o papel da microbiota intestinal na saúde cerebral.

Palavras-chave: Memória; Inflamação; Probióticos; Instituição de longa permanência; Declínio Cognitivo Leve; Doença de Alzheimer.

ABSTRACT

Population aging is growing, bringing with it changes associated with senescence or senility. Among the organs and systems most affected by this process, the central nervous system (CNS) stands out as one of the main ones, due to its vulnerability to functional and structural changes associated with aging. As a result, functional capacities progressively decline, and there are changes in cognitive capacity and memory. In addition, Alzheimer's disease (AD) is the dementia that most affects the elderly population, and its diagnosis can in many cases be preceded by Mild Cognitive Impairment (MCI). In addition to the noticeable changes, there are also changes that directly affect the CNS, such as increased levels of pro-inflammatory cytokines, microglial dysfunction, and neuronal death. The inflammatory process related to aging is well described, but in recent years, there has been an attempt to better understand the relationship between dysbiosis and consequent changes in the intestinal microbiota and these changes at the CNS level in aging. In addition to this hypothesis, probiotics are strength as a therapeutic strategy. Therefore, this study aimed to evaluate the effect of probiotics on cognitive, inflammatory, and neurotrophic parameters in elderly controls, with MCI and AD. For its study, it was approved by the Research Ethics Committee under No. 7,041,292 and registered in the Brazilian Registry of Clinical Trials (ReBEC) under number RBR-9gccx5c. The research was carried out with individuals aged ≥ 60 years, of both sexes, residents of long-term care facilities, with a clinical diagnosis of MCI or AD, or absence thereof to compose the control group. At the first moment, a sociodemographic questionnaire, cognitive tests, and collection of biological material were applied. After that, the elderly were randomly assigned to receive placebo capsules or a probiotic blend. After 12 weeks of treatment, all tests were repeated, thus allowing a comparison between pre- and post-treatment. The sample consisted of 53 individuals (16 controls, 18 MCI, and 19 AD). The elderly in the AD group were significantly older, and there was homogeneity between the sexes. When comparing the results of the applied cognitive tests (Mini Mental State Examination (MMSE), Clock Drawing Test (CDT) and Verbal Fluency Test (VFT), the elderly in the control group presented higher and significantly better scores than the elderly with MCI or AD. In the analysis of mixed linear models, most of the significant findings were related to the time difference, that is, 1st and 2nd evaluation, without influence of treatment. An increase in IL-1 β , IL-6, and TGF- β and a decrease in IL-4, IL-10, and BDNF were observed compared to T1 and T2. In the analysis of the levels of TNF- α , GDNF, and NGF, there was an interaction between the variables time and treatment, with an increase in TNF- α and GDNF levels in the control group supplemented with probiotics and in NGF the difference was in the MCI group. With the results of the present study, it is possible to conclude that time has an influence on the key changes of aging, and in some cases, such as of the neurotrophins, GDNF and NGF, the probiotics tended to increase their levels. However, heterogeneity between individuals and the need for further research limit definitive conclusions. The results highlight the importance of personalized studies to explore the role of gut microbiota in brain health.

Keywords: Memory; Inflammation; Probiotics; Long-term care facility; Mild Cognitive Impairment; Alzheimer's disease.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Comunicação no eixo intestino-cérebro: a conexão entre intestino e cérebro é mediada de forma bidirecional através do nervo vago. Quando há presença de disbiose, esta leva a ativação das células gliais como astrócitos e micróglia, aumentando a liberação de citocinas pró-inflamatórias (IL-6, TNF- α , IL-1 β) influenciando na permeabilidade intestinal e da barreira hematoencefálica, podendo levar a uma inflamação sistêmica. A alteração cerebral desencadeada pela disbiose pode estar associada com a neuroinflamação presente em doenças neurodegenerativas como a DA.....	29
Figura 2 - Mudanças na diversidade da microbiota ao longo da vida levam a uma diminuição de <i>Bifidobacterium</i> e <i>Lactobacillus</i> e um aumento da permeabilidade intestinal, liberação de citocinas pró-inflamatórias e um aumento de <i>Escherichia coli</i> e <i>Bacteroides</i> . A suplementação de probióticos possibilita um reequilíbrio na flora intestinal aumentando os <i>Bifidobacterium</i> e <i>Lactobacillus</i> e diminuindo <i>Escherichia coli</i> e <i>Bacteroides</i> , bem como as citocinas pró-inflamatórias.....	33
Figura 3 - Fluxograma do progresso da amostra através das fases do estudo.....	43
Figura 4 - Comparação conforme Teste Cognitivo MEEM.....	51
Figura 5 - Comparação conforme Teste Cognitivo TFV.....	51
Figura 6 - Comparação conforme Teste Cognitivo TDR.....	52
Figura 7 - Comparação conforme TNF- α	53
Figura 8 - Comparação conforme IL-1 β	54
Figura 9 - Comparação conforme IL-6.....	54
Figura 10 - Comparação da TGF- β com relação ao tratamento.....	55
Figura 11 - Comparação da IL-4 com relação ao tratamento.....	55
Figura 12 - Comparação da IL-10 com relação ao tratamento.....	56
Figura 13 - Comparação conforme BDNF.....	57
Figura 14 - Comparação conforme GDNF.....	58
Figura 15 - Comparação conforme NGF.....	58
Figura 16 - Comparação de algumas variáveis com os desfechos de cognição juntos.....	60
Figura 17 - Resultados das neurotrofinas.....	60
Figura 18 - Relação aos biomarcadores inflamatórios.....	61

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Caracterização sociodemográfica.....	44
Tabela 2 - Caracterização da saúde e bem-estar.....	47
Tabela 3 - Caracterização dos testes cognitivos, citocinas e neurotrofinas.....	48

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

APP	Proteína precursora amilóide
AVDs	Atividades de vida diária
BACE-1	β -secretase
BDNF	Fator neurotrófico derivado do cérebro
BHE	Barreira hematoencefálica
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
CONSORT	do inglês, <i>Consolidated Standards of Reporting Trials</i>
DA	Doença de Alzheimer
DAMPs	Detecção de padrões moleculares associados a danos
DCL	Declínio cognitivo leve
DM	Diabetes Mellitus
DP	Doença de Parkinson
GABA	Ácido gama-aminobutírico
GDNF	Fator neurotrófico derivado das células gliais
HAS	Hipertensão arterial sistêmica
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IL	Interleucina
ILPIs	Instituições de longa permanência de idosos
MEEM	Miniexame do estado mental
NFTs	Emaranhados neurofibrilares, (do inglês <i>neurofibrillary tangles</i>)
NGF	Fator de crescimento do nervo
NMDA	N-Metil D-Aspartato
OMS	Organização mundial da saúde
PAMPs	Padrões moleculares associados a patógenos
PRR	Receptores de reconhecimento de padrões
ReBEC	Registro Brasileiro de Ensaio Clínicos
SNA	Sistema nervoso autônomo
SNC	Sistema nervoso central
SOD	Superóxido dismutase
T1	Tempo 1

T2	Tempo 2
TDR	Teste do desenho do relógio
TFV	Teste de fluência verbal
TGI	Trato gastrointestinal
TLR-	Receptores <i>Toll like</i>
TNF- α	Fator de necrose tumoral alfa
TREM-2	Receptor exposto nas células mielóides 2
β A	β -amiloide

SUMÁRIO

RESUMO.....	12
ABSTRACT	13
LISTA DE FIGURAS.....	14
LISTA DE TABELAS.....	15
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	16
1. INTRODUÇÃO	20
1.1 ENVELHECIMENTO.....	20
1.2 MEMÓRIA E DECLÍNIO DAS FUNÇÕES COGNITIVAS NO ENVELHECIMENTO	22
1.3 DOENÇA DE ALZHEIMER	23
1.4 NEURODEGENERAÇÃO E NEUROINFLAMAÇÃO	25
1.5 EIXO MICROBIOTA- INTESTINO-CÉREBRO	27
1.6 PROBIÓTICOS	31
2 OBJETIVOS	35
2.1 OBJETIVO GERAL.....	35
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	35
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	36
3.1 DESENHO DO ESTUDO	36
3.2 PARTICIPANTES	36
3.2.1 Local do estudo	37
3.2.2 Critérios de inclusão.....	37
3.2.3 Critérios de exclusão	37
3.3 INTERVENÇÃO.....	37
3.3.1 Instrumentos de avaliação	38
3.3.2 Análise bioquímicas.....	39
3.4 DESFECHOS	40
3.4.1 Desfecho primário	40
3.4.2 Desfecho secundário	40
3.5 RANDOMIZAÇÃO	40
3.6 CEGAMENTO	40
3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	41
4 RESULTADOS	43
4.1 CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA QUANTO AOS DADOS SOCIODEMOGRÁFICOS E DE SAÚDE	43

4.2 EFEITOS LONGITUDINAIS DO TRATAMENTO EM CADA GRUPO: RESULTADOS DE MODELOS LINEARES MISTOS	50
5 DISCUSSÃO	63
6 CONCLUSÃO.....	72
REFERÊNCIAS	73
APÊNDICES	88
APÊNDICE A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	89
APÊNDICE B - QUESTIONÁRIO SÓCIODEMOGRÁFICO E DE SAÚDE	93
ANEXOS	98
ANEXO A – APROVAÇÃO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA EM SERES HUMANOS	99
ANEXO B – CARTA DE ACEITE RESIDENCIAL SÃO VICENTE	100
ANEXO C – CARTA DE ACEITE RESIDENCIAL PRIMAVERA.....	101
ANEXO D – CARTA DE ACEITE RESIDENCIAL NOVA BELLUNO.....	102
ANEXO E – CARTA DE ACEITE DO PROGRAMA DE ATENÇÃO MULTIDISCIPLINAR A SAÚDE DO IDOSO	103
ANEXO F – CARTA DE ACEITE DAS CLÍNICAS INTEGRADAS	104
ANEXO G -MINI EXAME DO ESTADO MENTAL (MEEM).....	105
ANEXO H -TESTE DO DESENHO DO RELÓGIO	106
ANEXO I – TESTE DE FLUÊNCIA VERBAL (ANIMAIS)	107
ANEXO J –.....	108
ANEXO K –	110
ANEXO L –.....	112

1. INTRODUÇÃO

1.1 ENVELHECIMENTO

O envelhecimento populacional está aumentando, e com isso a população idosa tem ampliado. De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), idoso é todo indivíduo com 60 anos ou mais, e segundo projeções do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) no Censo Demográfico em 2020, essa faixa etária, que representa 13% da população do país tende a dobrar nas próximas décadas (IBGE, 2020). Em termos mundiais, estimativas apontam para um crescimento de 34% da população idosa, passando de 1 bilhão em 2019 para 1,4 bilhão em 2050. No Brasil, esta expectativa de vida é de 76,5 anos em geral e para as mulheres já atingiu 80, anos (Desa, 2020; Bomfim, Silva, Camargos, 2022).

Com o envelhecimento surgem alterações no organismo, que são principalmente caracterizadas por uma perda progressiva da integridade fisiológica, levando ao comprometimento da função e ao aumento da vulnerabilidade a doenças. Todo esse processo é multifatorial e heterogêneo, podendo ou não estar relacionado com fatores genéticos (López-Otín *et al.*, 2013; Freitas, Py, 2016; López-Otín *et al.*, 2023).

As principais alterações fisiológicas foram descritas no artigo “*Hallmarks of aging: An expanding universe*” López-Otín *et al.* (2023) sendo elas: Instabilidade genômica, alterações nos telômeros, alterações epigenéticas, perda de proteostase, macroautofagia, desregulação dos nutrientes, disfunção mitocondrial, senescência celular, exaustão de células tronco, alterações intracelulares, inflamação crônica e disbiose (López-Otín *et al.*, 2023).

Juntamente com o envelhecimento e a maior susceptibilidade no acometimento de doenças, as doenças crônicas são as que mais acometem os idosos e tornaram-se um problema de saúde pública (Bektas *et al.*, 2018). Nos Estados Unidos da América (EUA), seis em cada 10 idosos apresentam alguma doença crônica, e alguns idosos chegam a apresentar mais de uma comorbidade. Isso pode levar a um declínio na qualidade de vida a longo prazo, e uma necessidade maior de cuidado desses indivíduos (Maresova *et al.*, 2019). As principais doenças crônicas que acometem essa população são as doenças cardiovasculares, diabetes mellitus (DM), hipertensão arterial sistêmica (HAS) e as demências, sendo a doença de Alzheimer (DA) a mais prevalente (Maresova *et al.*, 2019; Alzheimer’s Association *et al.*, 2024).

Dentre os órgãos e sistemas mais comprometidos, o Sistema Nervoso Central (SNC) é o sistema biológico mais atingido no processo de envelhecimento. Este sistema é responsável por comandar os nossos órgãos e sentidos (Freitas, Py, 2016). O envelhecimento cerebral é

caracterizado por mudanças moleculares, estruturais, citoesqueléticas e vasculares difusas (Halter *et al.*, 2017). Anatomicamente há perda cortical, degradação da matéria branca, redução dos giros e aumento dos ventrículos (Blinkouskaya, 2021). As capacidades funcionais declinam progressivamente com a idade e no caso do SNC há redução da capacidade cognitiva, memória, processamento de informações, coordenação motora e habilidades visuoespaciais (Mattson, Arumugan, 2018).

O que auxilia a manter as funções cerebrais ativas, com capacidades adaptativas e cognitivas é o que é chamado de neurogênese. A neurogênese é a capacidade de formação de novos neurônios, os quais são responsáveis pela transmissão de sinapses e consequentemente a aquisição de novas memórias (Burke, Barnes; 2006; Isaev, Stelmashook, Genrikhs; 2019). Mesmo em regiões cerebrais que comumente são mais acometidas pelo envelhecimento, como é o caso do córtex e hipocampo, estudos já demonstram que a neurogênese segue acontecendo, mesmo que de forma reduzida (Burke, Barnes, 2006; Isaev, Stelmashook, Genrikhs, 2019; Moreno-Jiménez *et al.*, 2019).

Contudo, para que a conexão entre os neurônios possa acontecer, precisa-se de neurotransmissores, que são mensageiros químicos liberados pelos neurônios, essenciais para os impulsos nervosos (Gordon, Levkowitz; 2021). Os principais neurotransmissores presentes no SNC são a acetilcolina, glutamato, ácido gama-aminobutírico (GABA), serotonina, dopamina e histamina. Esses neurotransmissores são os responsáveis por realizar a conexão entre o cérebro e a periferia (Haber, 1986; Homberg, 2002; Gordon, Levkowitz, 2021; Eiden *et al.*, 2022). Os níveis desses neurotransmissores e as conexões também podem ser acometidos pela idade biológica. A desregulação de um sistema de neurotransmissor está tipicamente ligada a um distúrbio neurológico específico, por exemplo, redução dos níveis de acetilcolina acontece na DA e a diminuição dos níveis de dopamina na doença de Parkinson (DP) (Freitas, Py, 2016; Nimgampalle *et al.*, 2023; Yang *et al.*, 2023).

Além da desregulação do sistema de neurotransmissores, o sistema imunológico está intimamente ligado a muitas alterações do envelhecimento. Franceschi *et al.* (2000) definiu o que hoje é chamamado de *inflammaging*, termo que define as alterações do sistema imunológico e o desbalanço das respostas inflamatórias com o decorrer da idade. Essas mudanças acometem tanto o sistema imune inato, quanto o sistema imune adaptativo (Moskalev, Stambler, Caruso, 2020; Fulop *et al.*, 2023).

1.2 MEMÓRIA E DECLÍNIO DAS FUNÇÕES COGNITIVAS NO ENVELHECIMENTO

Memória é a capacidade de armazenar e evocar informações armazenadas a partir de experiências vividas ou ouvidas, que com o avançar da idade vai se tornando um processo mais lento e dificultoso. No dia a dia a memória que mais é utilizada é a memória de trabalho, ou memória de curto prazo, que é capacidade de processamento e execução das memórias armazenadas (Becker, Morris, 1999; Izquierdo *et al.*, 2006; Roozendaal, Mcgaugh, 2011). Para uma memória ser então consolidada ela precisa de ativação celular e mudança na distribuição de representações de memória entre regiões cerebrais (Izquierdo, Medina, 1997; Frankland, Bontempi, 2005; Kandel, Dudai, Mayford, 2014; Cowan *et al.*, 2021). A memória de curto prazo ativa o córtex frontal e partir da transferência de informações sensoriais enviadas através do tálamo, ela começa a ser consolidada em memória de longo prazo, primeiramente ativando o hipocampo e na sequência córtex temporal e parietal para então serem consolidadas. Além disso, quando a formação da memória envolve a ativação da amígdala, principalmente em situações emocionalmente intensas, como é o caso de situações traumáticas, essas memórias tendem a ser mais fortes e duradouras. (Frankland, Bontempi, 2005; Roozendaal, McEwen, Chattarji, 2009; Sekeres, Winocur, Moscovitch, 2018;). Recentemente têm-se explorado outras áreas cerebrais que também apresentam alguma relação com a formação de memória. Como é o caso do cerebelo, que possui grande importância para as atividades sensorio motoras, mas também tem apresentado relevância com as funções cognitivas (Koziol *et al.*, 2014; Ashida *et al.*, 2019).

Com uma função imprescindível para o ser humano, quando a memória começa a falhar, e os déficits cognitivos começam a surgir, a qualidade de vida tende a diminuir (Kandel, Dudai, Mayford, 2014). Algumas dessas mudanças cognitivas, são vistas como naturais do processo de envelhecimento, como é o caso do processamento de informações, que tende a começar a declinar a partir da terceira década de vida (Salthouse, 2010; Salthouse, 2012; Harada, Natelson, Triebel, 2013). Além do processamento mais lentificado, a memória de trabalho também começa a sofrer influências no processo de envelhecimento (Salthouse *et al.*, 1989; Harda, Natelson, Triebel, 2013). Contudo, além das alterações de memória que podem ser consideradas normais clinicamente, há uma linha tênue que separa o que é normal do envelhecimento e uma fase inicial de declínio cognitivo leve (DCL) (Petersen *et al.*, 2014, Petersen, 2016). O DCL normalmente é descrito como a fase inicial dos declínios cognitivos que podem preceder ao surgimento de outras demências, sendo a DA a mais comum (Petersen, 2016; Sanford, 2017).

O quadro inicial de DCL, consiste em uma alteração leve em um ou mais domínios da cognição, sem comprometimento da funcionalidade do indivíduo. Além disso, até 85% dos indivíduos com DCL apresentam sintomas neuropsiquiátricos como irritabilidade, apatia, ansiedade e distúrbios do sono. Após essa fase do DCL, inicia-se a DA (Liss *et al.*, 2021).

É um desafio clínico separar o DCL da fase pré-clínica da DA, bem como da fase inicial de inúmeras outras demências que podem ser precedidas pelo diagnóstico de DCL (Jack *et al.*, 2011; Albert *et al.*, 2011; Petersen, 2016). Atualmente, o que auxilia a diferenciação entre esses diagnósticos, é a utilização dos biomarcadores e exames de imagem. Uma vez que o DCL se caracteriza por alterações cognitivas, as outras demências, incluindo DA, demência vascular, demência fronto-temporal, demência por corpos de Lewy, entre outras, apresentam alterações tomográficas e algumas delas com presença de biomarcadores, como é o caso da DA (Albert *et al.*, 2011; Petersen *et al.*, 2014; Petersen, 2016).

1.3 DOENÇA DE ALZHEIMER

A DA é uma doença neurodegenerativa, sendo a demência mais prevalente na população idosa. Ela afeta cerca de 44 milhões de pessoas em todo mundo e estima-se que esse valor triplique até 2050. Ainda, estima-se que 7 milhões de norte-americanos vivam com a doença (Qiu *et al.*, 2009; Robinson, Lee, Hane, 2017; Alzheimer 's Association, 2024). A DA é caracterizada por sintomas clínicos de declínio cognitivo, declínio funcional na realização das atividades de vida diária (AVDs), alterações comportamentais, desorientação visuoespacial entre outras disfunções neuropsiquiátricas (Alzheimer 's Association, 2024). Isso gera impacto não somente no indivíduo acometido, mas também nas famílias e na sociedade em âmbito psicológico, físico, social e econômico (Freitas, Py, 2016; Vickers *et al.*, 2016; Alzheimer 's Association, 2024). Conforme a idade em que os primeiros sintomas se iniciam, a DA pode ser classificada como precoce, quando ocorre antes dos 65 anos, ou tardia, quando aparece a partir dos 65 anos (Reitz, Mayeux, 2014).

A etiologia da DA ainda não está totalmente elucidada, contudo, sabe-se que envolve fatores ambientais e genéticos. Já as características fisiopatológicas contam com dois principais marcadores: a deposição das placas beta-amiloide (β A) e os emaranhados neurofibrilares, do inglês “*neurofibrillary tangles*” (NFT) (Blennow, Zetterberg, 2018). As placas β A ou placas senis são agregados extracelulares formadas de debris e restos celulares com um núcleo central proteico sólido constituído pelo peptídeo β A. A patogênese inicia com a clivagem da proteína

precursora amilóide (APP) por meio da via amiloidogênica (Machado, 2022; de Oliveira *et al.*, 2021).

Quando há o aparecimento das características fisiopatológicas da DA a APP, através da via amiloidogênica, é clivada pelas enzimas β -secretase (BACE-1) e γ -secretase (presenilina) produzindo filamentos insolúveis, chamados β A (Tiwari *et al.*, 2019; de Oliveira *et al.*, 2021). Os peptídeos β A de 40 resíduos são secretados fisiologicamente por diversos tipos celulares no processamento da APP, enquanto os fragmentos de 42 resíduos são mais hidrofóbicos e mais propensos a agregação, por isso, são considerados mais neurotóxicos (Gandy, 2005; Charney, Nestler, 2009; de Oliveira *et al.*, 2021). Esses filamentos muitas vezes podem ser degradados pelo cérebro, porém, evidências recentes sugerem que o início da DA envolve um desbalanço entre a produção e a degradação destes peptídeos, levando a alteração da homeostase, associada com deposição desses peptídeos e acúmulo formando as placas nas fendas sinápticas interrompendo as sinapses e a sinalização celular. Neste sentido, a via amiloidogênica encontra-se ativa de forma exacerbada e a via não-amiloidogênica, que produz peptídeos solúveis, não tóxicos, está reduzida (Hampel *et al.*, 2021; de Oliveira *et al.*, 2021; Orobets, Kseniia, Karamyshev, 2023).

A infiltração resultante do depósito das placas β A estimula a resposta da micróglia, secretando quimiocinas e citocinas pró-inflamatórias para eliminação das placas, porém, no caso da DA (de Oliveira *et al.*, 2021), diversos fatores, como o excesso de placas e a mutação no receptor expresso nas células mielóides 2 (TREM-2) levam a ineficácia dessa eliminação (Long, Holtzman, 2019; Tiwari *et al.*, 2019).

O peptídeo β A é neurotóxico quando se acumula em locais como o hipocampo, a amígdala e córtex. Ele estimula os astrócitos e micróglia, levando a alterações nos axônios, dendritos e perdas de sinapses, resultando em alterações cognitivas (Breijyeh, Karaman 2020). Apesar do peptídeo β A desencadear a cascata de eventos na DA, ele não necessariamente se correlaciona com a clínica e a lesão neuronal. Aparentemente a proteína tau possui um papel mais importante na doença, principalmente com a formação dos NFTs (Roda *et al.*, 2022).

Os NFTs são filamentos de proteína tau hiperfosforilada. A proteína tau organiza a tubulina neuronal em microtúbulos, estabilizando os mesmos. Os microtúbulos são importantes componentes do esqueleto neuronal, auxiliando no seu desenvolvimento e função. A fosforilação da tau é um processo fisiológico, porém, em condições patológicas como na DA há um desequilíbrio da tau-quinase levando a hiperfosforilação que predispõe a agregação, formando os NFTs (Ju, Tam, 2022). Eles estão presentes em diversos estágios durante a evolução da DA e possuem fases evolutivas já bem descritas (Breijyeh, Karaman 2020). De

forma concomitante a essas alterações, contribuindo com todas as alterações fisiopatológicas da DA, ocorre uma resposta inflamatória crônica, mediada principalmente por micróglias e astrócitos, desempenhando um papel central na amplificação nos danos cerebrais (de Oliveira *et al.*, 2021).

Em consequência a todas essas cascatas de alterações, até o momento, não existe tratamento farmacológico capaz de reverter os danos ou estagnar a DA (Bonfili *et al.*, 2017; Khan, Barve, Kumar, 2020). Os fármacos utilizados são divididos em duas categorias: (1) os inibidores da colinesterase, como o donepezila, a rivastigmina e a galantamina, que inibem a enzima acetilcolinesterase responsável por degradar acetilcolina, deste modo levando a um aumento dos níveis deste neurotransmissor de grande importância no aprendizado e memória; e (2) o antagonista parcial do receptor N-Metil D-aspartato (NMDA), a memantina, que bloqueia receptores NMDA de glutamato e diminui o acúmulo intracelular de cálcio, impedindo assim, a morte neuronal por excitotoxicidade glutamatérgica (Akbari *et al.*, 2016; Kobayashi *et al.*, 2019; Xiao *et al.*, 2020).

1.4 NEURODEGENERAÇÃO E NEUROINFLAMAÇÃO

É importante citar que esses eventos centrais desencadeiam outros que, concomitantemente com a inflamação, cooperam com a perda de neurônios, de sinapses e a neurodegeneração nas áreas cerebrais mais envolvidas com a memória e o aprendizado, principalmente o hipocampo e córtex frontal e temporal (Reitz, Mayeux, 2014; Freitas, Py, 2016; Long, Holtzman, 2019). No envelhecimento ocorrem alterações significativas nos fatores neurotróficos que são essenciais para a sobrevivência e plasticidade neuronal. Estes fatores são o fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF), o fator de crescimento nervoso (NGF) e o fator neurotrófico derivado da glia (GDNF) (Budni *et al.*, 2015). A diminuição desses fatores está associada a uma maior susceptibilidade às alterações no SNC, contudo a sinalização de BDNF e a relação com a DA é que está mais descrita (Arancio, Chao, 2007; Gao *et al.*, 2022). A diminuição nos níveis de BDNF ou a sua perda de função, apresenta relação direta com a agregação das placas β A e hiperfosforilação da proteína tau (Tanqueiro *et al.*, 2018; Wang *et al.*, 2019; Gao *et al.*, 2022). Com a via de sinalização de NGF estando relacionada com os receptores de BDNF, a alteração da funcionalidade de BDNF leva, conseqüentemente, à alteração na função e sinalização de NGF (Abdolahi *et al.*, 2022). Somado a essa cascata de alterações, o GDNF se relaciona de forma mais direta com o NGF, mas a sua diminuição ou

perda de função é mais descrita em outras doenças neurodegenerativas, como é o caso da Esclerose Múltipla (Razavi *et al.*, 2015; Abdolahi *et al.*, 2022).

Além da diminuição dos fatores neurotróficos o envolvimento da neuroinflamação no envelhecimento vem ganhando mais enfoque nos últimos anos, porque ao longo da vida há um acúmulo de danos, juntamente com a diminuição gradual na capacidade do corpo de reparo no processo de envelhecimento (López-Otín *et al.*, 2013; Yarbrow *et al.*, 2020; López-Otín *et al.*, 2023). Os macrófagos são as células que estão intimamente relacionados com o processo inflamatório, e sua desregulação com a idade correlaciona com o aumento dos processos inflamatórios no envelhecimento (Yarbrow *et al.*, 2020). Quando os macrófagos estão ativados ocorre um aumento na secreção de citocinas pró-inflamatórias, incluindo interleucina-6 (IL-6), fator de necrose tumoral- α (TNF- α), interleucina-1 beta (IL-1 β), o que é uma resposta comum do organismo, para o combate de patógenos. A ativação inflamatória do sistema imunológico pode ser desencadeada por meio da detecção de padrões moleculares associados a danos (DAMPs) ou padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs) ou receptores de reconhecimento de padrões (PRR). Contudo, no envelhecimento, essas citocinas estão constantemente sendo liberadas, porque há um desbalanço no controle pró-inflamatório e anti-inflamatório. Esse desbalanço se relaciona com a senescência, a desregulação da capacidade fagocitária dos macrófagos e, a deficiência na produção de trifosfato de adenosina (ATP) pelas mitocôndrias, bem como um aumento da produção de espécies reativas de oxigênio (Murray *et al.*, 2014; Rea *et al.*, 2018; Yarbrow *et al.*, 2020).

Estudos mostram que a maioria dos polimorfismos encontrados em indivíduos com DA são em genes envolvidos na imunidade inata (CR1, MS4A, CLU, ABCA7, EPHA1 e HLA-DRB5-HLA-DRB1) e em receptores microgliais, como CD33 e TREM-2 (Garcez *et al.*, 2017; Yang *et al.*, 2017; Garcez *et al.*, 2019). O aumento da inflamação pode ser detectado tanto no líquido cefalorraquidiano (LCR) quanto no sangue dos indivíduos com DA. Indivíduos com lesões cerebrais amiloides e alteração cognitiva, mostram aumento de quimiocinas pró-inflamatórias quando comparados com indivíduos saudáveis (Cheng *et al.*, 2021). Além disso, estudos têm demonstrado que o peptídeo β A pode ativar os PRR e consequentemente, o sistema imune inato (Bachstetter *et al.*, 2011; Lin *et al.*, 2013). A ativação imune gera inflamação através do TREM-2, conforme citado anteriormente, e através de outros como NLR e NLRP3, CD33, CD22 e CD68 (Stuart *et al.*, 2019; Chen *et al.*, 2021). Então, o acúmulo de β A leva a fagocitose do mesmo pela micróglia podendo levar à ativação microglial (microgliose) com liberação de citocinas pró-inflamatórias, hiperfosforilação da tau, disfunção da sinapse, perda de neurônios e comprometimento cognitivo. A micróglia disfuncional é menos capaz de

fagocitar β A e de inibir o aumento das placas β A e da hiperfosforilação da tau resultando em dano neuronal (Heckmann *et al.*, 2019; Long, Holtzman, 2019).

