

UNIVERSIDADE VILA VELHA – ES
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

**EFEITOS DO PROBIÓTICO NO PROCESSO COGNITIVO, OXIDATIVO
E INFLAMATÓRIO NA DOENÇA DE ALZHEIMER**

SARHA ANDRADE LOBO DE QUEIROZ

VILA VELHA - ES
FEVEREIRO / 2023

UNIVERSIDADE VILA VELHA – ES
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

**EFEITOS DO PROBIÓTICO NO PROCESSO COGNITIVO, OXIDATIVO
E INFLAMATÓRIO NA DOENÇA DE ALZHEIMER**

Dissertação apresentada à Universidade Vila Velha, como pré-requisito do Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

SARHA ANDRADE LOBO DE QUEIROZ

VILA VELHA - ES
FEVEREIRO / 2023

Catálogo na publicação elaborada pela Biblioteca Central / UVV-ES

Q3e

Queiroz, Sarha Andrade Lobo

Efeitos do probiótico no processo cognitivo, oxidativo e inflamatório na Doença de Alzheimer / Sarha Andrade Lobo Queiroz. – 2023.

96 f. : il.

Orientador: Elisardo Corral Vasquez.

Dissertação (mestrado em Ciências Farmacêuticas) -
Universidade Vila Velha, 2023.

Inclui bibliografias.

1. Farmacologia e terapêutica. 2. Doença de Alzheimer.
3. Estresse oxidativo. 4. Probióticos. I. Vasquez, Elisardo
Corral. II. Universidade Vila Velha. III. Título.

CDD 616.132

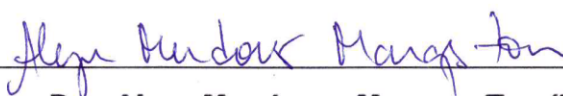
SARHA ANDRADE LOBO DE QUEIROZ

**EFEITOS DO PROBIÓTICO NO PROCESSO COGNITIVO, OXIDATIVO
E INFLAMATÓRIO NA DOENÇA DE ALZHEIMER.**

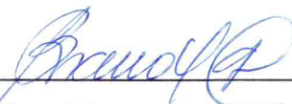
Dissertação apresentada à Universidade Vila Velha, como pré-requisito do Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, para a obtenção do grau de Mestra em Ciências Farmacêuticas.

Aprovada em 27 de fevereiro de 2023.

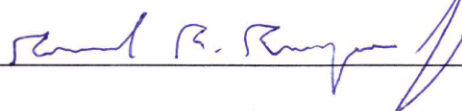
Banca Examinadora:



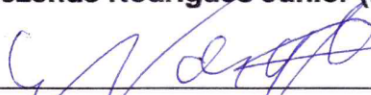
Dra. Alyne Mendonça Marques Ton (Externo)



Prof. Dra. Bianca Prandi Campagnaro (UVV)



Dr. Radael Rezende Rodrigues Júnior (Externo)



**Prof. Dr. Elisardo Corral Vasquez (UVV)
Orientador**

À todos os participantes voluntários e seus familiares que me inspiraram ao longo desta pesquisa na busca incessante pelo conhecimento e, sobretudo, na construção de novas oportunidades para melhorar a qualidade de vida de quem sofre direta ou indiretamente pela Doença de Alzheimer.

AGRADECIMENTOS

As oportunidades de aprendizado durante o Mestrado de Ciências Farmacêuticas só puderam ser alcançadas através de todo o apoio incondicional que foi empenhado em meu favor ao longo desta trajetória. Reconhecer o toque de Deus em cada passo significa relembrar o quanto me abençoou na concretização deste sonho.

Expresso a minha gratidão ao meu marido Diogo Lobo de Queiroz, por iluminar o meu caminho e fazer dos meus obstáculos sua própria luta. Aos meus pais, Maria Jussara Santos Andrade e Delmar Santos Andrade, por colocarem a educação e a ciência como norte em minha vida.

Agradeço também aos meus amigos e familiares por trazerem leveza aos meus dias, mas acima de tudo por me fazer compreender que afetos profundos e significativos são igualmente importantes.

Àquele que possui toda a minha admiração, deixo a minha eterna gratidão pelo acolhimento, orientação e generosidade em partilhar todo seu conhecimento comigo. Professor Elisardo Corral Vasquez, obrigada por me permitir ter contato com tamanha genialidade.

Pela sensibilidade, ajuda, estímulo, encorajamento e, sobretudo pelo exemplo, não poderia deixar de ressaltar a importância que a Alyne Mendonça Marques Ton possui em cada linha desta Dissertação.

Agradeço à UVV, aos funcionários e professores que colaboraram com minha formação ética e técnica.

Aos colaboradores do Laboratório de Fisiologia e Farmacologia Translacional da UVV, em especial a Glauceimeire Rocha Carvalho, por toda assistência com a análise de estresse oxidativo presente neste estudo.

Além disso, agradeço imensamente às estudantes de Medicina Larissa Martinelli e Rebeca Motta Morais Werly que participaram ativamente desta pesquisa com muito assiduidade e solicitude.

Por fim, agradeço às agências de fomento Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo (FAPES) pela contribuição financeira através do Edital FAPES/CNPq - 24/2018 - PRONEx - Termo de Outorga 569/2018.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	X
LISTA DE TABELAS.....	XII
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	XIII
RESUMO.....	XV
ABSTRACT.....	XVI
1. INTRODUÇÃO	17
1.1. BREVE HISTÓRICO	17
1.2 ESTADO DA ARTE ATUAL.....	17
1.3 A DOENÇA DE ALZHEIMER PARA ALÉM DE ALTERAÇÕES COGNITIVAS	19
1.4 TEORIA CLÁSSICA DA DOENÇA DE ALZHEIMER	20
1.5 TRATAMENTO PARA DOENÇA DE ALZHEIMER: ATÉ ONDE A CIÊNCIA AVANÇOU.....	22
1.6 UMA NOVA PERSPECTIVA SOBRE A DOENÇA DE ALZHEIMER: ESTRESSE OXIDATIVO.	24
1.7 . O EIXO INTESTINO CÉREBRO: NOVAS FRONTEIRAS PARA INTERVENÇÃO NA DA.....	26
1.8 MICROBIOTA INTESTINAL E VIAS FISIOPATOLÓGICAS DE ESTRESSE OXIDATIVO, NEUROINFLAMAÇÃO E NEUROENDÓCRINAS DA DA.....	32
1.9 JUSTIFICATIVA DA PESQUISA	36
2. OBJETIVOS	37
2.1 OBJETIVOS GERAIS.....	37
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	37
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	38

3.1. DESENHO DE ESTUDO	38
3.2. CRITÉRIOS DE INCLUSÃO	38
3.3. CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO	39
3.4. CÁLCULO DA AMOSTRA	39
3.5. PROTOCOLO DE EXPERIMENTO	40
3.6. CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA	41
3.7. AVALIAÇÃO COGNITIVA	42
3.8. INVENTÁRIO NEUROPSIQUIÁTRICO (NPI-Q)	47
3.9. GRAVIDADE DA DEMÊNCIA	49
3.10. BIOMARCADORES NEUROENDÓCRINOS E INFLAMATÓRIOS.....	51
3.11. MARCADORES SÉRICOS DE ESTRESSE OXIDATIVO	51
4. ANÁLISE ESTATÍSTICA	53
5. RESULTADOS	54
5.1. CARACTERIZAÇÃO SOCIODEMOGRÁFICA E ANTROPOMÉTRICA DA AMOSTRA	54
5.2 AVALIAÇÃO DO DESEMPENHO COGNITIVO.....	55
5.3 SINTOMAS NEUROPSIQUIÁTRICOS NA DA: O IMPACTO PARA O PACIENTE E SEU CUIDADOR	58
5.4 ANÁLISE DE ESTRESSE OXIDATIVO.....	60
5.5. BIOMARCADORES NEUROENDÓCRINOS E INFLAMATÓRIOS	62
6. DISCUSSÃO	64
7. CONCLUSÃO.....	69

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	71
9. ANEXOS	92
A. TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)	92
B. PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP	96

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1:** Padrão percentual entre causas de morte nos anos de 2000 a 2019 em todas as faixas etárias nos EUA (Alzheimer's Disease Facts and Figures, 2022).
- Figura 2:** Projeções da prevalência de Demência no mundo expressa em milhões de pessoas.
- Figura 3:** Aspecto macroscópico de um cérebro com Doença de Alzheimer. Disponível em: <https://anatpat.unicamp.br/bialzheimer.html>.
- Figura 4:** (A) Esquema elaborado por Alois Alzheimer em 1911 sobre aspectos microscópicos dos emaranhados neurofibrilares. (B) Emaranhados Neurofibrilares (seta vermelha) e Placas Senis (seta preta) visualizados do córtex temporal de um paciente com Alzheimer através da coloração Bielschowski modificada com aumento original em 100x (Daniel P. Neuropathology of Alzheimer's disease, 2010).
- Figura 5:** Desenvolvimento de terapias para Doença de Alzheimer no ano de 2022. Fonte: Cummings J. et al (2022). Canal de desenvolvimento de medicamentos para a doença de Alzheimer.
- Figura 6:** Esquema fisiopatológico da interação entre microbiota intestinal disbiótica, desbalanço oxidativo, inflamação sistêmica e endocrinológica com a consequente cascata neurodegenerativa da DA.
- Figura 7:** Cálculo amostral realizado através do programa G*Power 3.1.9.
- Figura 8:** Etapas envolvidas na seleção da amostra final.
- Figura 9:** Esquema do protocolo da pesquisa envolvendo pacientes com diagnóstico de Doença de Alzheimer em tratamento farmacológico prescrito por médico assistente de acordo com terapia clássica que foram submetidos ao tratamento coadjuvante de suplementação probiótica.
- Figura 10:** Avaliação dos cinco itens do MEEM (Adaptado de Nitrini et al., 2005).
- Figura 11:** Prancha com diversos objetos apresentada aos indivíduos para observarem e guardarem o nome/imagem de cada um (Adaptado de Nitrini et al., 2005).
- Figura 12:** Retrato utilizado para realizar o Cookie Theft Picture Test (Adaptado de Nitrini et al., 2005).

- Figura 13:** Imagem com quinze figuras diferentes para avaliar capacidade de linguagem e memória de evocação (Adaptado de Nitrini et al., 2005).
- Figura 14:** Ilustração demonstrando a classificação dos possíveis resultados obtidos na aplicação do teste do desenho do relógio (Adaptado de Nitrini et al., 2005).
- Figura 15:** Melhora da cognição geral aferida pelo Miniexame do Estado Mental após suplementação probiótica (n = 13). $p < 0.05$ em relação a T0. Os resultados foram expressos em média \pm SEM.
- Figura 16:** Avaliação dos testes de Memória Imediata e Tardia antes e após o uso do probiótico (n = 13). Os resultados foram expressos em média \pm SEM. $p < 0.05$ em relação a T0.
- Figura 17:** Avaliação de funções executivas e de linguagem antes e após o uso do probiótico (n = 13). Os resultados foram expressos em média \pm SEM. $p < 0.05$ em relação a T0.
- Figura 18:** Análise da habilidade atencional pelo Teste do Relógio antes e após 60 dias de uso do probiótico (n = 13). $p < 0.05$ em relação a T0. Os resultados foram expressos em média \pm SEM.
- Figura 19:** Graduação quanto aos sintomas neuropsiquiátricos com escore total através do Inventário Neuropsiquiátrico (n = 13). Os resultados foram expressos em média \pm SEM. Valor de $p < 0.05$ em relação a T0.
- Figura 20:** Percentual de melhora quanto a cada um dos sintomas neuropsiquiátricos avaliados através do Inventário Neuropsiquiátrico (n = 13).
- Figura 21:** Valores de AOPP dosados antes e após a ingestão de *Lactobacillus helveticus* R0052 e *Bifidobacterium longum* R0175 (n = 13). Os resultados foram expressos em média \pm SEM. Valor de $p < 0.05$ em relação a T0.
- Figura 22:** Níveis de cortisol sérico expressos em mcg/dL analisados pela técnica de quimiluminescência antes e após 60 dias do uso do probiótico contendo *Lactobacillus helveticus* R0052 e *Bifidobacterium longum* R0175. (n = 13).
*Valor de $p = 0.03$ em relação a T0.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Relação entre composição da microbiota intestinal com neurotransmissores e efeitos neuropsiquiátricos (Adaptado de Queiroz, S.A.L. et al., 2022).

Tabela 2: Questionário Sociodemográfico, antropométrico e cardiovascular.

Tabela 3: Avaliação Neuropsiquiátrica dos pacientes com Doença de Alzheimer.

Tabela 4: Avaliação Clínica da Demência. Adaptado Morris J. (1993).

Tabela 5: Estratificação de características antropométricas e demográficos entre homens e mulheres.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACTH - Hormônio Adrenocorticotrófico
AOPP - Produtos proteicos de oxidação avançada
ATP - Adenosina trifosfato
A β - Peptídeo Beta Amiloide
BNDF - Fator neurotrófico derivado do cérebro
CDR - *Clinical Dementia Rating Scale*
CRH - Hormônio liberador de corticotrofina
DA - Doença de Alzheimer
FDA - *Food and Drug Administration*
GABA - Ácido gama-aminobutírico
GGT - Enzima γ -glutamiltanspeptidase
GJ - Glicose de Jejum
GME - Glicemia Média Estimada
GPx - Glutaciona peroxidase
GSH - Glutaciona-S-transferase
Hb1A - Hemoglobina Glicada
HPA - Eixo hipotálamo-hipófise-adrenal
IL- Interleucina
iNOS - Isoforma Óxido Nítrico Sintase
MEEM - Miniexame do Estado Mental
NF-kB - Fator nuclear pró-inflamatório Kb
NIA - Instituto Nacional de Envelhecimento
NMDA - N-metil D-Aspartato
NO - Óxido nítrico
NPI-Q - Inventário Neuropsiquiátrico
PF - Formulação probiótica
RNS - Espécies reativas de nitrogênio
ROS - Espécies reativas de oxigênio
SCPD - Sintomas comportamentais e psicológicos da demência

SNC - Sistema Nervoso Central

SOD - Superóxido dismutase

SRAA - Sistema renina-angiotensina-aldosterona

TBARS - Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico

TCLE - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TNF-alfa - Fator de Necrose Tumoral alfa

UVV - Universidade Vila Velha

RESUMO

QUEIROZ, SARHA ANDRADE LOBO, M. Sc, Universidade Vila Velha – ES, fevereiro de 2023. **Efeitos do probiótico no processo cognitivo, oxidativo e inflamatório na Doença de Alzheimer.** Orientador: Elisardo Corral Vasquez.

A Doença de Alzheimer (DA) é caracterizada pela perda cognitiva progressiva com prejuízo funcional e, atualmente, determina a maior percentagem nas causas de óbito e invalidez no mundo. Na esperança de encontrar novos alvos terapêuticos que retardem a progressão da DA, pesquisas recentes apontam a importância do eixo-intestino-cérebro na gênese das manifestações patológicas e sintomatológicas da DA. Neste contexto, a disbiose intestinal pode ser responsável por ativar citocinas pró-inflamatórias, aumentar a permeabilidade intestinal e favorecer o estresse oxidativo e a cascata de neuroinflamação que precedem a morte neuronal e perda sináptica. Este estudo não controlado avaliou os efeitos do consumo de uma formulação probiótica (PF) consistindo em *Lactobacillus helveticus* R0052 e *Bifidobacterium longum* R0175 em indivíduos com diagnóstico de DA durante 60 dias sob defechos cognitivos, psiquiátricos, inflamatórios, endócrinos e estresse oxidativo através de questionários validados e dosagem de biomarcadores séricos. Foi observado uma melhora significativa em domínios cognitivos como memória, funções visuo-espaciais, capacidade de abstração, de atenção, de linguagem, habilidades construtiva e executiva. Além disso, após intervenção houve redução expressiva na gravidade dos sintomas neuropsiquiátricos para o paciente e quanto ao desgaste do cuidador, tais como apetite, apatia, agitação, ansiedade, delírio, distúrbios motores e comportamento noturno. A análise dos níveis de produtos proteicos oxidativos avançados demonstrou também diminuição significativa. Dessa forma, é possível concluir que a suplementação probiótica de *Lactobacillus helveticus* R0052 e *Bifidobacterium longum* R0175 reduziu estresse oxidativo e melhorou aspectos cognitivos e sintomas neuropsiquiátricos, destacando-se como alvo terapêutico adjunto na DA.

Palavras-chave: Probiótico, Eixo cérebro-intestino, Disbiose, Doença de Alzheimer, Estresse oxidativo, Cognição, Psiquiatria Geriátrica.

ABSTRACT

QUEIROZ, SARHA ANDRADE LOBO, M. Sc, Universidade Vila Velha – ES, fevereiro de 2023. **Effects of probiotics on cognitive, oxidative and inflammatory processes in Alzheimer's disease.** Advisor: Elisardo Corral Vasquez.

Alzheimer's disease (AD) is characterized by progressive cognitive loss with functional impairment, and currently determines the largest percentage in the causes of death and disability in the world. In the hope of finding new therapeutic targets that slow the progression of AD, recent research points to the importance of the brain-intestine axis in the genesis of the pathological and symptomatologic manifestations of AD. In this context, gut dysbiosis may be responsible for activating pro-inflammatory cytokines, increasing gut permeability, and favoring the oxidative stress and neuroinflammation cascade that precede neuronal death and synaptic loss. This uncontrolled study evaluated the effects of consuming a probiotic formulation (FP) consisting of *Lactobacillus helveticus* R0052 and *Bifidobacterium longum* R0175 in individuals diagnosed with AD for 60 days on cognitive, psychiatric, inflammatory, endocrine, and oxidative stress outcomes through validated questionnaires and serum biomarker dosing. A significant improvement was observed in cognitive domains such as memory, visuospatial functions, abstraction, attention, language, constructive and executive skills. In addition, after the intervention there was a significant reduction in the severity of neuropsychiatric symptoms for the patient and for caregiver attrition, such as appetite, apathy, agitation, anxiety, delirium, motor disturbances, and nocturnal behavior. Analysis of the levels of advanced oxidative protein products also showed a significant decrease. Thus, it can be concluded that probiotic supplementation of *Lactobacillus helveticus* R0052 and *Bifidobacterium longum* R0175 reduced oxidative stress and improved cognitive aspects and neuropsychiatric symptoms, standing out as an adjunct therapeutic target in AD.

Keywords: Probiotic, Gut-Brain Axis, Dysbiosis, Alzheimer's Disease, Oxidative Stress, Cognition, Geriatric Psychiatry

1. INTRODUÇÃO

1.1. Breve histórico

No início do século passado, o pesquisador Santiago Ramon y Cajal, graças às suas habilidades no manuseio de um microscópio rudimentar, extraordinário desenhista e um amante da ciência, nos proporcionou a descoberta de que o encéfalo não era apenas uma massa amorfa, mas sim uma enorme diversidade de estruturas e agrupamentos de células individualizadas e de incrível variedade nos seus prolongamentos (Torres-Fernández, 2006). Por isto, o Prêmio Nobel de Fisiologia ou Medicina laureou em 1906 este fisiologista espanhol que identificou uma dessas estruturas cerebrais, ficando marcado na história e no reconhecimento dos avanços que proporcionou ao estudo de neurociências (Amaral I et al., 2016).

Aqueles avanços inéditos foram posteriormente magnificados pela obra científica do seu colega, o neurofisiologista britânico Charles Scott Sherrington, o qual também recebeu o prêmio Nobel em Fisiologia ou Medicina em 1934 pela concepção das sinapses como meio de comunicação entre as células nervosas (Moss C. & Hunter S., 2018).

Embora esses gênios tenham aberto e iluminado importantes avenidas de como o Sistema Nervoso Central controla os órgãos e sistemas do nosso organismo, o cérebro ainda é visto atualmente como uma caixa-preta não completamente decifrada (Sulek K., 1968). Este cenário ficou ainda mais atrativo para os neurocientistas a partir das descobertas posteriores que mostraram que vários distúrbios centrais e periféricos eram decorrentes de alterações na maquinaria química nuclear, mudanças anormais nos compartimentos citoplasmáticos e nos diferentes tipos de comunicações sinápticas (De Carlos J. & Borrell J., 2007). Estas anormalidades cerebrais são na sua maioria irreversíveis e, por isso, cunhadas como doenças neurodegenerativas; sendo a Doença de Alzheimer a mais prevalente entre elas.

Em 1907, o psiquiatra e neurologista alemão “Alöis” Alzheimer se debruçava nos livros para tentar elucidar o que estaria por trás dos sintomas de uma mulher de 51 anos, chamada de Auguste Deter. Um caso intrigante e desafiador cursava com perda de memória progressiva, déficits cognitivos, alterações de sensopercepção, como alucinações auditivas e visuais, bem como delírio de ciúmes dirigido ao marido

(Hippius et al., 2003). E foi em 1910, que Emil Kraepelin fundador da psiquiatria moderna, convencido de estarem diante de uma nova patologia cunhou o termo Doença de Alzheimer na oitava edição do Tratado de Psiquiatria, um movimento nascido para reafirmar a importância dos mecanismos biológicos na gênese de distúrbios psíquicos (Pantel J., 2017).

Sem dúvidas, a descoberta de Ramon y Cajal impactou na possibilidade de Alois Alzheimer descrever com riqueza de detalhes os emaranhados neurofibrilares e placas neuríticas através de técnicas de coloração histológica em prata, que se tornariam em seguida os marcadores cardinais da DA (Bondi et al, 2017). No entanto, o desenvolvimento de pesquisas científicas para prevenção, diagnóstico e tratamento farmacológico da DA foi empenhado somente após seis décadas de sua primeira descrição. Originalmente conhecida como uma forma rara de demência pré-senil, a evolução das técnicas genéticas e de biomarcadores possibilitou o florescimento global da pesquisa sobre DA, coincidindo com uma mudança também no paradigma biomédico sobre o ageismo e a necessidade imperante de intervenções clínicas que possibilitassem retardar a progressão dessa enfermidade, o que se encontra em consonância com este projeto de Dissertação (Bondi et al, 2017; Pantel J., 2017; Gøril Rolfseng et al., 2018).

1.2 Estado da arte atual

A transição demográfico-epidemiológica se baseia na complexa dinâmica do processo saúde-doença na sociedade mundial, envolvendo fatores histórico-culturais como urbanização, acesso a equipamentos em saúde, industrialização, escolaridade e políticas públicas econômicas e sanitárias (Manton, 1988; Ayis S et al., 2003). Tal processo resultou em uma significativa diminuição das taxas de fecundidade, natalidade e aumento progressivo na expectativa de vida além do aumento da proporção de idosos em relação aos demais grupos etários (Zuckerman et al., 2014; Kirk D., 1996; Szreter S., 2002). Paralelamente, o que se observa é a redução de doenças infecto parasitárias e o aumento de doenças neurodegenerativas (Gage, 2005; Christensen K et al., 2009).

Dentre as doenças neurodegenerativas, a doença de Alzheimer é a de maior importância, pois corresponde a 60% dos quadros demenciais, sendo a etiologia mais prevalente em todo o mundo (Trevisan et al., 2019). Como demonstrado na

Figura 1, as mortes por doenças cardiovasculares, tabagismo e vírus da imunodeficiência humana (HIV) caíram nos últimos anos e em relação à maior causa de câncer em mulheres (mama) e em homens (próstata) houve um aumento de 1,1 e 1,8 respectivamente (CDC WONDER, 2019). Já para a Doença de Alzheimer, o que se nota é um aumento expressivo em torno de 145%. Apesar da pandemia do coronavírus responsável por milhões de mortes pelo mundo, a Doença de Alzheimer permaneceu no ranking como quinta principal causa de morte em indivíduos com mais de 65 anos 2020 e 2021 nos Estados Unidos da América (Tejada-Vera B., 2013).

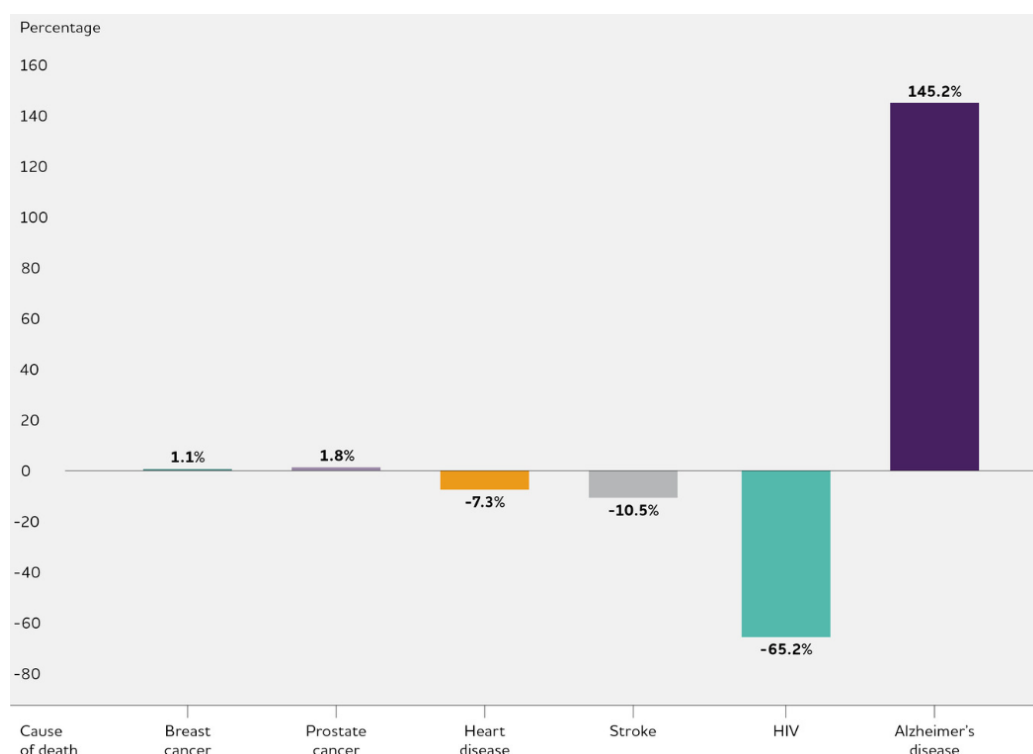


Figura 1: Padrão percentual entre causas de morte nos anos de 2000 a 2019 em todas as faixas etárias nos EUA (Alzheimer's Disease Facts and Figures, 2022).