A microgliose envolve a formação do inflamassoma, um complexo proteico, entre as quais encontra-se o NLRP3. Após a fagocitose pela microglia, via receptores *Toll like* (TLR-2, -4 e -6), a β A ativa o inflamassoma NLRP3 levando à ativação da caspase-1 e maturação e liberação de IL-1 β . O inflamassoma NLRP3 é ativado em cérebros com DA e DCL, fazendo com que ocorra um aumento da liberação de IL-1 β nesses indivíduos (de Oliveira *et al.*, 2021).

Mesmo estando bem descrita, a inflamação crônica de baixo grau ou *inflammaging*, nos idosos, é algo recente, que só foi incluída no “*Hallmarks of aging*” de López-Otín na edição de 2023, juntamente com outros dois novos marcos, macroautofagia e disbiose (López-Otín *et al.*, 2023). O *inflammaging* e a disbiose podem ser correlacionados, uma vez que o aumento da inflamação leva a um aumento da liberação de citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias e aumento da permeabilidade da mucosa intestinal (Thevaranjan *et al.*, 2017; Kowalski, Mulak, 2019).

1.5 EIXO MICROBIOTA- INTESTINO-CÉREBRO

A microbiota intestinal, também conhecida como flora intestinal, consiste em uma variedade de espécies de microrganismos que vivem no trato gastrointestinal (TGI). A microbiota é individual e possui características únicas para cada ser vivo. Cada indivíduo possui um grupo particular de microrganismos 10 vezes maior que o número de células humanas, e esses microrganismos coletivamente contêm mais de 100 vezes o número de genes humanos, sendo que a microbiota do adulto chega a pesar até 1 kg, sendo que a maior parte dela se concentra no cólon (Gill *et al.*, 2006; Handley, Dube, Miller, 2006; Bonaz *et al.*, 2018).

As funções do intestino vão além de um tubo absorptivo que transporta, digere, absorve e excreta nutrientes e fluidos, esse órgão também está associado aos sistemas imunológico, endócrino e neurológico (Wang, 2016). O tecido linfático da mucosa intestinal é considerado o maior e principal órgão imunológico, responsável por 70-80% do sistema imunológico do corpo humano (Sharon *et al.*, 2016; Kim *et al.*, 2018; Snigdha *et al.*, 2022).

Em indivíduos adultos, na microbiota intestinal prevalece o filo *Firmicutes* (51%), que inclui os grupos *Clostridium cocoides* e *Clostridium leptum* e o gênero *Lactobacillus* e o filo *Bacteroidetes* (48%), que inclui os gêneros *Bacteroides* e *Prevotella*. Filos menos populosos constituem o restante da população, como: *Proteobacteria*, *Fusobacteria*, *Spirochaetae*, *Verrucomicrobia*, *Lentisphaerae* e *Actinobacteria*, incluindo o gênero *Bifidobacteria* (Westfall

et al., 2017). O TGI é relativamente equilibrado em quantidade e diversidade, e alterações nesses fatores estão relacionadas ao desenvolvimento de múltiplas doenças (Sharon *et al.*, 2016).

Mudanças na flora microbiana podem acontecer ao longo da vida por alguns fatores externos como maus hábitos alimentares ou uma dieta pobre em nutrientes, estresse e consumo excessivo de antibióticos. Essas alterações podem ocasionar no surgimento de algumas doenças como obesidade, câncer colorretal, doença inflamatória intestinal, DM do tipo 2 e até doenças neurodegenerativas (Mayer *et al.*, 2014; Quigley, 2017; Angelucci *et al.*, 2019; Megur *et al.*, 2020). Além dos fatores já citados que podem influenciar na microbiota intestinal, ainda tenta-se compreender se só o envelhecimento não seria suficiente para causar alterações na microbiota, sem se relacionar com todos os outros fatores externos (Quigley, 2017; Angelucci *et al.*, 2019).

Com todas essas alterações o eixo intestino-cérebro tem-se mostrado cada vez mais um alvo promissor para se compreender a sua relação com distúrbios psicológicos e déficit cognitivo (Cryan *et al.*, 2019; Doifode *et al.*, 2021). A alteração na microbiota pode influenciar os neurotransmissores e afetar a comunicação do eixo intestino-cérebro. A conexão eixo intestino-cérebro é complexa e bidirecional, envolvendo vias imunes, endócrinas e neurais (Megur *et al.*, 2020).

A comunicação do intestino com o SNC acontece com auxílio do nervo vago que conecta os neurônios intestinais com o SNC. O nervo vago conecta-se com a medula espinhal, do sistema nervoso autônomo (SNA) e fibras eferentes e aferentes do tronco cerebral, permitindo assim que o tronco cerebral controle diversas funções intestinais (Bonaz *et al.*, 2018; Megur *et al.*, 2020; Morais, Schreiber, Mazmanian, 2021; Ahmed *et al.*, 2022). Além do nervo vago, substâncias químicas intestinais também conseguem atravessar a barreira hematoencefálica (BHE) e conectar-se com o SNC, através da circulação sanguínea. A BHE e a mucosa intestinal permitem a passagem de algumas moléculas como citocinas que influenciam tanto no cérebro quanto no intestino (Collins, Surette, Bercik, 2012; Thevaranjan *et al.*, 2017; Bonaz *et al.*, 2018; Megur *et al.*, 2020; Doifode *et al.*, 2021; Ahmed *et al.*, 2022).

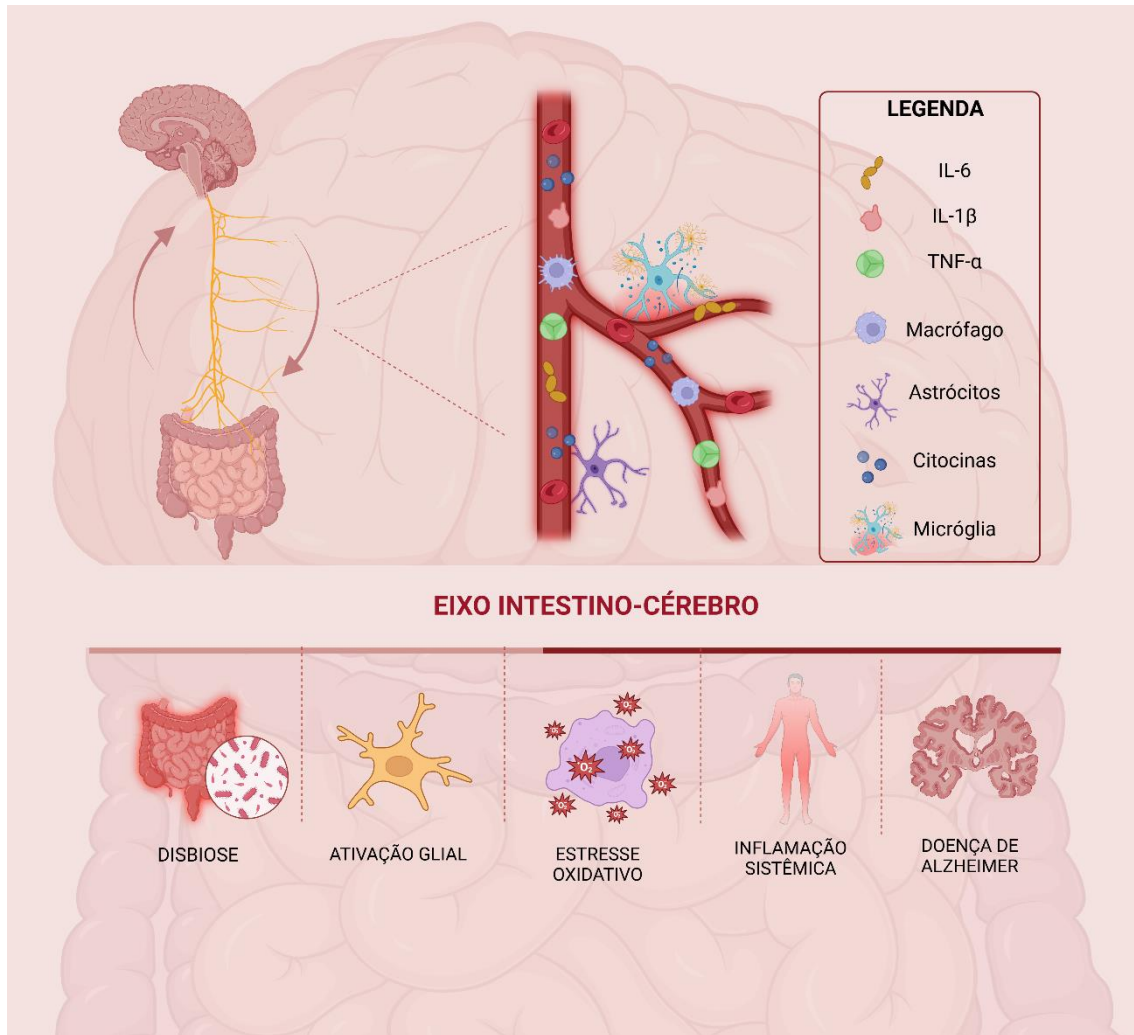
A exposição crônica à inflamação leva então à alteração dos macrófagos, e esta disfunção é uma potente produtora de citocinas pró-inflamatórias, tais como IL-6, TNF- α e IL-1 β , o que contribui para ativação das células gliais, astrócitos e micróglia, sendo que a micróglia apresenta maior vulnerabilidade a alterações da microbiota, podendo levar a sua disfunção ou morte. Essas alterações microgliais, aumentam com o envelhecimento, pois neste estado fisiológico há um aumento de metabólitos tóxicos intestinais (Thevaranjan *et al.*, 2017; Teng *et*

al., 2022; Huang *et al.*, 2023; Loh *et al.*, 2024). Estudos recentes mostram uma forte relação entre ativação microglial e astrocitária com a neuroinflamação e neurodegeneração (Lee, Wheeler, Quintana, 2022; Patani, Hardingham, Liddelow, 2023).

A microbiota desempenha um papel vital na regulação de doenças. Em um organismo saudável, os microrganismos regulam o pH digestivo e criam uma barreira protetora contra agentes infecciosos. Ela está presente no corpo humano desde o nascimento e pode variar de acordo com a idade (Angelucci *et al.*, 2019; Megur *et al.*, 2020). Fatores ambientais também podem influenciá-la. Claesson *et al.* (2012) mostraram que idosos que vivem em instituições de longa permanência (ILPIs), ou na comunidade, apresentaram diferenças na flora intestinal, sendo que os residentes de ILPIs apresentaram diminuição na microbiota intestinal.

Os microorganismos intestinais não envelhecem, mas as incidências de comorbidades, disbiose e inflamação associadas à microbiota intestinal aumentam à medida que o hospedeiro envelhece. Foi observado que em indivíduos com DA, a microbiota apresenta menores níveis de bactérias e diminuição dos níveis de butirato, o que deixa a mucosa intestinal mais permeável, o que pode levar ao aumento da inflamação cerebral e, conseqüentemente, à perda cognitiva e doenças como DA (Franceschi *et al.*, 2019; Megur *et al.*, 2020; González, Butler, Barrientos, 2021). Na Fig. 1 é possível visualizar essa comunicação entre o eixo microbiota-intestino-cérebro mediada principalmente pelo nervo vago, mas também influenciada pelos fatores que foram citados ao longo desse tópico.

Figura 1 - Comunicação no eixo intestino-cérebro: a conexão entre intestino e cérebro é mediada de forma bidirecional através do nervo vago. Quando há presença de disbiose, esta leva a ativação das células gliais como astrócitos e micróglia, aumentando a liberação de citocinas pró-inflamatórias (IL-6, TNF- α , IL-1 β) influenciando na permeabilidade intestinal e da barreira hematoencefálica, podendo levar a uma inflamação sistêmica. A alteração cerebral desencadeada pela disbiose pode estar associada com a neuroinflamação presente em doenças neurodegenerativas como a DA.



Fonte: Do Autor, 2025.

A primeira correlação entre DA e microbiota intestinal foi dada a partir da inflamação. Alterações na microbiota acontecem quando há um aumento na permeabilidade intestinal e assim há um aumento de citocinas pró-inflamatórias (Thevaranjan *et al.*, 2017; Megur *et al.*, 2020; Moraes, Schreiber, Mazmanian, 2021). Além do aumento da permeabilidade e de citocinas pró-inflamatórias, um estudo de Cattaneo *et al.* (2017) mostrou que idosos com DA possuem aumento de bactérias pró-inflamatórias e redução de bactérias anti-inflamatórias quando comparados com idosos saudáveis, corroborando com esta hipótese. Além disso, bactérias como *Escherichia coli*, *Salmonella enterica*, *Bacillus subtilis*, *Mycobacterium Tuberculosis*, e *Staphylococcus aureus* produzem fibras amilóides extracelulares. Estes peptídeos amiloides são diferentes dos peptídeos humanos em sua estrutura primária, porém possuem semelhanças em sua estrutura terciária. Essa semelhança pode ativar o sistema imunológico, predispondo a formação de peptídeos amiloides no cérebro do indivíduo. Estudos mostraram uma associação entre a composição da microbiota intestinal e os níveis amiloides

no cérebro (Megur *et al.*, 2020; Doifode *et al.*, 2021; Dissanayaka *et al.*, 2024). Adicionalmente, um microbioma intestinal com maior presença de *Fusicatenibacter*, *Blautia* e *Dorea* ou *Firmicutes*, *Proteobacteria* e *Bacteroidetes* está presente em indivíduos com DA ou DCL e pode estar associado a pontuações mais baixas em testes cognitivos e a um aumento de citocinas pró-inflamatórias, como IL-6, CXCL2, NLRP3 e IL-1 β (Cattaneo *et al.*, 2017; Forster *et al.*, 2019; Dissanayaka *et al.*, 2024).

Corroborando com essas hipóteses, um estudo realizado com camundongos entre 18-22 meses de vida, *germe-free*, que não apresentavam inflamação, demonstrou que só com o envelhecimento a colonização desses animais modificou e impulsionou a disbiose e um aumento da permeabilidade intestinal, principalmente mediada por IL-6 (Thevaranjan *et al.*, 2017). Em adição a essas hipóteses, em estudo de Sun *et al.*, (2020) os pesquisadores injetaram βA_{1-42} na parede gástrica e um ano após foi observado a marcação desses oligômeros βA_{1-42} no nervo vago e no cérebro desses camundongos. Além da presença de βA_{1-42} , os animais apresentaram déficit cognitivo, corroborando com a hipótese da relação intestino-cérebro-DA.

A presença de disbiose sugere efeitos negativos na função cerebral e no comportamento do hospedeiro, sugerindo ter papel potencial no desenvolvimento de doenças neurodegenerativas, tais como DP e DA. Essa correlação inclui depósito de A β , neuroinflamação, estresse oxidativo e ativação glial. Somado a isso, indivíduos com disbiose, dieta pobre e estilo de vida sedentário têm risco aumentado para o desenvolvimento da DA (Haran *et al.*, 2019; Guo *et al.*, 2021; Nguyen *et al.*, 2023).

Apesar de várias hipóteses para DA, como a hipótese amiloide, proteína tau, inflamação e outras, a disbiose surgiu como um mecanismo provável que corrobora essas hipóteses (Kesika *et al.*, 2021; Nguyen *et al.*, 2023).

1.6 PROBIÓTICOS

Probióticos são microrganismos vivos que conferem benefícios à saúde do hospedeiro quando administrados em quantidades adequadas, possivelmente através de seus efeitos anti-inflamatórios ou antioxidantes (Wallace, Milav, 2017). Recentemente, alguns probióticos mostraram influenciar o SNC e o comportamento através do eixo intestino-cérebro (Den *et al.*, 2020).

As bactérias envolvidas na microbioma intestinal são variáveis para cada pessoa, mas foi demonstrado que indivíduos com DA têm uma prevalência de bactérias pró-inflamatórias, como *Bacteroidetes*, e uma redução de bactérias anti-inflamatórias, como *Bifidobacterium*

(Vogt *et al.*, 2017; Kobayashi *et al.*, 2019). Ainda não está claro se essa mudança na microbiota intestinal ocorre antes ou depois do desenvolvimento da doença. No entanto, ela influencia a inflamação sistêmica e do SNC, impactando na cognição do indivíduo, o que pode acelerar o progresso da doença (Megur *et al.*, 2020).

O impacto dos probióticos no início dos sintomas e na progressão da DA ainda não está claro. Até o momento, existem poucos ensaios clínicos, que foram feitos em indivíduos com DA. O estudo feito por Akbari *et al.* (2016) mostrou que suplementação com probiótico contendo *Lactobacillus acidophilus*, *L. casei*, *Bifidobacterium* e *L. fermentum* melhorou a função cognitiva e a função metabólica de indivíduos com DA. Da mesma forma, Agahi *et al.* (2018) obtiveram resultados semelhantes, os pesquisadores notaram melhora na função cognitiva nos indivíduos com DA tratados com probiótico.

Para avaliar a influência da microbiota intestinal, alguns estudos fizeram experimentos com pré e probióticos. A maioria dos estudos se concentra em probióticos com bactérias do filo *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*, uma vez que são conhecidas por suas propriedades anti-inflamatórias (Wu *et al.*, 2023; Zhu *et al.*, 2023). Além disso, a partir de estudos com animais, não é difícil observar que os probióticos exercem uma influência importante no SNC (Lee *et al.*, 2023; Kwon *et al.*, 2023).

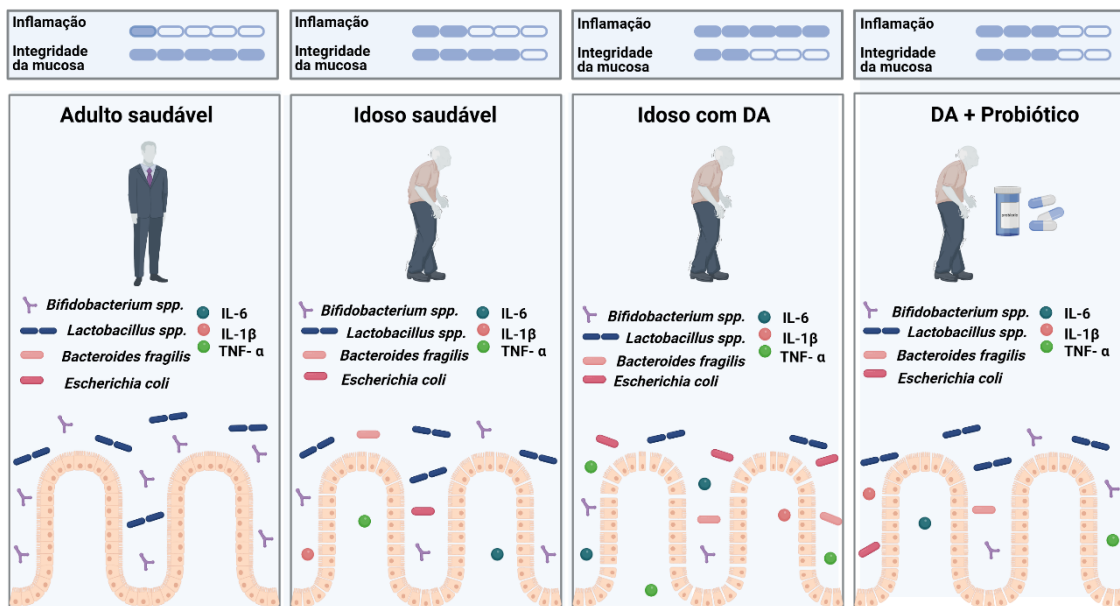
Ensaio clínicos também mostraram impactos positivos na saúde do SNC após tratamento com probióticos. O tratamento com *Bifidobacterium breve* por 16 semanas melhorou a pontuação total em escores cognitivos, evidenciando a influência do probiótico na cognição humana (Xiao *et al.*, 2020). Com a mesma bactéria, após tratamento por 24 semanas, os idosos apresentaram melhora nos subdomínios do ADAS-Jcog e mini-exame do estado mental (MEEM) (Asaoka *et al.*, 2022). Outro estudo, com *Bifidobacterium longum*, também demonstrou que o tratamento com o probiótico por apenas oito semanas aumentou significativamente a pontuação dos idosos nos testes cognitivos (Shi *et al.*, 2022).

Alguns desses estudos se concentraram exclusivamente em pontuações cognitivas e não analisaram as características bioquímicas dos indivíduos, mas, outros estudos fizeram análises bioquímicas e encontraram diferenças importantes. Em um estudo com população taiwanesa, idosos tomaram o probiótico com *Lactobacillus plantarum*, *Bifidobacterium bifidum*, *B. animalis*, *B. breve* e *B. longum* por 12 semanas, e foi observado que, embora os indivíduos não apresentassem diferença no desempenho cognitivo, houve aumento dos níveis do fator BDNF e superóxido dismutase (SOD) no soro dos indivíduos, bem como diminuição dos níveis de IL-1 β , malondialdeído (MDA), cortisol e teor de carbonilação de proteínas (Hsu *et al.*, 2023). De acordo com este estudo, também foi relatado que idosos tratados com um probiótico composto

por *B. bifidum* e *B. longum* por 12 semanas, apresentaram redução de bactérias pró-inflamatórias e aumento dos níveis séricos de BDNF (Kim *et al.*, 2021). Para mais uma vez afirmar a correlação entre a microbiota cerebral e intestinal, outro estudo encontrou aumento dos níveis de BDNF em idosos com DCL após tratamento probiótico por 12 semanas (Fei *et al.*, 2023).

Assim, na Fig. 2, explica-se os benefícios dos probióticos em idosos com DA a partir de estudos clínicos. É evidente que o tratamento com probióticos pode exercer um efeito positivo na saúde cerebral e na função cognitiva. Especialmente probióticos relacionados a bactérias anti-inflamatórias, como *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*. No entanto, a partir desses achados mais estudos são necessários para compreender melhor os mecanismos específicos nos quais as bactérias atuam para aumentar neurotrofinas, modular a liberação de citocinas pró- e anti-inflamatórias, bem como melhorar o desempenho cognitivo.

Figura 2 - Mudanças na diversidade da microbiota ao longo da vida levam a uma diminuição de *Bifidobacterium* e *Lactobacillus* e um aumento da permeabilidade intestinal, liberação de citocinas pró-inflamatórias e um aumento de *Escherichia coli* e *Bacteroides*. A suplementação de probióticos possibilita um reequilíbrio na flora intestinal aumentando os *Bifidobacterium* e *Lactobacillus* e diminuindo *Escherichia coli* e *Bacteroides*, bem como as citocinas pró-inflamatórias.



Fonte: Do Autor, 2025.

A partir disso, neste estudo visa-se compreender melhor a correlação do uso de um *blend* de probióticos composto por *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium bifidum* e *Bifidobacterium breve*, controlado pelo uso de placebo, com relação a cognição, mediadores inflamatórios e níveis de fatores neurotróficos.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o efeito de probióticos em parâmetros cognitivos e em níveis de mediadores inflamatórios e fatores neurotróficos de idosos controle, com DCL e DA.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a. Analisar o perfil sociodemográfico e clínico dos indivíduos com DCL, DA e controle;
- b. Avaliar a cognição antes e após o tratamento com probióticos em indivíduos com DCL, DA e indivíduos controle;
- c. Verificar os níveis das citocinas TNF- α , IL-1 β , IL-6, TGF- β , IL-4 e IL-10 antes e após o tratamento com probióticos no sangue periférico de indivíduos com DCL, DA e controle;
- d. Verificar os níveis das neurotrofinas BDNF, NGF, GDNF antes e após o tratamento com probióticos no sangue periférico de indivíduos com DCL, DA e controle.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 DESENHO DO ESTUDO

Este estudo é um ensaio clínico randomizado, triplo cego e controlado por placebo, do tipo longitudinal. Esta pesquisa faz parte de um projeto maior intitulado “Sinalização do eixo intestino-cérebro em indivíduos com DCL ou DA residentes no Sul do Brasil” que foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade do Extremo Sul Catarinense (parecer nº 7.041.292) (ANEXO A) e o seu relato foi pautado seguindo as recomendações do *Consolidated Standards of Reporting Trials* (CONSORT) (Schulz *et al.*, 2010). Este ensaio clínico foi registrado no Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos (ReBEC) sob o número RBR-9gccx5c. Toda a pesquisa seguiu os princípios éticos estabelecidos na Resolução 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde.

Antes da participação, todos os indivíduos foram informados sobre os objetivos da pesquisa, benefícios, possíveis riscos e desconfortos que poderiam estar associados ao estudo (Brasil, 2012). Aqueles que aceitaram participar assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (APÊNDICE A), recebendo uma cópia do documento. Os dados da pesquisa foram confidenciais.

A coleta de dados ocorreu em dois momentos, a primeira coleta, que também pode-se chamar de tempo 1 (T1), foi onde foi coletado de todos os participantes os testes específicos e material biológico. Também foi realizada a randomização dos indivíduos entre tratamento placebo e probiótico. Após 12 semanas, foi realizada a segunda coleta ou o que também pode-se chamar de tempo 2 (T2), realizando novamente as mesmas coletas da etapa 1, para então gerar uma análise comparativa de antes e depois com os indivíduos.

3.2 PARTICIPANTES

O estudo avaliou 69 idosos com idade igual ou superior a 60 anos, divididos em três grupos: indivíduos (1) sem diagnóstico de alterações cognitivas (controle), (2) com DA e (3) DCL. Os participantes foram recrutados a partir dos critérios de elegibilidade e com base no diagnóstico médico. Os idosos do grupo controle foram selecionados entre aqueles que atendiam aos critérios de inclusão, mas não apresentavam diagnóstico de DA ou DCL.

3.2.1 Local do estudo

Os participantes foram recrutados em ILPIs nos municípios de Criciúma e Siderópolis – SC (ANEXOS B, C, D, E e F). Foram recrutados 69 idosos com DA, DCL ou controle, todos residentes nas ILPIs participantes.

3.2.2 Critérios de inclusão

- Indivíduos de ambos os sexos, residentes de ILPIs dos municípios do Sul do Brasil;
- Indivíduos que aceitaram participar do estudo e assinaram o TCLE;
- Idade igual ou maior a 60 anos;
- Alimentação por via oral;
- Nível cognitivo suficiente para responder os questionários.

3.2.3 Critérios de exclusão

- Deficiência visual parcial ou total;
- Deficiência auditiva severa e profunda;
- Diagnóstico de transtornos psiquiátricos gerais;
- Não possuir condições de responder os questionários de forma independente;
- Possuir doenças no trato gastrointestinal;
- Diagnóstico neurológico compatível com síndromes ou malformações;
- Estar fazendo uso de antibiótico;
- Infecção viral recente.

3.3 INTERVENÇÃO

A intervenção do estudo consistiu na administração de uma formulação de probióticos em cápsulas. Essa formulação foi um *blend* de probióticos, incluindo *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium bifidum* e *Bifidobacterium breve*, com concentração de 1×10^9 UFC/mL. As cápsulas de intervenção foram indistinguíveis das cápsulas de placebo, que continham apenas maltodextrina. Os probióticos utilizados foram adquiridos de uma fonte confiável, fornecidos pela empresa Gabbia Biotecnologia, devidamente

autorizada pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), que segue rigorosamente as diretrizes de controle de qualidade estabelecidas.

As cápsulas foram entregues presencialmente aos participantes em dois momentos: no início do estudo, em que foram fornecidas 45 cápsulas de probiótico ou placebo e, após 45 dias de intervenção, em que foram entregues as restantes 45 unidades, totalizando 12 semanas de tratamento. As cápsulas tinham aparência, cor, cheiro, tamanho e embalagem idênticos para ambos os grupos. A única diferença nos pacotes era a identificação externa, sendo um rotulado como “grupo A” e o outro como “grupo B”. Durante todo o período do estudo, os participantes foram orientados a manter seus hábitos dietéticos e de estilo de vida, sem alteração no padrão alimentar.

3.3.1 Instrumentos de avaliação

Questionário Sociodemográfico: Instrumento elaborado pelos pesquisadores. Esse questionário possui variáveis específicas para cada área investigada com o objetivo de coletar informações acerca das condições sociais, demográficas, econômicas e de saúde dos idosos entrevistados, como por exemplo, sexo, idade, escolaridade, histórico de doenças e estado civil. O questionário possui variáveis específicas para cada área investigada (APÊNDICE B).

Mini Exame do Estado Mental (MEEM): foi elaborado por Folslein, Mchughc, (1975) com o objetivo de substituir testes de inteligência muito longos para a população idosa. É considerado “mini” segundo os autores, pois possui apenas 7 questões as quais são respondidas em um intervalo de tempo de 5 a 10 min. Além disso, estudos de validação e avaliação no Brasil, vem pesquisando a adaptando este instrumento para a população brasileira, (Brucki, et al., 2003; Bertolucci et al., 1994). Por ser um teste utilizado largamente, principalmente em pesquisa, ele permite a avaliação da função cognitiva e o rastreamento de estágios demenciais, e deve ser utilizado considerando os pontos de corte: analfabetos ≥ 20 ; 1 a 4 anos de estudo ≥ 25 ; 5 a 8 anos de estudo ≥ 27 ; 9 a 11 anos de estudo ≥ 28 ; > 11 anos de estudo, 29 pontos (Brucki *et al.*, 2003) (ANEXO G).

Teste do desenho do relógio (TDR): esse teste pode ser complementar para o MEEM e proporcionar um avanço significativo na detecção e monitoramento da função cognitiva (Sunderland *et al.*, 1989; Kato *et al.*, 2013). Além disso, também pode ser utilizado como rastreio clínico no auxílio do diagnóstico de demência, bem como na avaliação da progressão da doença, pois investiga Memória Visual; Habilidades Visuoespaciais; Funções Executivas e Pensamento Abstrato (Sunderland *et al.*, 1989; Hamdan, 2008) (ANEXO H).

Teste de fluência verbal (TFV): é um teste rápido e fácil, que avalia busca e recuperação de dados, habilidades de organização, autorregulação e memória operacional, porém, avalia apenas a fluência verbal (Arahamian *et al.*, 2019). Foi adaptado e normatizado no Brasil por Brucki *et al.* (1997), sendo em sua aplicação solicitado ao participante que nomeie o maior número de animais em 1 minuto, sendo cronometrado o tempo. Não possui interferência da idade, sendo adequado a população longeva, porém, possui interferência da escolaridade, sendo necessário ajuste dos pontos de corte conforme anos de estudo (Brucki *et al.*, 1997) (ANEXO I).

3.3.2 Análise bioquímicas

Análise dos níveis séricos de citocinas e neurotrofinas: Primeiramente foi realizada a coleta, tanto em T1 quanto em T2, de sangue total, o qual foi transferido para o tubo sem aditivo, onde na sequência era realizada a centrifugação a 3.500 rpm por 10 min. Após a centrifugação o soro foi colocado em alíquotas de eppendorfs e armazenado em freezer -20°C até o momento em que foram realizadas as dosagens bioquímicas. A quantificação das citocinas (IL-1 β , TNF- α , IL-6, IL-4, IL-10 e TGF- β) foi realizada utilizando um kit de imunoenensaio enzimático ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*) da marca Invitrogen (Invitrogen, Thermo Fisher Scientific, EUA), e neurotrofinas BDNF, NGF e GDNF a partir da marca R&D Systems (R&D Systems, Minneapolis, MN, USA) conforme as recomendações do fabricante. As placas de microtitulação (96 poços de fundo plano) foram incubadas durante a noite com o anticorpo de captura em -8°C. Posteriormente, as placas foram lavadas três vezes com tampão fosfato de lavagem, e em seguida, foram bloqueadas com uma solução de tampão fosfato com albumina 1% durante 1 ou 2 horas, dependendo da recomendação do kit, em temperatura ambiente. Após, foram incubadas as amostras homogeneizadas e a curva padrão, diluídas em solução tampão, e estas também ficaram incubadas em -8°C até o dia seguinte. No 3º e último dia, as placas foram lavadas três vezes com tampão de lavagem, e em seguida, incubadas com anticorpo de detecção por mais 1 ou 2 horas também em temperatura ambiente. Depois das lavagens, foi incubado uma peroxidase conjugada com estreptavidina por 20 ou 30 minutos e, após, o substrato (peróxido de hidrogênio e tetrametilbenzidina, 1:1) por mais 15 ou 20 minutos, e a reação foi finalizada pela adição de ácido sulfúrico 2N. As leituras das placas foram realizadas em espectrofotômetro para microplacas, com comprimento de onda, de 450nm. Os resultados foram expressos em pg/mL com base na curva padrão gerada a partir dos padrões fornecidos pelo kit.

3.4 DESFECHOS

3.4.1 Desfecho primário

A avaliação da cognição, avaliada pelos testes de MEEM, TFV e TDR compuseram a variável de desfecho primário deste estudo, sendo cada um dos testes analisados de forma independente.

3.4.2 Desfecho secundário

O desfecho secundário foi a análise das citocinas (IL-1 β , TNF- α , IL-6, IL-4, IL-10 e TGF- β) e neurotrofinas (BDNF, NGF e GDNF) dos indivíduos participantes deste ensaio clínico. Cada um dos marcadores avaliados também foi analisado de forma independente.

3.5 RANDOMIZAÇÃO

Os voluntários foram randomizados para receberem probióticos ou placebo. A randomização foi realizada por um membro da equipe de pesquisa, por meio de uma tabela de randomização simples, e os grupos foram definidos com base em envelopes lacrados contendo a designação do grupo de intervenção. Os participantes foram alocados em cada um dos grupos (probiótico ou placebo) em uma proporção de 1:1. Após a determinação da elegibilidade e a assinatura do TCLE, cada indivíduo recebeu um envelope contendo as cápsulas com a identificação do grupo de intervenção, "grupo A" ou "grupo B".

3.6 CEGAMENTO

O estudo foi realizado no formato triplo-cego, garantindo que os participantes, os responsáveis pela coleta de dados e os avaliadores dos desfechos não tivessem conhecimento da alocação dos tratamentos. O processo de cegamento foi implementado conforme descrito a seguir:

- Participantes: as cápsulas tinham a aparência (cor, forma e tamanho), o cheiro e a embalagem idênticas para os dois grupos (probiótico e placebo). A única diferença nos pacotes era a identificação externa, sendo um rotulado como “grupo A” e o outro como “grupo B”.

- Responsáveis pela administração das cápsulas e coleta de dados: as cápsulas foram distribuídas de forma randomizada em “grupo A” e “grupo B”. Esse procedimento assegurou que os responsáveis pela administração não soubessem qual tratamento estava sendo atribuído.
- Avaliadores dos desfechos: todas as avaliações foram realizadas por profissionais cegos à alocação dos grupos. As análises estatísticas foram conduzidas sem identificação dos grupos, utilizando apenas os códigos previamente estabelecidos (“grupo A” e “grupo B”).

3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As análises estatísticas foram realizadas utilizando o software R (R Foundation for Statistical Computing, Viena, Áustria). Teste de ANOVA foi utilizado para avaliar as diferenças entre os grupos (controle X DA X DCL) com relação às variáveis demográficas, caracterização de saúde e análise dos desfechos quando contínuas e qui-quadrado quando categóricas. Quando significativas, análises *post hoc* (teste t) foram realizadas entre os grupos (controle x DA, controle X DCL, DA x DCL). Também foram utilizados testes paramétricos (Teste T pareado, *Student T-test*) para variáveis com distribuição normal e testes não paramétricos (*Wilcoxon signed-rank test*) para variáveis com distribuição não normal, e comparar as condições de tratamento (placebo x probiótico) com relação aos desfechos no T1 e no T2 (resultados em anexo).

Análises longitudinais: Análises longitudinais: primeiro, uma série de modelos lineares mistos foi aplicada (em T1 e T2) (Gill, 2000). Os preditores (efeitos fixos) avaliados foram grupos (probiótico e placebo), tempo (ou seja, variável fictícia com níveis "pré-tratamento" e "pós-tratamento") e interação tempo-tratamento. Um efeito de interceptação aleatória também foi modelado para cada participante, permitindo-nos controlar as diferenças médias individuais na linha de base (Harrison et al., 2018). Comparações *post hoc* adicionais foram realizadas usando testes t de *Student* e os tamanhos dos efeitos foram calculados pelo coeficiente de correlação de *Pearson* ($r < 0,10$ tamanho do efeito pequeno; $r < 0,30$ tamanho do efeito médio; $r < 0,50$ tamanho do efeito grande) (Cohen, 1992). Todas as variáveis significativas consideraram um nível de significância de 5% ($p < 0,05$). Para então finalizar a apresentação dos resultados deste estudo, e compreender de forma mais clara e intuitiva os achados do presente estudo, foi realizada a análise de partição de variância (APV) para investigar de que forma a variabilidade de um conjunto de dados (testes cognitivos, citocinas e neurotrofinas), é explicado por diferentes fontes. É possível então compreender qual a porcentagem da

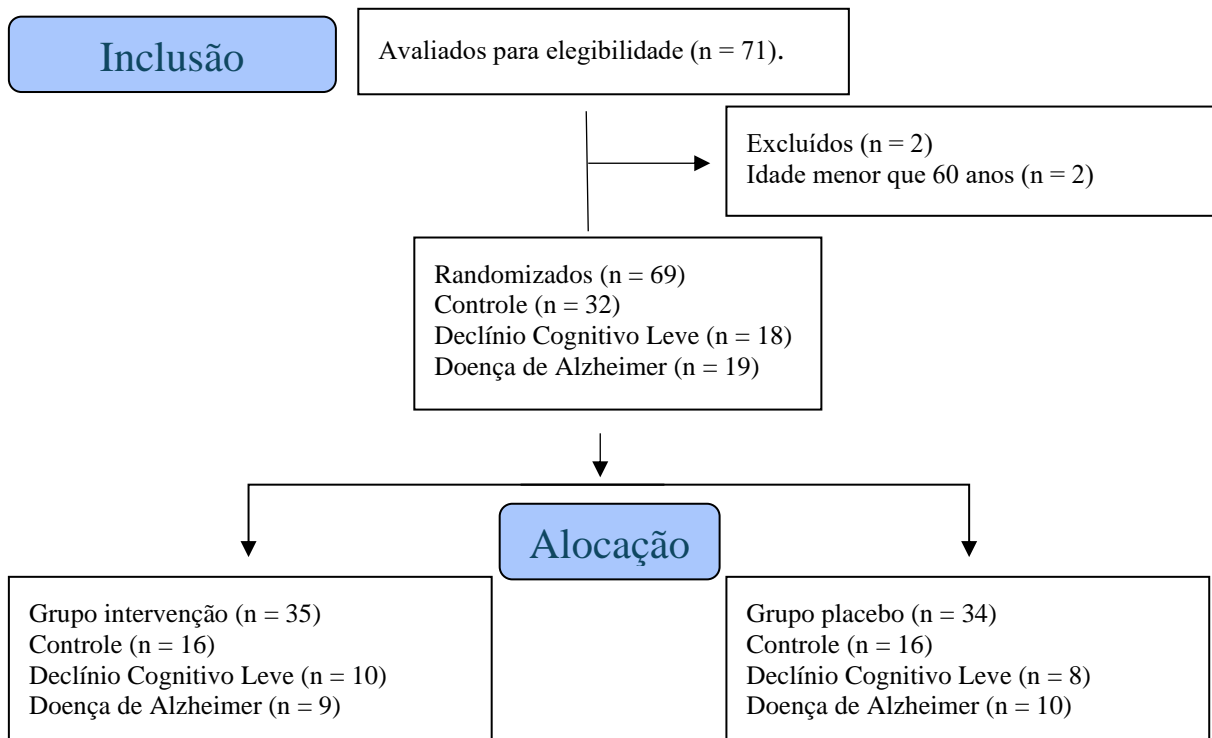
variabilidade do conjunto de variáveis pode ser explicado por fatores específicos ou inespecíficos.

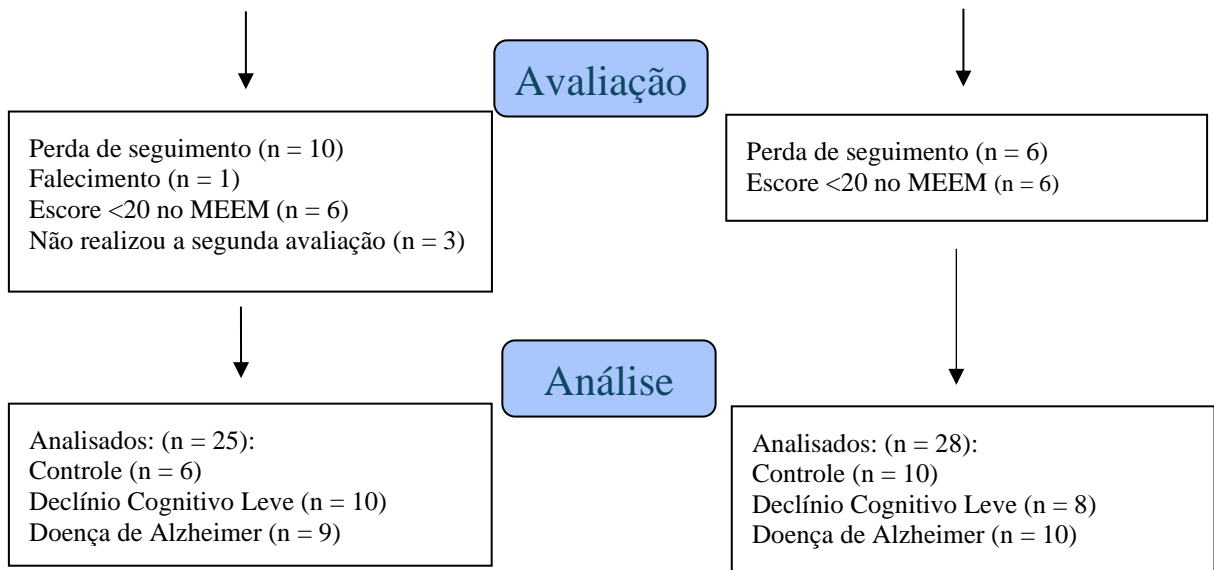
4 RESULTADOS

4.1 CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA QUANTO AOS DADOS SOCIODEMOGRÁFICOS E DE SAÚDE

Foram incluídos neste estudo 69 indivíduos voluntários (32 controles; 18 com DCL; e 19 com DA) entre os meses de agosto de 2023 a dezembro de 2023. Todos os idosos participantes eram residentes de ILPIs. Os participantes foram alocados aleatoriamente nos grupos placebo (16 controles; 10 com DCL; e 9 com DA) e probióticos (16 controles; 8 com DCL; e 10 com DA) recebendo o tratamento por 12 semanas consecutivas. No grupo placebo houve uma perda de 10 participantes do grupo controle, sendo que todos foram excluídos após a análise dos dados por terem apresentado um escore <20 no MEEM. Dos participantes que receberam o *blend* de probióticos também 10 participantes foram descontinuados do estudo, sendo um devido a falecimento, três por não realizarem a segunda avaliação e seis por terem apresentado um escore <20 no MEEM, sendo esse um valor que não classifica diagnóstico de demência, mas é o ponto de corte utilizado na testagem (Brucki *et al.*, 2003). Os pacientes excluídos da análise final, com escore <20 no MEEM foram apenas do grupo controle, uma vez que esses indivíduos deviam estar cognitivamente saudáveis. Finalizou-se assim 28 participantes no grupo placebo e 25 participantes no grupo *blend* de probióticos, totalizando 53 indivíduos avaliados.

Figura 3 - Fluxograma do progresso da amostra através das fases do estudo.





Fonte: Adaptado seguindo o modelo CONSORT (SCHULZ *et al.*, 2010).

A tabela 1 apresenta os resultados das variáveis sociodemográficas avaliadas neste trabalho. Começando a caracterização da presente amostra, a média de idade esteve mais alta nos indivíduos do grupo DA, 82,2 anos, que apresentou um resultado significativo quando comparado ao controle ($p=0,003$). O sexo entre os grupos apresentou uma divisão homogênea, e 100% dos idosos já estão aposentados. Quanto à média de anos de estudo apresentou índice mais baixo no grupo DA sendo de 5,9 anos e mais alta no grupo controle 8,5 anos. Com relação ao estado civil, houve uma diferença significativa entre os grupos na frequência de divorciados (50% no grupo controle, 14,3% no DA e 17,6% no DCL). Quando avaliada a cor de pele, a maior parte dos participantes possui cor de pele branca, seguido por cor de pele preta, e nenhuma outra cor de pele foi registrada.

Tabela 1 - Caracterização sociodemográfica.

Variável	Controle Inst. (n=16)	DA (n=19)	DCL (n=18)	Cont x			
				DCL x DA P	Cont x DA P	Cont x DCL P	DA x DCL P
Tratamentos, freq. (%)							
Tratamento 1	10 (62.5)	10 (52.6)	8 (44.4)	0.574	0.807	0.479	0.866
Tratamento 2	6 (37.5) 73.75 (5.88)	9 (47.4) 82.21 (8.91)	10 (55.6) 77.28 (10.05)	0.574	0.807	0.479	0.866
Idade, média (SD)				0.018	0.003	0.228	0.123
Sexo, freq. (%)							
Feminino	6 (37.5)	9 (47.4)	10 (55.6)	0.574	0.807	0.479	0.866
Masculino	10 (62.5) 8.50 (4.46)	10 (52.6) 5.91 (5.19)	8 (44.4) 7.82 (3.40)	0.574	0.807	0.479	0.866
Anos de Estudo, média (SD)				0.301	0.177	0.626	0.247
Aposentado, freq. (%)				-	-	-	-
16 (100.0)		19 (100.0)	18 (100.0)				
Estado Civil, freq. (%)							
Casado	1 (6.2)	2 (14.3)	3 (17.6)	0.606	0.903	0.639	1.000
Divorciado	8 (50.0)	2 (14.3)	3 (17.6)	0.047	0.093	0.109	1.000
Viúvo	6 (37.5)	5 (35.7)	7 (41.2)	0.950	1.000	1.000	1.000
Solteiro	1 (6.2)	5 (35.7)	4 (23.5)	0.139	0.120	0.369	0.729
Cor da pele, freq. (%)							
Branca	14 (87.5)	18 (100.0)	16 (88.9)	0.314	0.414	1.000	0.467
Preta	2 (12.5)	0 (0.0)	2 (11.1)	0.314	0.414	1.000	0.467
Mestiça	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	-	-	-	-
Amarela	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	-	-	-	-
Pardo	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	-	-	-	-

Fonte: Do Autor, 2025.

Na tabela 2 estão descritas as variáveis com relação ao bem-estar e saúde desses indivíduos. Começando com a média dos valores do índice de massa corporal (IMC) que esteve equiparado entre ambos os grupos, assim como a autoavaliação de saúde, onde uma maior percentagem de idosos respondeu que considera sua saúde boa. Quando avaliada a presença de outras doenças, a mais prevalente foi HAS, seguida por DM e cardiopatias. O uso de medicamentos é de basicamente 100% nesta população, mas a maior parte dos idosos não soube relatar quais medicamentos faz uso diariamente.

Ao avaliar os problemas de vida diária, o mais queixado foi quanto a saúde e nenhum idoso se queixou de problemas econômicos. A prática de atividade física é realizada por grande parte dos idosos, sendo que uma parte possui frequência de uma a duas vezes na semana, outros de três a quatro vezes, e uma parte deles também relata uma frequência diária. Atualmente, apenas um idoso relatou ser fumante, mas uma média de mais de 50% desses idosos já fumou em algum momento da vida, e quanto ao etilismo cinco idosos relatam fazer uso de bebida alcoólica, porém o uso desse tipo de substância é proibido dentro das ILPIs, então o consumo é apenas esporádico quando visitam a família. Quando questionado sobre queixas de memória, a maior parte dos idosos que relatam esse problema e esquecimentos são do grupo controle, e os idosos com DA e DCL em sua maioria relatam que o esquecimento é “nunca”.

Tabela 2 - Caracterização da saúde e bem-estar.

Variáveis	Control	DA	DCL	Cont x DCL x	Cont x	Cont	DA x
	e Inst. (n=16)	(n=19)	(n=18)	DA P	DA P	x DCL P	DCL P
IMC, média (SD)	27.71 (3.36)	25.78 (3.45)	27.98 (4.34)	0.238	0.158	0.860	0.132
IMC: Adequado, freq. (%)	6 (50.0)	10 (66.7)	5 (31.2)	0.143	0.630	0.539	0.107
IMC: Baixo Peso, freq. (%)	0 (0.0)	1 (6.7)	1 (6.2)	0.665	1.000	1.000	1.000
IMC: Sobrepeso, freq. (%)	6 (50.0)	4 (26.7)	10 (62.5)	0.130	0.397	0.783	0.101
Autoavaliação da saúde:							
(>melhor, 1-5), média (SD)	2.93 (0.83)	3.29 (1.11)	3.25 (0.97)	0.604	0.416	0.370	0.942
Excelente, freq. (%)	0 (0.0)	1 (14.3)	2 (16.7)	0.292	0.717	0.394	1.000
Muito Boa, freq. (%)	3 (21.4)	2 (28.6)	1 (8.3)	0.499	1.000	0.706	0.607
Boa, freq. (%)	8 (57.1)	2 (28.6)	7 (58.3)	0.391	0.440	1.000	0.437
Ruim, freq. (%)	2 (14.3)	2 (28.6)	2 (16.7)	0.716	0.844	1.000	0.976
Muito Ruim, freq. (%)	1 (7.1)	0 (0.0)	0 (0.0)	0.497	1.000	1.000	-
Doenças, freq. (%):							
HAS	7 (50.0)	4 (44.4)	3 (27.3)	0.505	1.000	0.459	0.742
Diabetes	6 (42.9)	3 (30.0)	5 (41.7)	0.793	0.831	1.000	0.903
Cardiopatas	2 (13.3)	2 (20.0)	2 (16.7)	0.905	1.000	1.000	1.000
Outras	7 (53.8)	6 (60.0)	6 (50.0)	0.895	1.000	1.000	0.969
Faz uso de medicamento, freq. (%)	16 (100.0)	18 (94.7)	18 (100.0)	0.402	1.000	-	1.000
Maior problema autorrelatado, freq. (%)							
Saúde	7 (46.7)	3 (42.9)	2 (22.2)	0.477	1.000	0.446	0.734
Econômico	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	-	-	-	-
Pessoal	1 (6.7)	0 (0.0)	0 (0.0)	0.576	1.000	1.000	-
Familiar	3 (20.0)	1 (14.3)	1 (11.1)	0.839	1.000	1.000	1.000
Nenhum	4 (26.7)	3 (42.9)	6 (66.7)	0.157	0.789	0.134	0.657
Atividade Física, freq. (%):							

1 a 2 vezes	3 (21.4)	3 (33.3)	3 (27.3)	0.817	0.882	1.000	1.000
3 a 4 vezes)	4 (28.6)	3 (33.3)	4 (36.4)	0.916	1.000	1.000	1.000
todos os dias,	4 (28.6)	2 (22.2)	3 (27.3)	0.942	1.000	1.000	1.000
Fumou, freq. (%)	11 (68.8)	5 (50.0)	8 (53.3)	0.561	0.588	0.609	1.000
Fuma, freq. (%)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (5.6)	0.371	-	1.000	0.978
Etilismo, freq. (%)	3 (18.8)	0 (0.0)	2 (11.1)	0.160	0.171	0.887	0.443
Dificuldades de memória, freq. (%):		2					
Sempre	7 (43.8)	3 (33.3)	5 (35.7)	0.862	1.000	0.940	1.000
Quase Sempre	3 (18.8)	0 (0.0)	2 (15.4)	0.529	0.657	1.000	0.832
Raramente	2 (12.5)	2 (33.3)	3 (23.1)	0.520	0.612	0.798	1.000
Nunca	2 (12.5)	0 (0.0)	1 (7.7)	0.641	0.940	1.000	1.000
		4					
	9 (56.2)	7 (66.7)	7 (53.8)	0.867	1.000	1.000	0.979

Fonte: Do Autor, 2025.

Na tabela 3 estão caracterizados todos os desfechos na fase inicial do estudo. Quando compara-se os escores dos 3 testes cognitivos MEEM, TFV e TDR é possível observar em todos uma diferença significativa quando comparados ao grupo controle, que apresenta os melhores escores, com o grupo DCL e DA. Na avaliação das citocinas e neurotrofinas não é possível observar diferenças significativas entre os grupos.

Tabela 3 - Caracterização dos testes cognitivos, citocinas e neurotrofinas.

Variáveis	Control e Inst.	DA	DCL	Cont x			
				DCL x	Cont x	Cont x	DA x
				DA	DA	DCL	DCL
	(n=16)	(n=19)	(n=18)	P	P	P	P
MEEM, média (SD)	24.62 (2.55)	11.21 (5.75)	10.56 (6.58)	<0.001	<0.001	<0.001	0.749
FV, média (SD)	9.69 (3.11)	4.42 (2.46)	6.00 (4.65)	<0.001	<0.001	0.012	0.202
RELÓGIO, média (SD)	3.62 (3.01)	0.95 (1.27)	0.78 (1.06)	<0.001	0.001	0.001	0.663
TNF-α, média (SD)	133.11 (5.79)	135.05 (10.23)	139.12 (15.10)	0.282	0.505	0.144	0.341
IL-1β, média (SD)	6.53 (2.09)	6.92 (3.19)	6.40 (1.58)	0.801	0.679	0.845	0.551
IL-6, média (SD)	80.38 (50.78)	188.89 (302.16)	251.91 (254.29)	0.115	0.166	0.013	0.510
IL-4, média (SD)	2.27 (0.79)	2.68 (1.15)	2.86 (1.42)	0.330	0.234	0.153	0.676
IL-10, média (SD)	6.86 (4.06)	8.99 (6.17)	13.19 (19.40)	0.304	0.246	0.210	0.376
BDNF, média (SD)	668.75 (124.16)	707.99 (295.36)	756.28 (200.74)	0.533	0.624	0.145	0.575
GDNF, média (SD)	0.71 (1.54)	0.60 (1.04)	0.35 (0.24)	0.611	0.801	0.348	0.343
NGF, média (SD)	131.07 (328.83)	215.13 (570.70)	35.57 (57.05)	0.398	0.609	0.247	0.206
TGF-β, média (SD)	1029.93 (286.54)	990.02 (362.04)	985.04 (279.59)	0.904	0.724	0.652	0.964

Fonte: Do Autor, 2025

Nas próximas tabelas 4, 5 e 6, os resultados apresentados comparam todos os desfechos avaliados no tempo 1 (T1) e no tempo 2 (T2). A frequência na tabela corresponde ao número de indivíduos incluídos em cada análise. As únicas diferenças significativas identificadas nestas análises foram os níveis de NGF no tempo 1 para indivíduos com DCL, e de TGF β , também no tempo 1, mas para indivíduos com DA. Esses achados sugerem que, apesar da eletrização dos grupos para as condições experimentais, a distribuição resultante não gerou amostras completamente equivalentes. Isso reforça a importância de utilizar modelos estatísticos capazes de lidar com essas diferenças, como os modelos lineares mistos, que permitem considerar a

variabilidade entre e intergrupos ao longo do tempo. Na tabela 4 quando comparados todos os desfechos em T2 nos indivíduos do grupo controle é observada uma diferença significativa ($p \leq 0,033$) para os níveis de TNF- α , sendo que foi um aumento desta citocina no grupo probiótico. Já na tabela 5 no grupo DCL houve uma diferença nos níveis de NGF, sendo que o aumento apresentado também foi no grupo probiótico ($p \leq 0,012$). Na tabela 6 onde apresenta os resultados do grupo DA nenhuma diferença significativa foi encontrada (ANEXOS J, K e L).

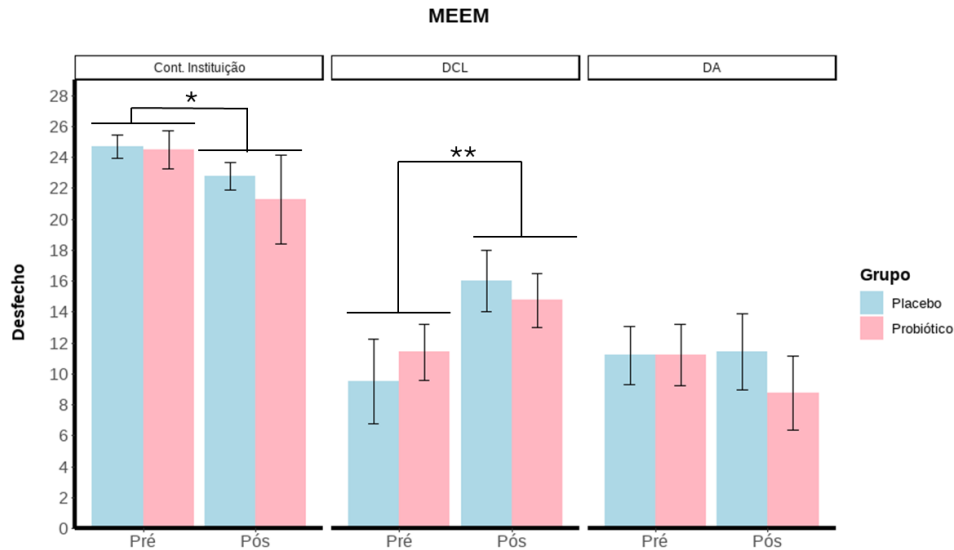
4.2 EFEITOS LONGITUDINAIS DO TRATAMENTO EM CADA GRUPO: RESULTADOS DE MODELOS LINEARES MISTOS

A partir daqui os resultados serão expressos por gráficos realizados a partir das análises de modelos lineares mistos (também conhecidos como modelos de efeitos mistos, modelos multiníveis ou de coeficientes aleatórios). Essas análises avaliaram de forma independente os efeitos das variáveis tempo (T1 e T2) e tratamento (placebo ou probiótico) em cada desfecho para cada grupo, bem como suas interações. O modelo incluiu interceptos aleatórios para cada participante, permitindo controlar diferenças individuais médias no início do estudo, e considerou o tratamento como uma variável fixa. Quando identificadas interações significativas entre tempo e tratamento, testes de comparações *post hoc* foram realizados para determinar quais condições específicas apresentaram diferenças estatisticamente significativas. Para facilitar a interpretação visual, as diferenças significativas foram representadas nos gráficos utilizando barras de diferentes cores e formatos. Quando a diferença foi em relação ao tempo, comparação dos indivíduos de cada grupo entre T1 e T2, independente do tratamento, utilizou-se barras pretas para indicar essa mudança ao longo do tempo. Quando a diferença foi em decorrência ao tratamento, utilizou-se barras azuis para o placebo e barras rosas para o probiótico, seguindo as cores do gráfico, e registrando que a diferença entre os grupos foi com relação ao tratamento que os indivíduos utilizaram. Por último utilizou-se uma chave matemática para mostrar a presença de diferença significativa quando comparada a variável Tempo: tratamento, quando esse valor de $p \leq 0,05$ o teste de *pos-hoc* foi aplicado, e então a chave indica o valor de p após o teste de *pos-hoc* e em quais grupos a diferença ou a tendência de diferença estatística foi observada.