Com o envelhecimento da população, fruto com aumento da expectativa de vida, a incidência da Doença de Alzheimer traz dados alarmantes de saúde pública. Estima-se que em 2030 o número de pessoas diagnosticadas com Demência possa chegar a 66 milhões e as projeções para 2050 demonstram um número de 131 milhões (Prince M. et al., 2015), como ilustrado na Figura 2. O que está em consonância com os dados de Chene et al. (2015), que demonstrou um risco de desenvolver DA ao longo da vida de 11,6% para homens e 21,1% para mulheres a partir dos 65 anos de idade.

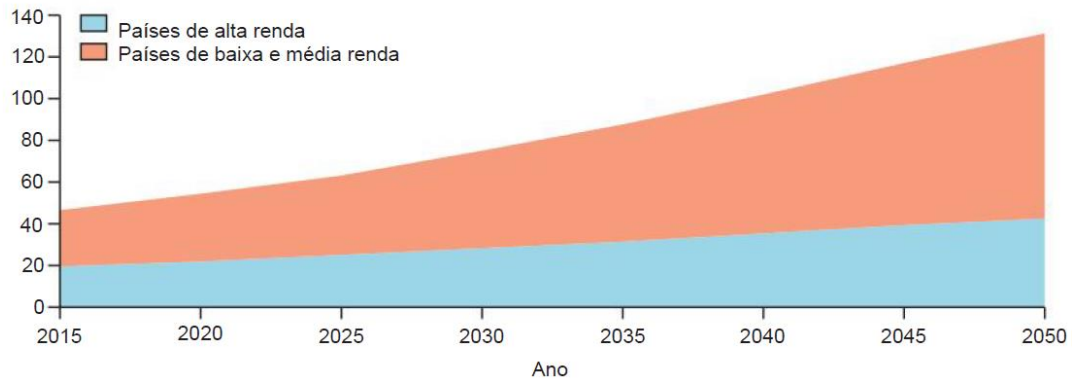


Figura 2: Projeções da prevalência de Demência no mundo expressa em milhões de pessoas.

Para diagnóstico de DA é imprescindível a presença de comprometimento progressivo em pelo menos dois domínios cerebrais não justificados por lesões estruturais, isquêmicas, emocionais ou metabólicas e que esta alteração produza disfuncionalidade. Talmelli et al (2009) concluiu que a capacidade funcional dos idosos com DA e o nível de dependência estão diretamente relacionados ao estágio da demência. Tais dados colocam a DA em lugar de destaque no que se refere ao desenvolvimento de políticas para aumento de sobrevida e melhora da qualidade de vida desses indivíduos (Hurd MD et al, 2013; Cheng ST et al., 2016).

Os custos relacionados ao tratamento e aos cuidados de saúde para indivíduos com Alzheimer são consideravelmente substanciais e a demência é uma das condições mais caras para a sociedade. Segundo Wimo et al (2016), os custos mundiais da demência foram estimados em US \$818 bilhões em 2015, o que representa um aumento de 35% desde 2010. Além disso, as tendências anuais globais calculadas no estudo através do produto de números crescentes (1,033) e custos *per capita* crescentes (1,031) equivalem a 6,5%, o que reflete que os custos estimados em 2030 ficarão em torno de US \$2 trilhões de dólares (Ferretti C et al, 2018).

Dados mais recentes mostram que em 2022 o valor total investido para cuidados em saúde desde paliativos a cuidados hospitalares terciários para pessoas com 65 anos ou mais com demência está em US \$ 321 bilhões (2022 Alzheimer's disease facts and figures). Valores destinados a esta enfermidade denotam não somente a carga econômica, mas o maior risco incalculável se destina ao sofrimento emocional e resultados negativos de saúde mental e física dos cuidadores familiares, que magnificaram com a pandemia do coronavírus. Em 2021, familiares

e cuidados não remunerados prestaram aproximadamente 16 milhões de horas exclusivamente destinadas ao cuidado de indivíduos acometidos pela demência (Veras *et al.*, 2007; Bynum J, 2009).

1.3 A Doença de Alzheimer para além de alterações cognitivas

O emblemático caso de Auguste Deter descrito no artigo intitulado “On an Unusual Malady of the Cerebral Cortex” descrevia as manifestações neuroanatômicas, cognitivas, mas sobretudo enfatizava sua natureza psíquica, tais como: ciúme patológico, delírio persecutório, alucinações auditivas intermitentes e episódios de agitação psicomotora (Benjamin *et al.*, 2018).

Atualmente, os conhecidos como sintomas comportamentais e psicológicos da demência (SCPD) ocorrem em cerca de 80 a 90% dos pacientes durante o curso da demência e variam de acordo com a gravidade e o subtipo da doença, afetando regiões específicas do cérebro (Bremenkamp *et al.*, 2014). Estão entre eles: agitação, apatia, depressão, ansiedade, psicose (alucinações ou delírios), agressividade, distúrbios do sono ou de apetite além de uma variedade de comportamentos inapropriados, tais como: euforia, desinibição, irritabilidade ou comportamento motor aberrante (Kales *et al.*, 2015).

Os sintomas neuropsiquiátricos interferem significativamente na autonomia do paciente, ocasionando alta carga física, financeira e emocional ao núcleo familiar, e posteriormente resultando em institucionalização precoce (Gerlach L. *et al.*, 2017). A necessidade de atenção integral, na maioria das vezes por um único cuidador, determina o aumento do desgaste, por este abdicar de seu próprio cuidado e tempo de lazer em prol das exigências de atenção ao idoso (Bremenkamp *et al.*, 2014; Kelley AS *et al.*, 2015). É importante destacar que estudos crescentes indicam que os quadros psiquiátricos predizem maior risco de demência (Scarmeas *et al.*, 2007; Killin *et al.*, 2016). À exemplo, o antidepressivo Citalopram possui efeitos protetores quanto ao processamento anormal da proteína precursora amiloide (APP), quanto à disfunção mitocondrial induzida por beta-amiloide e toxicidades sinápticas na doença de Alzheimer (Reddy *et al.*, 2021). Evidência corroborada pela demonstração de que este inibidor da recaptação de serotonina foi capaz de interromper o crescimento de placas preexistentes e diminuir o aparecimento de novas placas em 78%. Em indivíduos saudáveis, este medicamento reduziu 38%

nas concentrações totais de A β no LCR em comparação com o grupo placebo (Sheline et al., 2014).

Também foi observado em literatura que a associação de doença mental e demência foi superior em relação à associação de doença física e demência (Richmond-Rakerd et al., 2022). Portanto, conhecer a frequência e as principais funções cognitivas afetadas, além da sua influência no desgaste do cuidador, é relevante para o melhor manejo do tratamento, visando à melhoria da qualidade de vida do paciente e de seu núcleo familiar (Gerlach et al., 2017).

1.4 Teoria Clássica da Doença de Alzheimer

A DA é uma doença progressiva e incurável que afeta os diversos domínios cognitivos de um indivíduo, tais como memória, funções executivas, linguagem, hábitos comportamentais além de habilidades visuo-espaciais, atenção, juízo crítico além de alterações comportamentais (Larson et al., 1992). Os sintomas são explicados classicamente pela perda sináptica progressiva, disfunção colinérgica e morte neuronal (Jack CR et al., 2009; Villemagne VL. et al., 2013). Macroscopicamente observa-se atrofia cortical em regiões cerebrais responsáveis pelas funções cognitivas, principalmente em regiões temporal do córtex cerebral, hipocampo e estriado ventral e preservação a priori do córtex motor, sensitivo e visual (Balestrieri et al., 2020), como exemplificado na Figura 3.

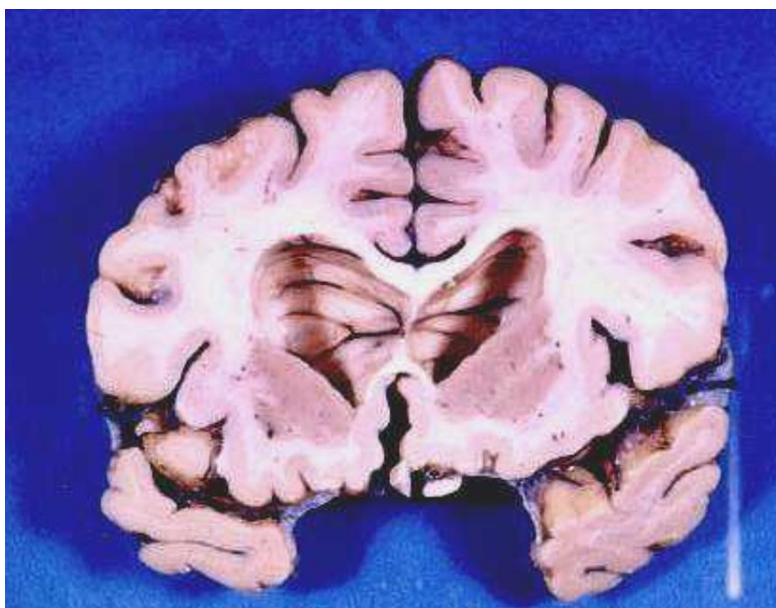


Figura 3. Aspecto macroscópico de um cérebro com Doença de Alzheimer. Disponível em: <https://anatpat.unicamp.br/bialzheimer.html>

A teoria clássica mais difundida é a hipótese amiloide que sugere que o acúmulo do peptídeo beta amiloide ($A\beta$) advém de uma via patológica envolvendo a ação da beta secretase e posteriormente da gama secretase sobre a proteína precursora amiloide (Castellani et al., 2019). Conseqüentemente, o peptídeo beta amiloide se deposita nas placas neuríticas como agregados fibrilares, favorecendo vias neurotóxicas que geram apoptose destas células. Microscopicamente, nota-se o material amiloide em espaços extracelulares de neurônios quando são denominados de placas senis ou neuríticas (Yiannopoulou & Papageorgiou, 2020).

Segundo a hipótese da cascata amiloide, este acúmulo de $A\beta$ desencadeia a hiperfosforilação da proteína tau, que por sua vez agrega-se em filamentos helicoidais pareados, levando a formação dos emaranhados neurofibrilares (Paroni G. et al., 2019). Fisiologicamente a proteína tau é responsável por estabilizar a estrutura dos microtúbulos, garantindo a realização de todo transporte intracelular de neurotransmissores, proteínas e fatores neurotróficos. Quando hiperfosforilada, a transmissão de substâncias para processos vitais neuronais fica comprometida, com isso ocorre apoptose e perda sináptica (Liu et al., 2015; Assal, 2019; Barnett, 2019; Knopman et al, 2001).

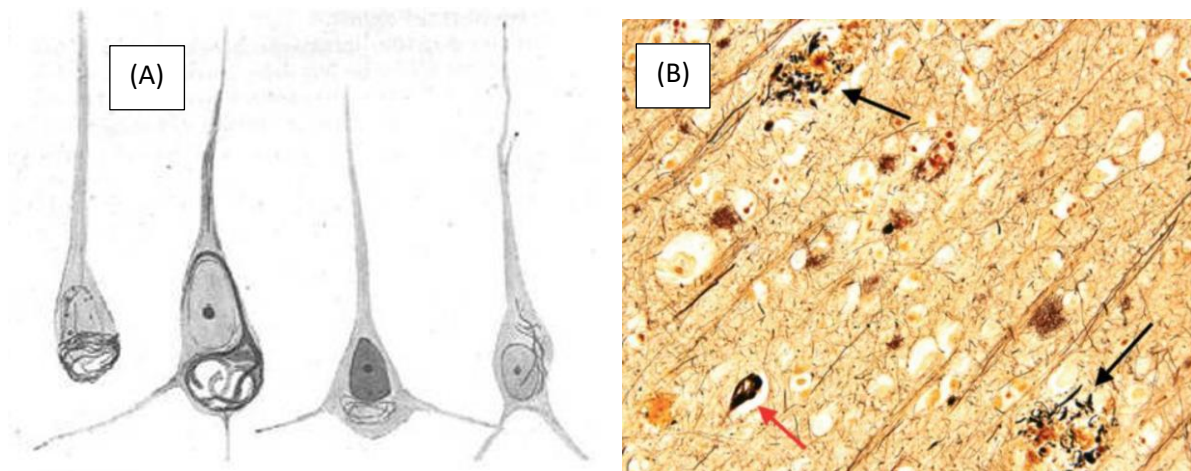


Figura 4: (A) Esquema elaborado por Alois Alzheimer em 1911 sobre aspectos microscópicos dos emaranhados neurofibrilares. (B) Emaranhados Neurofibrilares (seta vermelha) e Placas Senis (seta preta) visualizados do córtex temporal de um paciente com Alzheimer através da coloração Bielschowski modificada com aumento original em 100x (Daniel P. Neuropathology of Alzheimer's disease, 2010).

Apesar do avanço proporcionado por esta teoria no entendimento da fisiopatologia da DA, é preciso considerar que ainda existem questões a serem respondidas e esta abordagem por si só não consegue abarcar tamanha

complexidade desta enfermidade. Ainda hoje não é possível elucidar especificamente todos os processos moleculares de como a proteína beta amiloide e proteína tau interagem na indução da apoptose neuronal (Caselli RJ, 2017). Paralelamente, numerosos estudos clínicos com intuito de reduzir a formação de placas neuríticas e emaranhados neurofibrilares envolvendo medicamentos de alto custo e de distribuição sistematicamente complexos têm falhado em ensaios clínicos (Ballenger JF, 2010). Portanto, nos últimos anos, surgiram dúvidas importantes que podem nortear novas abordagens terapêuticas para uma doença crônica que representa um importante problema de saúde pública (Herrup K., 2015).

1.5 Tratamento para Doença de Alzheimer: até onde a ciência avançou

A identificação de biomarcadores para a DA permite a detecção precoce da doença e pode auxiliar no desenvolvimento de novas terapias garantindo que as pessoas apropriadas sejam inscritas em ensaios clínicos. Com a descoberta de que o Alzheimer pode começar 20 anos ou mais antes do início dos sintomas, uma janela de tempo substancial foi aberta para intervir na progressão da doença (Dubois B. et al, 2016). No futuro, espera-se que mais desta condição possa ser entendida, facilitando a criação de terapias mais eficazes que interfiram diretamente no cuidado desta enfermidade.

Apesar dos esforços empenhados nos últimos anos, apenas seis medicações são aprovadas pela *Food and Drug Administration* (FDA) para atuação na DA. No entanto cinco delas não promovem alterações cerebrais capazes de alterar o curso da doença (2022 Fatos e números da Doença de Alzheimer). No ano de 2022, 143 medicamentos estavam sendo estudados para o cuidado de pacientes com DA e apenas 21 agentes em fase 3 correspondem a terapia modificadora da doença, conforme demonstrado em Figura 1 (Cummings et al. 2022). Ademais, as expectativas foram frustradas em 152 ensaios clínicos entre 1998 e 2018 quanto aos desfechos cognitivos esperados (Doody R. 2017).

2022 Alzheimer's Drug Development Pipeline

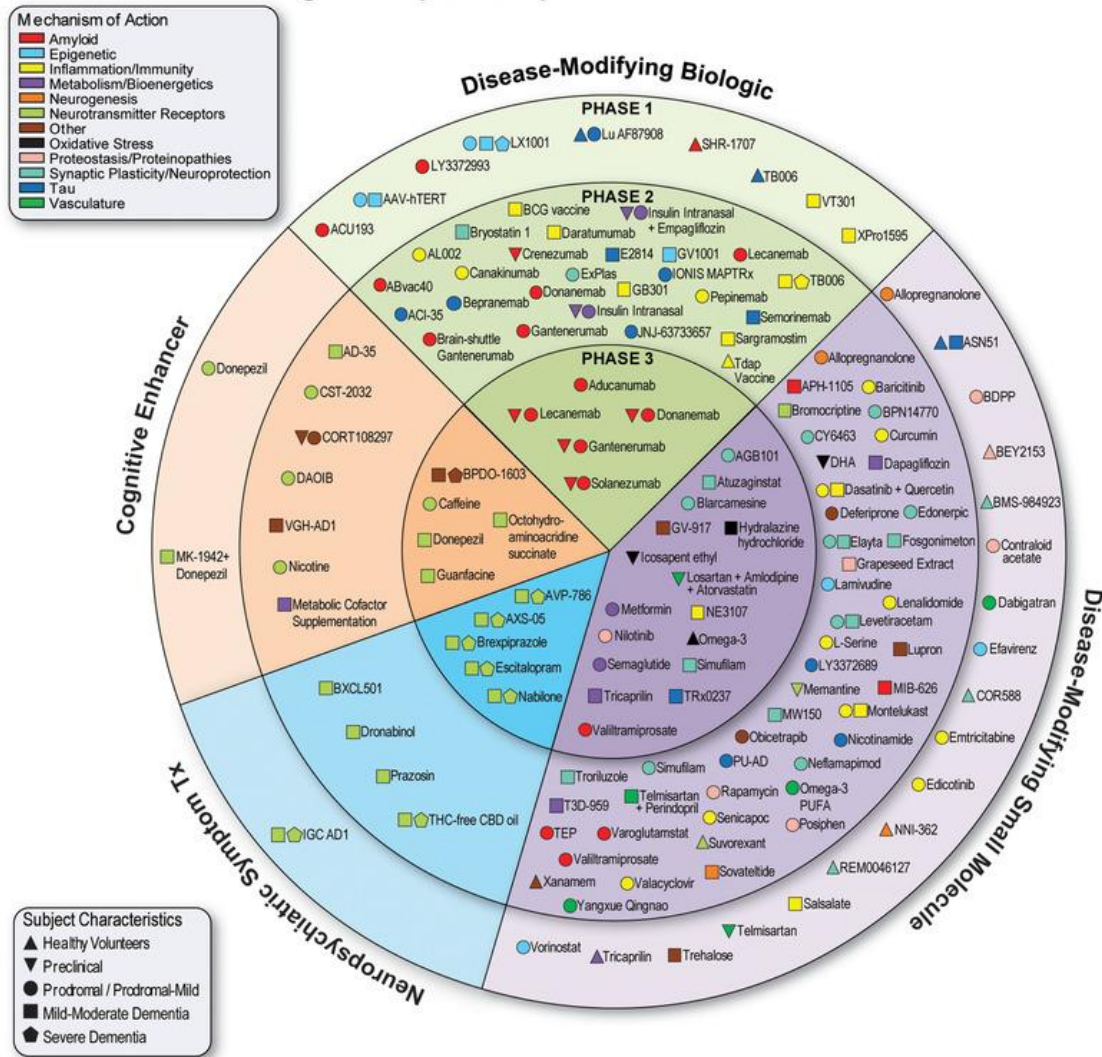


Figura 5: Desenvolvimento de terapias para Doença de Alzheimer no ano de 2022. Retirado de Cummings J. et al (2022) - Canal de desenvolvimento de medicamentos para a doença de Alzheimer.

Em geral, o objetivo do tratamento visa retardar o início dos sintomas, melhorar a saúde e bem-estar dos indivíduos com demência, aliviando os aspectos negativos do cuidar. Uma compreensão mais completa da DA, desde suas causas até como preveni-la, como gerenciá-la e como tratá-la pode levar ao desenvolvimento de intervenções destinadas a ajudar também os cuidadores.

O laboratório translacional da Universidade Vila Velha tem encontrado resultados benéficos e eficazes de suplementos nutricionais como o kefir na terapêutica modificadora para sintomas cognitivos da DA (Vasquez et al, 2019; Ton et al 2020). A continuidade desse esforço através do atual estudo acrescenta evidências de que tanto as funções cognitivas quanto sintomas neuropsiquiátricos podem ser atenuados com uso de suplementação probiótica através da redução do

estresse oxidativo e neuroinflamação.

1.6 Uma nova perspectiva sobre a Doença de Alzheimer: Estresse Oxidativo

Segundo a teoria do estresse oxidativo, a morte neuronal observada na Doença de Alzheimer se deve a um desequilíbrio entre os mecanismos de produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) e a sua remoção. Dessa forma, a presença de ROS pode agir nas membranas das células neuronais, causando uma alteração na permeabilidade e, conseqüentemente, alteração da comunicação celular e transdução de sinal neuronal através de uma desregulação da passagem de íons cálcio (Su B. et al, 2008).

Sabe-se que a produção de ROS é inevitável e secundária a atividades celulares dependentes de Adenosina trifosfato (ATP). Portanto é fisiológica à medida que mecanismos antioxidantes íntegros, mediados por substâncias como glutatona, α -tocoferol, carotenoides, ácido ascórbico, assim como por enzimas como a catalase, heme oxigenase e a glutatona peroxidase conseguem garantir um equilíbrio na manutenção do organismo saudável (Yu, 1994). Entretanto, pode ser considerada como uma face de dois gumes no sistema neurobiológico. Ora responsável pela sinalização controlada de processos tóxicos no organismo ora com potencial de oxidar proteínas, lipídeos e moléculas importantes como o próprio DNA/RNA das células (Praticò D., 2008; Liu Z. et al., 2015). Este contexto se torna ainda mais preocupante quando se lida com tecido cerebral, uma vez que é significativamente mais carente de mecanismos antioxidantes e mais exuberante em gasto energético/metabólico além da presença de ácidos graxos poli-insaturados extremamente vulneráveis à oxidação. Portanto, a presença de mitocôndrias estrutural e funcionalmente danificadas proporciona a produção mais acentuada de ROS e menos de ATP. A exemplo, na DA ocorre danos oxidativos em níveis superiores aos encontrados em indivíduos saudáveis de mesma faixa etária, o que gera uma cascata retroalimentada que amplifica o estresse oxidativo (Wang X. et al, 2014).

Adicionalmente à presença de ROS e espécies reativas de nitrogênio (RNS); o depósito de fragmentos tóxicos e a formação de radicais livres estão associados não somente com a instalação da DA, mas também à progressão e severidade da evolução da doença (Balez R. et al., 2016; Bostancıklioğlu M. et al., 2019).

Estudos recentes demonstram que as formas oligoméricas solúveis da proteína

beta amiloide estão mais associadas com a demência do que o peptídeo beta amiloide insolúvel. Sugere-se que os oligômeros de proteína beta amiloide também sejam capazes de induzir o estresse oxidativo, através da sua ligação com um receptor putativo que ativa o receptor tirosina quinase EphA4 e Fyn (Vargas L et al., 2018). A seguir, ocorre ativação anormal de receptores N-metil D-Aspartato (NMDA) e aumento desproporcional de Ca^{2+} pós-sináptico, o que provoca uma disfunção sináptica secundária a geração de ROS, peroxidação da membrana celular, dano mitocondrial, liberação de íon cálcio, desbalanço de neurotransmissores, excitotoxicidade e danos às espinhas dendríticas, um local de comunicação e transmissão de sinais elétricos entre neurônios. (Su et al., 2008, Liu et al., 2015, Yiannopoulou & Papageorgiou, 2020). Em consequente, o que se observa clinicamente e em estudos experimentais são as alterações em domínios cognitivos e neuropsiquiátricos (Cleary J. et al., 2005).

Interessantemente, estudos apontam que o estresse oxidativo precede as manifestações neuropatológicas cardinais da DA (Liu et al., 2015). Atualmente, é considerado que a DA possui um período de latência, onde as placas senis e os emaranhados neurofibrilares ainda não estão formados e caracterizando a doença em um continuum (Dubois, Bruno et al., 2016;). Tais fases, denominadas de fase pré-clínica e comprometimento cognitivo leve, já exibem um desequilíbrio oxidativo como por exemplo, níveis de isoprostano 8,12- *iso*-iPF 2 α - ν elevados no líquido cefalorraquidiano, plasma e urina com comparação com controles de mesma idade (Pratico et al. 2002; Trares K. et al., 2022). Ademais, também ocorre redução dos mecanismos antioxidantes como ácido úrico, vitamina C, vitamina E, vitamina A, luteína, zeaxantina, β -criptoxantina, α -caroteno, superóxido dismutase, glutathione peroxidase e glutathione reductase (Price J. et al., 2009; Poprac P. et al., 2017).

De acordo com Song T. *et al.* (2021) e Martin LJ. (2010), achados complementares sobre os níveis de peroxidação lipídica e oxidação proteica elevados nos estágios iniciais da doença reforçam o entendimento que o estresse oxidativo precede a perda de neurônios. Su et al (2008) reiteram os achados de que as placas senis e os emaranhados neurofibrilares são uma resposta fundamentalmente adaptativa, marcada pelo sequestro de metais redox-ativos pelas placas senis e pelo reconhecimento crescente de que neurônios com inclusões são protegidos da morte celular imediata.

O estudo do estresse oxidativo é uma área de grande interesse e estudada por nosso laboratório da Universidade Vila Velha não somente em mecanismos ligados a doenças neurodegenerativas, mas também em outras doenças crônicas como as cardiovasculares (Vasquez EC et al., 2020). Um importante achado deste grupo foi a participação do sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA) como uma importante fonte de ROS através de seus danos mitocondriais. Isto alinha com a constatação de que a angiotensina II se encontra elevada na maioria das doenças cardiovasculares em idosos (Kehoe P., 2018; Marfany et al., 2018; Cooper et al. 2018) e com o fato de a Hipertensão ser um dos principais fatores de risco para demência (Livingston G. et al., 2017). Neste contexto, sobressalta-se a importância de ampliação do campo de pesquisa para o estudo de peptídeos angiotensinogênicos e reatividade cardiovascular neste grupo populacional no que tange o agravamento e desenvolvimento de disfunções cognitivas (Vasquez et al., 2019; Vasquez et al., 2020).

Tendo em vista a relação do estresse oxidativo na gênese da fisiopatologia da Doença de Alzheimer e as evidências experimentais até então encontradas, este projeto destina-se a encontrar caminhos para elaboração de novas linhas terapêuticas eficazes para retardar a progressão da DA através da redução de danos mitocondriais, disfunções sinápticas, excitotoxicidade e consequentemente apoptose neuronal (Tonnie & Trushina, 2017; Kamat et al., 2016; Martins et al, 2018).

1.7. O eixo intestino cérebro: novas fronteiras para intervenção na DA

O envelhecimento, principal fator de risco para a DA, envolve alterações no sistema gastrointestinal: hipocloridria, dificuldades no trânsito e na motilidade intestinal, alterações degenerativas nas células nervosas entéricas, redução da capacidade de absorção, bem como alterações na qualidade e quantidade do intestino microbiota (Dumic I. et al, 2019; Soenen S. et al., 2016; Kesika P. et al., 2021). Evidências científicas indicam a importância de entender os mecanismos subjacentes envolvidos no eixo microbiota-intestino no processo homeostático saúde-doença (Bonaz B. et al., 2017; Vasquez et al., 2020; Yue Q. et al., 2022; Pereira TMC et al., 2021). Nos últimos anos, tem havido um interesse crescente na caracterização da microbiota intestinal como principal regulador dessa comunicação bidirecional que impacta as bases neurofisiológicas dos transtornos psiquiátricos e neurodegenerativos (Foster JÁ et al., 2016; Fung TC., 2020; Cerdó T. et al., 2020).