Figura 4 apresenta o resultado do primeiro teste cognitivo avaliado no MEEM, onde é possível observar que há uma diferença significativa sobre o efeito tempo no grupo controle ($p \leq 0,044$), sugerindo que os escores do MEEM tendem a diminuir em todos os participantes

independente do tratamento. Já no DCL ($p \leq 0,010$) é evidenciado um resultado oposto, onde o escore desses indivíduos melhorou ao longo do tempo independente do tratamento.

Figura 4 - Comparação conforme Teste Cognitivo MEEM.

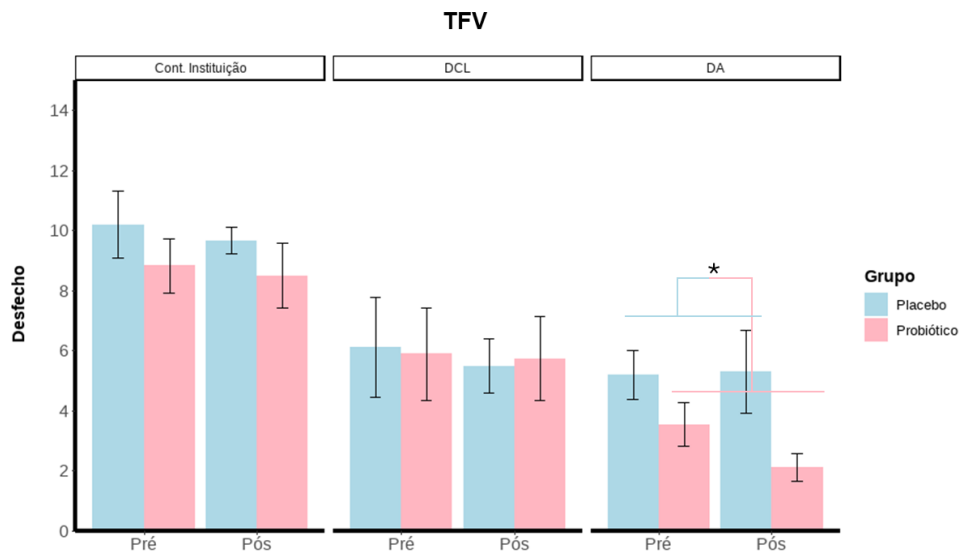


Fonte; Do Autor, 2025.

Legenda: * $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$. Os gráficos apresentam o erro padrão das médias (barras de erro) para cada condição experimental.

Figura 5 representa o resultado do teste cognitivo TFV, onde é possível observar que há uma diferença significativa sobre o efeito de tratamento no grupo DA ($p \leq 0,024$) independente do tempo. Esse resultado sugere que o tratamento placebo possui maiores escores no teste TFV quando comparado ao tratamento probiótico em todos os momentos do estudo (pré- e pós-tratamento ou T1 e T2 como mencionado anteriormente).

Figura 5 - Comparação conforme Teste Cognitivo TFV.

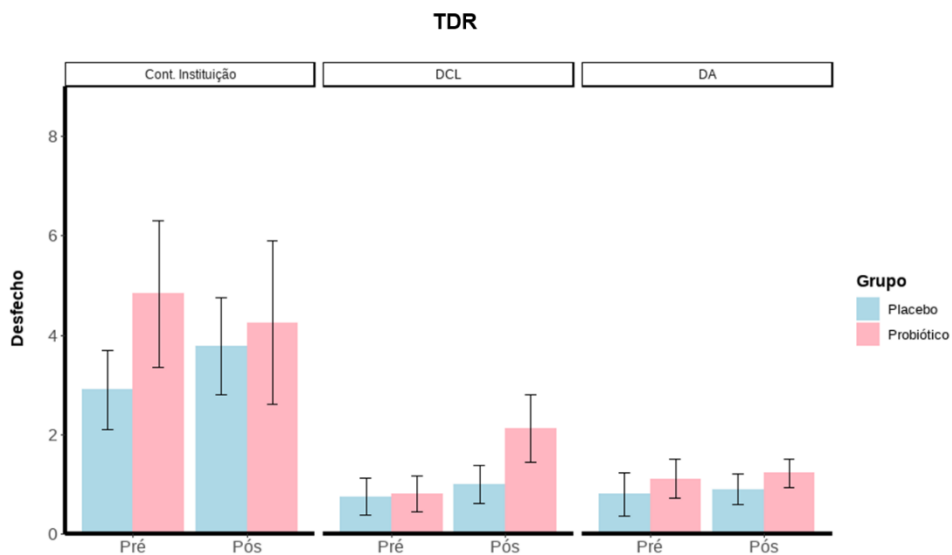


Fonte; Do Autor, 2025.

Legenda: * $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$. Os gráficos apresentam o erro padrão das médias (barras de erro) para cada condição experimental.

Figura 6 pode-se observar o resultado do teste cognitivo do desenho do relógio, onde não houve nenhuma diferença significativa quanto às variáveis avaliadas nos 3 grupos apresentados.

Figura 6 - Comparação conforme Teste Cognitivo TDR.

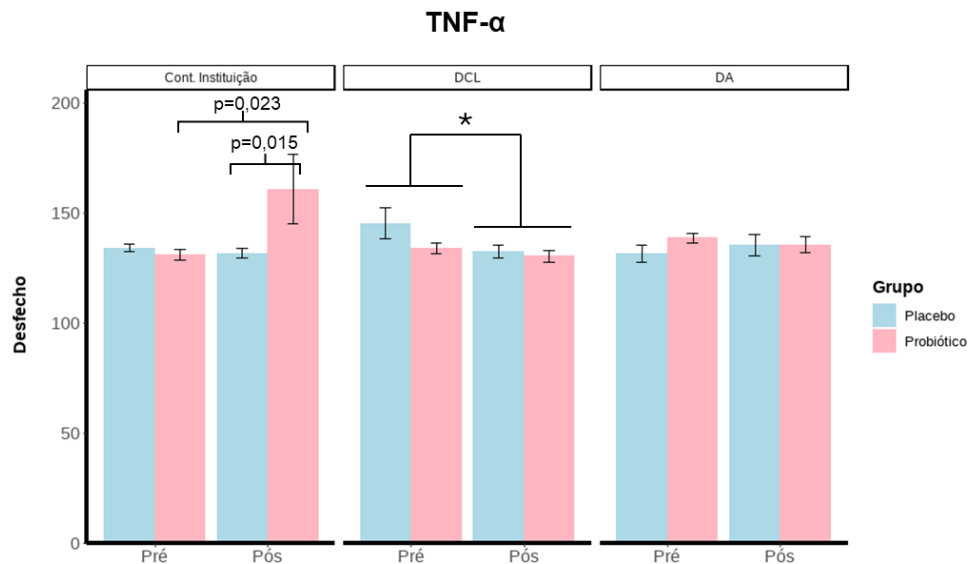


Fonte; Do Autor, 2025.

Legenda: * $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$. Os gráficos apresentam o erro padrão das médias (barras de erro) para cada condição experimental.

A partir da figura 7 até a figura 9 apresentar-se-ão os resultados dos níveis de citocinas pró-inflamatórias. Com relação ao TNF- α , as análises revelaram uma interação significativa entre tempo e tratamento ($p=0,002$) para o grupo controle, sugerindo que o grupo exposto ao tratamento probiótico aumentou os níveis do marcador ao longo do tempo enquanto o grupo exposto ao tratamento placebo manteve níveis similares ao longo do tempo. Esse achado foi confirmado em análises *post hoc*, as quais indicaram que o grupo exposto ao probiótico apresentou um aumento significativo nesse marcador em comparação com o grupo não exposto ($p=0,015$) e em relação aos mesmos indivíduos no T1 (pré-tratamento) ($p=0,023$). No entanto, esses achados perderam significância após a aplicação da correção de FDR para múltiplas comparações. Cabe ressaltar que apenas três indivíduos compuseram o grupo exposto ao tratamento com probióticos no T2 e, sendo que dois deles haviam tomado vacina para hepatite há poucos dias antes da coleta, o que pode ter contribuído para esse resultado. No grupo DCL é possível observar que há um efeito significativo do tempo ($p\leq 0,050$), sugerindo que ao longo do tempo houve uma diminuição desta citocina em ambos os tratamentos.

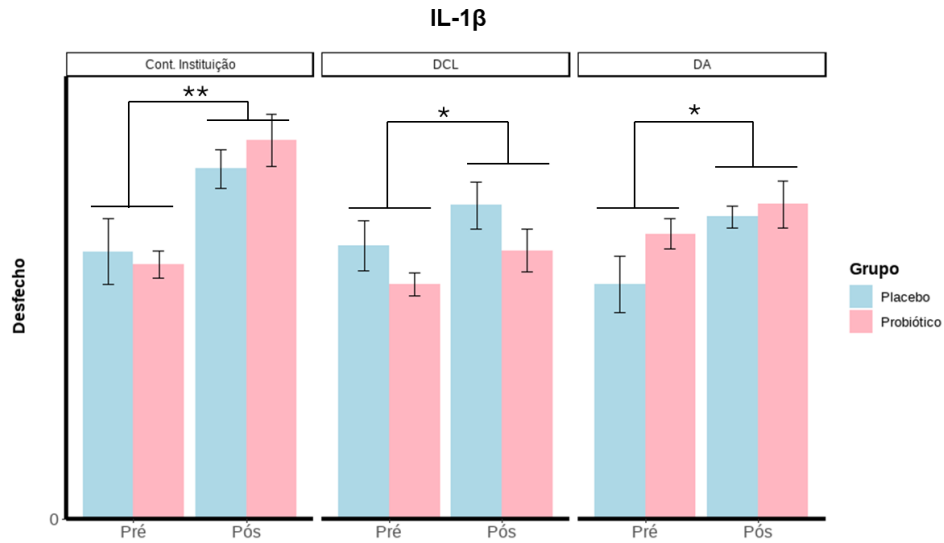
Figura 7 - Comparação conforme TNF- α .



Fonte; Do Autor, 2025.

Legenda: * $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$. Os gráficos apresentam o erro padrão das médias (barras de erro) para cada condição experimental.

Os níveis de IL-1 β apresentados na figura 8 permitem observar que em todos os grupos houve um aumento significativo do marcador ao longo do tempo (controle $p=0,001$, DCL $p=0,037$ e DA $p=0,002$) independente do tratamento.

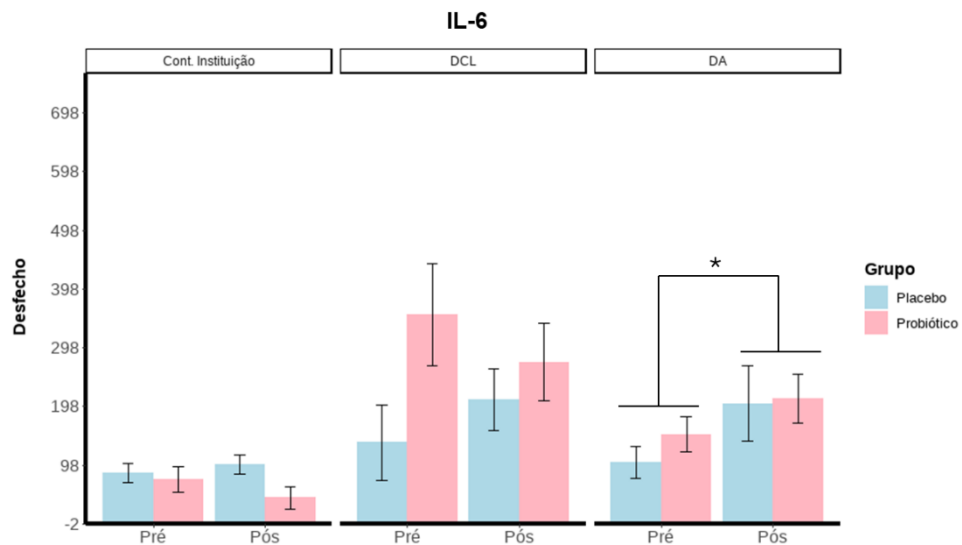
Figura 8 - Comparação conforme IL-1 β .

Fonte; Do Autor, 2025.

Legenda: * $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$. Os gráficos apresentam o erro padrão das médias (barras de erro) para cada condição experimental.

Os níveis de IL-6 são indicados na figura 9 e mostram que o único efeito significativo também foi com relação a variável tempo, mas esteve presente apenas no grupo DA $p=0,034$, onde também é evidenciado um aumento desta citocina no grupo DA, nos dois grupos de tratamento, levando em conta a variável tempo.

Figura 9 - Comparação conforme IL-6.

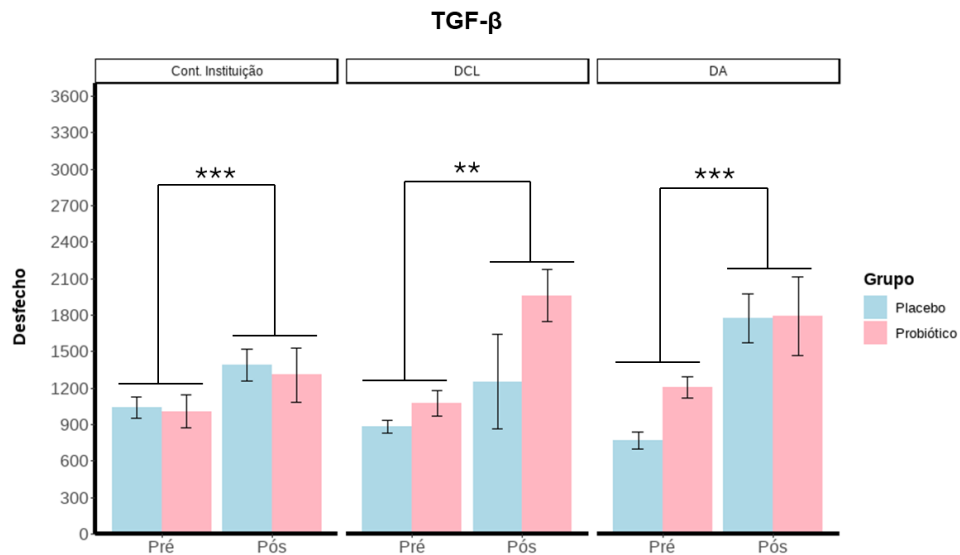


Fonte; Do Autor, 2025.

Legenda: * $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$. Os gráficos apresentam o erro padrão das médias (barras de erro) para cada condição experimental.

Os resultados referentes aos níveis das citocinas anti-inflamatórias com relação ao tratamento ao longo do tempo para cada grupo são apresentados da figura 10 até a figura 12. Com relação ao TGF- β observa-se em todos os grupos um efeito significativo com relação a variável tempo (controle $p=0,001$, DCL $p=0,004$ e DA $p=0,001$), sugerindo que houve aumento dessa citocina ao longo do tempo, independente do grupo de tratamento.

Figura 10 - Comparação da TGF- β com relação ao tratamento.

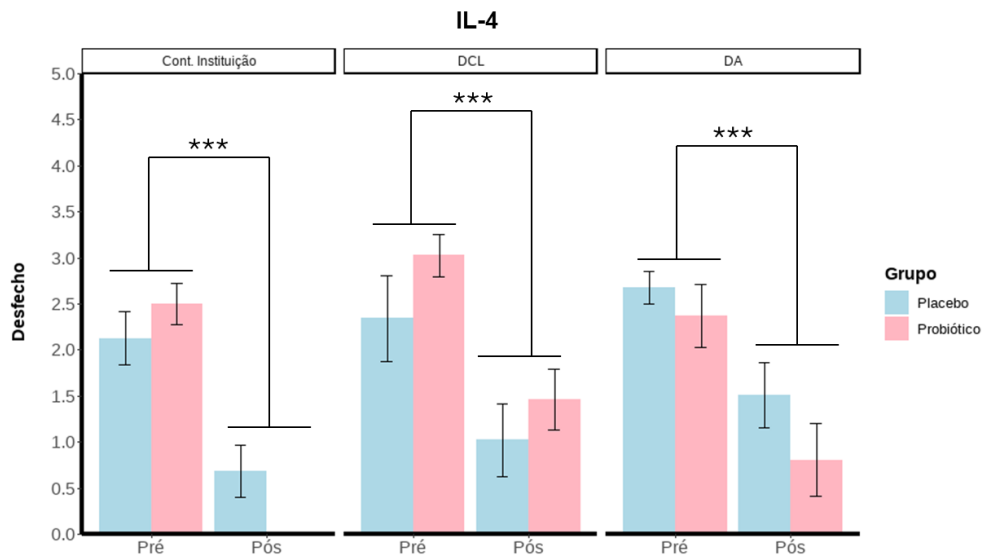


Fonte; Do Autor, 2025.

Legenda: * $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$. Os gráficos apresentam o erro padrão das médias (barras de erro) para cada condição experimental.

Assim como na figura 10, a figura 11 que exemplifica os níveis de IL-4 é observado também que em todos os grupos houve um efeito significativo com relação a variável tempo, nesse caso uma diminuição de IL-4 é evidenciada ao longo do tempo em ambos os grupos do estudo. Grupo controle $p=0,001$, DCL $p=0,001$ e DA $p=0,001$.

Figura 11 - Comparação da IL-4 com relação ao tratamento.

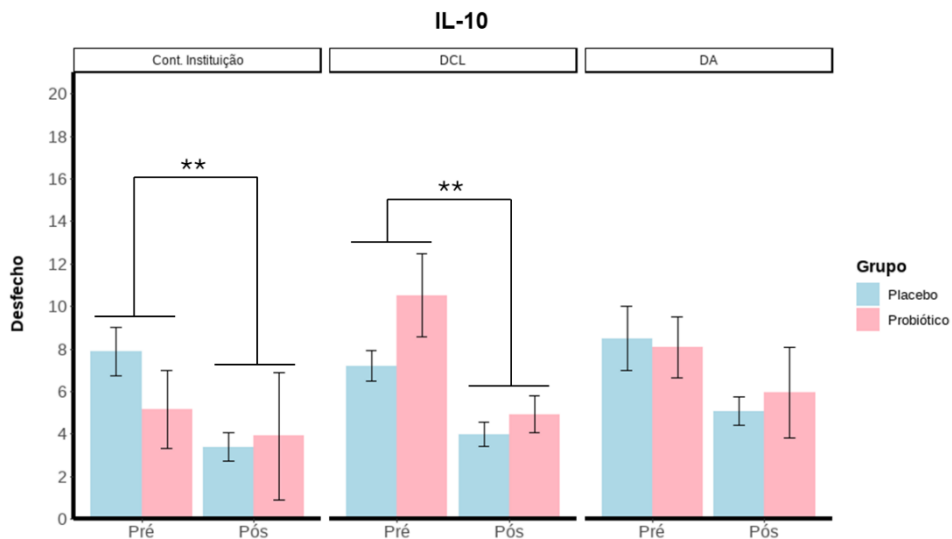


Fonte; Do Autor, 2025.

Legenda: * $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$. Os gráficos apresentam o erro padrão das médias (barras de erro) para cada condição experimental.

Na última citocina anti-inflamatória, apresentada na figura 12 que representa os níveis de IL-10 é observado quase o mesmo resultado que nas últimas duas citocinas (TGF- β e IL-4), em que houve uma diferença significativa com relação a variável tempo em todos os grupos, mas na IL-10 a diferença não foi observada no grupo DA. No caso da IL-10, assim como em IL-4 é exposta uma diminuição desta citocina ao longo do tempo, no grupo controle $p=0,001$ e grupo DCL $p=0,001$.

Figura 12 - Comparação da IL-10 com relação ao tratamento.

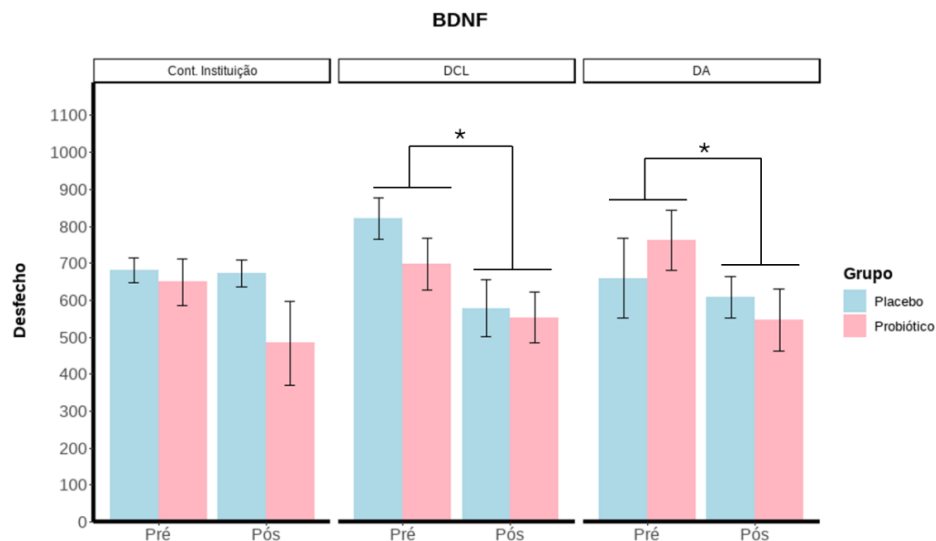


Fonte; Do Autor, 2025.

Legenda: * $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$. Os gráficos apresentam o erro padrão das médias (barras de erro) para cada condição experimental.

Da figura 13 em diante serão apresentados os marcadores neurotróficos avaliados neste estudo. Com relação aos níveis de BDNF, pode-se observar que no grupo DCL e DA houve uma diminuição significativa ao longo do tempo nos indivíduos destes dois grupos. Grupo DCL $p=0,002$ e DA $p=0,003$.

Figura 13 - Comparação conforme BDNF.

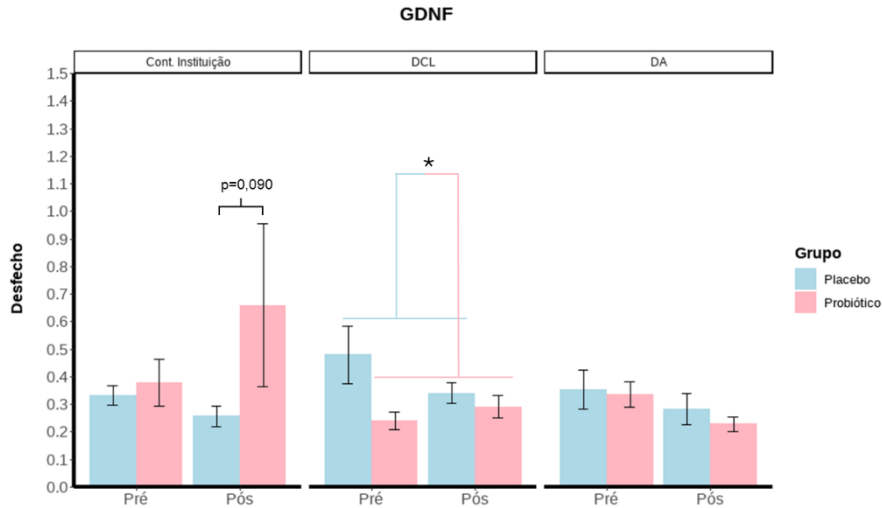


Fonte; Do Autor, 2025.

Legenda: * $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$. Os gráficos apresentam o erro padrão das médias (barras de erro) para cada condição experimental.

Com relação aos níveis de GDNF foi observado um efeito significativo da interação entre tempo e tratamento ($p=0,029$) no grupo controle, sugerindo que as pessoas expostas ao tratamento com probióticos aumentaram os níveis de GDNF, enquanto o grupo exposto ao tratamento placebo manteve os níveis. Contudo, análises *post hoc* não revelaram um efeito significativo quando ambos os tratamentos são comparados no pós-tratamento ($p=0,090$). No grupo DCL é possível observar que há um efeito significativo no tratamento ($p \leq 0,020$), sendo que no grupo placebo, no pós-tratamento, foram observados níveis menores de GDNF quando comparados ao grupo placebo no pré-tratamento. Nenhuma diferença estatística foi observada no grupo DA.

Figura 14 - Comparação conforme GDNF.

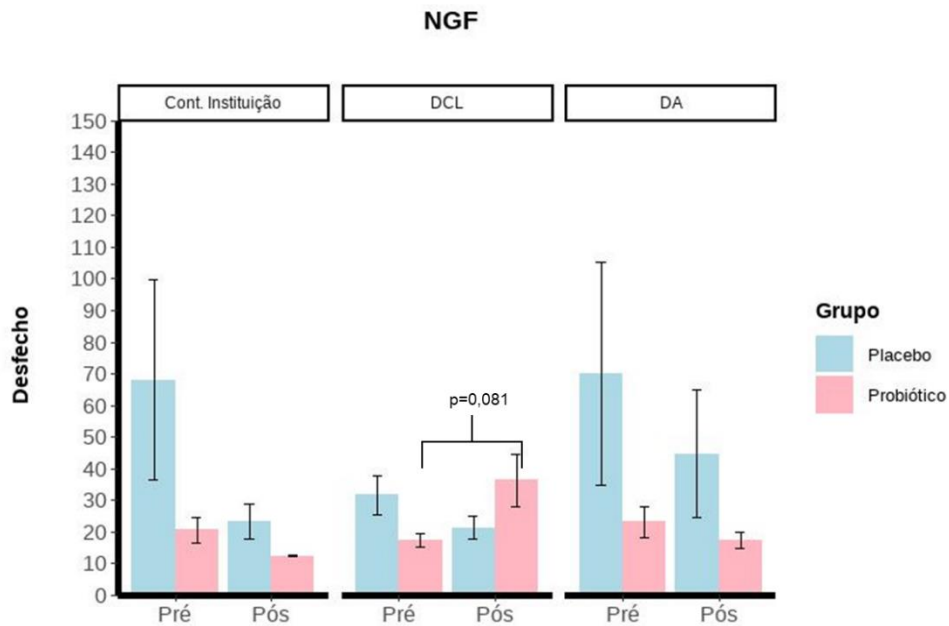


Fonte; Do Autor, 2025.

Legenda: * $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$. Os gráficos apresentam o erro padrão das médias (barras de erro) para cada condição experimental.

A última figura, que apresenta as análises de neurotrofinas, destaca os dados de NGF, onde foi identificado um efeito de interação significativo entre tratamento e tempo no grupo DCL ($p=0,005$). Esses resultados sugerem que o grupo tratado com probióticos apresentou um aumento nos níveis de NGF ao longo do tempo, enquanto o grupo tratado com placebo mostrou uma redução. No entanto, análises *post hoc* subsequentes não identificaram diferenças significativas quando todas as condições foram comparadas entre si.

Figura 15 - Comparação conforme NGF.



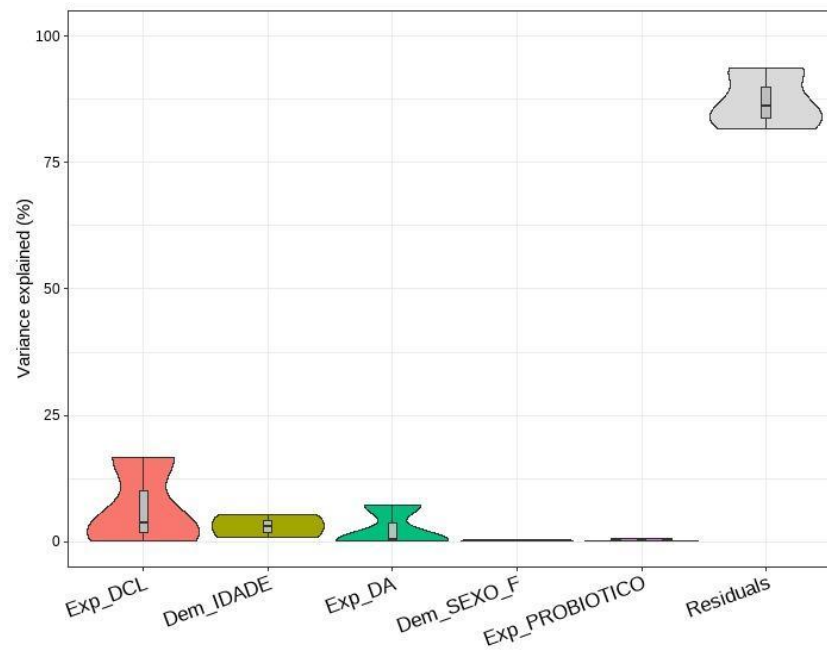
Fonte; Do Autor, 2025.

Legenda: * $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$. Os gráficos apresentam o erro padrão das médias (barras de erro) para cada condição experimental.

Para então finalizar a apresentação dos resultados deste estudo, e compreender de forma mais clara e intuitiva os achados do presente estudo, foi realizada a análise de partição de variância (APV) para investigar de que forma as variações de um conjunto de dados (testes cognitivos, citocinas e neurotrofinas) são distribuídas entre diferentes fontes, ou seja, quanto a variação de uma variável pode ser atribuída a variação de outra variável. É possível então compreender qual a porcentagem da variabilidade do conjunto de variáveis explicado por fatores específicos.

Na figura 16 o primeiro gráfico APV elucida os resultados da comparação de algumas variáveis com os desfechos de cognição juntos. Ter um declínio cognitivo explica 6% de toda variabilidade dos dados da cognição, idade explica 3%, diagnóstico de DA 2%, ser do sexo feminino ou o uso de probióticos explicam apenas 0,2%. O que mais influência na variabilidade da cognição são os resíduos (87%), ou seja, aquilo que não mede-se e não investiga-se no presente modelo como diferenças individuais, aspectos socioeconômicos, exposição a eventos de vida adversos, vacinas e intercorrências médicas recentes etc.

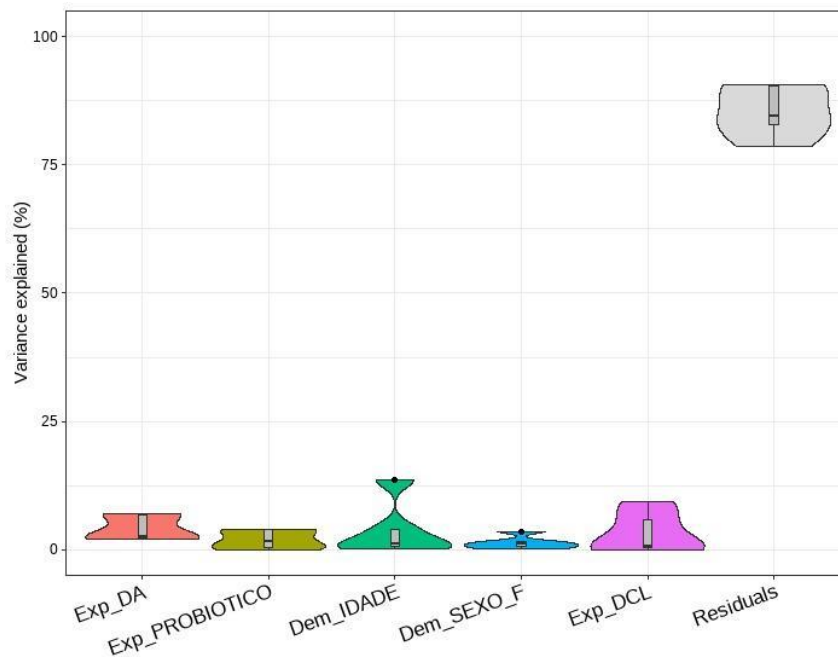
Figura 16 - Comparação de algumas variáveis com os desfechos de cognição juntos.



Fonte; Do Autor, 2025.

Na figura 17 o gráfico APV apresenta os resultados das neurotrofinas, mostrando que 4% da variabilidade das neurotrofinas pode ser explicado pela DA, 1% pelo uso dos probióticos, 3% pela idade, 1% pelo sexo, 3% por DCL, e novamente o que predomina são os resíduos, que influenciam em 85%.

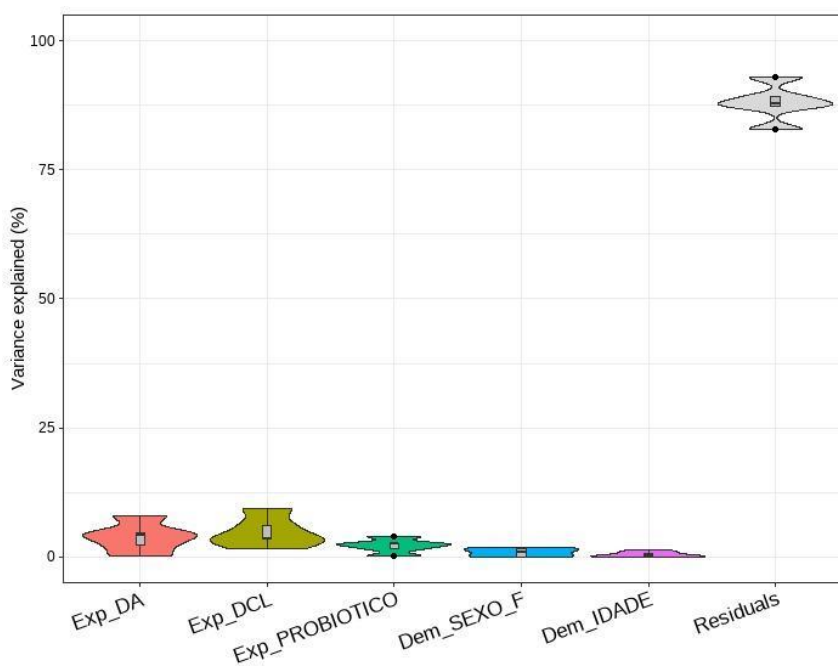
Figura 17 - Resultados das neurotrofinas.



Fonte; Do Autor, 2025.

Por fim, com relação aos biomarcadores inflamatórios, as citocinas, identifica-se que 3% da variabilidade pode ser explicada pela DA, 4% por DCL, 2% pelo uso dos probióticos, 0,04% pela idade, 0,08% pelo sexo, e os resíduos, que influenciam em 88%. As mudanças nas citocinas também apresentam uma relação maior com aspectos individuais.

Figura 18 - Relação aos biomarcadores inflamatórios.



Fonte; Do Autor, 2025.

5 DISCUSSÃO

O aumento do envelhecimento populacional, bem como do diagnóstico de demências acende um alerta e uma necessidade de um olhar atento a esta nova realidade social. Além disso, os tratamentos ditos como curativos ou preventivos, tanto no processo de envelhecimento senescente, quanto na senilidade, são escassos, uma vez que esses são processos complexos e heterogêneos. A partir disso, o presente estudo teve como objetivo tentar compreender a relação entre o uso de um *blend* de probióticos, controlado por placebo, em idosos controles (ausência de diagnóstico), e com diagnóstico de DCL ou DA e compreender melhor seu efeito na cognição, e influência sobre fatores neurotróficos e inflamatórios.

O *blend* de probióticos (*Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium bifidum* e *Bifidobacterium breve* 1×10^9 UFC/mL) deste estudo foi selecionado a partir de outros estudos já publicados na literatura, que apresentavam benefícios relacionados à memória e inflamação (Wolf *et al.*, 2012; Bonfili *et al.*, 2017; Kobayashi *et al.*, 2017; Azm *et al.*, 2018; Abraham *et al.*, 2019; Rezaeiasl *et al.*, 2019; Rezaei *et al.*, 2019; Bonfili *et al.*, 2019; Kaur *et al.*, 2020; Téglás *et al.*, 2020; Naomi *et al.*, 2021). O tempo de tratamento também foi baseado em outros estudos, sendo 12 semanas um tempo importante para que haja a colonização e alteração da microbiota presente, além de possibilitar a visualização das demais alterações, sendo efeitos positivos ou adversos. Com isso, o período de 12 semanas é considerado suficiente para observar mudanças relevantes sem ultrapassar a tolerância prática dos participantes (Aljumaah *et al.*, 2022; Sakurai *et al.*, 2022; Azuma *et al.*, 2023).

Ao todo foram avaliados neste estudo 53 idosos, residentes de ILPIs, sendo divididos em: 16 idosos no grupo controle (6 receberam probióticos e 10 placebo), 18 idosos no grupo DCL (10 receberam probióticos e 8 placebos), e 19 idosos no grupo DA (9 receberam probióticos e 10 placebo). As instituições escolhidas para esse estudo possuem estruturas completas, alimentação balanceada, acompanhamento 24h de profissionais da saúde, e esses fatores associados reduzem a interferência trazida por diferentes ambientes e dietas, que juntos podem prejudicar a execução de ensaios clínicos.

Começando a definir e discutir a amostra, pode-se citar a média de idade dos indivíduos com DA que foi significativamente maior do que a média do grupo controle (82,21). Sendo a idade o maior fator de risco para DA, o presente achado vai ao encontro da literatura, quanto mais idoso for o indivíduo maior a chance de apresentar as características de diagnósticos da doença (Alzheimer's Association *et al.*, 2024). Quanto ao sexo dos participantes, a presente amostra foi homogênea, diferente do que é relatado no envelhecimento populacional e

caracteriza-se em outros estudos, onde a população do sexo feminino tende a ser a maioria, visto que a expectativa de vida das mulheres também é maior (Senger *et al.*, 2019; Campos *et al.*, 2024). Contudo, é importante ressaltar que alguns estudos que analisaram os motivos que levam a institucionalização, foi observado que o gênero masculino tende a ser mais institucionalizado (Luppa *et al.*, 2010; Del Duca *et al.*, 2012).

A média de anos de estudo foi menor nos idosos com DA, 5,91, e maior nos idosos do grupo controle, 8,50 anos. Essa não foi uma diferença significativa entre os grupos, mas é um dado interessante de se discutir, uma vez que os anos de estudo são avaliados para facilitar a compreensão de quantos anos aquele indivíduo teve contato com a educação, uma vez que a educação está associada como fatores de risco modificáveis para DA. Quanto mais baixo o nível de escolaridade, maior o risco de desenvolver demência (Alzheimer's Association *et al.*, 2024; Nianogo *et al.*, 2022). Um estudo conduzido por Da Ros *et al.* (2025) relatou que especialmente no Brasil, a educação surgiu como o principal fator de risco que impactou os resultados cognitivos, divergindo de outros países latino-americanos (Da Ros *et al.*, 2025).

Quanto ao estado civil, os predominantes foram divorciados ($p=0,047$), e a maior parte desses indivíduos está concentrada no grupo controle (50% no grupo controle, 14,3% no DA e 17,6% no DCL), seguido por viúvos e solteiros. Visto que a população do presente estudo é de idosos institucionalizados é importante ressaltar que a ausência de um cônjuge em alguns casos é o que acaba propiciando a institucionalização (Del Duca *et al.*, 2012).

A cor de pele dos participantes é predominantemente branca, 49 indivíduos declaram sua cor de pele como branca, seguido por 4 indivíduos de cor de pele preta. A maioria da população foi da cor branca, similar ao perfil populacional esperado na região, que segundo o IBGE, é de 80% de cor autodeclarada branca, sendo proveniente da imigração europeia. Estes dados demonstram que a população do estudo atual representa bem o perfil populacional da região avaliada (Campos *et al.*, 2024).

Quando se inicia a descrição dos dados relacionados ao bem-estar e saúde (tabela 2), não há nenhuma diferença significativa entre os dados explanados, porém alguns deles são de grande importância, uma vez que vem ao encontro com os dados já descritos na literatura. A HAS foi a comorbidade mais relatada nessa população, e essa é a doença que mais cresce e acomete a população de idosos no mundo, sendo a doença crônica não transmissível mais prevalente entre eles, podendo ser considerada um problema de saúde pública (Oliveira *et al.*, 2019; Santiago *et al.*, 2019). Seguido da HAS, a DM foi a segunda patologia mais presente, e esta também é uma das comorbidades que mais acomete e leva a complicações na população idosa (Rodríguez-Queraltó *et al.*, 2020).

O uso de medicamentos foi registrado em quase 100% da amostra, e esse dado também vai ao encontro da literatura, uma vez que a população idosa costuma fazer uso mais frequente de medicamentos, e principalmente está relacionado com uma prática comum e que pode levar ao agravamento dos problemas geriátricos que é a polifarmácia (Kim, Parish, 2017; Pazan, Wehling, 2021). Contudo, idosos de instituição de longa permanência tendem a fazer mais uso de medicamentos, relacionado ao fato de que nas instituições há um controle maior relacionado com saúde e doença. Já a prática de automedicação é nula nesse ambiente, e esta prática por sua vez agrava os problemas relacionados à medicação, uma vez que para melhorar sintomas diferentes que surgem no dia a dia, os idosos optam por fazer uso de medicações de forma independente que não precisam de receita médica para manter sua qualidade de vida (Pazan, Wehling, 2021).

Relacionando com as questões de saúde e bem-estar, foi questionado aos idosos, de forma autorrelatada sobre sua autoavaliação de saúde, e a maior parcela deles auto-relata sua saúde como “boa”. Um estudo de Lowsky *et al.* (2014) evidenciou que idosos mais jovens tendem a considerar mais sua saúde como “excelente” ou “muito boa”, mas, conforme a idade vai aumentando e conseqüentemente as limitações também, essa proporção tende a diminuir, pois as limitações tendem a aumentar (Lowsky *et al.*, 2014). Mesmo o idoso relatando a saúde como boa, quando questionado sobre qual o maior problema de vida diário a maioria dos idosos relatou que o problema “saúde” é o que mais impacta no dia a dia. Visto que 2/3 deles possuem diagnóstico de DCL ou DA, ou possuem algum outro tipo de comorbidade como HAS, DM, entre outros, e fazem uso diário de medicação, essa queixa é completamente compreendida.

A prática de exercício físico está presente na rotina de mais da metade dos idosos avaliados. Este é um dado muito importante e relevante, pois a prática auxilia na capacidade de manter a independência e qualidade de vida ao longo do processo de envelhecimento (Eckstrom *et al.*, 2020; An *et al.*, 2020)

Um dado interessante, mas difícil de ser compreendido, que se relaciona com o diagnóstico de demência, é quanto a queixas de esquecimento de memória. Os indivíduos com diagnóstico de DCL ou DA relatam menos esquecimento, do que aqueles do grupo controle. Isso, pois possivelmente os indivíduos com demência esquecem sem saber que esqueceram, enquanto os do grupo controle lembram de tudo que esquecem. Este fator também pode ser denominado anosognosia, que nada mais é caracterizado pela incapacidade de uma pessoa ter consciência da sua demência (Wilson *et al.*, 2016).

As testagens cognitivas foram as únicas diferenças significativas presentes na primeira análise de comparação realizada com a amostra do presente estudo no T1. Todos os idosos com

diagnóstico de demência apresentaram escores significativamente mais baixos nos testes cognitivos MEEM, TFV e TDR quando comparado aos idosos do grupo controle. Esse já era um resultado esperado, mas que é importante ser confirmado, visto que o principal comprometimento do DCL e DA é a memória, e os indivíduos com esses diagnósticos apresentaram essas limitações nas testagens cognitivas aplicadas (Davis *et al.*, 2018).

Além da caracterização dos indivíduos do presente estudo, como objetivo principal, precisa-se entender o efeito dos probióticos suplementados durante 12 semanas nestes indivíduos, controle, DCL e DA. Assim, os resultados foram tratados com análises de modelos lineares mistos, onde cada um dos desfechos foi avaliado de forma independente correlacionando de forma independente com o objetivo do presente estudo que é compreender a influência do tratamento (probiótico ou placebo) ou mesmo do tempo, e evidenciar melhor o efeito sobre a cognição e marcadores biológicos como citocinas e neurotrofinas. É importante destacar que estes achados, embora relevantes, devem ser interpretados com cautela. Eles complementam ou divergem da literatura atual, mas não podem ser considerados conclusivos. Isso se deve ao fato de o presente estudo contar com um número reduzido de participantes, podendo ser caracterizado como um estudo piloto.

O gráfico que apresenta os resultados dos escores do teste do MEEM apresentou diferença significativa em dois grupos, sendo eles grupo controle e grupo DCL. Essa diferença é em decorrência ao tempo, ou seja, o intervalo de 12 semanas, entre uma avaliação e outra. No grupo controle os idosos apresentaram uma piora cognitiva com o passar do tempo. Essa piora pode estar relacionada com a idade, pois, nos processos de envelhecimento, há uma tendência das funções cognitivas irem diminuindo com o passar do tempo (Salthouse, 2012; Gómez-Gómez, Zapico, 2019).

Indo contra estas perspectivas, o grupo DCL apresentou uma melhora nos escores cognitivos ao longo do tempo, o que não é fisiologicamente esperado, visto que esse grupo já apresenta uma alteração cognitiva. Esse dado pode ser justificado pelo efeito placebo, que já é evidenciado como um acontecimento em ensaios clínicos (Požgain *et al.*, 2014; Girac *et al.*, 2019). Tendo um olhar mais subjetivo, existem pesquisas que correlacionam o cuidado e a empatia com melhoras inesperadas dos indivíduos em relação ao seu quadro patológico (Mufato, Gaíva, 2019). Todos esses indivíduos foram assistidos de forma igual ao longo das 12 semanas, mas eles podem ter respondido de forma diferente a esses cuidados.

No TFV, a diferença significativa pode ser observada no grupo DA, porém não está relacionada com o tempo, mas sim com o tratamento. O grupo placebo manteve os mesmos escores entre T1 e T2, no entanto o grupo que recebeu probiótico apresenta um escore menor,

indicando um declínio nessa habilidade, o que pode ser esperado em decorrência ao diagnóstico cognitivo, mas não com o uso de probióticos, visto que alguns ensaios clínicos que utilizaram cepas semelhantes à do presente estudo foi observado uma melhora nos escores das funções cognitivas (Akbari *et al.*, 2016; Agahi *et al.*, 2018; Asaoka *et al.*, 2022; Shi *et al.*, 2022). No entanto, o que pode justificar essa diferença é a presença da demência já estabelecida nos idosos do presente estudo. No TDR, não foi observado nenhuma diferença significativa entre os parâmetros avaliados.

Quando avaliados os níveis das citocinas pró-inflamatórias, o que prevaleceu entre os resultados foi a diferença ao longo do tempo, independente do tratamento. No entanto, nos níveis de TNF- α foi observado uma diferença significativa entre a interação tempo e tratamento. Esses achados indicam que o grupo exposto ao probiótico apresentou um aumento significativo nesse marcador em comparação com o grupo placebo e em relação aos mesmos indivíduos no T1. TNF- α é uma das principais citocinas pró-inflamatórias já estudadas e tem seu aumento relacionado com o envelhecimento, *inflammaging*, bem como uma maior susceptibilidade a neurodegeneração (Clark, Atwood, 2011; Ren *et al.*, 2020). O uso de probióticos está relacionado a uma diminuição dos níveis de TNF- α em diversos estudos clínicos prévios com idosos, seja controlado por placebo ou não (Finamore *et al.*, 2019; Ton *et al.*, 2020; Vincenzi, Goettert, de Souza, 2021; Kim, *et al.*, 2023; Zali *et al.*, 2024).

Como os resultados apresentados neste estudo são contrários a estes, e esta amostra sendo uma amostra pequena, optou-se por investigar de forma mais precisa cada um dos idosos que apresentou aumento de TNF- α no T2 que fez o uso de probióticos. No T2 dos seis indivíduos tratados com probióticos, só de três foi possível realizar as análises desta citocina, mesmo que não seja possível afirmar que o probiótico aumenta os níveis dela, é preciso entender com quais fatores esse aumento pode estar relacionado. Investigando cada um desses participantes durante as 12 semanas de tratamento, foi constatado de que dois deles, coincidentemente os mesmos que apresentaram os níveis mais altos de TNF- α fizeram a atualização do calendário vacinal, realizando a vacina da hepatite B. A vacinas exacerbam a resposta do sistema imunológico, uma vez que estimulam a produção de anticorpos, o que pode envolver uma resposta inflamatória aguda e a liberação de citocinas, como o TNF- α (Trépo, Chan, Lok, 2014).

Outro achado observado na avaliação dos níveis desta citocina, foi uma diminuição dela nos participantes em T2 quando comparado a T1. Por ser apenas relação com a variável tempo, não é esperado essa diminuição, pois com a senescência, TNF- α , IL-1 β e IL-6 tendem a aumentar. E foi o que se observou tanto em IL-6, quanto em IL-1 β . Esse aumento das citocinas

pró-inflamatórias não pode ser visto exclusivamente como algo maléfico, mas sim como uma resposta importante do sistema imunológico, uma vez que a inflamação de baixo grau pode auxiliar no processo adaptativo do organismo ao envelhecimento (Santoro, Bientinesi, Monti, 2021). Um ensaio clínico, não controlado por placebo, realizado por Ton *et al.* (2020) ofereceu uma formulação simbiótica aos idosos com DA ou DCL por 90 dias, e ao analisar os níveis de IL-6 e IL-1 β eles não obtiveram diferenças significativas entre T1 e T2. Outro estudo que avaliou os níveis de IL-6 também não observou diferenças entre início e fim de tratamento (Finamore *et al.*, 2019). No caso, esses resultados se assemelham aos do presente estudo, uma vez que não foram obtidas diferenças significativas quando avaliada a variável tratamento. A diferença está relacionada com o tempo.

TGF- β é a primeira citocina anti-inflamatória que se avaliou no presente estudo. Assim como IL-6 e IL-1 β , os níveis desta citocina também aumentaram quando comparados pré- e pós-tratamento relacionando com a variável tempo. No entanto, o aumento de TGF- β se mostra como um resultado importante, uma vez que esta é uma citocina que estimula diversas respostas celulares, e que vem ao longo dos últimos anos apresentando uma correlação importante com os fatores de envelhecimento, bem como atividades neuroprotetoras (Tominaga, Suzuki, 2019; Deng *et al.*, 2024). Esta é uma citocina ainda pouco avaliada em ensaios clínicos, e ainda existem muitas dúvidas quanto ao seu real funcionamento e relações no processo de saúde e doença (Tominaga, Suzuki, 2019). Contudo, as demais citocinas anti-inflamatórias IL-4 e IL-10 apresentaram uma diminuição significativa também relacionada com a variável tempo. A diminuição dos níveis de IL-4 e IL-10 podem ser correlacionadas com o aumento dos níveis de IL-6 e IL-1 β , sendo que esses são resultados esperados no processo de envelhecimento, aumento de citocinas pró-inflamatórias e diminuição das anti-inflamatórias, caracterizando a perda da integridade da BHE, da mucosa intestinal e o aumento da susceptibilidade do envelhecimento (López-Otín *et al.*, 2013; Freitas, Py, 2016; López-Otín *et al.*, 2023). Ton *et al.* (2020) evidenciou que os níveis de IL-10 não mostraram alterações após 90 dias de suplementação probiótica.

Poucos ensaios clínicos realizados com o uso de suplementação probiótica analisou os níveis de marcadores pró-inflamatórios (IL-6, IL-1 β , IL-12, IL-8, TNF- α) e estes costumam evidenciar que essa suplementação reduz a inflamação, mesmo que em alguns casos seja apenas por manter os níveis do pré- e pós-tratamento (Finamore *et al.*, 2019; Ton *et al.*, 2020). Além disso, esses estudos tendem a focar nos marcadores pró-inflamatórios e quando analisaram marcadores anti-inflamatórios foram apresentados dados apenas de IL-10. Ausência de dados de IL-4 pode assim ser evidenciada.

As neurotrofinas avaliadas neste trabalho foram BDNF, GDNF e NGF que compõem juntas as neurotrofinas mais importantes estudadas e que possuem forte correlação com o envelhecimento, bem como o surgimento das doenças neurodegenerativas (Budni *et al.*, 2015). BDNF é um mediador de transmissão sináptica, plasticidade e proliferação neuronal, aumenta significativamente a viabilidade e diferenciação dos neurônios colinérgicos. A redução do BDNF pode levar a danos significativos ao aprendizado e à memória (Budni *et al.*, 2015; Gao *et al.*, 2022). Já o NGF está envolvido, de forma mais específica, nas populações neuronais, incluindo neurônios colinérgicos, e na manutenção da homeostase do sistema imunológico e neuroendócrino (Cirulli, Alleva, 2009). Seu papel na cognição é significativo, e qualquer redução em seus níveis pode estar associada ao envelhecimento, contribuindo potencialmente para um declínio dependente da idade na função cognitiva (Lärkfors *et al.*, 1987; Hasenöhr *et al.*, 1997). E por fim, o GDNF é um fator neurotrófico expresso em todo o cérebro, induz a captação de dopamina e a sobrevivência celular (Schaar *et al.*, 1993; Veenakumari *et al.*, 2022). Adicionalmente, níveis reduzidos de GDNF podem estar associados a neurodegeneração (Farrand *et al.*, 2015).

Os primeiros resultados apresentados são dos níveis de BDNF onde é possível observar que os níveis desta neurotrofina diminuíram no grupo DCL e DA em relação ao pré- e pós-tratamento estando relacionado com o tempo. Assim como o aumento das citocinas pró-inflamatórias e a diminuição das citocinas anti-inflamatórias, uma diminuição das neurotrofinas é esperada em decorrência do envelhecimento (López-Otín *et al.*, 2013; Freitas, Py, 2016; López-Otín *et al.*, 2023). Os níveis de BDNF também podem ser relacionados com a microbiota intestinal, um melhor funcionamento e homeostase dessa flora contribui para melhorar a função neural e imunológica (Muller *et al.*, 2020; Wang *et al.*, 2022). Contudo, mesmo que o BDNF já apresente uma correlação entre microbiota e seu melhor funcionamento, em um estudo realizado por Azuma *et al.* (2023) também não conseguiu observar diferença significativa com o uso de probióticos por 12 semanas quando comparado antes e depois, placebo e probiótico.

Os resultados exibidos sobre os níveis de GDNF mostram outros achados. O primeiro deles é uma mudança entre a interação tempo e tratamento apresentado no grupo controle, que quando aplicado o *post hoc* perdeu a significância. Essa interação havia sugerido um aumento nos níveis dessa neurotrofina em indivíduos expostos ao tratamento com probióticos. Além disso, o grupo DCL também apresentou diferenças significativas, sendo estas com relação ao tratamento, no grupo que recebeu placebo, e é possível observar uma diminuição desses níveis, e no probiótico um sutil aumento. Um estudo em modelo animal apresentou evidências que fatores neurotróficos foram significativamente melhores, sugerindo assim a regulação positiva

de fatores neurotróficos fornecidos pelo uso de probióticos (Srivastav *et al.*, 2019). Contudo, ensaios clínicos dosando esta neurotrofina não foram encontrados para realização de uma comparação mais fidedigna.

Os dados de NGF apresentam evidências diferentes das outras duas neurotrofinas. O resultado significativo está presente no grupo DCL e sugere que o grupo tratado com probióticos apresentou um aumento nos níveis de NGF ao longo do tempo, enquanto o grupo tratado com placebo mostrou uma redução. No entanto, quando aplicado *post hoc* essa diferença é perdida. Um ensaio clínico realizado por Rahimlou *et al.* (2022) em indivíduos com Esclerose Múltipla, também não foi capaz de observar diferenças significativas com o uso de probióticos nos níveis desta neurotrofina após um período de seis meses de tratamento.

O número de indivíduos analisados neste ensaio clínico é relativamente pequeno, mas muito importante considerando o cenário de estudos atuais, somado aos demais estudos da literatura ele permitiu testar a viabilidade das cepas probióticas, confirmar ou refutar hipóteses preliminares sobre o tema e assim auxiliar em estudos maiores que poderão ser realizados posteriormente (Eldridge *et al.*, 2016). Somado aos achados deste estudo, visto que em alguns casos os resultados obtidos se opõem aos da literatura, contudo em outros casos corroboram, mesmo assim é importante discutir a análises de partição de variância, que auxiliam a validar e compreender resultados do presente estudo.

Os 3 gráficos apresentando os resultados das APV evidenciam que os resíduos apresentam maior influência sobre cognição, neurotrofinas e inflamação. Os resíduos refletem a parte da variabilidade que não foi explicada pelos fatores incluídos no estudo, ou seja, fatores individuais. Soyly, Ozekes, (2023) realizaram um estudo avaliando o modelo biopsicossocial no processo de envelhecimento. Eles conseguiram observar como os fatores sociais, de rede de contato, incluindo possuir amigos e família próximos bem como a satisfação social desse indivíduo, quando positivos fazem que indivíduos visualizem o tempo futuro de uma forma mais aberta e conseguem viver o tempo presente com mais qualidade de vida. Uma revisão conduzida por Sánchez-Izquierdo e Fernández-Ballesteros (2021) relatou que nos estudos mais importantes, buscando padrões de longo prazo de estabilidade e mudança de medidas cognitivas ao longo de uma vida e na fase idosa, mostraram uma grande variedade de variabilidade interindividual em mudanças de funcionamento cognitivo atribuídas à idade.

Essas pesquisas e perspectivas são especialmente relevantes no presente estudo, pois os dados obtidos refletem essa complexidade, com resíduos sendo as variáveis que mais influenciaram nas evidências finais. Além disso, a variável tempo foi a que mais apresentou relação com os dados do presente estudo, e mesmo sendo algo comum ser alterações no

processo de envelhecimento, ela é uma variável que também pode ser facilmente influenciada por inúmeros fatores inespecíficos.

O presente apresentou algumas limitações, que devem ser consideradas. A ingesta alimentar dos pacientes não foi controlada, e ela pode estar diretamente correlacionada com o uso de probióticos, uma vez que os probióticos se nutrem da ingesta alimentar desses indivíduos. Sendo este um estudo realizado em ILPIs, a população de estudo é normalmente mais vulnerável em questões socioafetivas e mentais. Além disso, ainda não foi realizada análise fecal para avaliar a colonização intestinal, o que poderá fornecer informações adicionais sobre os efeitos dos probióticos na microbiota.

Embora o estudo apresente limitações, é importante destacar que ele é um dos primeiros a investigar o uso de probióticos em diferentes grupos de idosos, com diferentes condições cognitivas, como DCL e DA. Porém, é importante destacar que os efeitos dos probióticos são específicos para cada cepa, portanto, os resultados deste estudo aplicam-se exclusivamente às cepas utilizadas (*Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium bifidum* e *Bifidobacterium breve*, 1×10^9 UFC/mL).