Assim, tem ganhado destaque o desenvolvimento de tecnologias para o estudo da comunicação microbiota-cérebro, bem como a investigação de novas terapias para sintomas neuropsiquiátricos por meio da modulação intestinal.

A microbiota intestinal compreende uma gama de microrganismos de cerca de 1.000 a 5.000 espécies diferentes não redundantes (Costea PI et al., 2018). A grande maioria corresponde pertencentes aos Phyla Firmicutes, Bacteroidetes, Actinobacteria, Proteobacteria, Fusobacteria e Verrucomicrobia (Qin J. et al., 2010), e no geral consiste em mais de 100 trilhões de células microbianas que residem harmoniosamente em nosso sistema gastrointestinal e que desempenham inúmeras funções no hospedeiro. Surpreendentemente, interferem não somente nas funções intestinais e absortivas, mas também em uma ampla e complexa rede fisiológica, que inclui ações neuronais, mentais, imunológicas, endócrinas e metabólicas (Gebrayel P. et al., 2022). Especificamente, segundo Vasquez et. al (2019), estas funções incluem: manutenção de uma barreira mucosa composta por enterócitos responsável por um sistema complexo de defesa contra patógenos no hospedeiro, controle sobre a permeabilidade intestinal, regulação da absorção, da imunomodulação e dos mecanismos anti-inflamatórios além de participar de vias metabólicas de produção de vitaminas, hormônios, síntese de aminoácidos, bem como pela biotransformação dos ácidos graxos de cadeia curta (Prakash S. et al, 2011). Interessante também destacar que a comunicação bidirecional do eixo intestino-cérebro é no sistema nervoso autônomo com ramos do nervo vago; na transmissão endócrina através dos hormônios (principalmente do sistema hipotálamo-pituitária-adrenal) e na propagação imunológica através de quimiocinas e citocinas (Burokas A. et al., 2015; Bonaz B. et al., 2017).

A microbiota intestinal participa da produção e liberação de neurotransmissores (Tabela 1) por meio de células enteroendócrinas, que consequentemente interferem nas funções do SNC (Alkasir R. et al., 2017).

Neurotransmissores	Bactérias	Efeitos	Referências
Acetilcolina	Bacilo; <i>Bifidobacterium bifidum</i> <i>Lactobacillus plantarum</i>	Otimizar funções cognitivas, aprendizado, memória e habilidades executivas da	funções como memória e (Shamsipour S. et al, 2021)

			vida diária.
Ácido aminobutírico (GABA)	gama- <i>Lactobacillus</i> <i>Bifidobacterium</i>	e	Principal neurotransmissor inibitório do SNC, responsável pelo processamento de informações, humor além de estar envolvido com o sono e modulação das contrações musculares. (Barrett E. et al., 2012)
Glutamato	<i>Campylobacter jejuni</i>		Principal neurotransmissor excitatório do SNC, estando associado à capacidade de encontrar caminhos alternativos para resolver problemas, aumento do tempo mental e eficiência no processamento de informações. (Baj A. et al., 2019)
Serotonina	<i>Streptococcus</i> , <i>Escherichia</i> , <i>Enterococcus</i> , <i>Lactococcus</i> <i>Lactobacillus</i>	e	Ligado à regulação das emoções, humor, apetite, sono e funções cognitivas. (Legan TB et al., 2022)
Fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF)	<i>Lactobacillus plantarum</i> IS-10506		Principal neurotrofina presente no SNC, envolvida na manutenção da homeotase neuronal, permite crescimento e diferenciação adequados de células neurais e sinapses. (Ranuh R et al., 2019)
Dopamina	<i>Escherichia</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Staphylococ</i>		As vias dopaminérgicas estão associadas a efeitos (Nobili A et al., 2017; Ni Z &

<i>cus aureus</i> e <i>Serratia marcescens</i>	neuropsiquiátricos controle do humor, emoção, comportamento, bem como no comando dos movimentos.	no (Chen R, 2015)
------------------------------------------------	--------------------------------------------------------------------------------------------------	--------------------

Tabela 1: Relação entre composição da microbiota intestinal com neurotransmissores e efeitos neuropsiquiátricos (Adaptado de Queiroz, S.A.L. et al., 2022).

Cepas de *Lactobacillus* demonstraram ser capazes de produzir acetilcolina (Stanaszek PM et al., 1977). Além disso, em um modelo animal de DA, a administração de *Bifidobacterium bifidum* e *Lactobacillus plantarum* por 8 semanas, associado ao treinamento físico, aliviou a neurotoxicidade da proteína β -amilóide e melhorou o aprendizado espacial por um mecanismo mediado pela acetilcolina (Shamsipour S. et al., 2021). Já quanto ao principal neurotransmissor inibitório do SNC, o ácido γ -aminobutírico (GABA), importante para a manutenção da homeostase neuronal, é produzido por cepas de *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* (Siragusa S. et al., 2007; Barrett E. et al., 2012). A disbiose entérica reduz o GABA no trato gastrointestinal e no cérebro, desequilibrando a relação GABA/glutamato, aumentando o potencial excitotóxico e levando à progressão da DA (Hu X & Wang T, 2016). De fato, os níveis de GABA são reduzidos no córtex de pacientes com DA (Solas M. et al., 2015). Além disso, em experimentos com camundongos obesos e metabolicamente disfuncionais induzidos por dieta, a produção de GABA por lactobacilos demonstrou reduzir distúrbios metabólicos e de comportamento depressivo (Patterson E. et al., 2019).

O glutamato, principal neurotransmissor excitatório do SNC, também é parte fundamental da transmissão sináptica equilibrada e da plasticidade neuronal, pois atua diretamente através dos receptores NMDA na aquisição de novos conhecimentos, bem como no armazenamento capacidade (Hynd MR. et al., 2004; Chang Ch et al., 2020). Uma superativação do glutamato pode estar envolvida na neurotoxicidade, levando ao dano/morte neuronal, o que justifica a introdução da memantina (antagonista NMDA) na farmacoterapia da DA. Pesquisas em humanos associaram o metabolismo do glutamato pela microbiota intestinal a funções neurocognitivas, como a capacidade de encontrar formas alternativas de resolver problemas, aumento do tempo mental e eficiência no processamento de informações (Palomo-Buitrago ME et al., 2019). Finalmente, *Campylobacter jejuni*

associado a um estímulo à síntese de glutamato através da estimulação direta da enzima γ -glutamyltranspeptidase (GGT) (Baj A. et al., 2019).

Estudos experimentais demonstram associações entre doenças intestinais e distúrbios neuropsiquiátricos. Neufeld KM. et al (2011) identificou um comportamento semelhante à ansiedade reduzido na ausência de microbiota intestinal em camundongos, relacionado à menor expressão do RNA mensageiro do receptor NMDA na amígdala. Além disso, Emge JR et al (2016) pontuou que a indução de colite em camundongos gerou comportamentos ansiosos e perda cognitiva associada à redução de bactérias intestinais devido à inflamação local aguda, principalmente lactobacilos e bactérias filamentosas segmentadas. Esses efeitos foram evitados pela administração de probióticos contendo *Lactobacillus rhamnosus* R0011 e *Lactobacillus helveticus* R0052.

O sistema serotoninérgico já é bem reconhecido pelas disfunções cerebrais, como alterações de humor, cognição e ciclo circadiano (Cools R. et al, 2008; Zarros et al., 2005). A serotonina é um produto do metabolismo do triptofano e cerca de 90% de sua síntese ocorre por meio de bactérias do trato gastrointestinal, como *Streptococcus*, *Escherichia*, *Enterococcus*, *Lactococcus* e *Lactobacillus* (Yano JM. et al., 2015; Legan TB et al., 2002). As concentrações de triptofano são aumentadas no plasma de animais machos livres de germes e a ansiedade é normalizada após a restauração da microbiota intestinal, reforçando a importância da comunicação bidirecional do eixo intestino-cérebro na neurotransmissão serotoninérgica (Clarke G et al, 2013).

Quando o ecossistema bacteriano está saudável e equilibrado ocorre uma regulação dos níveis do BDNF em regiões cerebrais associadas à memória, aprendizado, cognição e habilidades visuoespaciais (Nakamura-Palacios EM., et al., 1996). O BDNF medeia importantes efeitos benéficos do exercício, incluindo vários processos neuronais de desenvolvimento e neuroplasticidade (Fumagalli F. et al, 2006) e uma redução em sua expressão é considerada um marcador confiável para DA, pois pode exacerbar a proteína tau fisiopatológica e a deposição de β -amilóide (Caffino L. et al., 2020). Demonstrou-se que o BDNF diminui a produção de A β ao aumentar o processamento da α -secretase da proteína precursora de amilóide (APP) (Nigam SM et al., 2017). A regulação positiva da expressão cerebral de BDNF foi demonstrada em ratos após o tratamento probiótico contendo *Lactobacillus plantarum* IS-10506, sugerindo seu valor profilático contra a DA (Ranuh R. et al., 2019).

Por fim, estudos demonstram cada vez mais a interação do sistema dopaminérgico com os sintomas neuropsiquiátricos da DA (Martorana A & Koch G, 2014). A morte neuronal e a degeneração dopaminérgica dependente da idade foram observadas exclusivamente na área tegmental ventral em estágios pré-placa em um modelo de camundongo da DA (Nobili A. et al., 2017). Os neurônios dopaminérgicos estão localizados principalmente na área tegmental ventral, que é responsável pelo sistema de motivação e recompensa, e na substância nigra pars compact, envolvida principalmente no controle do movimento. Dessa forma, configura-se este neurotransmissor relacionado a sintomas neuropsiquiátricos comuns na DA, como anedonia, apatia e distúrbios motores (D'Amelio M. et al., 2018). Além disso, o déficit colinérgico na DA foi temporariamente restaurado pela administração de um agonista do receptor dopaminérgico sob estimulação magnética transcraniana (Martorana A et al., 2008; Ni Z & Chen R, 2015). Finalmente, foi relatada a produção in vitro de dopamina por várias bactérias, incluindo *Bacillus cereus*, *Bacillus mycoides*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Serratia marcescens* e *Staphylococcus aureus* (Tsavkelova EA et al., 2000).

Essa comunidade simbiótica de microrganismos não patogênicos apresenta ampla variabilidade e alterações decorrentes da exposição a fatores intrínsecos e extrínsecos ao longo da vida, como uso de antibióticos, sedentarismo, infecções, alimentação, envelhecimento, cesarianas, genética, estresse crônico e falta de amamentação (Cerdó T. et al., 2020; Soenen S et al., 2016; Ton A. et al, 2018). Especificamente em relação à idade, a microbiota sofre redução na quantidade de *Lactobacillus*, *Bifidobacteria*, *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Lachnospiraceae*, *Ruminococcaceae*, *Coprococcus*, *Roseburia* e *Faecalibacterium*, e aumento na proporção de *Odoribacter* e *Butyricimonas* (Christensen K. et al., 2009; O'Toole et al., 2015). Este e qualquer outro desequilíbrio na composição da microbiota é chamado de disbiose intestinal e desencadeia uma cascata de processos disfuncionais, incluindo sintomas neuropsiquiátricos de doenças neurodegenerativas como a DA (Weiss GA & Hennet T., 2017; Zhang H et al., 2022).

A existência do eixo microbiota-cérebro-intestino demonstra o quão crucial é a manutenção da eubiose para a homeostase cerebral. No contexto da DA, a microbiota intestinal desempenha um papel fundamental na ativação microglial, neurogênese e permeabilidade da BHE.

1.8 Microbiota Intestinal e vias fisiopatológicas de estresse oxidativo, neuroinflamação e neuroendócrinas da DA

De fato, a microbiota intestinal desempenha um papel importante na regulação do estresse oxidativo. Bactérias gastrointestinais, como lactobacilos e bifidobactérias, podem converter nitrato e nitrito em óxido nítrico (NO) (Collins AE et al., 2022). O NO é essencial na transmissão de informações do sistema nervoso entérico noradrenérgico, além de ser excretado pelo estímulo glutamatérgico via ativação dos receptores NMDA. Embora tenha um papel essencial na neuroproteção, níveis exacerbados de NO também podem causar estresse oxidativo, culminando em dano celular apoptótico e degeneração axonal (Vermeiren J. et al., 2009). Nesse sentido, a eubiose intestinal é importante, pois sua capacidade de estimular a microglia leva ao aumento da produção de NOS induzível (iNOS), aumentando a produção de NO e ajudando a manter o equilíbrio imunológico (Tse JKY, 2017; Steinert JR. Et al, 2010).

O psicobiótico é um conceito recente que traduz a possibilidade de micro-organismos vivos em quantidades adequadas alcançarem efeitos no Sistema Nervoso Central. De acordo com Mishra e colaboradores (2015), os psicobióticos têm sido uma fonte emergente e efetiva de antioxidantes, através da elevação da atividade de enzimas antioxidantes, incluindo a glutatona-S-transferase (GSH), glutatona, glutatona- redutase, glutatona peroxidase (GPx), superóxido dismutase (SOD) e catalase (Mishra et al., 2015). Dados encontrados por Valentini e colaboradores (2013) corroboram a atenuação do estresse oxidativo, porém através da redução de citocinas como TNF-alfa, IL-1 e aumentando os níveis de glutatona (Valentini et al., 2013). Além disso, a suplementação com probióticos pode estimular o crescimento de populações de *Bifidobacterium*, concomitantemente reduzindo o crescimento de enterobactérias (Perez Martinez, Bauerl & Collado, 2014). Conclui-se, portanto, que os psicobióticos podem melhorar ou prevenir a inflamação intestinal e sistêmica, por meio da modulação da microbiota intestinal. Recentemente, demonstramos que a suplementação simbiótica de kefir em pacientes idosos com DA melhora a disfunção cognitiva em testes específicos, com benefícios relacionados à memória, linguagem, funções executivas, função visuoespacial, conceitualização e habilidades de abstração. Este resultado foi observado com um aumento de NO e uma redução na oxidação de proteínas e nos níveis de ROS (Ton AMM et al., 2020).

Neste cenário, estudos destacam o próprio estresse oxidativo leva a um processo de neuroinflamação através do potencial de oxidação, destruição mitocondrial e ativação astrocitária das espécies reativas de oxigênio (Benzi G & Moretti A, 1995). Dessa forma, a origem pode ser tanto central ou periférica, uma vez que o aumento da produção periférica de citocinas pode levar à produção endógena de citocinas cerebrais (Xie J. et al., 2022). Sintomas cognitivos e neuropsiquiátricos da DA, têm sido relacionados a um aumento de mediadores pró-inflamatórios periféricos (Teixeira AL et al., 2022; Tumati S. et al., 2022), o que a literatura científica corrobora quanto a inflamação sistêmica e efeitos disruptivos da BHE (Varatharaj A & Galea I., 2017; Viña D. et al, 2021).

Esta permeabilidade na barreira cerebral está cada vez mais sendo associada a estados de disbiose intestinal que insulta mediadores inflamatórios e compromete a funcionalidade da BHE, favorecendo processos neurodegenerativos (Kelly JR et al., 2015). Em 2014, um estudo mostrou que camundongos livres de germes mostraram maior permeabilidade de sua BHE, em comparação com camundongos com flora intestinal normal e uma menor permeabilidade da barreira poderia ser restaurada por uma recolonização da microbiota normal (Braniste V. et al., 2014). Lucas WJ (2016), demonstrou que a neurodegeneração inflamatória pode ser desencadeada pela ativação do fator nuclear pró-inflamatório κ B (NF- κ B) por lipopolissacarídeos produzidos por espécies de Bacteroidetes. Além disso, a indução de amiloidose cerebral em pacientes com DA tem sido relacionada a um processo inflamatório devido a um desequilíbrio entre bactérias pró-inflamatórias (Escherichia e Shigella) em detrimento de espécies benéficas, principalmente Escherichia rectale (Cattaneo A. et al., 2017).

Kim e colaboradores (2020) mostraram que a microbiota intestinal de camundongos com doença amiloide e emaranhados neurofibrilares apresentava perda da integridade da barreira epitelial, além de inflamação intestinal. Curiosamente, o transplante de microbiota fecal de camundongos selvagens saudáveis para camundongos doentes reduziu a formação de placas β -amilóides e emaranhados neurofibrilares, reatividade glial e comprometimento cognitivo e reverteu anormalidades na expressão de genes colônicos relacionados à atividade de macrófagos e monócitos inflamatórios no sangue (Kim MS et al., 2020). Utilizando animais transgênicos, outros pesquisadores demonstraram que o transplante de microbiota fecal reduz placas amiloides, marcadores inflamatórios e melhora a neuroplasticidade e aspectos cognitivos (Sun J. et al, 2019). Portanto, a

modulação da microbiota intestinal por probióticos e intervenções de transplante de microbiota fecal é relevante para proteger o comportamento cognitivo do hospedeiro, um efeito no qual está envolvida a redução da neuroinflamação (Friedland RP & Chapman MR, 2017) e ainda se faz necessário o desenvolvimento de estratégias de modulação intestinal eficazes, plausíveis e reprodutíveis na prática clínica.

Já em relação às vias neuroendócrinas, é importante destacar o papel do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA) responsável pela regulação da resposta a estressores agudos e crônicos, uma vez que uma resposta neuroadaptativa ao estresse prolongado e crônico causa desequilíbrio imunológico e neuroendócrino, aumenta a atividade inflamatória e gera alterações comportamentais e psicológicas (Bisht K. et al., 2018; Marin MF et al., 2011).

Os estressores agudos ou crônicos, tais como: estilo de vida sedentário, ritmo circadiano alterado, abuso de álcool e exposição a ambientes ruidosos (. Kennedy PJ. et al., 2014), induzem a produção do hormônio liberador de corticotrofina (CRH) pelo hipotálamo, que conseqüentemente estimula a hipófise a produzir hormônio adrenocorticotrófico (ACTH), que, por sua vez, atua nas glândulas adrenais para liberar cortisol (Kazakou P. et al., 2022). A superativação persistente deste eixo gera níveis elevados de cortisol, e, conseqüentemente, neuroinflamação, disfunção neuroendócrina, atrofia do hipocampo e, conseqüentemente, déficits cognitivos e sintomas neuropsiquiátricos (Jacobson L, 2014; Mikulska J. et al., 2021). A literatura científica tem associado que níveis de cortisol podem prever o declínio cognitivo, explicada pela redução da neurogênese do hipocampo (Hidalgo V et al., 2016; Beluche I et al., 2010; Charles ST et al., 2020).

O presente estudo busca reiterar a influência do cortisol na composição da microbiota intestinal e na disbiose, como ilustrado na Figura 6 (Farzi A. et al., 2018). O tratamento com prebióticos contendo frutooligossacarídeos e galactooligossacarídeos teve efeitos antidepressivos e ansiolíticos associados a níveis reduzidos de corticosteróides causados pelo estresse (Burokas A. et al., 2017). Estudos recentes também mostraram que um tratamento com frutooligossacarídeos poderia melhorar o comprometimento cognitivo e a alteração da neuropatologia, bem como aliviar o acúmulo de A β no cérebro do modelo de camundongos transgênicos duplos APP/PS1 da DA (Sun J. et al., 2019; Wu S. et al., 2020). Da mesma forma, foi relatado que os galactooligossacarídeos revertem o comprometimento cognitivo-comportamental em camundongos APP/PS1, bem

como reduzem seus níveis de depressão (Yang D. et al., 2021). Além disso, a ingestão de lactobacilos foi relacionada à melhora dos parâmetros cognitivos e à diminuição dos níveis séricos de corticosterona (Galley JD & Bailey MT, 2014).

Uma formulação probiótica composta por *Bifidobacterium longum* 1714 dada a 22 voluntários saudáveis do sexo masculino foi capaz de mitigar os aumentos nos níveis de cortisol e ansiedade subjetiva em resposta a um estressor agudo. Além disso, houve também uma melhora no desempenho da memória visuoespacial dependente do hipocampo e alterações na atividade cerebral, conforme avaliado por eletroencefalografia (Allen AP et al., 2016). Em outro estudo clínico, o consumo de uma formulação probiótica composta por *Lactobacillus helveticus* R0052 e *Bifidobacterium longum* R0175 em combinação mitigou o sofrimento psicológico sem apresentar efeitos adversos, demonstrando o papel da flora intestinal no estresse, ansiedade e depressão (Messaudi M. et al., 2011). Finalmente, camundongos *germ-free* exibiram níveis mais elevados de ACTH e corticosterona em comparação com o grupo controle em resposta ao estresse de contenção. Este efeito foi totalmente revertido após reconstituição com *Bifidobacterium infantis* (Sudo N. et al., 2004). Assim, a interação da microbiota intestinal foi verificada como fator importante na resposta ao estresse do eixo HPA. No entanto, a investigação de cepas específicas com o objetivo de modulação inflamatória e atenuação clínica de manifestação cognitivas e psiquiátricas em indivíduos com doença de Alzheimer ainda não foi testado.

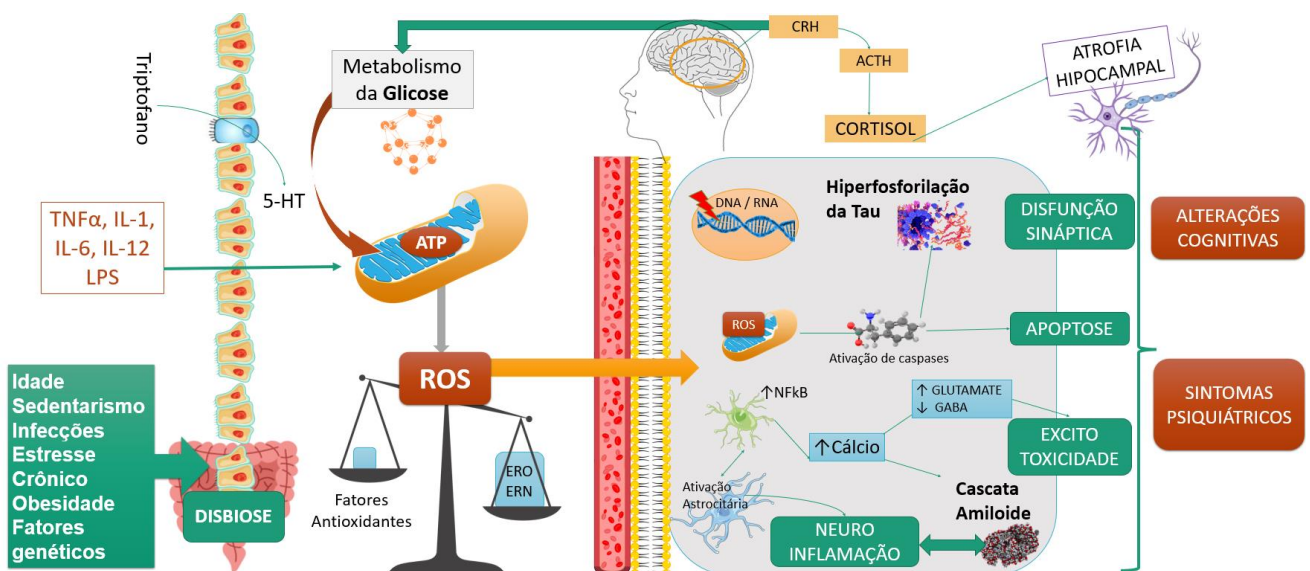


Figura 6: Esquema fisiopatológico da interação entre microbiota intestinal disbiótica, desbalanço oxidativo, inflamação sistêmica e endocrinológica com a consequente cascata neurodegenerativa da DA.

1.9 Justificativa da pesquisa

A DA é uma doença multissistêmica, progressiva, degenerativa, incapacitante e implica grandes transtornos mental, físico e psicológico não somente para o indivíduo acometido, mas também para todo o seu berço familiar. Considerando o aumento da expectativa de vida, considerando a importância da DA no âmbito familiar, no desenvolvimento de políticas públicas e no impacto nas despesas em saúde, cresce cada vez mais o interesse e a necessidade por terapias eficazes e reprodutíveis na mitigação de sintomas cognitivos e neuropsiquiátricos.

Os tratamentos hoje vigentes para esta patologia se restringem aos alvos colinérgicos bem como à lesão por excitotoxicidade. No entanto, ainda não são suficientes para abarcar tamanha complexidade fisiopatológica e atenuar ou prevenir a progressão da doença. Dessa forma, o desenvolvimento de terapêuticas voltadas para o processo neuroinflamatório e de estresse oxidativo é um caminho promissor, pois estão associados à instalação da Doença de Alzheimer, através da indução de vias neurodegenerativas e apoptóticas cerebrais.

Este estudo aborda a hipótese de que a suplementação da formulação probiótica consistindo em *Lactobacillus helveticus* R0052 e *Bifidobacterium longum* R0175 proporcionará efeito benéfico na cognição e nos sintomas neuropsiquiátricos de pacientes com Alzheimer por meio da modulação da microbiota intestinal, com consequente redução dos biomarcadores oxidativos, inflamatórios e neuroendócrinos.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivos Gerais

O objetivo deste estudo foi investigar a relação causal entre a suplementação probiótica de uma formulação específica em cápsula via oral com *Lactobacillus helveticus* R0052 e *Bifidobacterium longum* R0175 na atenuação do dano cognitivo e sintomas neuropsiquiátricos de pacientes com Doença de Alzheimer.

2.2 Objetivos Específicos

- Caracterizar a amostra de indivíduos com Doenças de Alzheimer que irá participar do estudo através da coleta de um questionário sociodemográfico e antropométrico.
- Avaliar os resultados cognitivos e neuropsiquiátricos após o consumo da formulação probiótica contendo *Lactobacillus helveticus* R0052 e *Bifidobacterium longum* R0175.
- Investigar a relação entre suplementação probiótica e alterações provocadas nos níveis de peroxidação lipídica e oxidação proteica (marcadores indiretos de estresse oxidativo).
- Avaliar o impacto do uso do psicobiótico em marcadores inflamatórios e metabólicos associados a disbiose intestinal, tais como insulina e cortisol.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Desenho de estudo

O presente estudo caracteriza-se como um estudo quali-quantitativo, longitudinal prospectivo intervencionista do tipo ensaio clínico não controlado. Os indivíduos foram recrutados por amostragem de conveniência e ao total, foram incluídos na pesquisa 13 sujeitos voluntários diagnosticados com demência de Alzheimer, de ambos os sexos, sem restrição de idade, atendidos em um centro de referência em Vila Velha, Espírito Santo, Brasil, especializado em DA.