Como perspectivas futuras, recomenda-se a realização de pesquisas adicionais, com diferentes cepas probióticas, bem como incluindo análises complementares, além de um n amostral mais conciso.

6 CONCLUSÃO

Com este trabalho é possível concluir que o uso de probióticos não apresentou tantos efeitos generalizados. No entanto, foi evidenciada uma melhora nos níveis de GDNF e NGF, neurotrofinas essenciais para a saúde neuronal. As demais diferenças observadas se relacionam com os efeitos do tempo, e variáveis individuais e específicas de cada idoso, evidenciando mais uma vez os efeitos heterogêneos do envelhecimento. Os resultados obtidos neste estudo contribuem para uma melhor compreensão da complexa relação entre a microbiota intestinal, SNC e o processo de envelhecimento, abrindo novas perspectivas para o desenvolvimento de estratégias terapêuticas. É importante que mais estudos com uma população maior sejam realizados para elucidar de uma forma mais clara qual o real papel dos probióticos e sua influência no eixo intestino-cérebro.

REFERÊNCIAS

- ABDOLAH, Sara *et al.* A review of molecular interplay between neurotrophins and miRNAs in neuropsychological disorders. **Molecular Neurobiology**, v. 59, n. 10, p. 6260-6280, 2022. DOI: 10.1007/s12035-022-02966-5.
- ABRAHAM, Dora *et al.* Exercise and probiotics attenuate the development of Alzheimer's disease in transgenic mice: role of microbiome. **Experimental gerontology**, v. 115, p. 122-131, 2019.
- AGAHI, Azadeh *et al.* Does severity of Alzheimer's disease contribute to its responsiveness to modifying gut microbiota? A double blind clinical trial. **Frontiers in neurology**, v. 9, p. 662, 2018.
- AHMED, Hany *et al.* Microbiota-derived metabolites as drivers of gut–brain communication. **Gut microbes**, v. 14, n. 1, p. 2102878, 2022.
- AKBARI, Elmira *et al.* Effect of probiotic supplementation on cognitive function and metabolic status in Alzheimer's disease: a randomized, double-blind and controlled trial. **Frontiers in aging neuroscience**, v. 8, p. 256, 2016.
- ALBERT, Marilyn S. *et al.* The diagnosis of mild cognitive impairment due to Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. **Focus**, v. 11, n. 1, p. 96-106, 2013.
- ALJUMAAH, Mashael R. *et al.* The gut microbiome, mild cognitive impairment, and probiotics: a randomized clinical trial in middle-aged and older adults. **Clinical Nutrition**, v. 41, n. 11, p. 2565-2576, 2022.
- ALZHEIMER'S ASSOCIATION *et al.* 2018 Alzheimer's disease facts and figures. **Alzheimer's & Dementia**, v. 14, n. 3, p. 367-429, 2018.
- ALZHEIMER'S ASSOCIATION *et al.* 2024 Alzheimer's disease facts and figures. **Alzheimer's & Dementia**, 20: 3708-3821. 2024.
- AN, Hsin-Yu *et al.* The relationships between physical activity and life satisfaction and happiness among young, middle-aged, and older adults. **International journal of environmental research and public health**, v. 17, n. 13, p. 4817, 2020.
- ANGELUCCI, Francesco *et al.* Antibiotics, gut microbiota, and Alzheimer's disease. **Journal of neuroinflammation**, v. 16, p. 1-10, 2019.
- APRAHAMIAN, Ivan, *et al.* **Psiquiatria Geriátrica**. Rio de Janeiro: Grupo Editorial Nacional, 2019.
- ASAOKA, Daisuke *et al.* Effect of probiotic Bifidobacterium breve in improving cognitive function and preventing brain atrophy in older patients with suspected mild cognitive impairment: results of a 24-week randomized, double-blind, placebo-controlled trial. **Journal of Alzheimer's Disease**, v. 88, n. 1, p. 75-95, 2022.

ASHIDA, Reiko *et al.* Sensorimotor, language, and working memory representation within the human cerebellum. **Human Brain Mapping**, v. 40, n. 16, p. 4732-4747, 2019. DOI: 10.1002/hbm.24733.

ASL, Zahra Rezaei; SEPEHRI, Gholamreza; SALAMI, Mahmoud. Probiotic treatment improves the impaired spatial cognitive performance and restores synaptic plasticity in an animal model of Alzheimer's disease. **Behavioural brain research**, v. 376, p. 112183, 2019.

ATHARI NIK AZM, Somayeh *et al.* Lactobacilli and bifidobacteria ameliorate memory and learning deficits and oxidative stress in β -amyloid (1–42) injected rats. **Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism**, v. 43, n. 7, p. 718-726, 2018.

ARANCIO, Ottavio; CHAO, Moses V. Neurotrophins, synaptic plasticity and dementia. **Current Opinion in Neurobiology**, v. 17, n. 3, p. 325-330, 2007. DOI: 10.1016/j.conb.2007.03.013.

AZUMA, Naoki *et al.* Effect of continuous ingestion of bifidobacteria and dietary fiber on improvement in cognitive function: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. **Nutrients**, v. 15, n. 19, p. 4175, 2023.

BACHSTETTER, Adam D. *et al.* Microglial p38 α MAPK is a key regulator of proinflammatory cytokine up-regulation induced by toll-like receptor (TLR) ligands or beta-amyloid (A β). **Journal of neuroinflammation**, v. 8, p. 1-12, 2011.

BECKER, James T.; MORRIS, Robin G. Working memory (s). **Brain and cognition**, v. 41, n. 1, p. 1-8, 1999.

BEKTAS, Arsun *et al.* Aging, inflammation and the environment. **Experimental gerontology**, v. 105, p. 10-18, 2018.

BLENNOW, Kaj; ZETTERBERG, Henrik. Biomarkers for Alzheimer's disease: current status and prospects for the future. **Journal of internal medicine**, v. 284, n. 6, p. 643-663, 2018.

BLINKOUSKAYA, Yana *et al.* Brain aging mechanisms with mechanical manifestations. **Mechanisms of ageing and development**, v. 200, p. 111575, 2021.

BOMFIM, Wanderson Costa; SILVA, Mariane Coimbra da; CAMARGOS, Mirela Castro Santos. Statute of the Elderly: analysis of the factors associated with awareness of the statute among the elderly Brazilian population. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 27, p. 4277-4288, 2022.

BONAZ, Bruno; BAZIN, Thomas; PELLISSIER, Sonia. The vagus nerve at the interface of the microbiota-gut-brain axis. **Frontiers in neuroscience**, v. 12, p. 336468, 2018.

BONFILI, Laura *et al.* Gut microbiota manipulation through probiotics oral administration restores glucose homeostasis in a mouse model of Alzheimer's disease. **Neurobiology of Aging**, v. 87, p. 35-43, 2020.

- BONFILI, Laura *et al.* Microbiota modulation counteracts Alzheimer's disease progression influencing neuronal proteolysis and gut hormones plasma levels. **Scientific reports**, v. 7, n. 1, p. 2426, 2017.
- BRASIL. Resolução no 466/92012 do Conselho Nacional de Saúde/MS: dispõe sobre diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisa envolvendo seres humanos. **Diário Oficial da União**, Brasília- DF, 2012.
- BREIJYEH, Zeinab; KARAMAN, Rafik. Comprehensive review on Alzheimer's disease: causes and treatment. **Molecules**, v. 25, n. 24, p. 5789, 2020.
- BRUCKI, Sonia *et al.* Sugestões para o uso do mini-exame do estado mental no Brasil. **Arquivos de Neuro-psiquiatria**, v. 61, p. 777-781, 2003.
- BUDNI, Josiane *et al.* The involvement of BDNF, NGF and GDNF in aging and Alzheimer's disease. **Aging and disease**, v. 6, n. 5, p. 331, 2015.
- BURKE, Sara N.; BARNES, Carol A. Neural plasticity in the ageing brain. **Nature reviews neuroscience**, v. 7, n. 1, p. 30-40, 2006.
- C. VICKERS, James *et al.* Defining the earliest pathological changes of Alzheimer's disease. **Current Alzheimer Research**, v. 13, n. 3, p. 281-287, 2016.
- CAMPOS, Ana Carolina Brunatto Falchetti *et al.* Prevalence of cognitive impairment and associated factors in older people. **Journal of Affective Disorders**, v. 355, p. 283-289, 2024.
- CATTANEO, Annamaria *et al.* Association of brain amyloidosis with pro-inflammatory gut bacterial taxa and peripheral inflammation markers in cognitively impaired elderly. **Neurobiology of aging**, v. 49, p. 60-68, 2017.
- CHARNEY, Dennis S. *et al.* (Ed.). **Neurobiology of mental illness**. Oxford University Press, 2013.
- CHEN, Jiangfei *et al.* Developmental co-exposure of TBBPA and titanium dioxide nanoparticle induced behavioral deficits in larval zebrafish. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 215, p. 112176, 2021.
- CHENG, Jinbo *et al.* Microglial Calhm2 regulates neuroinflammation and contributes to Alzheimer's disease pathology. **Science advances**, v. 7, n. 35, p. eabe3600, 2021.
- CIRULLI, Francesca; ALLEVA, Enrico. The NGF saga: from animal models of psychosocial stress to stress-related psychopathology. **Frontiers in neuroendocrinology**, v. 30, n. 3, p. 379-395, 2009.
- CLAESSON, Marcus J. *et al.* Gut microbiota composition correlates with diet and health in the elderly. **Nature**, v. 488, n. 7410, p. 178-184, 2012.
- CLARK, Ian A.; ATWOOD, Craig S. Is TNF a link between aging-related reproductive endocrine dyscrasia and Alzheimer's disease?. **Journal of Alzheimer's Disease**, v. 27, n. 4, p. 691-699, 2011.

- COLLINS, Stephen M.; SURETTE, Michael; BERCIK, Premysl. The interplay between the intestinal microbiota and the brain. **Nature Reviews Microbiology**, v. 10, n. 11, p. 735-742, 2012.
- COWAN, Emily T. *et al.* Memory consolidation as an adaptive process. **Psychonomic Bulletin & Review**, p. 1-15, 2021.
- CRYAN, John F. *et al.* The microbiota-gut-brain axis. **Physiological reviews**, 2019.
- DA ROS, Lucas U. *et al.* **Social and health disparities associated with healthy brain ageing in Brazil and in other Latin American countries.** *The Lancet. Global health*, v. 13, n. 2, p. e277-e284, 2025. DOI: 10.1016/S2214-109X(24)00451-0.
- DAVIS, Matthew *et al.* Estimating Alzheimer's disease progression rates from normal cognition through mild cognitive impairment and stages of dementia. **Current Alzheimer Research**, v. 15, n. 8, p. 777-788, 2018.
- DE OLIVEIRA, Jade *et al.* Inflammatory cascade in Alzheimer's disease pathogenesis: A review of experimental findings. **Cells**, v. 10, n. 10, p. 2581, 2021.
- DEL DUCA, Giovâni Firpo *et al.* Predictive factors for institutionalization of the elderly: a case-control study. **Revista de saúde pública**, v. 46, p. 147-153, 2012.
- DEN, Haoyue *et al.* Efficacy of probiotics on cognition, and biomarkers of inflammation and oxidative stress in adults with Alzheimer's disease or mild cognitive impairment—A meta-analysis of randomized controlled trials. **Aging (Albany NY)**, v. 12, n. 4, p. 4010, 2020.
- DENG, Ziqin *et al.* TGF- β signaling in health, disease, and therapeutics. **Signal transduction and targeted therapy**, v. 9, n. 1, p. 61, 2024.
- DESA, U. N. Population Division. 2020. **World Population Prospects 2022: Summary of Results**, 2020.
- DISSANAYAKA, DM Sithara *et al.* The role of diet and gut microbiota in Alzheimer's disease. **Nutrients**, v. 16, n. 3, p. 412, 2024.
- DOIFODE, Tejaswini *et al.* The impact of the microbiota-gut-brain axis on Alzheimer's disease pathophysiology. **Pharmacological Research**, v. 164, p. 105314, 2021.
- ECKSTROM, Elizabeth *et al.* Physical activity and healthy aging. **Clinics in geriatric medicine**, v. 36, n. 4, p. 671-683, 2020.
- EIDEN, Lee E. *et al.* Neuropeptides and small-molecule amine transmitters: cooperative signaling in the nervous system. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 79, n. 9, p. 492, 2022.
- ELDRIDGE, Sandra M. *et al.* CONSORT 2010 statement: extension to randomised pilot and feasibility trials. **BMJ**, v. 355, 2016.

FARRAND, Ariana Q. *et al.* Effects of aging on glutamate neurotransmission in the substantia nigra of Gdnf heterozygous mice. **Neurobiology of aging**, v. 36, n. 3, p. 1569-1576, 2015.

FEI, Yuzhe *et al.* Probiotic intervention benefits multiple neural behaviors in older adults with mild cognitive impairment. **Geriatric Nursing**, v. 51, p. 167-175, 2023.

FINAMORE, Alberto *et al.* Supplementation with Bifidobacterium longum Bar33 and Lactobacillus helveticus Bar13 mixture improves immunity in elderly humans (over 75 years) and aged mice. **Nutrition**, v. 63, p. 184-192, 2019.

FORSTER, Samuel C. *et al.* A human gut bacterial genome and culture collection for improved metagenomic analyses. **Nature biotechnology**, v. 37, n. 2, p. 186-192, 2019.

FRANCESCHI, Claudio *et al.* Inflamm-aging: an evolutionary perspective on immunosenescence. **Annals of the new York Academy of Sciences**, v. 908, n. 1, p. 244-254, 2000.

FRANKLAND, Paul W.; BONTEMPI, Bruno. The organization of recent and remote memories. **Nature reviews neuroscience**, v. 6, n. 2, p. 119-130, 2005.

FREITAS, E. V. D., Py, L. **Tratado de Geriatria e Gerontologia**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2016. 1651 p.

FULOP, T. *et al.* Immunology of aging: the birth of inflammaging. **Clinical reviews in allergy & immunology**, p. 1-14, 2021.

GANDY, Sam *et al.* The role of cerebral amyloid β accumulation in common forms of Alzheimer disease. **The Journal of clinical investigation**, v. 115, n. 5, p. 1121-1129, 2005.

GAO, Lina *et al.* Brain-derived neurotrophic factor in Alzheimer's disease and its pharmaceutical potential. **Translational neurodegeneration**, v. 11, n. 1, p. 4, 2022.

GARCEZ, Michelle Lima *et al.* Minocycline reduces inflammatory parameters in the brain structures and serum and reverses memory impairment caused by the administration of amyloid β (1-42) in mice. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 77, p. 23-31, 2017.

GARCEZ, Michelle Lima *et al.* The involvement of NLRP3 on the effects of minocycline in an AD-like pathology induced by β -amyloid oligomers administered to mice. **Molecular neurobiology**, v. 56, p. 2606-2617, 2019.

GILL, Steven R. *et al.* Metagenomic analysis of the human distal gut microbiome. **Science**, v. 312, n. 5778, p. 1355-1359, 2006.

GIRACH, A.; AAMIR, A.; ZIS, P. **The neurobiology under the placebo effect**. Drugs of Today (Barcelona, Spain: 1998), v. 55, n. 7, p. 469-476, 2019.

- GÓMEZ-GÓMEZ, María Elena; ZAPICO, Sara C. Frailty, cognitive decline, neurodegenerative diseases and nutrition interventions. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 11, p. 2842, 2019.
- GONZÁLEZ OLMO, Brigitte M.; BUTLER, Michael J.; BARRIENTOS, Ruth M. Evolution of the human diet and its impact on gut microbiota, immune responses, and brain health. **Nutrients**, v. 13, n. 1, p. 196, 2021.
- GORDON, Ludmila; LEVKOWITZ, Gil. Through the Open Window: How Does the Brain Talk to the Body?. **Front. Young Minds**, v. 9, p. 534184, 2021.
- GUO, Mingyan *et al.* Gut microbiome features of Chinese patients newly diagnosed with Alzheimer's disease or mild cognitive impairment. **Journal of Alzheimer's Disease**, v. 80, n. 1, p. 299-310, 2021.
- HABER, S. N. Neurotransmitters in the human and nonhuman primate basal ganglia. **Human neurobiology**, v. 5, n. 3, p. 159-168, 1986.
- HALTER, Jeffrey B. **Hazzard's geriatric medicine and gerontology**. 2009.
- HAMDAN, Amer Cavalheiro. Avaliação neuropsicológica na doença de Alzheimer e no comprometimento cognitivo leve. **Psicologia Argumento**, v. 26, n. 54, p. 183-192, 2008.
- HAMPEL, Harald *et al.* The amyloid- β pathway in Alzheimer's disease. **Molecular psychiatry**, v. 26, n. 10, p. 5481-5503, 2021.
- HANDLEY, Scott A.; DUBE, Peter H.; MILLER, Virginia L. Histamine signaling through the H2 receptor in the Peyer's patch is important for controlling *Yersinia enterocolitica* infection. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 103, n. 24, p. 9268-9273, 2006.
- HARADA, Caroline N.; LOVE, Marissa C. Natelson; TRIEBEL, Kristen. Normal cognitive aging. **Clinics in geriatric medicine**, v. 29, n. 4, p. 737, 2013.
- HARAN, John P. *et al.* Alzheimer's disease microbiome is associated with dysregulation of the anti-inflammatory P-glycoprotein pathway. **MBio**, v. 10, n. 3, p. 10.1128/mbio.00632-19, 2019.
- HASENÖHRL, R. U. *et al.* Reciprocal changes in expression of mRNA for nerve growth factor and its receptors TrkA and LNGFR in brain of aged rats in relation to maze learning deficits. **Experimental brain research**, v. 114, p. 205-213, 1997.
- HECKMANN, Bradlee L. *et al.* LC3-associated endocytosis facilitates β -amyloid clearance and mitigates neurodegeneration in murine Alzheimer's disease. **Cell**, v. 178, n. 3, p. 536-551. e14, 2019.
- HOMBERG, Uwe. Neurotransmitters and neuropeptides in the brain of the locust. **Microscopy research and technique**, v. 56, n. 3, p. 189-209, 2002.

HSU, Yu-Chieh *et al.* Efficacy of probiotic supplements on brain-derived neurotrophic factor, inflammatory biomarkers, oxidative stress and cognitive function in patients with Alzheimer's dementia: A 12-week randomized, double-blind active-controlled study. **Nutrients**, v. 16, n. 1, p. 16, 2023.

HUANG, Yu *et al.* The gut microbiome modulates the transformation of microglial subtypes. **Molecular psychiatry**, v. 28, n. 4, p. 1611-1621, 2023.

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Censo Demográfico**. Rio de Janeiro, 2020. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/estatisticas/sociais/educacao/9663-censo-demografico-2000.html?edicao=9859&t=destaques>. Acesso em jul 2024.

ISAEV, Nickolay K.; STELMASHOOK, Elena V.; GENRIKHS, Elisaveta E. Neurogenesis and brain aging. **Reviews in the Neurosciences**, v. 30, n. 6, p. 573-580, 2019.

IZQUIERDO, I. et al. The connection between the hippocampal and the striatal memory systems of the brain: a review of recent findings. **Neurotoxicity research**, v. 10, n. 2, p. 113-121, 2006. DOI: 10.1007/BF03033240.

IZQUIERDO, I.; MEDINA, J. H. Memory formation: the sequence of biochemical events in the hippocampus and its connection to activity in other brain structures. **Neurobiology of learning and memory**, v. 68, n. 3, p. 285-316, 1997. DOI: 10.1006/nlme.1997.3799.

JACK JR, Clifford R. *et al.* Introduction to the recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. **Alzheimer's & dementia**, v. 7, n. 3, p. 257-262, 2011.

JU, Yaojun; TAM, Kin Yip. Pathological mechanisms and therapeutic strategies for Alzheimer's disease. **Neural regeneration research**, v. 17, n. 3, p. 543-549, 2022.

KANDEL, Eric R.; DUDAI, Yadin; MAYFORD, Mark R. The molecular and systems biology of memory. **Cell**, v. 157, n. 1, p. 163-186, 2014.

KATO, Yuka *et al.* Diagnostic performance of a combination of Mini-Mental State Examination and Clock Drawing Test in detecting Alzheimer's disease. **Neuropsychiatric disease and treatment**, p. 581-586, 2013.

KAUR, Harpreet *et al.* Effects of probiotic supplementation on short chain fatty acids in the App NL-GF mouse model of Alzheimer's disease. **Journal of Alzheimer's Disease**, v. 76, n. 3, p. 1083-1102, 2020.

KOZIOL, Leonard F. et al. Consensus paper: the cerebellum's role in movement and cognition. **Cerebellum London, England**, v. 13, n. 1, p. 151-177, 2014. DOI: 10.1007/s12311-013-0511-x.

KESIKA, Periyanaiana *et al.* Role of gut-brain axis, gut microbial composition, and probiotic intervention in Alzheimer's disease. **Life sciences**, v. 264, p. 118627, 2021.

KHAN, Sahil; BARVE, Kalyani H.; KUMAR, Maushmi S. Recent advancements in pathogenesis, diagnostics and treatment of Alzheimer's disease. **Current neuropharmacology**, v. 18, n. 11, p. 1106-1125, 2020.

KIM, Chong-Su *et al.* Gut microbiota indole-3-propionic acid mediates neuroprotective effect of probiotic consumption in healthy elderly: A randomized, double-blind, placebo-controlled, multicenter trial and in vitro study. **Clinical Nutrition**, v. 42, n. 6, p. 1025-1033, 2023.

KIM, Chong-Su *et al.* Probiotic supplementation improves cognitive function and mood with changes in gut microbiota in community-dwelling older adults: a randomized, double-blind, placebo-controlled, multicenter trial. **The Journals of Gerontology: Series A**, v. 76, n. 1, p. 32-40, 2021.

KIM, Jennifer; PARISH, Abby Luck. Polypharmacy and medication management in older adults. **Nursing Clinics**, v. 52, n. 3, p. 457-468, 2017.

KIM, Kyoung Sub *et al.* Oral nanoparticles exhibit specific high-efficiency intestinal uptake and lymphatic transport. **ACS nano**, v. 12, n. 9, p. 8893-8900, 2018.

KOBAYASHI, Y. *et al.* Effects of Bifidobacterium breve A1 on the cognitive function of older adults with memory complaints: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. **Beneficial microbes**, v. 10, n. 5, p. 511-520, 2019.

KOBAYASHI, Yodai *et al.* Bifidobacterium breve A1 supplementation improved cognitive decline in older adults with mild cognitive impairment: an open-label, single-arm study. **The Journal of Prevention of Alzheimer's Disease**, v. 6, p. 70-75, 2019.

KOBAYASHI, Yodai *et al.* Therapeutic potential of Bifidobacterium breve strain A1 for preventing cognitive impairment in Alzheimer's disease. **Scientific reports**, v. 7, n. 1, p. 13510, 2017.

KOWALSKI, Karol; MULAK, Agata. Brain-gut-microbiota axis in Alzheimer's disease. **Journal of neurogastroenterology and motility**, v. 25, n. 1, p. 48, 2019.

KWON, Hyejin *et al.* Lactobacillus-derived extracellular vesicles counteract A β 42-induced abnormal transcriptional changes through the upregulation of MeCP2 and Sirt1 and improve A β pathology in Tg-APP/PS1 mice. **Experimental & Molecular Medicine**, v. 55, n. 9, p. 2067-2082, 2023.

LÄRKFORS, Lena *et al.* Decreased level of nerve growth factor (NGF) and its messenger RNA in the aged rat brain. **Molecular Brain Research**, v. 3, n. 1, p. 55-60, 1987.

LEE, Hong-Gyun; WHEELER, Michael A.; QUINTANA, Francisco J. Function and therapeutic value of astrocytes in neurological diseases. **Nature reviews Drug discovery**, v. 21, n. 5, p. 339-358, 2022.

LIN, Wei *et al.* The role of TLR2/JNK/NF- κ B pathway in amyloid β peptide-induced inflammatory response in mouse NG108-15 neural cells. **International immunopharmacology**, v. 17, n. 3, p. 880-884, 2013.

LISS, J. L. *et al.* Practical recommendations for timely, accurate diagnosis of symptomatic Alzheimer's disease (MCI and dementia) in primary care: a review and synthesis. **Journal of internal medicine**, v. 290, n. 2, p. 310-334, 2021.

LOH, Jian Sheng *et al.* Microbiota–gut–brain axis and its therapeutic applications in neurodegenerative diseases. **Signal Transduction and Targeted Therapy**, v. 9, n. 1, p. 37, 2024.

LONG, Justin M.; HOLTZMAN, David M. Alzheimer disease: an update on pathobiology and treatment strategies. **Cell**, v. 179, n. 2, p. 312-339, 2019.

LÓPEZ-OTÍN, Carlos *et al.* Hallmarks of aging: An expanding universe. **Cell**, v. 186, n. 2, p. 243-278, 2023.

LÓPEZ-OTÍN, Carlos *et al.* The hallmarks of aging. **Cell**, v. 153, n. 6, p. 1194-1217, 2013.

LOWSKY, David J. *et al.* Heterogeneity in healthy aging. **Journals of Gerontology Series A: Biomedical Sciences and Medical Sciences**, v. 69, n. 6, p. 640-649, 2014.

LUPPA, Melanie *et al.* Prediction of institutionalization in the elderly. A systematic review. **Age and ageing**, v. 39, n. 1, p. 31-38, 2010.

MACHADO, JCB (ed.). Doença de Alzheimer. In: FREITAS, Elizabete Viana de *et al.* (ed.). **Tratado de Geriatria e Gerontologia**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 1-1651, 2022.

MARESOVA, Petra *et al.* Consequences of chronic diseases and other limitations associated with old age—a scoping review. **BMC public health**, v. 19, p. 1-17, 2019.

MATTSON, Mark P.; ARUMUGAM, Thiruma V. Hallmarks of brain aging: adaptive and pathological modification by metabolic states. **Cell metabolism**, v. 27, n. 6, p. 1176-1199, 2018.

MAYER, Emeran A. *et al.* Gut microbes and the brain: paradigm shift in neuroscience. **Journal of Neuroscience**, v. 34, n. 46, p. 15490-15496, 2014.

MEGUR, Ashwinipriyadarshini *et al.* The microbiota–gut–brain axis and Alzheimer's disease: neuroinflammation is to blame?. **Nutrients**, v. 13, n. 1, p. 37, 2020.

MORAIS, Livia H.; SCHREIBER IV, Henry L.; MAZMANIAN, Sarkis K. The gut microbiota–brain axis in behaviour and brain disorders. **Nature Reviews Microbiology**, v. 19, n. 4, p. 241-255, 2021.

MORENO-JIMÉNEZ, Elena P. *et al.* Adult hippocampal neurogenesis is abundant in neurologically healthy subjects and drops sharply in patients with Alzheimer's disease. **Nature medicine**, v. 25, n. 4, p. 554-560, 2019.

MOSKALEV, Alexey; STAMBLER, Iliia; CARUSO, Calogero. Innate and adaptive immunity in aging and longevity: the foundation of resilience. **Ageing and disease**, v. 11, n. 6, p. 1363, 2020.

MUFATO, Leandro Felipe; GAÍVA, Maria Aparecida Munhoz. Empatia em saúde: revisão integrativa. **Revista de Enfermagem do Centro-Oeste Mineiro**, v. 9, 2019.

MULLER, Paul A. *et al.* Microbiota modulate sympathetic neurons via a gut–brain circuit. **Nature**, v. 583, n. 7816, p. 441-446, 2020.

MURRAY, Peter J. *et al.* Macrophage activation and polarization: nomenclature and experimental guidelines. **Immunity**, v. 41, n. 1, p. 14-20, 2014.

NAOMI, Ruth *et al.* Probiotics for Alzheimer’s disease: a systematic review. **Nutrients**, v. 14, n. 1, p. 20, 2021.

NGUYEN, Ngoc Minh; CHO, Jungsook; LEE, Choongho. Gut microbiota and Alzheimer’s disease: how to study and apply their relationship. **International journal of molecular sciences**, v. 24, n. 4, p. 4047, 2023.

NIANOGO, Roch A. *et al.* Risk factors associated with Alzheimer disease and related dementias by sex and race and ethnicity in the US. **JAMA neurology**, v. 79, n. 6, p. 584-591, 2022.

NIMGAMPALLE, Mallikarjuna *et al.* Neurotransmitter systems in the etiology of major neurological disorders: Emerging insights and therapeutic implications. **Ageing Research Reviews**, p. 101994, 2023.

OROBETS, Kseniia S.; KARAMYSHEV, Andrey L. **Amyloid Precursor Protein and Alzheimer's Disease**. *International journal of molecular sciences*, v. 24, n. 19, p. 14794, 30 set. 2023. DOI: 10.3390/ijms241914794.

OLIVEIRA, Isabela Martins; DUARTE, Yeda Aparecida de Oliveira; ZANETTA, Dirce Maria Trevisan. Prevalence of systemic arterial hypertension diagnosed, undiagnosed, and uncontrolled in elderly population: SABE Study. **Journal of Aging Research**, v. 2019, n. 1, p. 3671869, 2019.

PATANI, Rickie; HARDINGHAM, Giles E.; LIDDELOW, Shane A. Functional roles of reactive astrocytes in neuroinflammation and neurodegeneration. **Nature Reviews Neurology**, v. 19, n. 7, p. 395-409, 2023.