3.2. Critérios de inclusão

Os critérios clínicos de demência utilizados serão àqueles definidos pela Associação de Alzheimer e o Instituto Nacional de Envelhecimento (NIA) publicado em 2011, caracterizados pela presença de declínio cognitivo progressivo insidioso ou sintomas comportamentais envolvendo pelo menos dois domínios cognitivos (memória, linguagem, atenção e habilidades construtivas), além de comprometimento das atividades habituais (McKhann GM et al., 2011). É importante destacar que os sintomas causados por delirium e outros transtornos psiquiátricos deverão ser detectados através de uma anamnese e avaliação cognitiva objetiva, uma vez que os sintomas cognitivos de pacientes com Alzheimer não podem ser explicados por outros transtornos. Portanto, os critérios de inclusão serão:

(1) Ausência de condições neurológicas e psiquiátricas que expliquem o comprometimento cognitivo,

(2) Ausência de comorbidades clínicas descompensadas ou não tratadas (exemplo, diabetes descompensada, doenças autoimunes em uso de imunossupressores, neoplasias e doenças inflamatórias intestinais),

(3) Assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) pelo participante da pesquisa bem como pelo seu responsável. É importante enfatizar que o TCLE foi detalhadamente explicado e assinado aos indivíduos em casos de dúvidas ou necessidade de orientações (ANEXO A).

3.3. Critérios de exclusão

É válido destacar que a pesquisa foi submetida e aprovada pelo Comitê de Ética da Universidade Vila Velha, cujo Certificado de Apresentação de Apreciação Ética número 5.053.493. Os critérios de exclusão serão:

- (1) Incapacidade orgânica ou ambiental de submeter-se à suplementação com a formulação probiótica,
- (2) Mudanças nas dosagens ou alterações no esquema terapêutico de drogas e medicamentos que possam ter impacto neurocognitivo.

3.4. Cálculo da amostra

Para cálculo da amostra, neste estudo quali-quantitativo, intervencionista, longitudinal, foi utilizado o software de domínio público G*Power V.3.1, 9.6.67. O cálculo da amostra total de voluntários, visando a correta e rigorosa interpretação das variações e diferenças nas variáveis mensuradas, foi baseada na literatura bioestatística e baseados no zelo pela não-maleficência de cada um dos voluntários da pesquisa, além de contar com a experiência do coordenador científico desta pesquisa. Para análise quantitativa de variáveis diretamente relacionadas com esta doença nosso estudo visa determinar os efeitos no fator tempo intragrupo (antes e após a suplementação probiótica). Abaixo mostramos a cópia dos parâmetros que foram utilizados pelo programa G*Power (Figura 7), desenvolvido pela Universidade de Dusseldorf (Alemanha) e o valor total de 27 indivíduos necessários para a pesquisa.

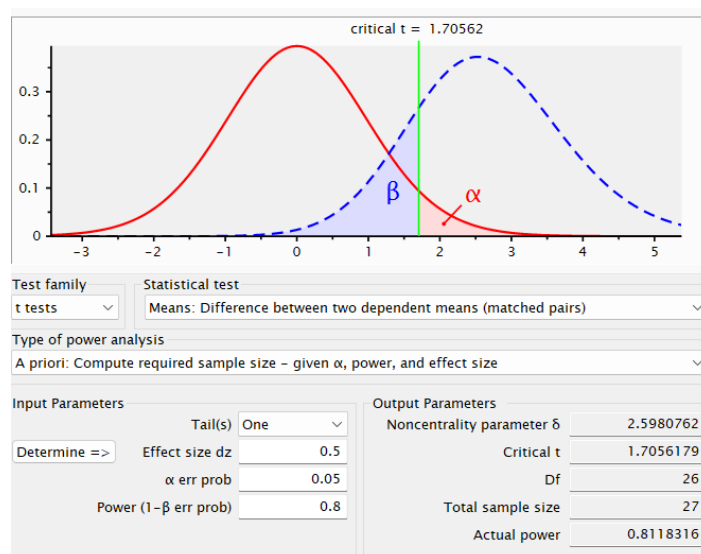


Figura 7: Cálculo amostral realizado através do programa G*Power 3.1.9.

Inicialmente trinta e quatro pacientes estavam com acompanhamento regular no Centro de Neurologia especializado em Alzheimer. Destes, dezoito foram excluídos ou se recusaram a participar da pesquisa. É válido destacar que fatores como idade, declínio funcional, pandemia do coronavírus foram limitantes para alcançarmos o número recomendado pelo programa G*Power. Dessa forma, dezesseis voluntários se vincularam à pesquisa; dois faleceram antes da intervenção e um indivíduo não pôde comparecer no acompanhamento devido sintomas gripais (Figura 8).

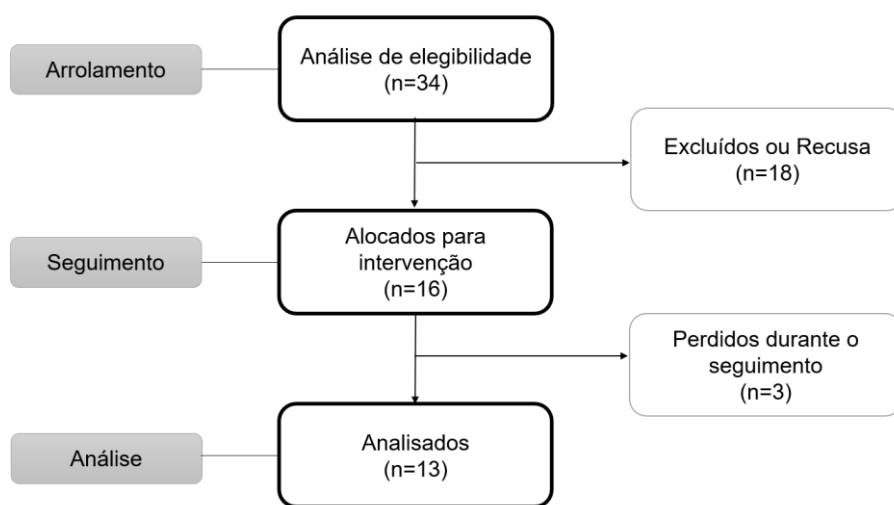


Figura 8: Etapas envolvidas na seleção da amostra final.

3.5. Protocolo de experimento

Inicialmente, foi realizada uma bateria cognitiva e neuropsiquiátrica pré-determinada para definição do estado mental no tempo zero (T0). Amostras sanguíneas foram obtidas para dosagem dos biomarcadores inflamatórios, metabólicos e de estresse oxidativo, tais como: cortisol, insulina, glicemia de jejum, hemoglobina glicada além de índices de peroxidação lipídica e proteica. Em seguida, os indivíduos receberam a formulação probiótica *Lactobacillus helveticus* R0052 e *Bifidobacterium longum* R0175 a ser utilizada na dose de 01 cápsula ao dia durante 60 dias. Após este período, os indivíduos foram novamente submetidos à bateria cognitiva, neuropsiquiátrica e dosagem dos biomarcadores (T60). Este protocolo foi esquematizado na Figura 9 a seguir.

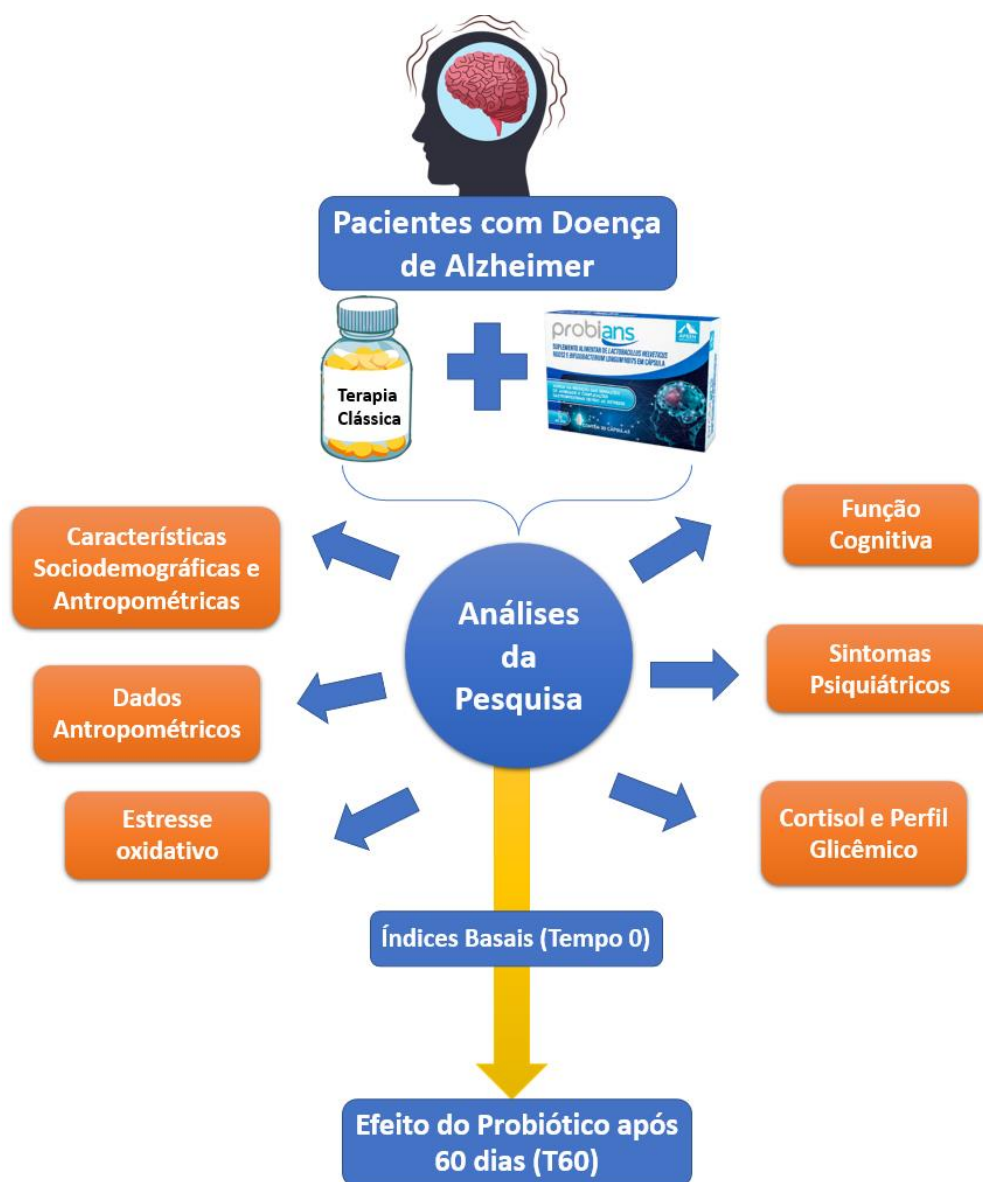


Figura 9: Esquema do protocolo da pesquisa envolvendo pacientes com diagnóstico de Doença de Alzheimer em tratamento farmacológico prescrito por médico assistente de acordo com terapia clássica que foram submetidos ao tratamento coadjuvante de suplementação probiótica.

3.6. Caracterização da amostra

Os cuidadores juntamente com os indivíduos responderam a um questionário para caracterização da amostra a respeito de Aspectos sociodemográficos e antropométricos com questões a serem respondidas a respeito da idade, gênero, raça, estado civil, prática de atividades físicas, nível de escolaridade, duração do tratamento de Alzheimer, aferição do peso, altura, índice de massa corpórea, frequência cardíaca e pressão arterial (Tabela 2).

Nome Completo:
Sexo:
<input type="checkbox"/> Masculino
<input type="checkbox"/> Feminino
Data de nascimento:
Idade: _____ anos
Cor da pele:
<input type="checkbox"/> Preta <input type="checkbox"/> Parda <input type="checkbox"/> Branca <input type="checkbox"/> Índio <input type="checkbox"/> Amarelo
Estado Civil:
<input type="checkbox"/> Solteiro <input type="checkbox"/> Casado <input type="checkbox"/> Divorciado <input type="checkbox"/> Viúvo
Prática algum tipo de atividade física?
<input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não
Se sim, qual?
Quantas vezes por semana?
Escolaridade: _____ anos
Duração do tratamento de Alzheimer: _____ anos.
Medicação que utiliza atualmente para Alzheimer: _____
Peso: _____ kg
Altura: _____ m IMC: _____ kg/m ²
<u>Tipo de Cuidador:</u>
<input type="checkbox"/> Familiar <input type="checkbox"/> Profissional

Tabela 2: Questionário Sociodemográfico, antropométrico e cardiovascular.

3.7. Avaliação cognitiva

A avaliação cognitiva dos participantes foi realizada no tempo 0 (antes) e tempo 60 dias (após) a intervenção, por meio de testes recomendados pelo Departamento de Neurologia Cognitiva e Envelhecimento da Sociedade Brasileira de Neurologia para o rastreamento de síndromes demenciais (Nitrini et al., 2005), bem como pela Sociedade Americana de Neurologia (Knopman et al., 2001) e pelo Instituto Nacional de Envelhecimento e Associação de Alzheimer (McKhann et al., 1984):

(1) Miniexame do Estado Mental (MEEM): é constituído cinco itens que correspondem à avaliação de funções cognitivas globais, tais como: orientação, memória imediata e evocativa, atenção, linguagem, nomeação, coordenação,

motricidade e praxia construtivas (Figura 10). A pontuação máxima corresponde a 30 pontos conforme ilustrado na imagem a seguir. Os valores mais altos indicam maior desempenho cognitivo global (Lancu & Olmer, 2006). É importante destacar que a avaliação deste exame levará em consideração da variável escolaridade, cuja nota de corte proposta por Bertolucci et al. (2003) equivale a: 20 pontos para analfabetos; 25 pontos para pessoas com escolaridade de 1 a 4 anos; 26,5 para 5 a 8 anos; 28 para escolaridade de 9 a 11 anos e 29 para mais de 11 anos (Bertolucci et al, 2003).

escore	1) Orientação
5	ano -- mês -- dia do mês -- dia da semana -- hora aproximada
5	estado -- cidade -- hospital -- andar (setor) -- consultório
	2) Registro
3	pente -- vaso -- laranja Tentativas _____ (máx. 6)
	3) Atenção e Cálculo
5	seriado descendente de 100-7: 93 -- 86 -- 79 -- 72 -- 65 - alternativa, se impossível cálculo: soletrar "mundo" de trás para frente (assinale se pontuou soletração <input type="checkbox"/>)
	4) Recordação
3	recordar as 3 palavras dadas para Registro
	5) Linguagem
2	denominar um relógio de pulso e uma caneta
2	repetir "nem aqui, nem ali, nem lá"
3	atender ao comando em 3 etapas: "pegue o papel com a mão direita, dobre-o ao meio e ponha-o no chão" (use essa folha)
1	ler e obedecer o seguinte: "Feche os Olhos" (vide verso)
1	escrever uma frase
1	copiar o desenho
/30	Escore total

Figura 10: Avaliação dos cinco itens do MEEM (Adaptado de Nitrini et al., 2005).

(2) Teste de memória imediata visual e (3) Teste de memória/evocação tardia (Figura 11) que são realizados com uma prancha de imagens com ordem para que o indivíduo visualize as figuras por 60 segundos para relatá-las após sem o estímulo visual. Ao final da bateria cognitiva, novamente a prancha de imagens é apresentada ao indivíduo que terá 30 segundos para gravar as imagens e relatá-las. Este teste é capaz de avaliar a memória em pacientes com diferentes níveis de escolaridade e foi contabilizado de 0 a 10 conforme a quantidade de elementos mencionados.



Figura 11: Prancha com diversos objetos apresentada aos indivíduos para observarem e guardarem o nome/imagem de cada um (Adaptado de Nitrini et al., 2005).

(4) Cookie Theft Picture Test: A imagem é apresentada ao paciente, sem prazo de tempo pré-determinado. A orientação é para registrar as unidades de informações descritas nas seguintes categorias: Protagonistas (mãe, menino e menina), Lugares (cozinha, jardim), Objetos (torneira, água, pia, chão, prato, louças, balcão, biscoito, pote, armário, banco, janela, cortina) e ações (garoto pegando biscoito, banco caindo, mãe secando a louça, água transbordando, mãe desatenta com a água, desatenção com as crianças, meninas querendo biscoito), como pode ser observado na Figura 12. Conforme descrito, a pontuação máxima corresponde a 25. Este teste é utilizado para analisar habilidades viso espaciais e capacidade de abstração, através da prancha do roubo de biscoitos (Carlomagno et al., 2005).



Figura 12: Retrato utilizado para realizar o Cookie Theft Picture Test (Adaptado de Nitrini et al., 2005).

(5) Teste de Similaridade (NITRINI et al., 2005) avalia também as habilidades visuoespaciais e de abstração, onde o voluntário é solicitado a dizer a semelhança entre três pares de substantivos (laranja e pera, cachorro e cavalo, e olho e nariz);

(6) Teste de nomenclatura de Boston é realizado para averiguar capacidades de linguagem e de nomeação, com pontuação máxima de 15 que corresponde ao número de figuras referidas corretamente, como demonstrado na figura 13 a seguir (LEITE et al., 2017).

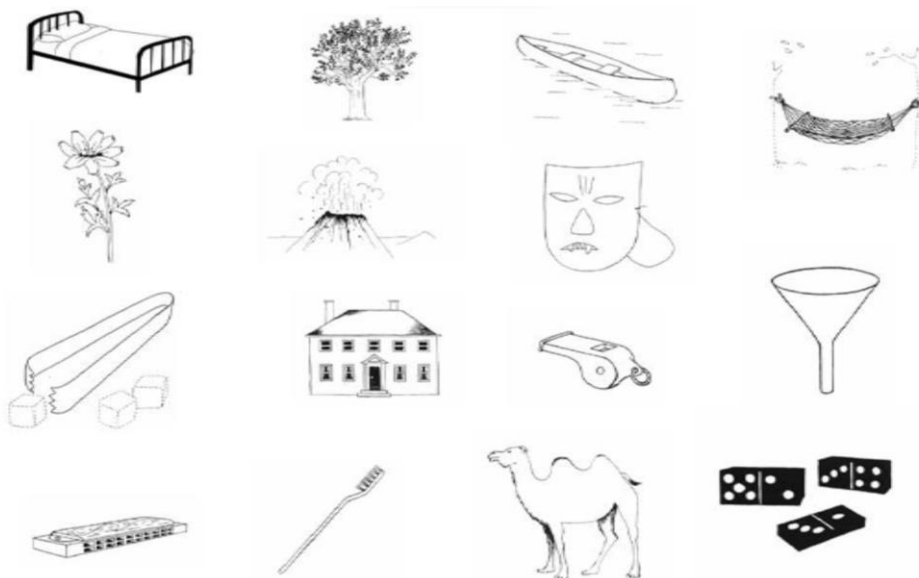


Figura 13: Imagem com quinze figuras diferentes para avaliar capacidade de linguagem e memória de evocação (Adaptado de Nitrini et al., 2005).

(7) Teste de fluência verbal consiste na geração de maior número de animais em 60 segundos. Fornece informações sobre a armazenamento e recuperação da memória além do processamento de funções executivas pela capacidade de organizar pensamentos e palavras (Abwender et al., 2001).

(8) Teste de trilhas A, na Figura 14, consiste em ligar número em ordem crescente e conectá-los através de traços. Esta avaliação é importante para verificar a capacidade de atenção durante a tarefa, habilidades motoras para construir as interligações e memória operacional (Llinàs-Reglà et al., 2016).

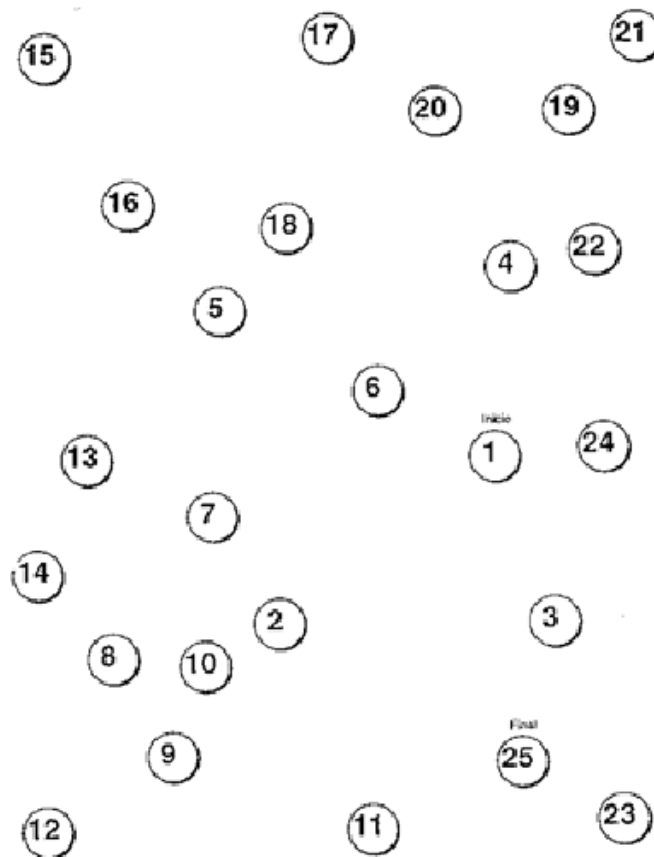


Figura 14: Folha apresentada aos participantes para realizar o comando de interligar os números (Adaptado de Nitrini et al., 2005).

(9) Por fim, o teste do desenho do relógio, que avalia as habilidades visuoconstrutivas e a forma como o idoso desenha um relógio com todos os números no mostrador e ponteiros marcando 2 horas e 45 minutos (SUNDERLAND et al., 1989). A figura a seguir demonstra as possibilidades de interpretação quanto ao seu resultado.

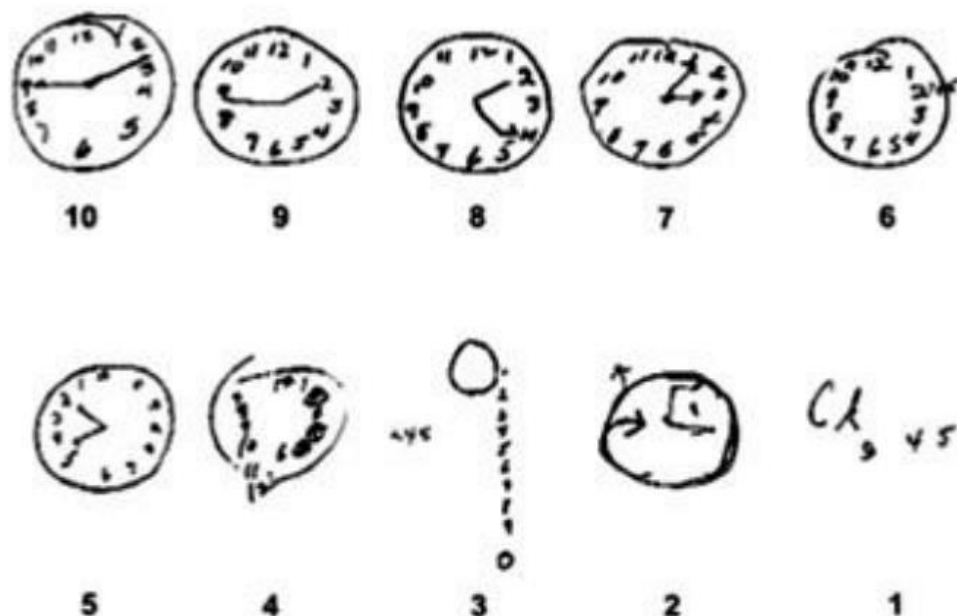


Figura 14: Ilustração demonstrando a classificação dos possíveis resultados obtidos na aplicação do teste do desenho do relógio (Adaptado de Nitrini et al., 2005.)

3.8. Inventário Neuropsiquiátrico (NPI-Q)

O Inventário neuropsiquiátrico será feito no T0 e T60 em relação ao início da suplementação probiótica. O NPI-Q é uma ferramenta desenvolvida por Cummings et al. (1994), validada por Kaufer et al (2000), no Brasil por Camozzato et al (2008) e Stella et al (2013). Consiste na avaliação realizado pelo cuidador juntamente com o paciente sobre os sintomas neuropsiquiátricos e o grau de sofrimento para ambos. A gravidade do sintoma (como afeta o idoso) em uma escala de 1 a 3, onde 1 significa leve, 2 moderada e 3 grave; e quanto à perturbação para si (como afeta o cuidador) com uma escala crescente que vai de 1 a 5, onde 1 significa leve e 5 extremamente grave , conforme o que se segue na Tabela 3:

Item Avaliado	Descrição	Sim/Não	Grau perturbação	Gravidade do caso
Delírios	O idoso tem crenças falsas, pensa que está sendo roubado ou estão lhe fazendo o mal?		0 1 2 3 4	1 2 3

Agitação		O idoso resiste à ajuda dos outros, é de trato difícil?	0 1 2 3 4	1 2 3
Depressão/ disforia		O idoso parece triste ou diz que está deprimido? Ele/ela chora?	0 1 2 3 4	1 2 3
Ansiedade		O idoso fica perturbado quando se separa de si? Demonstra sinais de nervosismo, como falta de ar, suspiros e incapacidade de relaxar, ficando muito tenso?	0 1 2 3 4	1 2 3
Euforia Exaltação	ou	O idoso aparenta sentir-se muito bem ou excessivamente feliz?	0 1 2 3 4	1 2 3
Apatia Indiferença	ou	O idoso parece menos interessado nas suas atividades habituais e nas atividades ou planos dos outros)	0 1 2 3 4	1 2 3
Irritabilidade Labilidade	ou	O idoso parece agir impulsivamente? Por exemplo, fala com estranhos como se os conhecesse ou diz coisas que podem ferir os sentimentos de outras pessoas	0 1 2 3 4	1 2 3
Distúrbios Motores		O idoso fica impaciente ou irritado? Ele/a tem dificuldade em lidar com demoras/atrasos ou em esperar por atividades planeadas?	0 1 2 3 4	1 2 3
Marcadores de Apnea do sono (SAS)		Acorda muito à noite? Ronca alto? Para de respirar durante o sono? Sente muita sonolência ou cansaço durante o dia	0 1 2 3 4 0 1 2 3 4 0 1 2 3 4 0 1 2 3 4	1 2 3

Apetite e Alimentação	O idoso perdeu ou ganhou peso, ou teve alterações no tipo de comida/alimentos de que gosta?	0 1 2 3 4	1 2 3
-----------------------	---------------------------------------------------------------------------------------------	-----------	-------

Tabela 3: Avaliação Neuropsiquiátrica dos pacientes com Doença de Alzheimer

3.9. Gravidade da Demência

Com o objetivo de estratificar o perfil da amostra quando à gravidade da Doença de Alzheimer, a escala elaborada em 1979 no projeto "Memory and Aging" da Universidade Washington, dos Estados Unidos da América (Morris J., 1993) foi aplicada. Os parâmetros avaliados pela graduam os domínios de memória, orientação, habilidade de julgamento e resolução de problemas, assuntos da comunidade, lar/passatempos e cuidados pessoais em notas de 0 a 3, onde 0 é saudável, 0.5 demência questionável, 1 demência leve, 2 demência moderada e 3 demência grave (Berg L.,1988). Tal score é demonstrado na Tabela 4 a seguir.