PAZAN, Farhad; WEHLING, Martin. Polypharmacy in older adults: a narrative review of definitions, epidemiology and consequences. **European geriatric medicine**, v. 12, p. 443-452, 2021.

PETERSEN, Ronald C. *et al.* Mild cognitive impairment: a concept in evolution. **Journal of internal medicine**, v. 275, n. 3, p. 214-228, 2014.

PETERSEN, Ronald C. Mild cognitive impairment. **CONTINUUM: lifelong Learning in Neurology**, v. 22, n. 2, p. 404-418, 2016.

POŽGAIN, I.; POŽGAIN, Z.; DEGMEČIĆ, D. **Placebo and nocebo effect: a mini-review**. *Psychiatria Danubina*, v. 26, n. 2, p. 100–107, 2014.

QIU, Chengxuan; KIVIPELTO, Miia; VON STRAUSS, Eva. Epidemiology of Alzheimer's disease: occurrence, determinants, and strategies toward intervention. **Dialogues in clinical neuroscience**, v. 11, n. 2, p. 111-128, 2009.

QUIGLEY, Eamonn MM. Microbiota-brain-gut axis and neurodegenerative diseases. **Current neurology and neuroscience reports**, v. 17, p. 1-9, 2017.

RAHIMLOU, Mehran *et al.* Effects of long-term administration of Multi-Strain Probiotic on circulating levels of BDNF, NGF, IL-6 and mental health in patients with multiple sclerosis: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. **Nutritional neuroscience**, v. 25, n. 2, p. 411-422, 2022.

RAZAVI, Shahnaz *et al.* Neurotrophic factors and their effects in the treatment of multiple sclerosis. **Advanced Biomedical Research**, v. 4, p. 53, 2015. DOI: 10.4103/2277-9175.151570.

REA, Irene Maeve *et al.* Age and age-related diseases: role of inflammation triggers and cytokines. **Frontiers in immunology**, v. 9, p. 586, 2018.

REITZ, Christiane; MAYEUX, Richard. Alzheimer disease: epidemiology, diagnostic criteria, risk factors and biomarkers. **Biochemical pharmacology**, v. 88, n. 4, p. 640-651, 2014.

REN, Siqiang *et al.* Microglia TREM2R47H alzheimer-linked variant enhances excitatory transmission and reduces LTP via increased TNF- α levels. **Elife**, v. 9, p. e57513, 2020.

REZAEIASL, Zahra; SALAMI, Mahmoud; SEPEHRI, Gholamreza. The effects of probiotic Lactobacillus and Bifidobacterium strains on memory and learning behavior, long-term potentiation (LTP), and some biochemical parameters in β -amyloid-induced rat's model of Alzheimer's disease. **Preventive nutrition and food science**, v. 24, n. 3, p. 265, 2019.

ROBINSON, Morgan; LEE, Brenda Y.; HANE, Francis T. Recent progress in Alzheimer's disease research, part 2: genetics and epidemiology. **Journal of Alzheimer's Disease**, v. 57, n. 2, p. 317-330, 2017.

RODA, Alejandro R. *et al.* Amyloid-beta peptide and tau protein crosstalk in Alzheimer's disease. **Neural regeneration research**, v. 17, n. 8, p. 1666-1674, 2022.

RODRÍGUEZ-QUERALTÓ, Oriol *et al.* Impact of Diabetes Mellitus and Frailty on Long-Term Outcomes in Elderly Patients with Acute Coronary Syndromes. **The Journal of nutrition, health and aging**, v. 24, n. 7, p. 723-729, 2020.

ROOZENDAAL, Benno *et al.* Stress, memory and the amygdala. **Nature Reviews. Neuroscience**, v. 10, n. 6, p. 423-433, 2009. DOI: 10.1038/nrn2651.

ROOZENDAAL, Benno; MCGAUGH, James L. Memory modulation. **Behavioral neuroscience**, v. 125, n. 6, p. 797, 2011.

SAKURAI, Keisuke *et al.* Effects of Lactiplantibacillus plantarum OLL2712 on memory function in older adults with declining memory: A randomized placebo-controlled trial. **Nutrients**, v. 14, n. 20, p. 4300, 2022.

SALTHOUSE, Timothy A. *et al.* Effects of adult age and working memory on reasoning and spatial abilities. **Journal of Experimental Psychology: Learning, Memory, and Cognition**, v. 15, n. 3, p. 507, 1989.

SALTHOUSE, Timothy A. Selective review of cognitive aging. **Journal of the International neuropsychological Society**, v. 16, n. 5, p. 754-760, 2010.

SALTHOUSE, Timothy. Consequences of age-related cognitive declines. **Annual review of psychology**, v. 63, n. 1, p. 201-226, 2012.

SÁNCHEZ-IZQUIERDO, Macarena; FERNÁNDEZ-BALLESTEROS, Rocío. Cognition in healthy aging. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 18, n. 3, p. 962, 2021.

SANFORD, Angela M. Mild cognitive impairment. **Clinics in geriatric medicine**, v. 33, n. 3, p. 325-337, 2017.

SANTIAGO, Emerson Rogério Costa *et al.* Prevalence of systemic arterial hypertension and associated factors among adults from the semi-arid region of Pernambuco, Brazil. **Arquivos brasileiros de cardiologia**, v. 113, n. 4, p. 687-695, 2019.

SANTORO, Aurelia; BIENTINESI, Elisa; MONTI, Daniela. Immunosenescence and inflammaging in the aging process: age-related diseases or longevity?. **Ageing research reviews**, v. 71, p. 101422, 2021.

SCHARR, Dale G. *et al.* Regional and cell-specific expression of GDNF in rat brain. **Experimental neurology**, v. 124, n. 2, p. 368-371, 1993.

SCHULZ, Kenneth F.; ALTMAN, Douglas G.; MOHER, David. CONSORT 2010 statement: updated guidelines for reporting parallel group randomised trials. **Journal of Pharmacology and pharmacotherapeutics**, v. 1, n. 2, p. 100-107, 2010.

SEKERES, Melanie J.; WINOCUR, Gordon; MOSCOVITCH, Morris. The hippocampus and related neocortical structures in memory transformation. **Neuroscience letters**, v. 680, p. 39-53, 2018.

SENGER, João *et al.* Nutritional status and cognitive impairment among the very old in a community sample from southern Brazil. **The Journal of nutrition, health and aging**, v. 23, n. 10, p. 923-929, 2019.

SHARON, Gil *et al.* The central nervous system and the gut microbiome. **Cell**, v. 167, n. 4, p. 915-932, 2016.

SHI, Shaoqi *et al.* Probiotic Bifidobacterium longum BB68S improves cognitive functions in healthy older adults: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. **Nutrients**, v. 15, n. 1, p. 51, 2022.

SNIGDHA, Shikha *et al.* Probiotics: Potential novel therapeutics for microbiota-gut-brain axis dysfunction across gender and lifespan. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 231, p. 107978, 2022.

SOYLU, Cem; OZEKES, Banu Cengelci. Testing a model of biopsychosocial successful aging based on socioemotional selectivity theory in the second half of life. **International Psychogeriatrics**, v. 35, n. 10, p. 549-559, 2023.

SRIVASTAV, Sunil *et al.* Probiotics mixture increases butyrate, and subsequently rescues the nigral dopaminergic neurons from MPTP and rotenone-induced neurotoxicity. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 69, p. 73-86, 2019.

STUART, Kimberley E. *et al.* Late-life environmental enrichment preserves short-term memory and may attenuate microglia in male APP/PS1 mice. **Neuroscience**, v. 408, p. 282-292, 2019.

SUN, Yayi *et al.* Intra-gastrointestinal amyloid- β 1–42 oligomers perturb enteric function and induce Alzheimer's disease pathology. **The Journal of physiology**, v. 598, n. 19, p. 4209-4223, 2020.

SUNDERLAND, Trey *et al.* Clock drawing in Alzheimer's disease: a novel measure of dementia severity. **Journal of the American Geriatrics society**, v. 37, n. 8, p. 725-729, 1989.

TANQUEIRO, Sara R. *et al.* Inhibition of NMDA receptors prevents the loss of BDNF function induced by amyloid β . **Frontiers in Pharmacology**, v. 9, p. 237, 2018. DOI: 10.3389/fphar.2018.00237.

TÉGLÁS, Tímea *et al.* Exercise combined with a probiotics treatment alters the microbiome, but moderately affects signalling pathways in the liver of male APP/PS1 transgenic mice. **Biogerontology**, v. 21, p. 807-815, 2020.

TENG, Yun *et al.* Gut bacterial isoamylamine promotes age-related cognitive dysfunction by promoting microglial cell death. **Cell host & microbe**, v. 30, n. 7, p. 944-960. e8, 2022.

THEVARANJAN, Netusha *et al.* Age-associated microbial dysbiosis promotes intestinal permeability, systemic inflammation, and macrophage dysfunction. **Cell host & microbe**, v. 21, n. 4, p. 455-466. e4, 2017.

TIWARI, Sneham *et al.* Alzheimer's disease: pathogenesis, diagnostics, and therapeutics. **International journal of nanomedicine**, p. 5541-5554, 2019.

TOMINAGA, Kana; SUZUKI, Hiroshi I. TGF- β signaling in cellular senescence and aging-related pathology. **International journal of molecular sciences**, v. 20, n. 20, p. 5002, 2019.

TON, Alyne Mendonça Marques *et al.* Oxidative stress and dementia in Alzheimer's patients: effects of synbiotic supplementation. **Oxidative medicine and cellular longevity**, v. 2020, n. 1, p. 2638703, 2020.

- TRÉPO, Christian; CHAN, Henry LY; LOK, Anna. Hepatitis B virus infection. **The Lancet**, v. 384, n. 9959, p. 2053-2063, 2014.
- VEENAKUMARI, M. *et al.* Serum glial cell derived neurotrophic factor (GDNF) as a predictor of response to HD-tDCS in bipolar affective disorder. **Asian Journal of Psychiatry**, v. 68, p. 102965, 2022.
- VINCENZI, Angélica; GOETTERT, Márcia Inês; DE SOUZA, Claucia Fernanda Volken. An evaluation of the effects of probiotics on tumoral necrosis factor (TNF- α) signaling and gene expression. **Cytokine & Growth Factor Reviews**, v. 57, p. 27-38, 2021.
- VOGT, Nicholas M. *et al.* Gut microbiome alterations in Alzheimer's disease. **Scientific reports**, v. 7, n. 1, p. 13537, 2017.
- WALLACE, Caroline JK; MILEV, Roumen. The effects of probiotics on depressive symptoms in humans: a systematic review. **Annals of general psychiatry**, v. 16, p. 1-10, 2017.
- WANG, Fuyuan; ROY, Sabita. Gut homeostasis, microbial dysbiosis, and opioids. **Toxicologic pathology**, v. 45, n. 1, p. 150-156, 2017.
- WANG, Zhi-Hao *et al.* Deficiency in BDNF/TrkB neurotrophic activity stimulates δ -secretase by upregulating C/EBP β in Alzheimer's disease. **Cell Reports**, v. 28, n. 3, p. 655-669.e5, 2019. DOI: 10.1016/j.celrep.2019.06.054.
- WANG, Jingjing *et al.* The landscape in the gut microbiome of long-lived families reveals new insights on longevity and aging-relevant neural and immune function. **Gut Microbes**, v. 14, n. 1, p. 2107288, 2022.
- WESTFALL, Corey S.; LEVIN, Petra Anne. Bacterial cell size: multifactorial and multifaceted. **Annual review of microbiology**, v. 71, n. 1, p. 499-517, 2017.
- WILSON, Robert S. *et al.* Anosognosia in Dementia. **Current Neurology And Neuroscience Reports**, [S.L.], v. 16, n. 9, p. 1-6, 20 jul. 2016. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s11910-016-0684-z>.
- WOLF, Andrew B. *et al.* Broad-based nutritional supplementation in 3xTg mice corrects mitochondrial function and indicates sex-specificity in response to Alzheimer's disease intervention. **Journal of Alzheimer's Disease**, v. 32, n. 1, p. 217-232, 2012.
- WU, Yusong *et al.* L actobacillaceae improve cognitive dysfunction via regulating gut microbiota and suppressing A β deposits and neuroinflammation in APP/PS1 mice. **Archives of Microbiology**, v. 205, n. 4, p. 118, 2023.
- XIAO, Jinzhong *et al.* Probiotic Bifidobacterium breve in improving cognitive functions of older adults with suspected mild cognitive impairment: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. **Journal of Alzheimer's Disease**, v. 77, n. 1, p. 139-147, 2020.

YANG, Zhenqi; ZOU, Yong; WANG, Lifeng. Neurotransmitters in prevention and treatment of Alzheimer's disease. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 4, p. 3841, 2023.

YARBRO, Johnathan R.; EMMONS, Russell S.; PENCE, Brandt D. Macrophage immunometabolism and inflammaging: roles of mitochondrial dysfunction, cellular senescence, CD38, and NAD. **Immunometabolism**, v. 2, n. 3, p. e200026, 2020.

ZALI, Alireza *et al.* Co-administration of probiotics and vitamin D reduced disease severity and complications in patients with Parkinson's disease: a randomized controlled clinical trial. **Psychopharmacology**, p. 1-10, 2024.

ZHU, Guangsu *et al.* *Bifidobacterium breve* HNX26M4 attenuates cognitive deficits and neuroinflammation by regulating the gut–brain axis in APP/PS1 mice. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 71, n. 11, p. 4646-4655, 2023.

APÊNDICES

APÊNDICE A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO



Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE

Título da Pesquisa: SINALIZAÇÃO DO EIXO INTESTINO-CÉREBRO EM INDIVÍDUOS COM DECLÍNIO COGNITIVO LEVE E DOENÇA DE ALZHEIMER RESIDENTES NO SUL DO BRASIL

Objetivo: Avaliar o eixo intestino-cérebro em indivíduos com DLC e DA tratados com probióticos residentes no sul do Brasil

Período da coleta de dados: 01/08/2023 a 01/08/2024

Tempo estimado para cada coleta: 60 minutos

Local da coleta: Municípios do Sul do Brasil, Universidade do Extremo Sul Catarinense e Instituições de longa permanência.

Pesquisador/Orientador: Josiane Budni

Telefone: (48) 99991-9132

Pesquisador/Acadêmico: Eduarda Behenck Medeiros,
Mariana Cardoso Lumertz, Isadora de Oliveira Monteiro,
Vanessa Moraes de Andrade e Gabriela Serafim Keller

Telefone: (51) 99750-8003

Programa de pós-graduação em Ciências da Saúde da UNESC

Como convidado(a) para participar voluntariamente da pesquisa acima intitulada e aceitando participar do estudo, declaro que:

Poderei desistir a qualquer momento, bastando informar minha decisão diretamente ao pesquisador responsável ou à pessoa que está efetuando a pesquisa.

Por ser uma participação voluntária e sem interesse financeiro, não haverá nenhuma remuneração, bem como não terei despesas para com a mesma. No entanto, fui orientado(a) da garantia de ressarcimento de gastos relacionados ao estudo. Como prevê o item IV.3.g da Resolução CNS 466/2012, foi garantido a mim (participante de pesquisa) e ao meu acompanhante (quando necessário) o ressarcimento de despesas decorrentes da participação no estudo, tais como transporte, alimentação e hospedagem (quando necessário) nos dias em que for necessária minha presença para consultas ou exames.

Foi expresso de modo claro e afirmativo o direito de assistência integral gratuita devido a danos diretos/ indiretos e imediatos/ tardios pelo tempo que for necessário a mim (participante da pesquisa), garantido pelo(a) pesquisador(a) responsável (Itens II.3.1 e II.3.2, da Resolução CNS nº 466 de 2012).

Estou ciente da garantia ao direito à indenização diante de eventuais danos decorrentes da pesquisa (Item IV.3.h, da Resolução CNS nº 466 de 2012).

Os dados referentes a mim serão sigilosos e privados, preceitos estes assegurados pela Resolução nº 466/2012 do CNS - Conselho Nacional de Saúde - podendo eu solicitar informações durante todas as fases da pesquisa, inclusive após a publicação dos dados obtidos a partir desta.

Para tanto, fui esclarecido(a) também sobre os procedimentos, riscos e benefícios, a saber:

TCLE CEP/UNESC – versão 2018 | Página 1 de 3



Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE

DETALHES DOS PROCEDIMENTOS QUE SERÃO UTILIZADOS NA PESQUISA

Estamos convidando vossa senhoria para participar do presente estudo que tem como objetivo avaliar os efeitos sobre a saúde mental e física, de um blend de probióticos em indivíduos com idade igual ou superior a 60 anos. Caso vossa senhoria aceite participar da pesquisa, irá receber o blend de probióticos (ou o placebo), diariamente, por um período de três meses.

Os probióticos utilizados neste estudo já são comercializados no Brasil, e serão adquiridos de uma fonte confiável, fornecidos por uma empresa devidamente autorizada pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). O blend de probióticos consistirá de cápsulas contendo *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium bifidum* e *Bifidobacterium breve* (1×10^9 UFC/mL). O placebo consistirá de cápsulas de maltodextrina, que é o excipiente das cápsulas probióticas, mas sem conter os probióticos. Tanto as cápsulas de probióticos quanto as de placebo serão idênticas em cor, tamanho, forma e cheiro, para garantir o caráter triplo cego do estudo, ou seja, vossa senhoria não poderá saber se estará recebendo o probiótico ou o placebo. Somente após o término do estudo, será possível saber se as cápsulas recebidas foram de probióticos ou placebo. Se os parâmetros utilizados demonstrarem estatisticamente efeito positivo e vossa senhoria recebeu o placebo, garantimos a oferta das cápsulas de probióticos pelo tempo equivalente da pesquisa (três meses).

Caso aceite participar do estudo e assinar este Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), como parte da metodologia, vossa senhoria será convidado a responder alguns questionários e realizar testes físicos e psicométricos, ou seja, que analisam sua condição de saúde, memória, ansiedade, depressão, qualidade de vida e estado nutricional, além da Segurança da Deglutição (ingestão de alimentos e bebidas), conforme explicação fornecida ao apresentar este termo.

Após essa etapa, será realizada a coleta de sangue e fezes. A coleta de sangue e fezes será realizada por profissional capacitado (Farmacêutico, Biomédico, Médico ou Enfermeiro), em condições adequadas para estes procedimentos, em um local apropriado, em ambiente privado, com condições adequadas de higiene, Todo o procedimento será supervisionado para garantir a segurança dos participantes e minimizar qualquer desconforto. Ressaltamos que os probióticos utilizados nesta pesquisa já são de uso corrente, mas garantimos o acompanhamento médico durante e após o estudo, pelo tempo necessário, e qualquer desconforto, durante a coleta de sangue ou devido ao uso do probiótico, solicitamos entrar em contato com a pesquisadora coordenadora do projeto, conforme informações no final deste termo. Vossa senhoria tem total liberdade para interromper sua participação a qualquer momento

Por ser um estudo em fase piloto, não é possível avaliar de forma concreta os benefícios dos probióticos sobre a população estudada, nos parâmetros utilizados. Os dados coletados serão tratados de forma anônima e confidencial, conforme os protocolos de pesquisa vigentes. Este estudo segue todas as normas éticas exigidas e busca minimizar riscos, assegurando o bem-estar dos participantes em todas as etapas.

Todos os dados de saúde gerados serão compartilhados com vossa senhoria após o estudo.



Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE

RISCOS

Os riscos iminentes da aplicação do questionário e coleta de material biológico serão reduzidos por meio de protocolos rigorosos de segurança e medidas de cuidado. Isso inclui a assinatura de um Termo de Confidencialidade pelos pesquisadores, a anonimização dos dados, a realização de coletas em ambientes apropriados por profissionais qualificados, e o acompanhamento médico adequado para tratar qualquer desconforto ou intercorrência. A coleta de material biológico, como fezes e sangue, será realizada em ambientes apropriados e privados para garantir a segurança dos participantes. A coleta de fezes incluirá instruções claras e assistência prática, se necessário, especialmente por se tratar de pacientes idosos. A coleta de sangue, que pode causar dor ou hematomas, será realizada por profissionais capacitados e experientes em coleta de sangue de idosos, com medidas imediatas para tratar qualquer desconforto. Os profissionais serão treinados para atuar rapidamente em casos de emergência, interrompendo a coleta e aplicando as medidas necessárias para evitar riscos ao paciente. Além disso, será oferecido acompanhamento médico durante e após a coleta, por todo tempo necessário.

Os participantes poderão interromper sua participação na pesquisa a qualquer momento, sem qualquer prejuízo.

Em caso de algum mais estar decorrente do consumo do probiótico, como gases e desconforto intestinal, haverá acompanhamento médico e nutricional e o protocolo será encerrado para o participante.

BENEFÍCIOS

Este estudo tem como benefício o aumento da base de dados a respeito da prevalência da disfagia também a análise da microbiota, inflamação, danos ao DNA e sinalização do eixo intestino-cérebro na doença de Alzheimer, e declínio cognitivo leve, buscando formas de tratamento e reabilitação nesses idosos colaborando com uma melhora na longevidade e qualidade de vida. Além disso, visa-se, sensibilização dos profissionais para os cuidados e riscos na alimentação do paciente e a aplicação de instrumentos para avaliação da memória, da ansiedade, da depressão, da qualidade de vida e do estado nutricional.

Declaro ainda, que tive tempo adequado para poder refletir sobre minha participação na pesquisa, consultando, se necessário, meus familiares ou outras pessoas que possam me ajudar na tomada de decisão livre e esclarecida, conforme a resolução CNS 466/2012 item IV.1.C.

Diante de tudo o que até agora fora demonstrado, declaro que todos os procedimentos metodológicos e os possíveis riscos, detalhados acima, bem como as minhas dúvidas, foram devidamente esclarecidos, sendo que, para tanto, firmo ao final a presente declaração, em duas vias de igual teor e forma, ficando na posse de uma e outra sido entregue ao(à) pesquisador(a) responsável (o presente documento será obrigatoriamente assinado na última página e rubricado em todas as

TCLE CEP/UNESC – versão 2018 | Página 3 de 3

Av. Universitária, 1.105 – Bairro Universitário – CEP: 88.806-000 – Criciúma / SC
 Bloco R1 – Sala 109 | Fone (48) 3431 2606 | cep@unesc.net | www.unesc.net/cep
 Horário de funcionamento do CEP: Segunda-feira das 13h às 17h, terça-feira do 12h30 às 16h30, quarta-feira das 14h às 18h, quinta-feira das 17h30 às 21h30 e sexta-feira das 8h às 12h



Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE


páginas pelo(a) pesquisador(a) responsável/pessoa por ele(a) delegada e pelo(a) participante/responsável legal).

Em caso de dúvidas, sugestões e/ou emergências relacionadas à pesquisa, favor entrar em contato com o(a) pesquisador(a) **Josiane Budni** pelo telefone (48) 9 9991 9132 e/ou pelo e-mail josiane.budni@unesc.net ou com médica responsável pelo estudo, Geriatria Gabriela Serafim Keller pelo telefone (48) 9 9840 4832 e/ou pelo e-mail gabiskeller@yahoo.com.br.

Em caso de denúncias, favor entrar em contato com o Comitê de Ética – CEP/UNESC (endereço no rodapé da página).

Em caso de denúncias, favor entrar em contato com o Comitê de Ética – CEP/UNESC (endereço no rodapé da página).

O Comitê de Ética em Pesquisa em Humanos (CEP) da Unesc pronuncia-se, no aspecto ético, sobre todos os trabalhos de pesquisa realizados, envolvendo seres humanos. Para que a ética se faça presente, o CEP/UNESC revisa todos os protocolos de pesquisa envolvendo seres humanos. Cabe ao CEP/UNESC a responsabilidade primária pelas decisões sobre a ética da pesquisa a ser desenvolvida na Instituição, de modo a garantir e resguardar a integridade e os direitos dos voluntários participantes nas referidas pesquisas. Tem também papel consultivo e educativo, de forma a fomentar a reflexão em torno da ética na ciência, bem como a atribuição de receber denúncias e requerer a sua apuração.

ASSINATURAS	
Voluntário(a)/Participante <hr/> <p style="text-align: center;">Assinatura</p> <p>Nome: _____</p> <p>CPF: _____ - _____</p>	Pesquisador(a) Responsável  <hr/> <p style="text-align: center;">Assinatura</p> <p>Nome: Josiane Budni CPF: 040.857.239-60</p>

Criciúma (SC), 20 de junho de 2023

TCLE CEP/UNESC – versão 2018 | Página 4 de 3

Av. Universitária, 1.105 – Bairro Universitário – CEP: 88.806-000 – Criciúma / SC
 Bloco R1 – Sala 109 | Fone (48) 3431 2606 | cep@unesc.net | www.unesc.net/cep
 Horário de funcionamento do CEP: Segunda-feira das 13h às 17h, terça-feira do 12h30 às 16h30, quarta-feira das 14h às 18h, quinta-feira das 17h30 às 21h30 e sexta-feira das 8h às 12h

APÊNDICE B - QUESTIONÁRIO SÓCIODEMOGRÁFICO E DE SAÚDE

Número do Questionário: _____

Data da Entrevista: ____/____/____

Entrevistador: _____

Grupo: (1) Controle (2) Declínio Cognitivo Leve (3) Doença de Alzheimer

Tratamento: (1) Grupo A (2) Grupo B

Identificação do Idoso

Nome: _____

Endereço: _____

Telefone para contato: 1 - () _____ 2 - () _____

- **Demográficas**

Sexo (1) Masculino (2) Feminino

Data de nascimento: _____

Idade: _____

Naturalidade: _____ Estado: _____ País: _____

Número total de filhos vivos: (0) Nenhum _____ filhos

- **Sociais e econômicas**

Profissão: (1) Aposentado (2) Outra: Especifique _____

Escolaridade: (0) Analfabeto/sem escolaridade (1) Primário Incompleto (2) Primário completo (3) Ensino médio incompleto (4) Ensino médio completo (5) Superior incompleto (6) Superior completo (7) Outro: **Especifique em anos** _____

Estado Civil: (1) Solteiro(a) (2) Viúvo(a) (3) Divorciado(a) (4) Casado(a)

Religião: (1) Sim (2) Não. Qual: _____

O idoso reside: (0) Sozinho (1) Cônjuge (2) Familiar (filhos) (3) Familiar (irmãos) (4) Amigos (5) Cuidador externo (6) Institucionalizado

Renda total dos idosos: (1) até 1 salário mínimo (2) de 1 a 2 salários (3) de 3 a 4 salários (4) de 5 a 6 salários (5) de 7 a 8 salários (6) de 9 a 10 salários (7) mais de 10 salários

- **Em sua opinião qual o problema que mais o atinge na sua vida diária:**

(0) Nenhum (1) Saúde (2) Econômico (3) Pessoal (4) Familiar

- **Étnicos**

Cor da pele declarada: (1) Branca (2) Preto (3) Mestiça (4) Amarela (5) Pardo

Feições étnicas (pesquisador): (1) Caucasiana (2) Indígena (3) Afrodescendente (4) Oriental
(5) Não sabe

- **Dados Clínicos**

Em sua opinião você diria que sua saúde é:

- (1) Excelente
- (2) Muito Boa
- (3) Boa
- (4) Ruim
- (5) Muito Ruim

- **Comorbidades Clínicas:**

Hipertensão Arterial Sistêmica (1) Sim (2) Não

Diabetes (1) Sim (2) Não

Cardiopatias (1) Sim (2) Não

Outras (1) Sim (2) Não

Se sim, qual? _____

- **Medicações:**

Faz uso de algum medicamento: (1) Sim (2) Não

Vitaminas e suplementos (1) Sim (2) Não

Anti-hipertensivo: (1) Sim (2) Não

Anti-inflamatórios: (1) Sim (2) Não

Anti-diabéticos: (1) Sim (2) Não

Antibióticos: (1) Sim (2) Não

Faz uso de laxantes: (1) Sim (2) Não

Omeprazol: (ou similares): (1) Sim (2) Não

Calmantes: (1) Sim (2) Não

Vitaminas: (1) Sim (2) Não

Clonazepam (benzodiazepínicos): (1) Sim (2) Não

Zolpidem (hipnóticos / não benzodiazepínicos): (1) Sim (2) Não

Relaxantes musculares: (1) Sim (2) Não;

Outros (1) Sim (2) Não

Se sim, qual? _____

- **Atividade física**

Prática algum tipo de atividade física: (1) Sim (2) Não

Se	sim,	qual	a	frequência:
(1)	1	a	2	vezes na semana
(2)	3	a	4	vezes na semana
(3)	todos os dias			

- **Fumante:**

Você já fumou? (1) Sim (2) Não (obs.: se não vá para questão etilismo)

Você ainda fuma: (1) Sim (2) Não

Quantos cigarros (dia):

até ½ maço (1) Sim (2) Não; de ½ a 1 maço (1) Sim (2) Não; de 1 a 2 maços (1) Sim (2) Não; mais que 2 maços (1) Sim (2) Não

Você fuma cigarro de palha (1) Sim (2) Não

- **Etilismo:**

Você faz uso de bebida alcoólica?