A fim de determinar qual nível de demência o paciente se é preciso estar atento às regras. O domínio da Memória é considerado uma categoria primária e todas as outras são secundárias. Quando pelo menos 3 domínios secundários estiverem iguais ao valor da pontuação da memória, então este é o score global. No entanto, quando pelo menos 3 funções estiverem diferentes do pontuado pela memória, então score global será igual à pontuação da maioria. No caso de empate, é importante escolher o score global mais perto da memória (Morris J., 1993).

	Saudável CDR 0	Demência Questionável CDR 0.5	Demência leve CDR 1	Demência Moderada CDR 2	Demência Grave CDR 3
Memória	Sem perda da memória, ou apenas esquecimento discreto e inconsistente	Esquecimento leve e consistente; lembrança parcial eventos	Perda de memória moderada, mais acentuada para fatos recentes, o déficit interfere com atividades do dia a dia	Perda de memória grave; apenas material muito aprendido é retido; materiais novos	Perda de memória grave; apenas fragmentos permanecem

				são rapidamente perdidos	
Orientação	Plenamente orientado	Plenamente orientado	Dificuldade moderada com as relações do tempo; orientado no espaço, no exame, mas pode ter desorientação geográfica em outros locais	Geralmente desorientado	Orientação pessoal apenas
Julgamento e Solução de Problemas	Resolve bem problemas dia a dia; juízo crítico é bom em relação ao desempenho passado	Leve compromete na solução de problemas, semelhanças e diferenças	Dificuldade moderada solução problemas, semelhanças e diferenças; julgamento social geralmente mantido	Gravemente comprometido na solução de problemas, semelhanças e diferenças; juízo social geralmente comprometido	Incapaz de resolver problemas ou de ter qualquer juízo crítico
Assuntos da Comunidade e	Função independente nas atividades de trabalho, compras, negócios, finanças e grupos sociais	Leve dificuldade	Incapaz de funcionar independentemente, embora ainda possa desempenhar algumas; pode parecer normal na avaliação inicial	Sem possibilidade de desempenho fora de casa; porém parece suficientemente bem para ser levado a atividades fora de casa	Sem possibilidade de desempenho fora de casa.
Lar e Passatempo	Vida em casa, passatempos	Vida em casa, passatempos	Comprometimento leve, mas evidente	Só realiza tarefas mais	Sem qualquer

s	e interesses intelectuais mantidos	e interesses intelectuais levemente afetados	em casa; abandono de tarefas mais difíceis;	simples. Interesses muito limitados e pouco mantidos	atividade significativa em casa
Cuidados Pessoais	Plenamente capaz	Plenamente capaz	Necessita assistência ocasional	de Requer assistência para se vestir e de higiene	Requer muito auxílio. Geralmente incontinente.

Tabela 4: Avaliação Clínica da Demência. Adaptado Morris J. (1993).

3.10. Biomarcadores neuroendócrinos e inflamatórios

Para realização de exames laboratoriais, os indivíduos foram orientados de realizar jejum de 8 horas. Para mensuração dos níveis de cortisol sérico assim como do perfil metabólico, as amostras de soro foram centrifugadas a 2200 g por 10 min a 18 °C e armazenada em tubo gel em temperatura de 2 a 8°C. A análise utilizou método de quimiluminescência e os resultados foram expressos em mcg/dL para cortisol; mg/dl para glicemia de jejum e glicemia média estimada. Já os valores de insulina são dados em mcUI/ml.

3.11. Marcadores séricos de estresse oxidativo

Para realizar a avaliação indireta de estresse oxidativo, foi instaurado o protocolo de quantificação dos níveis de produtos proteicos de oxidação avançada (AOPP), 40 µL de plasma diluído em PBS (1,5) foi adicionado a 10 µL de KI (1,16 mol/L) e 20 µL de ácido acético glacial e a absorbância foi lida a 340 nm em um leitor de microplacas (Spectra-MAX-190, Molecular Devices, Sunnyvale, CA, EUA). A formação do íon triiodeto através da oxidação do KI com cloramina-T foi utilizada para quantificar os níveis de AOPP. Os dados são expressos em µmol /mg de cloramina-T por mg de proteínas, de acordo com (WITKO-SARSAT et al., 1996).

Por fim, também foi quantificado as substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS). Para isso, utiliza-se uma solução de ácido tiobarbitúrico (200 µL; TBA), seguida de homogeneização e aquecimento em banho maria a 100°C, por

duas horas (Balogun ME et al, 2018). Após resfriamento em temperatura ambiente, as amostras são analisadas segundo a absorbância em 532 nm em leitor de microplacas (Filter Max F5 Multi-Mode Microplate Readers), colocando os valores em uma curva padrão de malondialdeído (MDA; 0.5-25 μM). Os resultados foram expressos como μM de MDA/mg de proteína.

4. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para a análise descritiva, a caracterização foi apresentada pela frequência observada, porcentagem, medidas de tendência central e de variabilidade. Todos os dados foram expressos em média \pm erro padrão da média (com exceção das características demográficas, expressas em média \pm desvio padrão).

Para a análise estatística desse estudo primeiramente foi realizada a verificação da distribuição dos dados através do teste de Kolmogorov-Smirnov. A partir do resultado do teste de normalidade, foi escolhido o teste para comparação das variáveis. Quando a análise da distribuição (frequência) dos dados mostrar uma distribuição não compatível com a distribuição de Gauss, será utilizado um teste correspondente não paramétrico. Quando os dados apresentaram distribuição Gaussiana, o teste escolhido será paramétrico, como o teste t Student para comparação de 2 médias para amostras pareadas ou independentes. Os valores de $p < 0.05$ foram considerados estatisticamente significativos. Os procedimentos estatísticos foram realizados utilizando-se o software GraphPad Prism versão 7.0.

5. RESULTADOS

5.1. Caracterização sociodemográfica e antropométrica da amostra

Em relação ao sexo, 11 participantes pertencem ao sexo feminino e 2 ao sexo masculino, representando, respectivamente, 84.6 % e 15.4% da amostra. No que diz respeito a idade em anos dos participantes, a média total foi de 10.8 anos para mulheres e de 9 para homens. Conforme demonstrado na Tabela 5, não foi verificado diferença estatisticamente significativa entre sexo feminino e masculino quanto à idade, IMC, escolaridade e duração do tratamento.

Parâmetros	Mulheres (n= 11)	Homens (n=2)	<i>p</i>
Idade (anos)	76.1 ± 9.4	72 ± 16	0.95
IMC (kg/m ²)	25.9 ± 3.6	24.5 ± 0.9	0.59
Nível educacional (anos)	10.8 ± 2.2	9 ± 0.0	0.38
Duração do tratamento (anos)	4.2 ± 1.5	2.5 ± 0.7	0.16

*Os valores foram expressos em média ± desvio padrão.

Tabela 5: Estratificação de características antropométricas e demográficos entre homens e mulheres.

Quanto ao perfil étnico, dez pessoas se declararam pertencentes a raça branca, 2 à raça parda e outras 1 à raça preta, representando em números percentuais; respectivamente 77%, 15.4% e 7.6%. Considerando o hábito de realizar atividade física, 7 dos indivíduos eram sedentários, enquanto 6 praticavam algum tipo de atividade física, configurando uma média global 1.2 vezes por semana.

Por fim, a Tabela 6 também mostra o perfil farmacológico para tratamento da DA que variou entre a prescrição somente do Inibidor da enzima acetilcolinesterase, dentre eles rivastigmina, donepezila, galantamina (38% da amostra); somente o antagonista não-competitivo dos receptores NMDA denominada de Memantina (23% dos indivíduos) e a terapia em conjunto entre as duas classes (39%).

Variáveis		N	%
Etnia	Branca	10	77.0
	Parda	2	15.4
	Preta	1	7.6
Atividade Física	Sim	6	46
	Não	7	54
Frequência semanal	1.2 ± 1.4		
Medicação	Somente Inibidor da AchE	5	38
	Somente Memantina	3	23
	Combinação	6	39

Tabela 6: Variáveis sociodemográficas e perfil medicamentoso do tratamento da DA. *Os valores para frequência de atividade física foram expressos em média ± desvio padrão.

5.2 Avaliação do desempenho cognitivo

A análise dos dados referente à cognição geral pelo MEEM permite concluir uma melhora significativa dos indivíduos após 60 dias de suplementação com o psicobiótico em 19,2% (T0: 18.3 ± 1.6 acertos e T60: 22.8 ± 1.5 acertos, $p= 0,008$). Como demonstrado na Figura 15, as cepas de *Lactobacillus helveticus* R0052 e *Bifidobacterium longum* R0175 foram capazes de afetar positivamente a cognição de pacientes com Alzheimer.

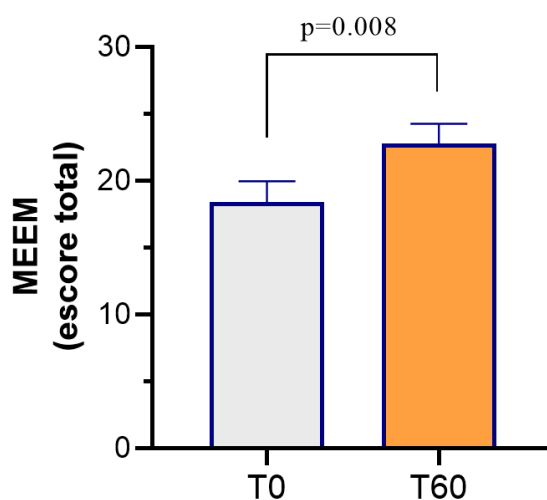


Figura 15: Melhora da cognição geral aferida pelo Miniexame do Estado Mental após

suplementação probiótica (n = 13). $p < 0.05$ em relação a T0. Os resultados foram expressos em média \pm SEM.

Tal efeito também pôde ser observado na Figura 16 para os testes de Memória Imediata (T0 3.7 ± 0.7 acertos T60: 4.8 ± 0.8 ; $p = 0.005$) e tardia (T0: $4.1 \pm 0,9$ e T60: 5.1 ± 0.9 ; $p = 0.016$).

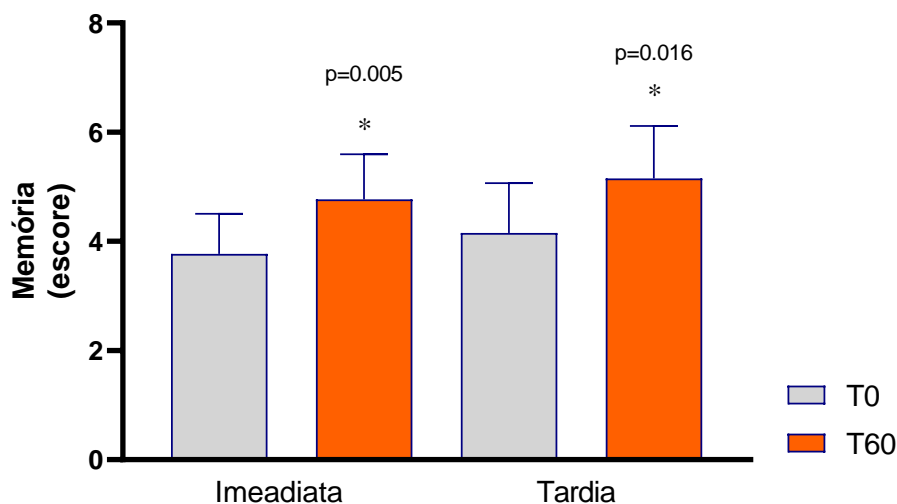


Figura 16: Avaliação dos testes de Memória Imediata e Tardia antes e após o uso do probiótico (n = 13). Os resultados foram expressos em média \pm SEM. $p < 0.05$ em relação a T0.

Em relação às funções executivas e de linguagem, o teste de Boston exprime aumento estatisticamente significativo após o uso do probiótico (T0: 9.2 ± 1.3 e T60: 11 ± 1.4 ; $p = 0.03$); enquanto o teste de fluência verbal (Figura 17) apresentou melhora percentual ainda maior (28%, $p = 0.002$).

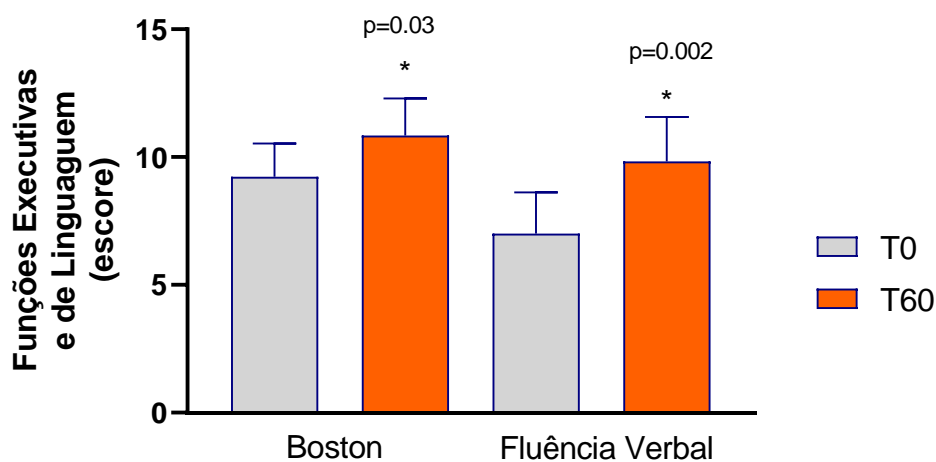


Figura 17: Avaliação de funções executivas e de linguagem antes e após o uso do probiótico (n = 13). Os resultados foram expressos em média \pm SEM. $p < 0.05$ em

relação a T0.

No que tange às funções visuoespaciais e capacidade de abstração (Figura 18), o teste do roubo do biscoito obteve 38% de melhora entre antes e após a suplementação probiótica (T0: 11 ± 1.8 e T60: 17.8 ± 1.5 , $P=0.001$); em consonância, o teste de similaridades também apresentou elevação da pontuação estatisticamente relevante.

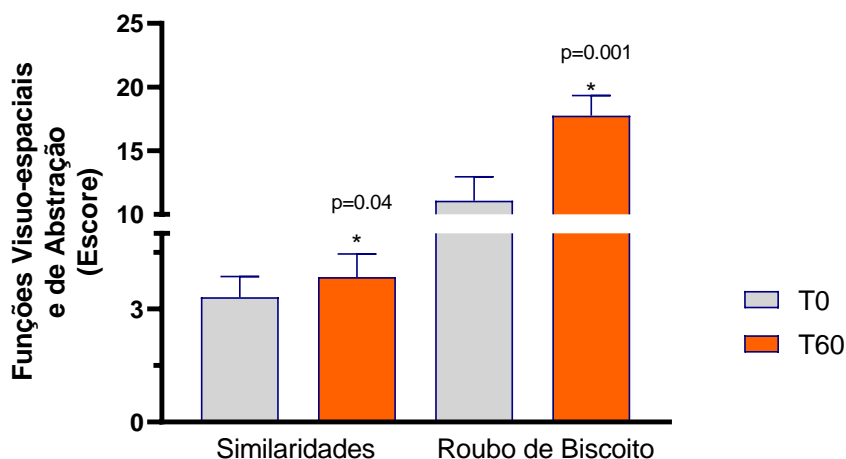


Figura 18: Avaliação das funções visuoespaciais e da capacidade de abstração obtidas pelo Teste de Similaridades e Roubo do Biscoito antes e após 60 dias de uso do probiótico (n = 13). Os resultados foram expressos em média \pm SEM. $p < 0.05$ em relação a T0.

A atenção avaliada pelo Teste do Relógio alcançou melhora de 23.5% com média do escore antes do probiótico de 3.9 ± 0.7 e após 5.1 ± 0.8 com valor $p = 0.04$.

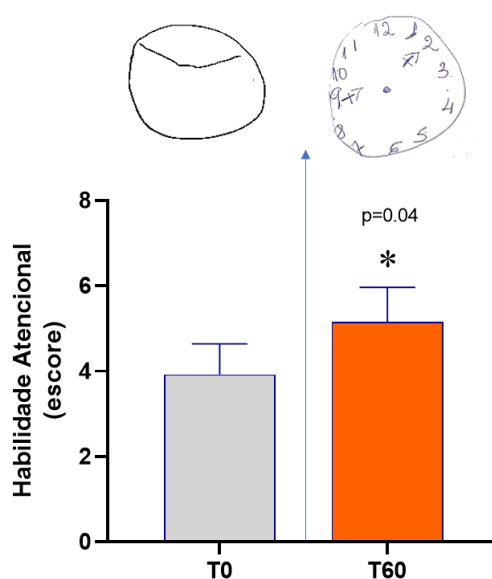


Figura 18: Análise da habilidade atencional pelo Teste do Relógio antes e após 60 dias de uso do probiótico (n = 13). $p < 0.05$ em relação a T0. Os resultados foram expressos em média \pm SEM.

Para finalizar a avaliação cognitiva, a Figura 19 traz a melhora no Teste de Trilhas A com valores estatisticamente significativos também em habilidades construtivas em torno de 20% (T0 18 ± 2.5 e T60: 23.5 ± 1.3 ; $p=0.04$).

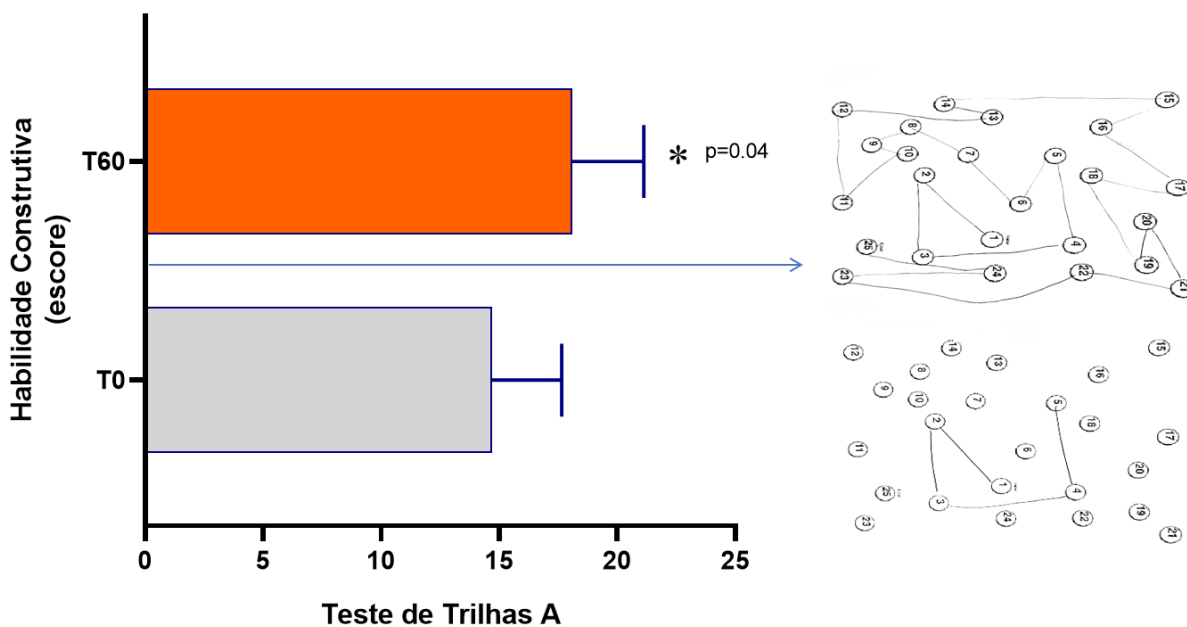


Figura 18: Avaliação da capacidade construtivas através do Teste de Trilhas A antes e após 60 dias de uso do probiótico (n = 13). $p < 0.05$ em relação a T0. Os resultados foram expressos em média \pm SEM

5.3 Sintomas neuropsiquiátricos na DA: o impacto para o paciente e seu cuidador

A percepção do paciente quanto aos sintomas psicopatológicos reduziu em torno de 33 % e o desgaste do cuidador em 26% após uso do probiótico (Figura 19), o que evidencia o impacto da modulação da microbiota intestinal na melhora de diversas manifestações psíquicas. Pontua-se também uma melhora estatisticamente relevante para ambos os indivíduos: o acometido pela doença (valor $p=0.02$) e o responsável pelo seu cuidado (valor $p=0.04$). Interessante observar também que a média do escore total antes da intervenção científica para o paciente foi de 9 enquanto a percepção do desgaste do cuidador foi equivalente a 14 pontos na escala, fortalecendo a importância do olhar para a saúde física e mental de quem dedica grande parte do seu tempo nos cuidados de indivíduos com Doença de Alzheimer.

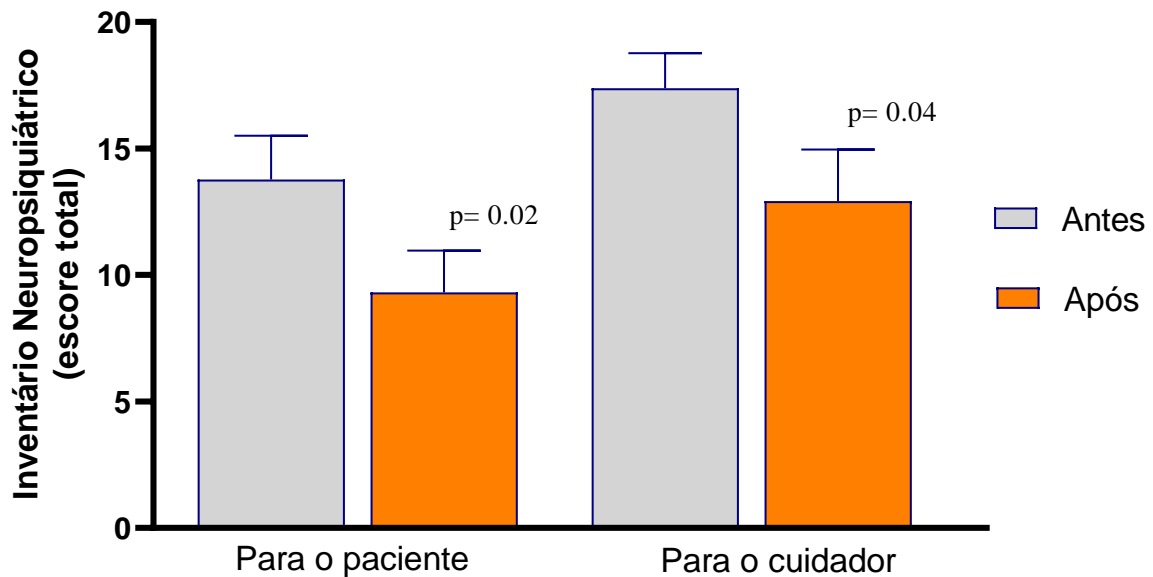


Figura 19: Graduação quanto aos sintomas neuropsiquiátricos com escore total através do Inventário Neuropsiquiátrico (n = 13). Os resultados foram expressos em média ± SEM. Valor de $p < 0.05$ em relação a T0.

Exatamente em relação a cada sintoma, nota-se na Figura 20 uma melhora percentual em todos avaliados. Euforia, delírio e agitação foram as mudanças mais expressivas notadas pelos participantes e seus cuidadores. No entanto, é importante observar a diferença da percepção entre portadores do Alzheimer e Cuidadores quanto a diversos sintomas, tais como depressão que para o paciente a melhora foi de 10% e para o olhar do cuidador foi de 42%. Este dado leva a refletir sobre a dificuldade do diagnóstico de depressão na prática clínica em pacientes com Doença de Alzheimer especificamente em fases avançadas pela incapacidade de alguns indivíduos relatarem e observarem suas alterações de humor.

A média de cada sintoma que apresentou diminuição estatisticamente relevante na percepção do paciente foi para apatia com valor de $p=0.01$ (T0:1.7 ± 0.8 e T60: 1.1 ± 0.8) e no olhar do cuidador foi para despertar noturno com valor de $p=0.03$ (T0:1.1 ± 0.3 e T60: 0.6 ± 0.2).

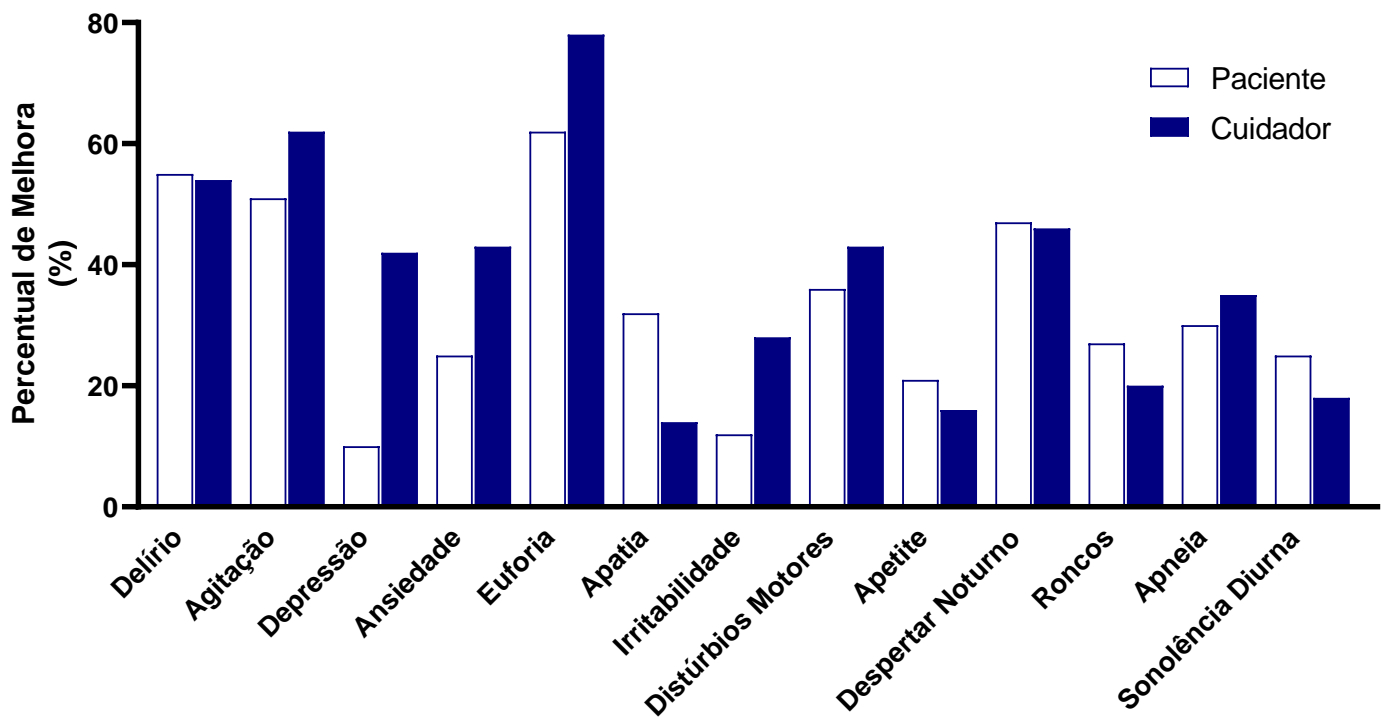


Figura 20: Percentual de melhora quanto a cada um dos sintomas neuropsiquiátricos avaliados através do Inventário Neuropsiquiátrico (n = 13).