(1) Sim (2) Não

Tipo: Destilado (1) Sim (2) Não; Fermentado (1) Sim (2) Não

Dose diária (copos):

(1) Esporádico (1 dia do final de semana)

(2) Aos finais de semana

(3) 2 a 3 dias por semana

(4) 4 a 5 dias por semana

(5) todos os dias

Duração/anos: (há quanto tempo consome essa quantidade): _____

- **Sono:**

1. Quantas horas, em média, você dorme numa noite habitual de sono?

2. Quantas horas você gostaria de dormir para se sentir recuperado(a)?

3. Se sente frequentemente cansado(a), fatigado(a) ou sonolento(a) durante o dia?
 (1) Sim (2) Não
4. Ronca alto (o bastante para ser ouvido(a) mesmo com a porta fechada)? (1) Sim (2) Não
 (3) Não, porque faz tratamento para o ronco ou apneia
5. Alguém já observou você parar de respirar durante o sono? (1) Sim (2) Não
6. Com que frequência nas últimas trinta noites teve dificuldade em pegar no sono?
 (1) Nunca
 (2) Raramente
 (3) Às vezes
 (4) Quase sempre
 (5) Sempre
7. Com que frequência nas últimas trinta noites, acordou durante o sono e teve dificuldade para dormir de novo?
 (1) Nunca
 (2) Raramente
 (3) Às vezes
 (4) Quase sempre
 (5) Sempre
8. Com que frequência nas últimas trinta noites, você acordou antes da hora desejada e não conseguiu adormecer novamente?
 (1) Nunca
 (2) Raramente
 (3) Às vezes
 (4) Quase sempre
 (5) Sempre

- **Memória**

Você percebe certa dificuldade em lembrar-se das coisas, pessoas ou situações.

(1) Sim

(2) Não

- Em sua opinião essa perda de memória ocorre:

(1) Sempre

(2) Quase sempre

(3) Raramente

(4) Nunca

- **História familiar positiva para:**

Doença cardiovascular prematura (Infarto Agudo do Miocárdio ou morte súbita antes dos 55 anos no pai ou parentes de 1º grau do sexo masculino, ou antes dos 65 anos na mãe ou parentes de 1º grau do sexo feminino) (1) Sim (2) Não

Hipertensão arterial sistêmica (1) Sim (2) Não

Diabetes mellitus tipo II (1) Sim (2) Não

Doença tireoidiana (1) Sim (2) Não

Câncer de cólon (1) Sim (2) Não

Câncer de mama (1) Sim (2) Não (3) Não se aplica

Câncer de próstata (1) Sim (2) Não (3) Não se aplica

Depressão (1) Sim (2) Não

Demência (1) Sim (2) Não

- **Coleta Nutricional:**

Vai aos pés todos os dias (1) Sim (2) Não

Usa fralda (1) Sim (2) Não

Percebe distensão abdominal (1) Sim (2) Não

ANEXOS

ANEXO A – APROVAÇÃO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA EM SERES HUMANOS

**RESOLUÇÃO**

O Comitê de Ética em Pesquisa da UNESC, reconhecido pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP)/ Ministério da Saúde analisou o projeto abaixo:

Parecer n.: 7.041.292

CAAE: 67360923.1.0000.0119

Pesquisador(a) Responsável: Josiane Budni


Pesquisador(a):

Eduarda Behenck Medeiros, Mariana Cardoso
Lumertz, Isadora de Oliveira Monteiro e Vanessa
Moraes de Andrade

Título: SINALIZAÇÃO DO EIXO INTESTINO-CÉREBRO EM INDIVÍDUOS
COM DECLÍNIO COGNITIVO LEVE E DOENÇA DE ALZHEIMER
RESIDENTES NO SUL DO BRASIL

Este projeto foi aprovado em seus aspectos éticos e metodológicos, de acordo com as Diretrizes e Normas Internacionais e Nacionais. Todas e quaisquer alteração do Projeto deverá ser comunicada ao CEP. Os membros do CEP não participaram do processo de avaliação dos projetos onde constam como pesquisadores.

Criciúma, 25 de setembro 2024.


Marco Antônio da Silva
Coordenador do CEP

Av. Universitária, 1.105 – Bairro Universitário – CEP: 88.806-000 – Criciúma / SC
Bloco R1 – Sala 109 | Fone (48) 3431 2606 | cep@unesc.net | www.unesc.net/cep
Horário de funcionamento do CEP: Segunda-feira das 13h às 17h, terça-feira do 12h30 às 16h30, quarta-feira das 14h às 18h, quinta-feira das 17h30 às 21h30 e sexta-feira das 8h às 12h

ANEXO B – CARTA DE ACEITE RESIDENCIAL SÃO VICENTE



Conferência "São José" da Sociedade de "São Vicente de Paulo"

MANTENEDORA DO "SÃO VICENTE DE PAULO"

CNPJ: 83.666.214/0001/29

Considerado de Utilidade Pública pelas: - Lei Municipal nº 32 de 25/11/49

Lei Estadual nº 7685 de 14/07/89 – Decreto de 14/01/2000 publicado no Diário Oficial de 17/01/2000.

CARTA DE ACEITE

Declaramos, para os devidos fins que se fizerem necessários, que concordamos em disponibilizar os idosos residentes dessa Instituição de longa permanência que aceitarem participar da pesquisa a estar fazendo parte deste estudo da Instituição Asilo São Vicente de Paulo, localizada na R. Afonso Pena, 368 - Michel, Criciúma - SC, 88803-060, para o desenvolvimento da pesquisa intitulada "SINALIZAÇÃO DO EIXO INTESTINO-CÉREBRO EM INDIVÍDUOS COM DECLÍNIO COGNITIVO LEVE E DOENÇA DE ALZHEIMER RESIDENTES NO SUL DO BRASIL" sob a responsabilidade do professor(a) responsável Josiane Budni e pesquisador(s) Eduarda Behenck Medeiros, Mariana Cardoso Lumertz e Gabriela Serafim Keller do Curso Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde da Universidade do Extremo Sul Catarinense – UNESC, pelo período de execução previsto no referido projeto.

Giovanna B. J. da Silva

Nome do Responsável pela instituição/empresa

Cargo do Responsável

83 666 214/0001-29

CONFERÊNCIA SÃO JOSÉ DA
SOCIEDADE DE SÃO VICENTE DE PAULO

RUA AFONSO PENA, 368
B. MICHEL - CEP 88803-060

CRICIÚMA - SC

Rua Afonso Pena, 368 – Fone (48) 3433-2272
CEP 88.803-060 CRICIÚMA Santa Catarina

ANEXO C – CARTA DE ACEITE RESIDENCIAL PRIMAVERA

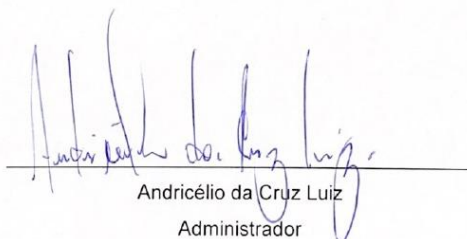
Responsável Técnico:
Dr. Manoel Carlos Cardoso | CRM 893



(48) 99608-1779

CARTA DE ACEITE

Declaramos, para os devidos fins que se fizerem necessários, que concordamos em disponibilizar os idosos residentes deste residencial geriátrico que aceitarem participar da pesquisa a estar fazendo parte deste estudo da Instituição Residencial Geriátrico Primavera, localizada na R. Elaine Cristine Milanese, 120 - Mina Brasil, Criciúma - SC, 88811-218, para o desenvolvimento da pesquisa intitulada "SINALIZAÇÃO DO EIXO INTESTINO-CÉREBRO EM INDIVÍDUOS COM DECLÍNIO COGNITIVO LEVE E DOENÇA DE ALZHEIMER RESIDENTES NO SUL DO BRASIL" sob a responsabilidade do professor(a) responsável Josiane Budni e pesquisador(s) Eduarda Behenck Medeiros, Mariana Cardoso Lumertz e Gabriela Serafim Keller do Curso Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde da Universidade do Extremo Sul Catarinense – UNESC, pelo período de execução previsto no referido projeto.


Andricélio da Cruz Luiz
Administrador

41 829 639/0001-61

RESIDENCIAL GERIÁTRICO
PRIMAVERA LTDA.

R. ELAINE CRISTINE MILANESE, 120
MINA BRASIL - CEP 88811-218

CRICIÚMA - SC

@primaveraresidencialgeriatrico

Rua Elaine Cristine Milanese, Mina Brasil,
Criciúma/SC - CEP 88811-042

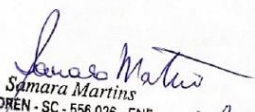
www.residencialprimavera.net

ANEXO D – CARTA DE ACEITE RESIDENCIAL NOVA BELLUNO



CARTA DE ACEITE

Declaramos, para os devidos fins que se fizerem necessários, que concordamos em disponibilizar os idosos residentes dessa Instituição de longa permanência que aceitarem participar da pesquisa a estar fazendo parte deste estudo da Instituição Nova Belluno Residencial Geriátrico, localizada na R. José Salvaro, 716 - Patrimônio, Siderópolis - SC, 88860-000, para o desenvolvimento da pesquisa intitulada "SINALIZAÇÃO DO EIXO INTESTINO-CÉREBRO EM INDIVÍDUOS COM DECLÍNIO COGNITIVO LEVE E DOENÇA DE ALZHEIMER RESIDENTES NO SUL DO BRASIL" sob a responsabilidade do professor(a) responsável Josiane Budni e pesquisador(s) Eduarda Behenck Medeiros, Mariana Cardoso Lumertz e Gabriela Serafim Keller do Curso Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde da Universidade do Extremo Sul Catarinense – UNESC, pelo período de execução previsto no referido projeto.


Samara Martins
COREN - SC - 556.026 - ENF - Enfermeira

Nome do Responsável pela instituição/empresa

Cargo do Responsável

ANEXO E – CARTA DE ACEITE DO PROGRAMA DE ATENÇÃO MULTIDISCIPLINAR A SAÚDE DO IDOSO



CARTA DE ACEITE

Declaramos, para os devidos fins que se fizerem necessários, que concordamos em disponibilizar os idosos participantes do projeto de extensão de idosos da Universidade do Extremo Sul Catarinense – UNESC, Programa de Atenção Multidisciplinar a Saúde do Idoso (PAMSI), localizada na Av. Universitária, 1105 - Universitário, Criciúma - SC, 88806-000, para o desenvolvimento da pesquisa intitulada "SINALIZAÇÃO DO EIXO INTESTINO-CÉREBRO EM INDIVÍDUOS COM DECLÍNIO COGNITIVO LEVE E DOENÇA DE ALZHEIMER RESIDENTES NO SUL DO BRASIL" sob a responsabilidade do professor(a) responsável Josiane Budni e pesquisador(s) Eduarda Behenck Medeiros, Mariana Cardoso Lumertz, Isadora de Oliveira Monteiro e Gabriela Serafim Keller do Curso Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde da Universidade do Extremo Sul Catarinense – UNESC, pelo período de execução previsto no referido projeto.

Nome do Responsável pela instituição/empresa

Cargo do Responsável

ATENÇÃO: A carta de aceite deve ser impressa em papel timbrado da Instituição/Empresa onde será realizada a pesquisa. É imprescindível a assinatura e carimbo do responsável.

ANEXO F – CARTA DE ACEITE DAS CLÍNICAS INTEGRADAS



Carta de Aceite

Declaramos, para fins de pesquisa acadêmica, que concordamos em disponibilizar os espaços físicos do Serviço de Medicina das Clínicas Integradas para aplicação de um questionário com os pacientes atendidos em geriatria, bem como o acesso de dados dos prontuários, na Universidade do Extremo Sul Catarinense (UNESC), localizada na Avenida Universitária, nº 1105, bairro Universitário, Criciúma-SC, CEP 88806-000, para a pesquisa intitulada **"Avaliação da disfagia e sinalização do eixo intestino-cérebro em indivíduos com doença de Alzheimer residentes no município de Criciúma"**, sob responsabilidade do professor orientador Josiane Budny, telefone (48) 99991-9132 e pesquisadora Mariana Cardoso Lumertz, telefone (48) 99626-4022, do Programa Pós Graduação em Ciências da Saúde (PPGCS) da Universidade do Extremo Sul Catarinense - UNESC, pelo período de execução previsto no referido projeto. Outrossim, informamos que a pesquisa somente poderá ser iniciada após comprovada a aprovação do projeto pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UNESC, apresentação do TCLE ou TALE ao participante da pesquisa, e que os prontuários físicos não poderão ser retirados das dependências das Clínicas Integradas. Além disso, informamos que procedimentos invasivos não são autorizados no Serviço de Medicina, em obediência a normas do Conselho Federal de Medicina.

Criciúma, 14 de fevereiro de 2023.

Prof. Dario Henrique Garcia
CRM/SC 2732 RBE 194
Coordenador dos Serviços de Medicina,
Clínicas Integradas - UNESC

Prof Dario Henrique Garcia
Coordenador dos Serviços de Medicina

FUCRI - FUNDAÇÃO EDUCACIONAL DE CRICIÚMA (MANTENEDORA)

Avenida Universitária, 1105 - Bairro Universitário - Cx. Postal 3167 - Fone: (0**48) 3431-2500 - Fax: (0**48) 3431-2750 - CEP 88806-000 - CRICIÚMA - SC
Cód. 4052 <http://www.unesc.net>

ANEXO G -MINI EXAME DO ESTADO MENTAL (MEEM)

MINI EXAME DO ESTADO MENTAL (MEEM)

ORIENTAÇÃO

* Qual é o (ano) (estação) (dia/semana) (dia/mês) e (mês).

* Onde estamos (país) (estado) (cidade) (**rua ou local^a**) (andar).

REGISTRO

* Dizer três palavras: **PENTE RUA AZUL**. Pedir para prestar atenção pois terá que repetir mais tarde. Pergunte pelas três palavras após tê-las nomeado. Repetir até que evoque corretamente e anotar número de vezes: ____

ATENÇÃO E CÁLCULO

* Subtrair: 100-7 (5 tentativas: 93 – 86 – 79 – 72 – 65)

Alternativo¹: série de 7 dígitos (5 8 2 6 9 4 1)

EVOCAÇÃO

* Perguntar pelas 3 palavras anteriores (pente-rua-azul)

LINGUAGEM

* Identificar lápis e relógio de pulso

* Repetir: "Nem aqui, nem ali, nem lá".

* Seguir o comando de três estágios: "Pegue o papel com a mão direita, dobre ao meio e ponha no chão".

* Ler 'em voz baixa' e executar: FECHER OS OLHOS

* Escrever uma frase (um pensamento, idéia completa)

* Copiar o desenho:

TOTAL:



ANEXO H - TESTE DO DESENHO DO RELÓGIO

Diga-lhe: “Desenhe um relógio com todos os números. Coloque os ponteiros marcando 2h45min”.

ANEXO J –

Tabela 4. CONTROLE INSTITUIÇÃO

Variável	Geral	Placebo	Probiótico	Efeito Principal	Distribuição
	(n=16)	(n=10)	(n=6)	P	
MEEM: T1	24.62 (2.55)	24.70 (2.41)	24.50 (3.02)	0.885	
MEEM: T2	22.31(4.27)	22.78 (2.82)	21.25 (7.04)	0.574	
FV: T1	9.69 (3.11)	10.20 (3.55)	8.83 (2.23)	0.414	
FV: T2	9.31 (1.84)	9.67 (1.41)	8.50 (2.65)	0.312	
RELOGIO: T1	3.00 (1.75,7.00)	2.50 (1.25, 3.75)	5.50 (2.25,8.00)	0.227	nonnorm
RELOGIO: T2	3.00 (2.00, 6.00)	3.00 (2.00, 3.00)	4.00 (1.50, 6.75)	0.937	nonnorm
TNFa: T1, freq. (%)	16 (100.0)	10 (100.0)	6 (100.0)	-	
TNFa:T1	133.11 (5.79)	134.30 (5.48)	131.12 (6.24)	0.304	
TNFa: T2, freq. (%)	12 (75.0)	9 (90.0)	3 (50.0)	0.233	
TNFa:T2	134.75 (131.00, 138.44]	131.25 (130.25, 136.50]	142.50 (138.62, 174.00]	0.064	nonnorm
IL1b: T1, freq. (%)	16 (100.0)	10 (100.0)	6 (100.0)	-	
IL1b: T1	6.20 [5.80, 7.52]	6.69 [5.79, 7.74]	6.06 [5.89, 6.87]	0.480	nonnorm
IL1b: T2, freq. (%)	12 (75.0)	9 (90.0)	3 (50.0)	0.233	
IL1b: T2	8.89 (1.50)	8.71 (1.52)	9.42 (1.61)	0.509	
IL6: T1, freq. (%)	16 (100.0)	10 (100.0)	6 (100.0)	-	
IL6: T1	80.38 (50.78)	84.35 (51.77)	73.75 (53.18)	0.701	
IL6: T2, freq. (%)	12 (75.0)	9 (90.0)	3 (50.0)	0.233	
IL6: T2	85.38 (54.16)	99.61(50.95)	42.67 (45.83)	0.118	
IL4:T1, freq. (%)	16 (100.0)	10 (100.0)	6 (100.0)	-	
IL4:T1	2.42 [2.05, 2.56]	2.41 [1.95, 2.53]	2.42 [2.18, 2.69]	0.588	nonnorm
IL4:T2, freq. (%)	12 (75.0)	9 (90.0)	3 (50.0)	0.233	
IL4:T2	0.08 [0.00, 0.55]	0.35 [0.03, 0.89]	-0.04 [-0.08, -0.01]	0.064	nonnorm
IL10: T1, freq. (%)	16 (100.0)	10 (100.0)	6 (100.0)	-	
IL10: T1	6.86 (4.06)	7.89 (3.64)	5.15 (4.48)	0.201	
IL10: T2, freq. (%)	12 (75.0)	9 (90.0)	3 (50.0)	0.233	
IL10: T2	3.51 (3.59)	3.38 (2.09)	3.89 (7.30)	0.841	
BDNF: T1, freq. (%)	16 (100.0)	10 (100.0)	6 (100.0)	-	

BDNF: T1	668.75 (124.16)	680.34 (108.49)	649.44 (156.02)	0.646	
BDNF: T2, freq. (%)	12 (75.0)	9 (90.0)	3 (50.0)	0.233	
BDNF:T2	625.08 (174.64)	671.99 (113.20)	484.35 (277.28)	0.109	
GDNF: T1, freq. (%)	16 (100.0)	10 (100.0)	6 (100.0)	-	
GDNF:T1	0.29 [0.24, 0.46]	0.32 [0.25, 0.43]	0.28 [0.24, 0.56]	0.914	nonnorm
GDNF: T2, freq. (%)	12 (75.0)	9 (90.0)	3 (50.0)	0.233	
GDNF:T2	0.24 [0.20, 0.35]	0.23 [0.22, 0.26]	0.34 [0.24, 0.91]	0.405	nonnorm
NGF: T1, freq. (%)	16 (100.0)	10 (100.0)	6 (100.0)	-	
NGF: T1	20.31[14.12, 32.62]	20.31 [15.31, 34.94]	17.54 [12.58, 30.06]	0.278	nonnorm
NGF: T2, freq. (%)	12 (75.0)	9 (90.0)	3 (50.0)	0.233	
NG F: T2	14.23 [12.29, 18.40]	15.54 [13.62, 21.00]	12.46 [12.12, 12.54]	0.165	nonnorm
TGFb: T1, freq. (%)	16 (100.0)	10 (100.0)	6 (100.0)	-	
TGFb:T1	1029.93 (286.54)	1043.64 (276.38)	1007.07 (328.36)	0.814	
TGFb: T2, freq. (%)	12 (75.0)	9 (90.0)	3 (50.0)	0.233	
TGFb: T2	1367.15 (427.33)	1387.40 (415.58)	1306.43 (553.29)	0.791	

Fonte: Do Autor, 2025.

ANEXO K –

Tabela 5. DCL

Variável	Geral	Placebo	Probiótico	Efeito Principal	Distribuição
	(n=18)	(n=8)	(n=10)	P	
MEEM: T1	10.56 (6.58)	9.50 (7.73)	11.40 (5.80)	0.559	
MEEM: T2	15.29 (5.41)	16.00 (5.66)	14.75 (5.55)	0.686	
FV: T1	6.00 (4.65)	6.12 (4.70)	5.90 (4.86)	0.922	
FV: T2	5.64 (3.59)	5.50 (2.59)	5.75 (4.37)	0.903	
RELOGIO: T1	0.00 [0.00, 2.00]	0.00 [0.00, 2.00]	1.00 [0.00, 1.750]	0.918	nonnorm
RELOGIO: T2	2.00 [0.00, 2.00]	1.00 [0.00, 2.00]	2.00 [1.50, 2.00]	0.270	nonnorm
TNFa: T1, freq. (%)	18 (100.0)	8 (100.0)	10 (100.0)	NA	
TNFa: T1	134.75 [129.50, 145.44]	141.25 [132.94, 156.19]	132.00 [129.50, 134.94]	0.182	nonnorm
TNFa: T2, freq. (%)	15 (83.3)	7 (87.5)	8 (80.0)	1.000	
TNFa: T2	131.55 (8.34)	132.61 (8.47)	130.62 (8.68)	0.663	
IL1b: T1, freq. (%)	17 (94.4)	8 (100.0)	9 (90.0)	1.000	
IL1b: T1	5.76 [5.42, 6.58]	6.13 [5.70, 7.25]	5.65 [5.31, 6.34]	0.178	nonnorm
IL1b: T2, freq. (%)	15 (83.3)	7 (87.5)	8 (80.0)	1.000	
IL1b: T2	7.20 (1.72)	7.80 (1.66)	6.68 (1.71)	0.222	
IL6: T1, freq. (%)	17 (94.4)	8 (100.0)	9 (90.0)	1.000	
IL6: T1	142.50 [33.50, 359.50]	50.75 [31.12, 150.25]	303.00 [142.50, 642.50]	0,068	nonnorm
IL6: T2, freq. (%)	16 (88.9)	7 (87.5)	9 (90.0)	1.000	
IL6: T2	161.75 [100.12, 422.50]	121.00 [112.25, 310.00]	222.50 [78.00, 462.00]	0.560	nonnorm
IL4: T1, freq. (%)	17 (94.4)	8 (100.0)	9 (90.0)	1.000	
IL4: T1	2.64 [2.35, 2.97]	2.35 [2.14, 2.66]	2.84 [2.50, 3.31]	0.083	nonnorm
IL4: T2, freq. (%)	15 (83.3)	7 (87.5)	8 (80.0)	1.000	
IL4: T2	1.26 (1.07)	1.02 (1.13)	1.46 (1.04)	0.447	
IL10: T1, freq. (%)	17 (94.4)	8 (100.0)	9 (90.0)	1.000	
IL10: T1	7.77 [6.42, 9.35]	7.31 [6.14, 9.06]	7.92 [6.42, 11.08]	0.335	nonnorm
IL10: T2, freq. (%)	15 (83.3)	7 (87.5)	8 (80.0)	1.000	
IL10: T2	4.49 (2.26)	3.99 (1.67)	4.93 (2.71)	0.443	

BDNF: T1, freq. (%)	17 (94.4)	8 (100.0)	9 (90.0)	1.000	
BDNF: T1	756.20 (200.74)	822.18 (159.28)	697.69 (224.04)	0.212	
BDNF: T2, freq. (%)	15 (83.3)	7 (87.5)	8 (80.0)	1.000	
BDNF: T2	565.18 (209.02)	578.70 (216.84)	553.34 (216.19)	0.825	
GDNF: T1, freq. (%)	17 (94.4)	8 (100.0)	9 (90.0)	1.000	
GDNF: T1	0.31 [0.22, 0.37]	0.44 [0.28, 0.61]	0.25 [0.22, 0.31]	0.083	nonnorm
GDNF: T2, freq. (%)	15 (83.3)	7 (87.5)	8 (80.0)	1.000	
GDNF: T2	0.31 (0.11)	0.34 (0.10)	0.29 (0.13)	0.422	
NGF: T1, freq. (%)	17 (94.4)	8 (100.0)	9 (90.0)	1.000	
NGF: T1	17.77 [13.85, 26.31]	23.15 [17.50, 48.27]	13.85 [13.15, 18.08]	0.030	nonnorm
NGF: T2, freq. (%)	15 (83.3)	7 (87.5)	8 (80.0)	1.000	
NGF: T2	22.00 [14.73, 35.69]	15.92 [13.65, 28.92]	28.88 [15.27, 47.50]	0.246	nonnorm
TGFb: T1, freq. (%)	17 (94.4)	8 (100.0)	9 (90.0)	1.000	
TGFb: T1	985.04 (279.59)	884.96 (151.70)	1074.00 (342.47)	0.171	
TGFb: T2, freq. (%)	15 (83.3)	7 (87.5)	8 (80.0)	1.000	
TGFb: T2	1627.99 (935.17)	1251.69 (1093.07)	1957.25 (677.84)	0.151	

Fonte: Do Autor, 2025.

ANEXO L –

Tabela 6. DA

Variável	Geral	Placebo	Probiótico	Efeito Principal	Distribuição
	(n=19)	(n=10)	(n=9)	P	
MEEM: T1	11.21 (5.75)	11.20 (5.96)	11.22 (5.87)	0,994	
MEEM: T2	10.16 (7.43)	11.40 (7.79)	8.78 (7.21)	0,458	
FV: T1	4.42 (2.46)	5.20 (2.53)	3.56 (2.19)	0,150	
FV: T2	3.00 [2.00, 4.50]	4.50 [2.50, 7.50]	2.00 [2.00, 3.00]	0,063	nonnorm
RELOGIO: T1	0.00 [0.00, 2.00]	0.00 [0.00, 1.50]	1.00 [0.00, 2.00]	0,408	nonnorm
RELOGIO: T2	1.00 [0.00, 2.00]	0.50 [0.00, 2.00]	1.00 [1.00, 2.00]	0,456	nonnorm
TNFa: T1, freq. (%)	19 (100.0)	10 (100.0)	9 (100.0)	-	
TNFa: T1	135.05 (10.23)	131.72 (11.81)	138.75 (7.02)	0,139	
TNFa: T2, freq. (%)	19 (100.0)	10 (100.0)	9 (100.0)	-	
TNFa: T2	135.53 (13.09)	135.45 (15.41)	135.61 (10.89)	0,980	
IL1b: T1, freq. (%)	19 (100.0)	10 (100.0)	9 (100.0)	-	
IL1b: T1	7.07 [5.73, 7.64]	6.80 [5.04, 7.25]	7.10 [6.08, 8.14]	0,220	nonnorm
IL1b: T2, freq. (%)	19 (100.0)	10 (100.0)	9 (100.0)	-	
IL1b: T2	7.66 (1.33)	7.52 (0.85)	7.83 (1.77)	0,629	
IL6: T1, freq. (%)	18 (94.7)	9 (90.0)	9 (100.0)	1.000	
IL6: T1	126.61 (89.36)	103.00 (87.75)	150.22 (89.51)	0,275	
IL6: T2, freq. (%)	18 (94.7)	10 (100.0)	8 (88.9)	0,957	
IL6: T2	120.25 [86.88, 298.00]	101.50 [62.88, 278.50]	191.75 [102.50, 278.75]	0,328	nonnorm
IL4: T1, freq. (%)	19 (100.0)	10 (100.0)	9 (100.0)	-	
IL4: T1	2.58 [2.35, 3.00]	2.60 [2.31, 3.18]	2.58 [2.47, 2.97]	0,683	nonnorm
IL4: T2, freq. (%)	19 (100.0)	10 (100.0)	9 (100.0)	-	
IL4: T2	0.77 [0.04, 2.26]	1.54 [0.059, 2.31]	0.03 [0.01, 2.16]	0,060	nonnorm
IL10: T1, freq. (%)	19 (100.0)	10 (100.0)	9 (100.0)	-	
IL10: T1	8.28 (4.45)	8.49 (4.79)	8.06 (4.31)	0,839	
IL10: T2, freq. (%)	19 (100.0)	10 (100.0)	9 (100.0)	-	
IL10: T2	4.29 [2.61, 7.22]	4.98 [3.68, 6.44]	3.29 [1.73, 8.03]	0,653	nonnorm

BDNF: T1, freq. (%)	19 (100.0)	10 (100.0)	9 (100.0)	-	
BDNF: T1	707.99 (295.36)	659.39 (342.70)	761.99 (240.68)	0,465	
BDNF: T2, freq. (%)	19 (100.0)	10 (100.0)	9 (100.0)	-	
BDNF: T2	579.24 (210.76)	608.12 (175.38)	547.15 (251.28)	0.544	
GDNF: T1, freq. (%)	19 (100.0)	10 (100.0)	9 (100.0)	-	
GDNF: T1	0.35 (0.18)	0.35 (0.22)	0.34 (0.14)	0,836	
GDNF: T2, freq. (%)	19 (100.0)	10 (100.0)	9 (100.0)	-	
GDNF: T2	0.22 [0.15, 0.35]	0.26 [0.14, 0.35]	0.21 [0.17, 0.28]	0,624	nonnorm
NGF: T1, freq. (%)	18 (94.7)	9 (90.0)	9 (100.0)	1.000	
NGF: T1	15.08 [11.19, 34.29]	14.85 [11.00, 17.85]	15.31 [11.54, 38.69]	0.895	nonnorm
NGF: T2, freq. (%)	19 (100.0)	10 (100.0)	9 (100.0)	-	
NGF: T2	15.00 [12.42, 17.62]	16.08 [12.27, 17.88]	14.62 [12.54, 16.15]	0.683	nonnorm
TGFb: T1, freq. (%)	19 (100.0)	10 (100.0)	9 (100.0)	-	
TGFb: T1	974.86 (324.06)	768.31 (212.13)	1204.37 (270.33)	0.001	
TGFb: T2, freq. (%)	19 (100.0)	10 (100.0)	9 (100.0)	-	
TGFb: T2	1782.26 (783.26)	1773.16 (631.15)	1792.38 (965.41)	0.959	

Fonte: Do Autor, 2025.