5.4 Análise de estresse oxidativo

Para quantificar os níveis de oxidação proteica, foi instaurado o protocolo envolvendo a formação do íon triiodeto através da oxidação do KI com cloramina-T e absorvância lida a 340 nm em um leitor de microplacas (Spectra-MAX-190, Molecular Devices, Sunnyvale, CA, EUA). Portanto, os valores são demonstrados na unidade de $\mu\text{mol} / \text{mg}$ de cloramina-T por mg de proteínas, de acordo com (WITKO-SARSAT et al., 1996).

A Figura 21 transparece resultados expressivos quanto níveis de AOPP dosados antes e após 60 dias de uso do medicamento composto por *Lactobacillus helveticus* R0052 e *Bifidobacterium longum* R0175 (T0: $17917 \pm 1669 \mu\text{mol} / \text{mg}$ de proteínas e T60: $116.5 \pm 14.6 \mu\text{mol} / \text{mg}$ de proteínas, valor de $p=0.0002$), indicando que a melhora clínica se correlaciona com a redução do estresse oxidativo.

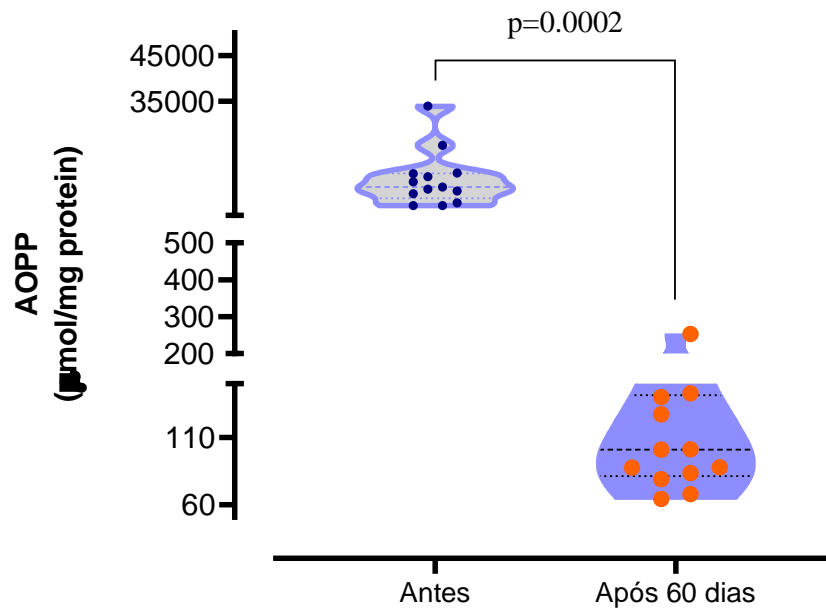


Figura 21: Valores de AOPP dosados antes e após a ingesta de *Lactobacillus helveticus* R0052 e *Bifidobacterium longum* R0175 (n = 13). Os resultados foram expressos em média \pm SEM. Valor de $p < 0.05$ em relação a T0.

Ademais, a quantificação de peroxidação lipídica utilizou uma solução de ácido tiobarbitúrico (Balogun ME et al, 2018) com análise segundo a absorbância em 532 nm em leitor de microplacas (Filter Max F5 Multi-Mode Microplate Readers) e leitura na curva padrão de malondialdeído (MDA; 0.5-25 µM). Os resultados foram expressos como µM de MDA/mg de proteína. Por isso, os resultados são expressos como µM de MDA/mg de proteína. Quanto aos resultados de TBARS, a Figura 22 pontua uma diminuição estatisticamente significativa para o grupo de pacientes com Demência de Alzheimer Leve (*Clinical Dementia Rating* -CDR 1), segundo escala elaborada na Universidade Washington, dos Estados Unidos da América no projeto "Memory and Aging" e validada em literatura (Morris J., 1993). A avaliação deste indicador nos estágios moderado e grave da DA não obteve redução estatisticamente relevante, o que pode indicar uma atuação do probiótico no estresse oxidativo mais relevante em estágios precoces e iniciais desta enfermidade.

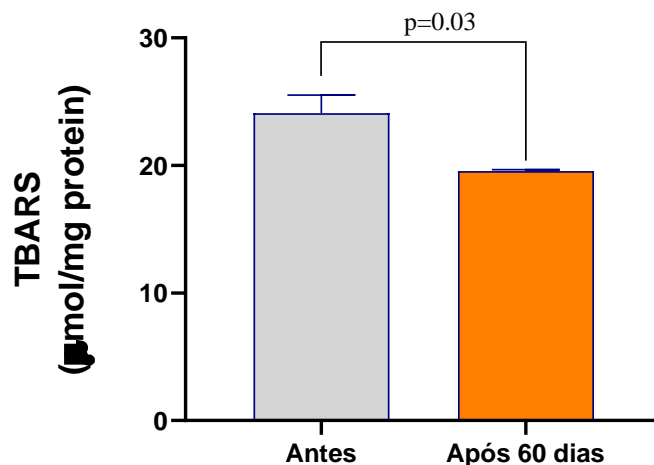


Figura 22: Marcada redução nos níveis de peroxidação lipídica após 60 dias de suplementação probiótica no subgrupo de Demência Leve (CDR 1). Os resultados foram indicados em média \pm SEM. Valor de $p < 0.05$ em relação a T0.

5.5 Biomarcadores neuroendócrinos e inflamatórios

O gráfico de violino (Figura 22) confirma o benefício significativo da ingestão de *Lactobacillus helveticus* R0052 e *Bifidobacterium longum* R0175 na inflamação sistêmica aferida pelo cortisol sérico em indivíduos com Doença de Alzheimer.

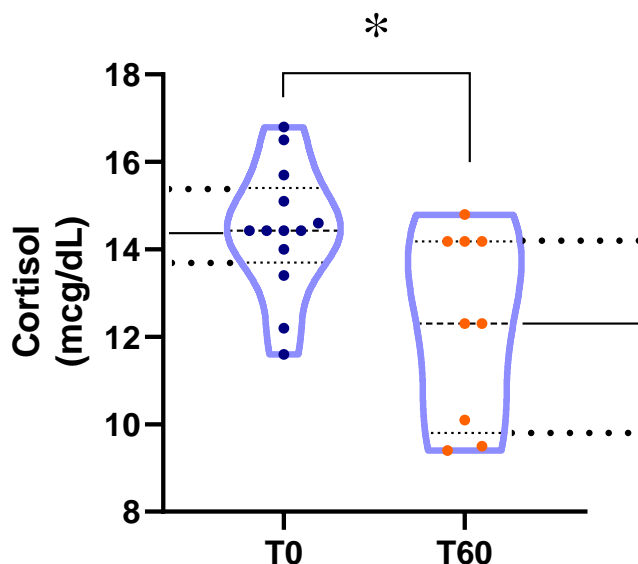


Figura 22: Níveis de cortisol sérico expressos em mcg/dL analisados pela técnica de quimiluminescência antes e após 60 dias do uso do probiótico contendo *Lactobacillus helveticus* R0052 e *Bifidobacterium longum* R0175. (n = 13). *Valor de $p = 0.03$ em relação a T0.

Para mensurar o perfil de atuação da ingesta deste psicobiótico quanto aos exames endócrinos, principalmente quanto ao consumo energético e metabólico, foram analisados níveis de Insulina expressos em UI/mL; Glicemia Média Estimada e Glicemia de Jejum aferidos em mg/dl bem como de Hemoglobina Glicada analisada em %, como resumido na Figura 23 abaixo. De fato, é possível constatar redução significativa no perfil glicêmico dos indivíduos com Alzheimer após 60 dias de uso do medicamento. A glicemia de jejum (Figura 23 – c) não sofreu alteração após o tratamento, o que pode ser explicado por variáveis de interferência como: consumo de alimentos ou bebidas açucara antes da coleta, jejum prolongado, estresse e medo com o procedimento além de ser um parâmetro agudo. No entanto, medições que refletem alterações no perfil metabólico de forma crônica, tais como resistência insulínica, glicemia média estima e hemoglobina glicada (Figura 23 – respectivamente a, b e d) comprovam o impacto positivo após o tratamento.

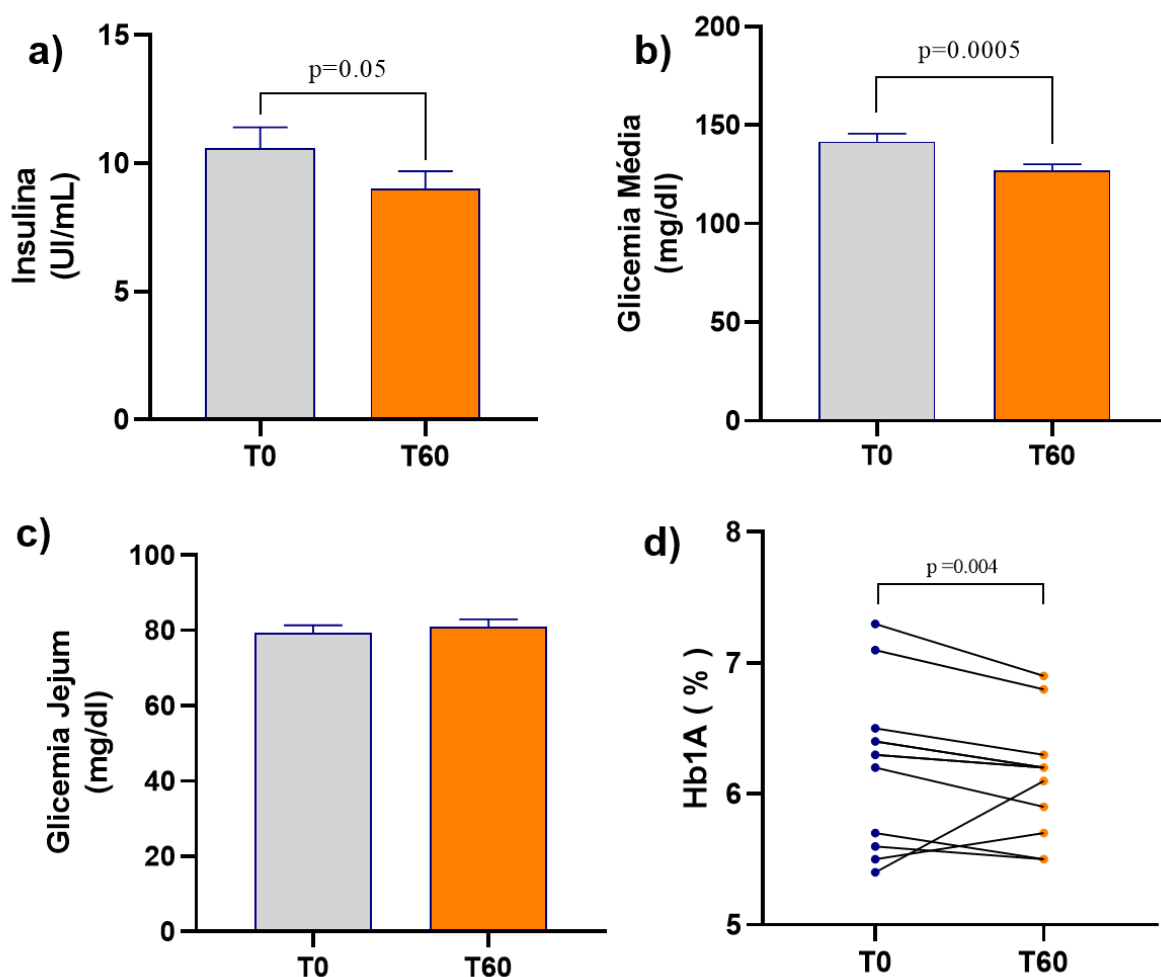


Figura 23: Avaliação do perfil glicêmico após 60 dias de suplementação probiótica (n = 13). Valores são mensurados em média ± SEM e $p < 0.05$ em relação a T0. Nota-se redução estatisticamente significativa para resistência insulínica, glicemia média estimada e hemoglobina glicada.

6. DISCUSSÃO

Hipócrates, considerado atualmente o pai da medicina, defendia há mais de dois mil anos que “Toda doença começa no intestino” (Lyon L., 2018). O postulado que o cérebro se comunica com o restante do corpo levou ao entendimento de que o processo de adoecimento só poderá ser compreendido quando observar o indivíduo como um todo e não apenas para cada órgão de forma isolada. No entanto, apenas no ano de 1840 que o médico do exército americano, William Beaumont, esclareceu através de experimentos que o estado emocional influenciava o ritmo de digestão e liberação do suco gástrico.

Em 1908, o zoólogo e microbiologista Elie Metchnikoff é reconhecido com o Prêmio Nobel de Medicina por sua contribuição inovadora ao relacionar a longevidade de uma população búlgara à ingestão de produtos lácteos fermentados e, conseqüentemente, a troca de bactérias nocivas do intestino por ácido láctico (Metchnikoff, 1908; Tauber, 2003; Morris, 2018). Outro pesquisador, anos mais tarde, relaciona o estado depressivo melancólico com a constipação e má alimentação. De tal forma, George Porter Phillips observa melhora da aparência e expressão dos afetos de suas pacientes após ingestão de bactérias pertencentes ao gênero *Lactobacillus* (Phillips J., 1910).

Essa ideia está sendo alvo do interesse da literatura científica atual crescentemente, haja vista o número de publicações para o termo “gut microbiota” no PubMed nos últimos 10 anos ter passado de 949 para o número de 12.400 publicações somente em 2022. Uma explicação possível foi que em 2015 os probióticos foram oficialmente reconhecidos como uma oportunidade terapêutica ao demonstrarem que a modulação intestinal interfere em funções cerebrais (Akbari et al., 2016; Sampson & Mazmanian, 2015).

Nosso grupo de pesquisa se dedica, nas últimas duas décadas, ao estudo do eixo microbiota-intestino-cérebro bem como a influência do estresse oxidativo na gênese de diversas doenças crônicas, dentre elas a Doença de Alzheimer. (Vasquez et al. 2012; Vasquez et al., 2018; Vasquez et al., 2019; Vasquez et al, 2020). Recentemente, Ton e colaboradores (2020) demonstraram que a suplementação simbiótica de kefir em pacientes com DA provoca melhora na disfunção cognitiva acompanhado de redução na oxidação de proteínas e nos níveis

de ROS (Ton AMM et al., 2020). Apesar dos esforços empenhados no desenvolvimento de terapias modificadoras do curso da DA, ainda são escassas as evidências e ensaios clínicos na determinação de efeitos positivos de cepas bacterianas específicas com doses padronizadas nos sintomas cognitivos e psicopatológicos desta demência (Kowalski & Mulak, 2019).

Este ensaio clínico com indivíduos com DA demonstrou melhora substancial em testes cognitivos relacionados aos domínios de memória, de atenção, de abstração, às funções executivas e de linguagem, assim como nas habilidades visuo-espaciais e construtivas após 60 dias de uso de uma cápsula ao dia contendo 3×10^9 Unidade Formadoras de Colônia (UFC) de *Lactobacillus helveticus* R0052 e 3×10^8 de *Bifidobacterium longum* R0175. Tais achados corroboram os efeitos desta formulação probiótica encontrados por Mohammadi G. et al (2018) em um modelo animal usado em neuroinflamação e neurodegeneração, onde a suplementação por 14 dias reduziu o dano causado pelo LPS na memória através da produção de BDNF (Mohammadi G. et al., 2019). Resultado semelhante foi obtido por Kobayashi, porém em uma população de adultos com comprometimento cognitivo leve comprovando melhora cognitiva e na qualidade de vida após 24 semanas da administração de *Bifidobacterium breve* A1 (Kobayashi, Y. et al., 2019).

Ademais, obtivemos redução do escore global do Inventário Neuropsiquiátrico, indicando melhora tanto para o paciente quanto para o seu cuidador em relação aos sintomas comportamentais e psicopatológicos da DA, tais como: depressão, ansiedade, irritabilidade, euforia, apatia, agitação, delírio, distúrbios do sono, comportamento motor e apetite. Estudos clínico de 2011 também evidenciou efeitos benéficos de *Lactobacillus helveticus* R0052 e *Bifidobacterium longum* R0175 em escalas de ansiedade e depressão após 30 dias de uso em indivíduos saudáveis, o que confirmou o teste pré-clínico em camundongos (Messaoudi M. et al., 2011).

Aventa-se que as cepas de *Lactobacillus helveticus* R0052 e *Bifidobacterium longum* R0175 em conjunto consigam modular o Microbioma intestinal do indivíduo através de mediadores, tais como neurotransmissores (Dopamina, adrenalina, acetilcolina, GABA, serotonina, glutamato), inervação vagal, hormônios (cortisol, insulina), citocinas e quimiocinas (IL-1, IL-6, TNF- α , IL-8 e IL-12) (Kowalski & Mulak, 2019; Cryan et al., 2019; Megur et al., 2020; Hemarajata & Versalovic, 2012; Martin et al., 2018; Fung TC., 2020; Prakash S. et al., 2011). Tal mecanismo teria o intuito

de garantir maior adesão das junções intercelulares presentes no epitélio intestinal e reduzir a permeabilidade às toxinas, como o LPS. Conseqüentemente, a redução do processo de neuroinflamação e estresse oxidativo; que são propulsores da fisiopatologia da DA (agregação de proteína beta amiloide, hiperfosforilação da proteína tau, desregulação glutamatérgica, excitotoxicidade e apoptose neuronal) acarretaria a melhora clínica cognitiva e psíquica (Cryan J. et al., 2019; Megur A. et al., 2020; Luca M. et al., 2019; Kowalski K. & Mulak A., 2019; Alexandrov P. et al., 2019; Mohammadi G. et al, 2019).

Esta hipótese ganha embasamento em estudos científicos como o realizado por Semar e colaboradores (2013) onde a presença de proteína A β em células nervosas presentes no sistema entérico com a conseqüente ativação do sistema imune precede o início da cascata neuroinflamatória no SNC em modelos animais com DA (Semar S. et al., 2013). Além disso, há dois anos Honarpisheh P. et al. (2020) demonstrou o acúmulo de proteína A β no sistema vascular do intestino antes mesmo do surgimento no cérebro em um modelo animal com DA (Honarpisheh P. et al., 2020).

Em relação aos marcadores de estresse oxidativos dosados nos voluntários desta pesquisa, obtivemos diminuições expressivas na oxidação proteica (T0: 17917 \pm 1669 μ mol /mg de proteínas e T60: 116.5 \pm 14.6 μ mol /mg de proteínas, valor de p=0.0002), indicando que a melhora clínica se correlaciona com a redução do estresse oxidativo. Quanto à peroxidação lipídica, os resultados demonstram significativa diminuição apenas para o grupo de pacientes com Demência Leve, classificados como CDR1 (Morris J., 1993), o que sugere uma melhor atuação do probiótico nos níveis de estresse oxidativo em estágios precoces da DA. Tal achado coincide com resultados obtidos por Galbusera C. et al (2004) ao observarem melhora da lipoperoxidação em estágios leves e moderados após uso de vitamina C e E durante três meses em pacientes com DA (Galbusera C. et al., 2004). Dessa forma, a análise de indicadores de estresse oxidativo pode se tornar um apoio clínico e de acompanhamento terapêutico em pacientes com DA (Migliore et al., 2005; Marcoraukis et al., 2018; Chang et al., 2014), uma vez que outras estratégias antioxidantes já são consideradas neuroprotetoras (Naoi et al., 2019; Oliver & Reddy, 2019).

A relevância da inflamação sistêmica na patogênese da DA advém da associação de níveis elevados de cortisol e neurodegeneração (Catania C. et al., 2009). A desregulação emocional e exposição a estressores de forma crônica promove alterações na microbiota intestinal, ativação microglial e o recrutamento de quimiocinas pró-inflamatórias. Não se pode deixar de evidenciar os resultados de Messaoudi M. et al (2010) no estudo em modelos animais e humanos após a suplementação probiótica de *Lactobacillus helveticus* R0052 e *Bifidobacterium longum* R0175 com a redução dos níveis de cortisol livre urinário de 24 horas, mesmo após exposição a eventos estressantes. Nosso estudo corrobora os benefícios deste psicobiótico na redução da inflamação sistêmica em indivíduos com DA.

Outrossim, investigações anteriores evidenciam o papel metabólico principalmente quanto ao perfil glicêmico no início e progressão da DA (Arrieta-Cruz & Gutierrez-Juarez, 2016; Presecki et al., 2011). Sabe-se também que indivíduos com diabetes possuem 2 a 3 vezes mais demência do que indivíduos sem alterações glicêmicas (Kawamura T. et al., 2012), o que coloca esta doença como fator de risco para o desenvolvimento da DA. De igual maneira, métodos efetivos para seu tratamento são capazes de reduzir esta susceptibilidade. Isto vale não somente para mudanças do estilo de vida como atividade física e alimentação saudável, mas também se estende a medicamentos. Antonella Napolitano e colaboradores (2014) aventaram os efeitos pleiotrópicos da Metformina pela sua capacidade de alterar a microbiota intestinal, interromper vias metabólicas disfuncionais e atuar na redução da recirculação de ácidos biliares, o que leva a liberação mais efetiva de hormônios intestinais, como o peptídeo semelhante ao glucagon-1, peptídeo tirosina-tirosina e peptídeo insulínico dependente de glicose (Napolitano A. et al., 2014). Mais do que isso, estudo conseguiu relacionar a ação da metformina também no estresse oxidativo, prevenindo o desencadeamento de vias apoptóticas nas células nervosas (Vardarli I. et al., 2014). A literatura científica prévia valida estes achados pelo fato da disbiose intestinal mediar processos inflamatórios, aumentar a resistência insulínica, causando danos a microvasculatura e propiciando a neurodegeneração (Cani & Delzenne, 2011; Cani et al., 2012; Sridhar et al., 2015). À exemplo, o benefício do uso de uma cápsula probiótica contendo *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* e *Bifidobacterium bifidum* se estendeu à sintomas depressivos,

redução de resistência insulínica e níveis de glutatona (Akkasheh G. et al., 2016).

De fato, o atual ensaio clínico constata que a suplementação probiótico por 60 dias reduziu níveis de insulina, glicemia média estíma e hemoglobina glicada de indivíduos com DA. Semelhantemente, a ingesta de *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Bifidobacterium bifidum* e *Lactobacillus fermentum* por 12 semanas gerou melhora da resistência insulínica e funções da células beta na DA (Akbari E. et al., 2016).

Este estudo apresentou algumas limitações metodológicas dignas de nota. No ano de sua realização, o mundo foi assolado pela pandemia do Coronavírus, o que reduziu drasticamente o número de voluntários dispostos a realizarem encontros para coleta de dados e exames. Apesar de toda garantia de precaução e medidas sanitárias recomendadas, lidar com os idosos que representam o principal fator de risco para mortalidade pelo Sars-Cov-2 foi um fator importante que justifica o tamanho da amostra obtido, bem como a impossibilidade de realizar o grupo controle com placebo. Além disso, a equipe envolvida no estudo foi responsável pela realização da avaliação cognitiva. No entanto, foi realizado um rodízio de os membros entrevistadores em relação aos voluntários entre o primeiro e segundo dia de intervenção além da realização dos testes cognitivos em ordem aleatória.

Por fim, a inovação presente nesta pesquisa advém da comprovação dos efeitos benéficos da modulação intestinal através da suplementação probiótico com cepa e dosagem pré-determinada em relação às funções cognitivas e sintomas psiquiátricos que foram acompanhados da redução do estresse oxidativo, da inflamação sistêmica, bem como da melhora de perfil glicêmico em indivíduos com DA.

7. CONCLUSÃO

O estudo atual demonstrou que o uso de uma formulação probiótica em cápsula contendo *Lactobacillus helveticus* R0052 (3×10^9 UFC) e *Bifidobacterium longum* R0175 (3×10^8 UFC) por 60 dias consecutivos em pacientes com DA causou benefícios no desempenho cognitivo no que tange aos subdomínios memória imediata, funções executivas, construtivas e de linguagem, habilidades visuoespaciais, capacidade de abstração e de atenção. Destaca-se também a redução em 33% na gravidade dos sintomas psiquiátricos na percepção do paciente avaliados através do Inventário Neuropsiquiátrico que avalia treze manifestações comportamentais da DA, tais como: delírio, agitação, depressão, ansiedade, euforia, apatia, irritabilidade, distúrbios motores, apetite, despertar noturno, roncos, apneia e sonolência diurna. De igual importância, o desgaste do cuidador ao lidar com tais sintomas diminuiu em torno de em 26% após uso do probiótico pelo paciente.

No que tange aos marcadores inflamatórios, endócrinos e de estresse oxidativo; observa-se uma expressiva recuperação nos níveis de oxidação proteica com melhora em mais de 90%, um benefício significativo na redução do valor de cortisol sérico em jejum, bem como um relevante avanço no perfil glicêmico em relação a resistência insulínica, Glicemia Média Estimada e Hemoglobina Glicada.

Portanto, constata-se que a modulação intestinal através da suplementação probiótica foi capaz de interferir nos estados inflamatórios sistêmicos, neuroendócrinos disfuncionais bem como no desequilíbrio do estresse oxidativo. Tal achado pode explicar a melhora clínica nos parâmetros cognitivos e psiquiátricos observados nos indivíduos com DA desta amostra.

A grande maioria do arcabouço científico sobre o eixo intestino-cérebro se baseia em estudos pré-clínicos em modelos animais. A inovação presente nesta pesquisa advinda da comprovação dos efeitos benéficos de um probiótico com cepa e dosagem pré-determinada em pacientes com DA reforçam a necessidade de percorrer este caminho fisiopatológico como oportunidade terapêutica modificadora de doença. Por fim, o impacto desta abordagem atingirá não somente a ciência, mas também a saúde pública pela redução dos custos com internações e incapacidades funcionais laborais destes indivíduos além do seio familiar com redução dos sintomas e desgaste do cuidador.

CONFLITO DE INTERESSES:

Os autores revelam não haver conflitos de interesses.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABWENDER, D. A. et al. Análise Qualitativa da Saída de Fluência Verbal: Revisão e Comparação de Vários Métodos de Pontuação. *Avaliação*, v. 8, n. 3, pág. 323–338, conjunto. 2001.

AKBARI, E.; ASEMI, Z.; DANESHVAR R. 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 Neurosci*, v. 8, n. 256, 2016.

AKBARI, E. 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* vol. 8 256. 10 Nov. 2016, doi:10.3389/fnagi.2016.00256.

AKKASHEH, G. et al. “Clinical and metabolic response to probiotic administration in patients with major depressive disorder: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial.” *Nutrition (Burbank, Los Angeles County, Calif.)* vol. 32,3 (2016): 315-20. doi:10.1016/j.nut.2015.09.003.

ALEXANDROV, P.; Zhai Y.; Li W.; Lukiw W. Comunicação molecular-genética mediada por NF- κ B, miRNA-146a e miRNA-155 mediada por lipopolissacarídeo entre o microbioma do trato gastrointestinal humano e o cérebro. *Folia Neuropathol.* 2019; 57 :211–219. doi: 10.5114/fn.2019.88449.

ALKASIR R.; Li J.; Li X.; Jin M.; Zhu B. Microbiota intestinal humana: as ligações com o desenvolvimento da demência. *Célula De Proteína.* (2017) 8 :90–102. 10.1007/s13238-016-0338-6.

ALLEN A. P.; HUTCH W.; BORRE Y.; KENNEDY P., TEMKO A.; BOYLAN G et al. *Bifidobacterium longum* 1714 como psicobiótico translacional: modulação do estresse, eletrofisiologia e neurocognição em voluntários saudáveis. *Transl Psiquiatria.* (2016) 6 :e939. 10.1038/tp.2016.191.

AMARAL I.; NOGUEIRA M., FERREIRA F. Entre neurônios e sinapses: as contribuições de Cajal e Athias para a medicina ibérica entre os séculos XIX e XX [Between neurons and synapses: the contributions of Cajal and Athias to Iberian medicine between the nineteenth and twentieth centuries]. *Hist Cienc Saude Manguinhos.* 2017 Jan-Mar;24(1):187-199. Portuguese. doi: 10.1590/S0104-

59702016005000029. Epub 2016 Nov 16. PMID: 27849218.

ARRIETA-CRUZ I.; Gutierrez-Juarez R. (2016). O papel da resistência à insulina e da desregulação do metabolismo da glicose no desenvolvimento da doença de Alzheimer. *Rev. Invest. Clin.* 68 , 53-58.

ASSAL, F. History of dementia. *Front Neurol Neurosci*, v. 44, p. 118-26, 2019.

AYIS S.; GOOBERMAN-HILL R.; EBRAHIM S. Long-standing and limiting long-standing illness in older people: associations with chronic diseases, psychosocial and environmental factors. *Age Ageing*. 2003 May;32(3):265-72. doi: 10.1093/ageing/32.3.265.

BAJ A.; MORO E.; BISTOLETTI M.; ORLANDI V.; CREMA F.; GIARONI C. Sinalização glutamatérgica ao longo do eixo microbiota-intestino-cérebro. *Int J Mol Sci.* (2019) 20 :1482. 10.3390/ijms20061482.

BALESTRIERI J. et al. "Structural Volume of Hippocampus and Alzheimer's Disease." *Revista da Associação Médica Brasileira* (1992) vol. 66,4 (2020): 512-515. doi:10.1590/1806-9282.66.4.512

BALEZ R; OOI L. Getting to NO Alzheimer's Disease: Neuroprotection versus Neurotoxicity Mediated by Nitric Oxide. *Oxid Med Cell Longev*. 2016;2016:3806157. doi: 10.1155/2016/3806157.

BALLENGER J. (2010) Progresso na história da doença de Alzheimer: a importância do contexto. *J Alzheimers Dis* 9(3 Supl):5–13.

BARBOZA K.; COCO L.; ALVES G. M. et al. Gastroprotective effect of oral kefir on indomethacin-induced acute gastric lesions in mice: impact on oxidative stress. *Life Sciences*, v. 209, p. 370-76, 2018.

BARNETT, R. Alzheimer's disease. *Lancet*, V. 393, 2019.

BARRETT E.; ROSS RP.; O'TOOLE PW.; FITZGERALD GF.; STANTON C. Produção de ácido γ -aminobutírico por bactérias cultiváveis do intestino humano. *J Appl Microbiol.* (2012) 113 :411–7. 10.1111/j.1365-2672.2012.05344.x

BELUCHE I.; CARRIÈRE I.; RITCHIE K. et al. Um estudo prospectivo de cortisol diurno e função cognitiva em idosos residentes na comunidade . *Psychol Med* 2010; 40 :1039–49. 10.1017/S0033291709991103.

BENJAMIN, S. et al. "Six Landmark Case Reports Essential for Neuropsychiatric

Literacy.” *The Journal of neuropsychiatry and clinical neurosciences* vol. 30,4 (2018): 279-290. doi:10.1176/appi.neuropsych.18020027.

BENZI G.; MORETTI A. Are reactive oxygen species involved in Alzheimer's disease? *Neurobiol Aging*. 1995 Jul-Aug;16(4):661-74. doi: 10.1016/0197-4580(95)00066-n.

BERG, L. “Clinical Dementia Rating (CDR).” *Psychopharmacology bulletin* vol. 24,4 (1988): 637-9.

BERTOLUCCI P.H.F.; BRUCKI S.M.D.; CAMPACCI S.R.; JULIANO Y. O minixame do estado mental em uma população geral. Impacto da escolaridade. *Arq Neuropsiquiatr* 1994; 52(1):1-7.

BISHT K.; SHARMA K.; TREMBLAY MÈ. Estresse crônico como fator de risco para a doença de Alzheimer: papéis da remodelação sináptica mediada pela microglia, inflamação e estresse oxidativo . *Neurobiol Estresse*. (2018) 9 :9–21. 10.1016/j.ynstr.2018.05.003.

BONAZ B.; SINNIGER V.; PELLISSIER S. O nervo vago no eixo neuroimune: implicações na patologia do trato gastrointestinal . *Front Immunol*. (2017) 8 :1452. 10.3389/fimmu.2017.01452.

BONDI, M. W.; EDMONS, E. C.; SALMON, D. P. Alzheimer's disease: past, present, and future. *J Int Neuropsychol Soc*, v. 23, p. 818-31, 2017.

BOSTANCIKLIOĞLU M. Uma atualização sobre as interações entre a doença de Alzheimer, autofagia e inflamação. *Gene*. 15 de julho de 2019; 705: 157-166. doi: 10.1016 / j.gene.2019.04.040.

BRANISTE V.; AL-ASMAKH M.; KOWAL C.; ANUAR F.; ABBASPOUR A.; TÓTH M. et al. A microbiota intestinal influencia a permeabilidade da barreira hematoencefálica em camundongos. *Sci Transl Med*. (2014)6:263ra158. 10.1126/scitranslmed.3009759.

BREMENKAMP, M. G. et al. Sintomas neuropsiquiátricos na doença de Alzheimer: frequência, coordenação e ansiedade do cuidador. *Revista Brasileira de Geriatria e Gerontologia*, v. 17, n. 4, pág. 763–773, dez. 2014.

BUROKAS A, ARBOLEYA S, MOLONEY RD, et al. Targeting the Microbiota-Gut-Brain Axis: Prebiotics Have Anxiolytic and Antidepressant-like Effects and Reverse the Impact of Chronic Stress in Mice. *Biol Psychiatry*. 2017;82(7):472-487. doi:10.1016/j.biopsych.2016.12.031

BUROKAS A, MOLONEY RD, DINAN TG, CRYAN JF. Microbiota regulation of the Mammalian gut-brain axis. *Adv Appl Microbiol.* 2015;91:1-62. doi: 10.1016/bs.aambs.2015.02.001.

BYNUM J. Características, custos e uso de serviços de saúde para beneficiários do Medicare com diagnóstico de demência: Relatório 1: Pesquisa atual de beneficiários do Medicare. Não publicado; fornecido sob contrato com a Alzheimer's Association. Lebanon, NH: Dartmouth Institute for Health Policy and Clinical Care, Center for Health Policy Research, janeiro de 2009.

CAFFINO L, MOTTARLINI F, FUMAGALLI F. Nascido para proteger: alavancando o BDNF contra o déficit cognitivo na doença de Alzheimer . *Drogas do SNC.* (2020) 34 :281–97. 10.1007/s40263-020-00705-9.

CAMOZZATO A.L.; KOCHHANN R.; et al. Confiabilidade da versão em português do Brasil do Inventário Neuropsiquiátrico (NPI) para pacientes com doença de Alzheimer e seus cuidadores. *Int Psychogeriatr.* 2008 abr;20(2):383-93. doi: 10.1017/S1041610207006254.

CANI PD, DELZENNE NM (2011) O microbioma intestinal como alvo terapêutico. *Pharmacol. Ther*130: 202212

CANI PD, OSTO M, GEURTS L, EVERARD A (2012) Envolvimento da microbiota intestinal no desenvolvimento de inflamação de baixo grau e diabetes tipo 2 associados à obesidade. *Gut Microbes*3: 279288.

CARLOMAGNO, S. et al. Comunicação referencial na demência do tipo Alzheimer. *Córtex*, v. 41, n. 4, pág. 520–534, 2005.

CASELLI RJ, BEACH TG, KNOPMAN DS, GRAFF-RADFORD NR (2017) Doença de Alzheimer: avanços científicos e desafios translacionais. *Mayo Clin Proc* 92(6):978–994. <https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2017.02.011>.

CASTELLANI, R.J. et al. “The amyloid cascade and Alzheimer's disease therapeutics: theory versus observation.” *Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology* vol. 99,7 (2019): 958-970. doi:10.1038/s41374-019-0231-z

CATANIA C, SOTIROPOULOS I, SILVA R, ONOFRI C, BREEN KC, SOUSA N, ALMEIDA OFX. O potencial amiloidogênico e correlatos comportamentais do estresse. *Mol Psiquiatria.* 2009; 14 :95–105. doi: 10.1038/sj.mp.4002101.

- CATTANEO A, CATTANE N, GALLUZZI S, PROVASI S, LOPIZZO N, FESTARI C, et al.. Associação de amiloidose cerebral com taxa bacteriana intestinal pró-inflamatória e marcadores de inflamação periférica em idosos com deficiência cognitiva . *Envelhecimento Neurobiol.* (2017) 49 :60–8. 10.1016/j.neurobiolaging.2016.08.019
- CERDÓ T, DIÉGUEZ E, CAMPOY C. Impacto da microbiota intestinal na neurogênese e doenças neurológicas durante a infância . *Curr Opin Pharmacol.* (2020) 50 :33–7. 10.1016/j.coph.2019.11.006.
- CHANG CH, LIN CH, LANE HY. d-glutamato e microbiota intestinal na doença de Alzheimer . *Int J Mol Sci.* (2020) 21 :2676. 10.3390/ijms21082676.
- CHANG, Y. T.; CHANG, W. N.; TSAI, N. W. et al. The roles of biomarkers of oxidative stress and antioxidant in Alzheimer's disease: a systematic review. *BioMed Research International*, doi: 10.1155/2014/182303, 2014.
- CHARLES ST, MOGLE J, PIAZZA JR, et al.. Indo a distância: a variação diurna do cortisol e sua associação com o funcionamento cognitivo e fisiológico . *Psiconeuroendocrinologia* 2020; 112 :104516. 10.1016/j.psyneuen.2019.104516.
- CHENE G, BEISER A, AU R, et al. Sexo e incidência de demência no Framingham Heart Study a partir da meia-idade. *Alzheimers Dement* 2015;11(3):310-20.
- CHENG ST, MAK EP, LAU RW, NG NS, LAM LC. Voices of Alzheimer Caregivers on Positive Aspects of Caregiving. *Gerontologist.* 2016 Jun;56(3):451-60. doi: 10.1093/geront/gnu118.
- CHRISTENSEN K, DOBLHAMMER G, RAU R, VAUPEL JW. Ageing populations: the challenges ahead. *Lancet.* 2009 Oct 3;374(9696):1196-208. doi: 10.1016/S0140-6736(09)61460-4.
- CHRISTENSEN K, DOBLHAMMER G, RAU R, VAUPEL JW. Ageing populations: the challenges ahead. *Lancet.* 2009 Oct 3;374(9696):1196-208. doi: 10.1016/S0140-6736(09)61460-4.
- CLARKE G , GRENHAM S, SCULLY P, FITZGERALD P, MOLONEY RD, SHANAHAN F, et al . *Mol Psiquiatria* . (2013) 18 :666–73. 10.1038/mp.2012.7
- CLEARY, J. P. et al. "Natural oligomers of the amyloid-beta protein specifically disrupt
- COLLINS AE, SALEH TM, KALISCH BE. Terapia antioxidante natural na doença de alzheimer . *Antioxidantes.* (2022) 11 :213. 10.3390/antiox11020213

COOLS R, ROBERTS AC, ROBBINS TW. Regulação serotoninérgica dos processos de controle emocional e comportamental. *Tendências Cogn Sci.* (2008) 12 :31–40. 10.1016/j.tics.2007.10.011.

COOPER, H. A.; SCALIA, R.; RIZZO, V.; EGUCHI, S. Angiotensin II- and Alzheimer-type cardiovascular aging. *Circ Res*, v. 123, n. 6, p. 651-53, 2018.

COSTEA PI, HILDEBRAND F, ARUMUGAM M, BÄCKHED F, BLASER MJ, BUSHMAN FD, et al.. Enterotipos na paisagem da composição da comunidade microbiana intestinal . *Nat Microbiol.* (2018) 3 :8–16. 10.1038/s41564-017-0072-8.

CRYAN, J.F. et al. “The Microbiota-Gut-Brain Axis.” *Physiological reviews* vol. 99,4 (2019): 1877-2013. doi:10.1152/physrev.00018.2018.

CUMMINGS J. et al. Canal de desenvolvimento de medicamentos para a doença de Alzheimer: 2022. *Alzheimers Dement (N Y)*. 4 de maio de 2022;8(1):e12295. doi: 10.1002/trc2.12295. PMID: 35516416; PMCID: PMC9066743.

CUMMINGS JL, MEGA M, GRAY K, ROSENBERG-THOMPSON S, CARUSI DA, GORNBEIN J. O Inventário Neuropsiquiátrico: avaliação abrangente da psicopatologia na tábua. *Neurologia*. 1994 dez;44(12):2308-14. doi: 10.1212/wnl.44.12.2308.

D'AMELIO M, NISTICÒ R. Desvendando os segredos da dopamina na doença de Alzheimer . *Pharmacol Res.* (2018) 128 :399. 10.1016/j.phrs.2017.06.018.

DE CARLOS JA, BORRELL J. A historical reflection of the contributions of Cajal and Golgi to the foundations of neuroscience. *Brain Res Rev.* 2007 Aug;55(1):8-16. doi: 10.1016/j.brainresrev.2007.03.010. Epub 2007 Apr 5. PMID: 17490748.

Departamento de Saúde e Serviços Humanos dos EUA, Centros de Controle e Prevenção de Doenças, Centro Nacional de Estatísticas de Saúde. Banco de dados online do CDC WONDER: Sobre a causa subjacente da morte, 1999-2019. Disponível em: <https://wonder.cdc.gov/ucd-icd10.html> . Acessado em 10 de janeiro de 2023.

DOODY, R. Desenvolvendo tratamentos modificadores da doença na doença de Alzheimer: uma perspectiva da Roche e da Genentech. *J Prev Alzheimers Dis*, v. 4, n. 4, pág. 264-72,2017.

DUBOIS, B. et al. “Preclinical Alzheimer's disease: Definition, natural history, and diagnostic criteria.” *Alzheimer's & dementia : the journal of the Alzheimer's Association* vol. 12,3 (2016): 292-323. doi:10.1016/j.jalz.2016.02.002

DUMIC I, NORDIN T, JECMENICA M, STOJKOVIC LALOSEVIC M, MILOSAVLJEVIC T, MILOVANOVIC T. Distúrbios do trato gastrointestinal na velhice . *Can J Gastroenterol Hepatol.* (2019) 2019 : 6757524. 10.1155/2019/6757524.

EMGE JR, HUYNH K, MILLER EN, KAUR M, REARDON C, BARRETT KE, et al.. Modulação do eixo microbiota-intestino-cérebro por probióticos em um modelo murino de doença inflamatória intestinal . *Am J Physiol Gastrointestinal Fígado Physiol.* (2016) 310 :G989–98. 10.1152/ajpgi.00086.2016.

FARZI A, FRÖHLICH EE, HOLZER P. Microbiota intestinal e o sistema neuroendócrino . *Neuroterapêutica.* (2018) 15 :5–22. 10.1007/s13311-017-0600-5

FERRETTI C, SARTI FM, NITRINI R, FERREIRA FF, BRUCKI SMD. An assessment of direct and indirect costs of dementia in Brazil. *PLoS One.* 2018 Mar 1;13(3):e0193209. doi: 10.1371/journal.pone.0193209.

FOSTER JA, LYTE M, MEYER E, CRYAN JF. Microbiota intestinal e função cerebral: um campo em evolução na neurociência . *Int J Neuropsicofarmacol.* (2016) 19 :pyv114. 10.1093/ijnp/pyv114.

FRIEDLAND RP, CHAPMAN MR. O papel do amiloide microbiano na neurodegeneração . *Pato PLoS.* (2017) 13 :e1006654. 10.1371/journal.ppat.1006654

FUMAGALLI F, RACAGNI G, RIVA MA. O papel crescente do BDNF: um alvo terapêutico para a doença de Alzheimer? *Pharmacogenom J.* (2006) 6 :8–15. 10.1038/sj.tpj.6500337

FUNG TC. O eixo microbiota-imune como mediador central da comunicação intestino-cérebro . *Neurobiol Dis.* (2020) 136 :104714. 10.1016/j.nbd.2019.104714.

GAGE TB. Are modern environments really bad for us?: revisiting the demographic and epidemiologic transitions. *Am J Phys Anthropol.* 2005;Suppl 41:96-117. doi: 10.1002/ajpa.20353. PMID: 16369962.

GALBUSERA, C. et al. "Increased susceptibility to plasma lipid peroxidation in Alzheimer disease patients." *Current Alzheimer research* vol. 1,2 (2004): 103-9. doi:10.2174/1567205043332171.

GALLEY JD, BAILEY MT. Impacto da exposição ao estressor na interação entre a microbiota comensal e a inflamação do hospedeiro . *Micróbios Intestinais.* (2014) 5 :390–6. 10.4161/gmic.28683

- GEBRAYEL P, NICCO C, AL KHODOR S, BILINSKI J, CASELLI E, COMELLI EM, et al.. Medicina da microbiota: rumo à revolução clínica . J Transl Med. (2022) 20 :111. 10.1186/s12967-022-03296-9.
- GERLACH, L.B.; KALES, H. C. Gerenciando sintomas comportamentais e psicológicos da demência. Clínicas Psiquiátricas da América do Norte, v. 41, n. 1, pág. 127–139, mar. 2018.
- GRØNTVEDT, GØRIL ROLFSENG et al. “Alzheimer's disease.” Current biology : CB vol. 28,11 (2018): R645-R649. doi:10.1016/j.cub.2018.04.080.
- HEMARAJATA, P; VERSALOVIC, J. Effects of probiotics on gut microbiota: Mechanisms of intestinal immunomodulation and neuromodulation. Therapeutic Advances in Gastroenterology, v. 6, n. 1, 2012.
- HERRUP K (2015) O caso para rejeitar a hipótese da cascata amilóide. Nat Neurosci 18(6):794–799. <https://doi.org/10.1038/nn.4017>.
- HIDALGO V, ALMELA M , PULOPULOS MM, et al . Psiconeuroendocrinologia 2016; 71 :136–46. 10.1016/j.psyneuen.2016.05.019
- HIPPIUS, HANNS, AND GABRIELE NEUNDÖRFER. “The discovery of Alzheimer's disease.” Dialogues in clinical neuroscience vol. 5,1 (2003): 101-8. doi:10.31887/DCNS.2003.5.1/hhippius.
- HONARPISHEH P., REYNOLDS C.R., BLASCO CONESA M.P. et al (2020) Homeostase intestinal desregulada observada antes do acúmulo do cérebro amilóide- β em camundongos Tg2576. Int J Mol Sci 21. 10.3390/ijms21051711.
- HU X, WANG T, JIN F. Doença de Alzheimer e microbiota intestinal . Ciência China Vida Ciência. (2016) 59 :1006–23. 10.1007/s11427-016-5083-9
- HURD MD, MARTORELL P, DELAVANDE A, MULLEN KJ, LANGA KM. Monetary costs of dementia in the United States. N Engl J Med. 2013 Apr 4;368(14):1326-34. doi: 10.1056/NEJMsa1204629.
- HYND MR, SCOTT HL, DODD PR. Excitotoxicidade mediada por glutamato e neurodegeneração na doença de Alzheimer . Neurochem Int. (2004) 45 :583–95. 10.1016/j.neuint.2004.03.007.
- JACK CR JR, LOWE VJ, WEIGAND SD, WISTE HJ. et al. Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. Serial PIB and MRI in normal, mild cognitive impairment and

Alzheimer's disease: implications for sequence of pathological events in Alzheimer's disease. *Brain*. 2009 May;132(Pt 5):1355-65. doi: 10.1093/brain/awp062.

JACOBSON L. Eixo hipotálamo-hipófise-adrenal: aspectos neuropsiquiátricos . *Compr Physiol* . (2014) 4 :715–38. 10.1002/cphy.c130036

KALES, H.C.; GITLIN, L. N.; LYKETSOS, C. G. Avaliação e manejo dos sintomas comportamentais e psicológicos da dieta. *BMJ*, v. 350, n. mar02 7, pág. h369–h369, 2 mar. 2015. LARSON, E. B.; KUKULL, W. A.; KATZMAN, R. L. Comprometimento Cognitivo: Demência e Doença de Alzheimer. *Revisão Anual de Saúde Pública*, v. 13, n. 1, pág. 431–449, maio de 1992.

KAMAT, P. K.; KALANI, A.; RAJ, S. et al. Mechanism of oxidative stress and synapse dysfunction in the pathogenesis of Alzheimer's disease: understanding the therapeutics strategies. *Mol Neurobiol*, v. 53, n. 1, 2016.

KAUFER DI, CUMMINGS JL, KETCHEL P. et al. Validação do NPI-Q, uma forma clínica resumida do Inventário Neuropsiquiátrico. *J Neuropsiquiatria Clin Neurosci*. Primavera de 2000;12(2):233-9. doi: 10.1176/jnp.12.2.233. PMID: 11001602.

KAWAMURA T, UMEMURA T, HOTTA N. Comprometimento cognitivo em pacientes diabéticos: o controle diabético pode prevenir o declínio cognitivo? *J Diabetes Investigag*. 2012; 3 :413–423.

KAZAKOU P, NICOLAIDES NC, CHROUSOS GP. Conceitos básicos e reguladores hormonais do sistema de estresse . *Horm Res Paediatr*. (2022) 4 :715–38. 10.1159/000523975

KEHOE, P. G. The coming of age of the angiotensin hypothesis in Alzheimer's disease: progress toward disease prevention and treatment? *J Alzheimers Dis*, v. 62, n. 3, 2018.

Kelley AS, McGarry K, Gorges R, Skinner JS. O peso dos custos de cuidados de saúde para pacientes com demência nos últimos 5 anos de vida. *Ann Intern Med* 2015;163:729-

KELLY JR, KENNEDY PJ, CRYAN JF, DINAN TG, CLARKE G, HYLAND NP. Quebrando as barreiras: o microbioma intestinal, a permeabilidade intestinal e os transtornos psiquiátricos relacionados ao estresse. *Front Cell Neurosci*. (2015) 9 :392. 10.3389/fncel.2015.00392

KENNEDY PJ, CRYAN JF, QUIGLEY EM, DINAN TG, CLARKE G. Uma resposta

sustentada do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal ao estresse psicossocial agudo na síndrome do intestino irritável . *Psicol Med.* (2014) 44 :3123–34. 10.1017/S003329171400052X

KESIKA P, SUGANTHY N, SIVAMARUTHI BS, CHAIYASUT C. Papel do eixo intestino-cérebro, composição microbiana intestinal e intervenção probiótica na doença de Alzheimer. *Ciência da Vida.* (2021) 264 :118627. 10.1016/j.lfs.2020.118627.

KILLIN, L. et al. “Environmental risk factors for dementia: a systematic review.” *BMC geriatrics* vol. 16,1 175. 12 Oct. 2016, doi:10.1186/s12877-016-0342-y.

KIM MS, KIM Y, CHOI H, KIM W, PARK S, LEE D, et al.. A transferência de uma microbiota saudável reduz a amiloide e a patologia tau em um modelo animal de doença de Alzheimer . *Intestino.* (2020) 69 :283–94. 10.1136/gutjnl-2018-317431

KIRK D. Demographic transition theory. *Popul Stud (Camb).* 1996 Nov;50(3):361-87. doi: 10.1080/0032472031000149536.

KNOPMAN, D. S.; DEKOSKY, S. T.; CUMMINGS, J. L. et al. Practice parameter: diagnosis of dementia (an evidence-based review). Report of the Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology*, V. 56, N. 9, 2001.

KNOPMAN, D. S.; DEKOSKY, S. T.; CUMMINGS, J. L. et al. Practice parameter: diagnosis of dementia (an evidence-based review). Report of the Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology*, V. 56, N. 9,2001.

Kobayashi, Y 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* vol. 6,1 (2019): 70-75. doi:10.14283/jpad.2018.32.

KOWALSKI, K.; MULAK, A. Brain-gut-microbiota axis in Alzheimer’s disease. *Journal of Neurogastroenterology and Motility*, v. 25, n.1, 2019.

LANCU, IULIAN, AND AHIKAM OLMER. *Harefuah* vol. 145,9 (2006): 687-90, 701.

LARSON EB, KUKULL WA, KATZMAN RL. Cognitive impairment: dementia and Alzheimer's disease. *Annu Rev Public Health.* 1992;13:431-49. doi: 10.1146/annurev.pu.13.050192.002243. PMID: 1599598.

LARSON EB, KUKULL WA, KATZMAN RL. Cognitive impairment: dementia and

Alzheimer's disease. *Annu Rev Public Health*. 1992; 13:431-49. doi: 10.1146/annurev.pu.13.050192.002243. PMID: 1599598.

LEGAN TB, LAVOIE B, MAWE GM. Mecanismos diretos e indiretos pelos quais a microbiota intestinal influencia os sistemas de serotonina do hospedeiro. *Neurogastroenterol Motil*. (2022) 18 :666–73. 10.1111/nmo.1434.

LEITE, K. S. B. et al. Boston Naming Test (BNT) original, versão brasileira adaptada e formas curtas: dados normativos para idosos analfabetos e de baixa escolaridade. *Psicogeriatría Internacional*, v. 29, n. 5, pág. 825–833, 23 nov. 2016.

LIU, Z.; LI T.; LI, P. et al. The ambiguous relationship of oxidative stress, tau hyperphosphorylation, and autophagy dysfunction in Alzheimer's disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, doi: 10.1155/2015/352723, 2015.

LIVINGSTON, G. et al. "Dementia prevention, intervention, and care." *Lancet (London, England)* vol. 390,10113 (2017): 2673-2734. doi:10.1016/S0140-6736(17)31363-6).

LLINÀS-REGLÀ, J. et al. O Teste de Fazer Trilhas. *Avaliação*, v. 24, n. 2, pág. 183–196, 28 jul. 2016.

LUCA, M. et al. "Gut Microbiota in Alzheimer's Disease, Depression, and Type 2 Diabetes Mellitus: The Role of Oxidative Stress." *Oxidative medicine and cellular longevity* vol. 2019 4730539. 17 Apr. 2019, doi:10.1155/2019/4730539.

LUCAS WJ. Bacteroides fragilis lipopolissacarídeo e sinalização inflamatória na doença de Alzheimer. *Microbiol frontal*. (2016) 7 :1544. 10.3389/fmicb.2016.01544.

LYON, LOUISA. "All disease begins in the gut": was Hippocrates right?." *Brain : a journal of neurology* vol. 141,3 (2018): e20. doi:10.1093/brain/awy017

MANTON KG. The global impact of noncommunicable diseases: estimates and projections. *World Health Stat Q*. 1988;41(3-4):255-66

MARCOURAKIS, T.; CAMARINI, R.; KAWAMOTO, E. M. Peripheral biomarkers of oxidative stress in aging and Alzheimer's disease. *Dementia & Neuropsychologia*, v. 2, n.1, 2008.

MARFANY, A.; SIERRA, C.; CAMAFORT, M; DOMÉNECH, M.; COCA, A. Highblood pressure, Alzheimer disease and antihypertensive treatment. *Panminerva Med*, v. 60, n. 1, 2018.

MARIN MF, LORD C, ANDREWS J, et al.. Estresse crônico, funcionamento cognitivo

e saúde mental . Neurobiol Aprenda Mem. (2011) 96 :583–95. 10.1016/j.nlm.2011.02.016.

MARTIN, C. R.; OSADCHIY, V.; KALANI, A. et al. The brain-gut-microbiome axis. Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology, v. 6, n. 2, 2018.

MARTIN, LEE J. "Mitochondrial and Cell Death Mechanisms in Neurodegenerative Diseases." Pharmaceuticals (Basileia, Suíça) vol. 3,4 (2010): 839-915. doi:10.3390/ph3040839.

MARTINS, R. N.; VILLEMAGNE, V.; SOHRABI, H. R.; et al. Alzheimer's disease: a journey from amyloid peptides and oxidative stress, to biomarker technologies and disease prevention strategies-gains from AIBL and DIAN cohort studies. J Alzheimers Dis, v. 62, n. 3, p. 965–992, 2018.

MARTORANA A, KOCH G. A dopamina está envolvida na doença de Alzheimer? Front Aging Neurosci . (2014) 6 :252. 10.3389/fnagi.2014.00252

MARTORANA A, STEFANI A, PALMIERI MG, et al.. L-dopa modula a excitabilidade do córtex motor em pacientes com doença de Alzheimer . J Neural Transm. (2008) 115 :1313–9. 10.1007/s00702-008-0082-z

MCKHANN GM, KNOPMAN DS, CHERTKOW H., et al. O diagnóstico de demência devido à doença de Alzheimer: recomendações dos grupos de trabalho da National Institute on Aging-Alzheimer's Association sobre diretrizes de diagnóstico para a doença de Alzheimer. Alzheimer e Demência. 2011; 7 (3):263–269. doi: 10.1016/j.jalz.2011.03.005.

MEGUR, A. et al. “The Microbiota-Gut-Brain Axis and Alzheimer's Disease: Neuroinflammation Is to Blame?.” Nutrients vol. 13,1 37. 24 Dec. 2020, doi:10.3390/nu13010037.

MESSAOUDI, M. et al. “Avaliação das propriedades do tipo psicotrópico de uma formulação probiótica (*Lactobacillus helveticus* R0052 e *Bifidobacterium longum* R0175) em ratos e seres humanos.” O jornal britânico de nutrição vol. 105,5 (2011): 755-64. doi:10.1017/S0007114510004319.

MESSAOUDI M, VIOLLE N, BISSON JF, et al. Beneficial psychological effects of a probiotic formulation (*Lactobacillus helveticus* R0052 and *Bifidobacterium longum* R0175) in healthy human volunteers. Gut Microbes. 2011;2(4):256-261. doi:10.4161/gmic.2.4.16108

MIGLIORE, L.; FONTANA, I.; TRIPPI F. et al. Oxidative DNA damage in peripheral leukocytes of mild cognitive impairment and AD patients. *Neurobiology of Aging*, v. 26, n. 5, 2005.

MIKULSKA J.; JUSZCZYK G.; GAWROŃSKA-GRZYWACZ M.; HERBET M. HPA Eixo no patomecanismo da depressão e esquizofrenia: novas estratégias terapêuticas baseadas em sua participação . *Ciência do cérebro*. (2021) 11 :1298. 10.3390/brainsci11101298.

MOHAMMADI, G. et al. “The Effects of Probiotic Formulation Pretreatment (*Lactobacillus helveticus* R0052 and *Bifidobacterium longum* R0175) on a Lipopolysaccharide Rat Model.” *Journal of the American College of Nutrition* vol. 38,3 (2019): 209-217. doi:10.1080/07315724.2018.1487346.

MORRIS, J C. “The Clinical Dementia Rating (CDR): versão atual e regras de pontuação.” *Neurologia* vol. 43,11 (1993): 2412-4. doi:10.1212/wnl.43.11.2412-a

MORRIS, J. A. Optimise the microbial flora with milk and yoghurt to prevent disease.

MOSS C, HUNTER S. Charles Scott Sherrington's origins. *J Med Biogr*. 2020 Feb;28(1):3-7. doi: 10.1177/0967772017746271. Epub 2018 Jul 12. PMID: 29998781.

NAKAMURA-PALACIOS E.M.; CALDAS C.K. et al. Déficits de aprendizado espacial e memória de trabalho em ratos espontaneamente hipertensos. *Behav Brain Res*. (1996) 74 :217–27. 10.1016/0166-4328(95)00165-4.

NAOI, M.; WU, Y.; SHAMOTO-NAGAI, M. et al. Mitochondria in neuroprotection by phytochemicals: bioactive polyphenols modulate mitochondrial apoptosis system, function and structure. *International Journal of Molecular Sciences*,v. 2, n. 10, 2019.

NAPOLITANO, A. et al. “Novel gut-based pharmacology of metformin in patients with type 2 diabetes mellitus.” *PloS one* vol. 9,7 e100778. 2 Jul. 2014, doi:10.1371/journal.pone.0100778

NEUFELD KM, KANG N, BIENENSTOCK J, FOSTER JA. Redução do comportamento do tipo ansiedade e alteração neuroquímica central em camundongos livres de germes . *Neurogastroenterol Motil* . (2011) 23 :255–64, e119. 10.1111/j.1365-2982.2010.01620.x.

NI Z, CHEN R. Estimulação magnética transcraniana para entender a fisiopatologia e como tratamento potencial para doenças neurodegenerativas . *Transl Neurodegener*.

(2015) 4:22 . 10.1186/s40035-015-0045-x.

NIGAM SM, XU S, KRITIKOU JS, MAROSI K, BRODIN L, MATTSON MP. O exercício e o BDNF reduzem a produção de A β ao aumentar o processamento da α -secretase de APP . J Neurochem. (2017) 142 :286–96. 10.1111/jnc.14034.

NITRINI, R.; CARAMELLI, P.; BOTTINO, C. M. et al. Diagnóstico de doença de Alzheimer no Brasil: critérios diagnósticos e exames complementares. Recomendações do departamento científico de neurologia cognitiva e do envelhecimento da Academia Brasileira de Neurologia. Arquivos de Neuro-Psiquiatria, v. 63, n. 3, 2005.

NOBILI A, LATAGLIATA EC, VISCOMI MT, CAVALLUCCI V, CUTULI D, GIACOVAZZO G, et al.. A perda neuronal de dopamina contribui para a disfunção da memória e da recompensa em um modelo de doença de Alzheimer . Nat Comun. (2017) 8 :14727. 10.1038/ncomms14727.

OLIVER, D. M. A.; REDDY, P. H. Small molecules as therapeutic drugs for Alzheimer's disease. Molecular and Cellular Neuroscience, v. 96, p. 47-62, 2019.

O'TOOLE, PAUL W, AND IAN B JEFFERY. "Gut microbiota and aging." Science (New York, N.Y.) vol. 350,6265 (2015): 1214-5. doi:10.1126/science.aac8469

PALOMO-BUITRAGO ME, SABATER-MASDEU M, et al..Interações do glutamato com obesidade, resistência à insulina, cognição e composição da microbiota intestinal . Acta Diabetol. (2019) 56 :569–79. 10.1007/s00592-019-01313-w.

PANTEL, J. "Alzheimer-Demenz von Auguste Deter bis heute : Fortschritte, Enttäuschungen und offene Fragen" [Alzheimer's disease from Auguste Deter to the present : Progress, disappointments and open questions]. Zeitschrift fur Gerontologie und Geriatrie vol. 50,7 (2017): 576-587. doi:10.1007/s00391-017-1307-2.

PARONI, G. et al. "Understanding the Amyloid Hypothesis in Alzheimer's Disease." Journal of Alzheimer's disease : JAD vol. 68,2 (2019): 493-510. doi:10.3233/JAD-180802.

PATTERSON E, RYAN PM, WILEY N, et al.Sci Rep. (2019) 9 :16323. 10.1038/s41598-019-51781-x.

PEREIRA T.M.C., CÔCO L.Z., TON A.M.M., et al.. O cenário emergente do eixo intestino-cérebro: as ações terapêuticas do novo ator Kefir contra doenças

neurodegenerativas . Antioxidantes. (2021) 10 :1845. 10.3390/antiox10111845.

PEREZ-MARTINEZ, G.; BAUERL, C.; COLLADO, M. C. Understanding gut Microbiota in elderly's health will enable intervention through probiotics. *Benef Microbes*, v. 5, n. 3, 2014.

PERL, D. "Neuropathology of Alzheimer's disease." *The Mount Sinai journal of medicine*, New York vol. 77,1 (2010): 32-42. doi:10.1002/msj.20157

PHILLIPS, J. and PORTER G. O tratamento da melancolia pelo bacilo do ácido láctico. *Journal of Mental Science* , v. 56, n. 234, pág. 422-430, 1910.4

POPRAC, P. et al. "Targeting Free Radicals in Oxidative Stress-Related Human Diseases." *Trends in pharmacological sciences* vol. 38,7 (2017): 592-607. doi:10.1016/j.tips.2017.04.005.

PRAKASH S, RODES L, COUSSA-CHARLEY M, TOMARO-DUCHESNEAU C. Gut microbiota: next frontier in understanding human health and development of biotherapeutics. *Biologics*. 2011;5:71-86. doi: 10.2147/BTT.S19099. Epub 2011 Jul 11.

PRATICÒ D, CLARK CM, LIUN F, ROKACH J, LEE VY, TROJANOWSKI JQ. Aumento do estresse oxidativo cerebral no comprometimento cognitivo leve: um possível preditor da doença de Alzheimer. *Arch Neurol*. 2002; 59 :972–976.

PRATICÒ D. Oxidative stress hypothesis in Alzheimer's disease: a reappraisal. *Trends Pharmacol Sci*. 2008 Dec;29(12):609-15. doi: 10.1016/j.tips.2008.09.001.

PRESECKI P., MUCK-SELER D., MIMICA N., et al. (2011). Níveis séricos de lipídios em pacientes com doença de Alzheimer. *Col. Antropol*. 35 (Supl. 1), 115–120.

PRICE JL, MCKEEL DW, JR, BUCKLES VD, ROE CM, XIONG C, et al. Neuropatologia do envelhecimento não demente: evidências presuntivas para a doença de Alzheimer pré-clínica. *Envelhecimento Neurobiol*. 2009; 30 :1026–1036.

PRINCE M, WIMO A, GUERCHET M, ALI GC, WU YT, PRINA M. Relatório Mundial de Alzheimer 2015 – o impacto global da demência: uma análise de prevalência, incidência, custo e tendências. Londres: Alzheimer's Disease International, 2015.

QIN J, LI R, RAES J, ARUMUGAM M, BURGDORF KS, MANICHANH C, et al.. Um catálogo de genes microbianos intestinais humanos estabelecido por sequenciamento metagenômico . *Natureza*. (2010) 464 :59–65. 10.1038/nature08821.

QUEIROZ, SARHA A L et al. "The Gut Microbiota-Brain Axis: A New Frontier on Neuropsychiatric Disorders." *Frontiers in psychiatry* vol. 13 872594. 1 Jun. 2022, doi:10.3389/fpsyt.2022.872594.

RANUH R, ATHIYYAH AF, DARMA A, RISKY VP, RIAWAN W, SURONO IS, et al.. Efeito do probiótico *Lactobacillus plantarum* IS-10506 na estimulação de BDNF e 5HT: papel da microbiota intestinal no eixo intestino-cérebro . *Irã J Microbiol.* (2019) 11 :145–50. [Artigo gratuito do PMC] [PubMed] [Google Scholar]

REDDY, A.P. et al. Efeitos protetores do antidepressivo citalopram contra processamento anormal de APP e dinâmica mitocondrial induzida por beta-amilóide, biogênese, mitofagia e toxicidades sinápticas na doença de Alzheimer. *Genética Molecular Humana*, v. 30, n. 10, pág. 847–864, 22 fev. 2021.

RICHMOND-RAKERD, L.S. et al. Associações longitudinais de transtornos mentais com demência. *JAMA Psychiatry*, v. 79, n. 4, pág. 333, 1 abr. 2022.

SAMPSON, T. R.; MAZMANIAN, K. Control of brain development, function, and behavior by the microbiome. *Cell Host & Microbe*, v. 17, n.5, 2015.

Scarmeas N, Luchsinger JA, Mayeux R, Stern Y. Mediterranean diet and Alzheimer disease mortality. *Neurology*. 2007 Sep 11;69(11):1084-93. doi: 10.1212/01.wnl.0000277320.50685.7c. PMID: 17846408; PMCID: PMC2673956.

SEMAR S, KLOTZ M, LETIEMBRE M, VAN GINNEKEN C, et al. Alterações do sistema nervoso entérico em camundongos transgênicos precursores da proteína β -amilóide correlacionam-se com a progressão da doença. *Doença de Alzheimer J.* 2013; 36 :7–20. doi: 10.3233/jad-120511.

SHELIN, Y. I. et al. Um antidepressivo diminui a produção de CSF A β em indivíduos saudáveis e em camundongos AD transgênicos. *Science Translational Medicine*, v. 6, n. 236, 14 de maio de 2014.

SIRAGUSA S, DE ANGELIS M, DI CAGNO R, RIZZELLO CG, et al. Síntese de ácido gama-aminobutírico por bactérias lácticas isoladas de uma variedade de queijos italianos. *Appl Environ Microbiol.* (2007) 73 :7283–90. 10.1128/AEM.01064-07

SOENEN S, RAYNER CK, JONES KL, HOROWITZ M. O envelhecimento do trato gastrointestinal. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* (2016) 19 :12–8. 10.1097/MCO.0000000000000238.

SOLAS M, PUERTA E, RAMIREZ MJ. Opções de tratamento na doença de Alzheimer: a história do GABA . Curr Pharm Des. (2015) 21 :4960–71. 10.2174/1381612821666150914121149 [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]

SONG, T. et al. "Disfunção mitocondrial, estresse oxidativo, neuroinflamação e alterações metabólicas na progressão da doença de Alzheimer: uma meta-análise de estudos de espectroscopia de ressonância magnética in vivo." Revisões de pesquisa sobre envelhecimento vol. 72 (2021): 101503. doi:10.1016/j.arr.2021.101503.

Sridhar, Gumpeny R et al. "Emerging links between type 2 diabetes and Alzheimer's disease." World journal of diabetes vol. 6,5 (2015): 744-51. doi:10.4239/wjd.v6.i5.744.

STANASZEK PM, SNELL JF, O'NEILL JJ. Isolamento, extração e medição de acetilcolina de *Lactobacillus plantarum* . Appl Environ Microbiol . (1977) 34 :237-9. 10.1128/aem.34.2.237-239.1977

STELLA F, FORLENZA OV, LAKS J, DE ANDRADE LP, et al. A versão brasileira do Neuropsychiatric Inventory-Clinician rating scale (NPI-C): confiabilidade e validação no significado. Int Psychogeriatr. Conjunto de 2013;25(9):1503-11. doi: 10.1017/S1041610213000811.

SU, B.; WANG, X.; NUNOMURA, A. et al. Oxidative stress signaling in Alzheimer's disease. Current Alzheimer Research, v. 5, n. 6, 2008.

SUDO N, CHIDA Y, AIBA Y, SONODA J, OYAMA N, YU XN, et al.. A colonização microbiana pós-natal programa o sistema hipotálamo-hipófise-adrenal para resposta ao estresse em camundongos . J Physiol. (2004) 558 (Pt 1):263–75. 10.1113/jphysiol.2004.063388.

SULEK K. Rok 1932 nagroda dla Edgara Douglasa Adriana i Charlesa Scotta Sherringtona za odkrycia w dziedzinie funkcjonowania neuronów [Nobel prize in 1932 for Edgar Douglas Adrian and Charles Scott Sherrington for discovery in the field of neuron function]. Wiad Lek. 1968 Mar 1;21(5):417-8. Polish. PMID: 4875703.

SUN J, LIU S, LING Z, WANG F, LING Y, GONG T, et al.. Frutooligosacarídeos melhorando déficits cognitivos e neurodegeneração em camundongos transgênicos APP/PS1 através da modulação da microbiota intestinal . J Agric Food Chem. (2019) 67 :3006–17. 10.1021/acs.jafc.8b07313.

SUN J, XU J, LING Y, WANG F, GONG T, YANG C, et al.. O transplante de microbiota fecal aliviou a patogênese semelhante à doença de Alzheimer em camundongos

transgênicos APP/PS1 . *Transl Psiquiatria*. (2019) 9 :189. 10.1038/s41398-019-0525-3.

SZRETER S. Rethinking McKeown: the relationship between public health and social change. *Am J Public Health*. 2002 May;92(5):722-5. doi: 10.2105/ajph.92.5.722.

TALMELLI LF, VALE FA, GRATÃO AC, et al.. Alzheimer's disease: functional decline and stage of dementia. *Acta Paul Enferm*. 2013; 26(3):219-25.

TAUBER, A. I. Metchnikoff and the phagocytosis theory. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, v. 4, n. 11, 2003.

TEIXEIRA AL, SALEM H, MARTINS LB, GONZALES MM, SESHADRI S, SUCHTING R. Fatores associados à apatia na doença de Alzheimer: uma análise transversal do Estudo do Texas Alzheimer's Research and Care Consortium (TARCC) . *Doença de Alzheimer J*. (2022) 86 :403–11. 10.3233/JAD-215314.

TEJADA-VERA B. Mortalidade por doença de Alzheimer nos Estados Unidos: dados de 2000 e 2010. Resumo de dados do Centro Nacional de Estatísticas de Saúde, nº 116. Centro Nacional de Estatísticas de Saúde, Hyattsville, MD; 2013.

TON AMM, ARPINI CM, CAMPAGNARO BP, PEREIRA T, VASQUEZ EC. Doença de Alzheimer: uma breve atualização sobre a influência da microbiota intestinal e o impacto dos alimentos funcionais. *J Food Microbiol*. (2018) 2 :11–5. Disponível online em: <https://www.alliedacademies.org/articles/alzheimers-disease-a-brief-update-on-the-influence-of-gut-microbiota-andthe-impact-of-functional-food.pdf>

TON AMM, CAMPAGNARO BP, ALVES GA, AIRES R, CÔCO LZ, ARPINI CM, et al.. Estresse oxidativo e demência em pacientes com Alzheimer: efeitos da suplementação simbiótica . *Oxid Med Cell Longev*. (2020) 2020 :2638703. 10.1155/2020/2638703.

Ton, A. M. M. et al. "Oxidative Stress and Dementia in Alzheimer's Patients: Effects of Synbiotic Supplementation." *Oxidative medicine and cellular longevity* vol. 2020 2638703. 13 Jan. 2020, doi:10.1155/2020/2638703.

TONNIES, E.; TRUSHINA, E. Oxidative stress, synaptic dysfunction, and Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis*, v. 57, n. 4, p. 1105-1121, 2017.

TORRES-FERNÁNDEZ O. La técnica de impregnación argéntica de Golgi. *Conmemoración del centenario del premio nobel de Medicina (1906) compartido por*

Camillo Golgi y Santiago Ramón y Cajal [The Golgi silver impregnation method: commemorating the centennial of the Nobel Prize in medicine (1906) shared by Camillo Golgi and Santiago Ramón y Cajal]. *Biomedica*. 2006 Dec;26(4):498-508. Spanish. PMID: 17315476.

TRARES, K. et al. "Association of F2-isoprostane levels with Alzheimer's disease in observational studies: A systematic review and meta-analysis." *Ageing research reviews* vol. 74 (2022): 101552. doi:10.1016/j.arr.2021.101552.

TREVISAN, K. et al. "Theories of Aging and the Prevalence of Alzheimer's Disease." *BioMed research international* vol. 2019 9171424. 16 Jun. 2019, doi:10.1155/2019/9171424

TSAVKELOVA EA, BOTVINKO IV, KUDRIN VS, OLESKIN AV. Detecção de aminas neurotransmissoras em microrganismos com o uso de cromatografia líquida de alta eficiência . *Dokl Biochem*. (2000) 372 :115–7.

TUMATI S, HERRMANN N, MAROTTA G, LI A, LANCTÔT KL. Biomarcadores sanguíneos de agitação na doença de Alzheimer: Avanços e perspectivas futuras . *Neurochem Int*. (2022) 152 :105250. 10.1016/j.neuint.2021.105250.

VALENTINI, L.; PINTO, A.; BOURDEL- MARCHASSON, I. et al. Impact of personalized diet and probiotic supplementation on inflammation, nutritional parameters and intestinal microbiota and the "RISTOMED project": randomized controlled trial in healthy older People. *Clinical Nutrition*, v. 34, n. 4, 2013.

VAN DER STEL AX, VAN MOURIK A, ŁANIEWSKI P, et al.. O sistema de dois componentes *Campylobacter jejuni* RacRS ativa a síntese de glutamato pela regulação positiva direta da γ -glutamyltranspeptidase (GGT) . *Microbiol frontal*. (2015) 6 :567. 10.3389/fmicb.2015.00567.

VARATHARAJ A, GALEA I. A barreira hematoencefálica na inflamação sistêmica. *Brain Behav Immun*. (2017) 60 :1–12. 10.1016/j.bbi.2016.03.010

VARDARLI I, ARNDT E, DEACON CF, HOLST JJ, NAUCK MA. Efeitos do tratamento com sitagliptina e metformina no hormônio incretina e nas respostas secretoras de insulina à glicose intravenosa oral e "isoglicêmica". *Diabetes*. 2014; 63 :663–674.

VARGAS, L M et al. "Amyloid- β oligomers synaptotoxicity: The emerging role of EphA4/c-Abl signaling in Alzheimer's disease." *Biochimica et biophysica acta. Molecular basis of disease* vol. 1864,4 Pt A (2018): 1148-1159.

doi:10.1016/j.bbadis.2018.01.023.

VASQUEZ EC, AIRES R, TON AMM, AMORIM FG. New Insights on the Beneficial Effects of the Probiotic Kefir on Vascular Dysfunction in Cardiovascular and Neurodegenerative Diseases. *Curr Pharm Des.* 2020;26(30):3700-3710. doi: 10.2174/1381612826666200304145224.

VASQUEZ, E. C.; PEOTTA, V. A.; MEYRELLES, S. S. Cardiovascular autonomic imbalance and baroreflex dysfunction in the apolipoprotein E-deficient mouse. *Cell Physiol Biochem*, v. 29, p. 635-46, 2012.

VASQUEZ, E. C.; PEREIRA, T. M. C.; PEOTTA, V. A. et al. Probiotics as beneficial dietary supplements to prevent and treat cardiovascular diseases: uncovering their impact on oxidative stress. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, doi: 10.1155/2019/3086270, 2019.

VASQUEZ, E. C.; PEOTTA, V. A.; GAVA, A. L. et al. Cardiac and vascular phenotypes in the apolipoprotein E-deficient mouse. *J Biomed Sci*, v. 19, n. 1, 2012.

VERAS, R. P. et al. Avaliação dos gastos com o cuidado do idoso com proteção. *Arquivos de Psiquiatria Clínica (São Paulo)*, v. 34, p. 5–12, 2007.

VERMEIREN J, VAN DE WIELE T, VERSTRAETE W, BOECKX P, BOON N. Produção de óxido nítrico pela microbiota intestinal humana por redução de nitrato dissimilatório a amônio. *J Biomed Biotechnol.* (2009) 2009 :284718. doi: 10.1155/2009/284718.

VILLEMAGNE VL, BURNHAM S, BOURGEAT P, et al. Australian Imaging Biomarkers and Lifestyle (AIBL) Research Group. Amyloid β deposition, neurodegeneration, and cognitive decline in sporadic Alzheimer's disease: a prospective cohort study. *Lancet Neurol.* 2013 Apr;12(4):357-67. doi: 10.1016/S1474-4422(13)70044-9.

VIÑA D, SEOANE N, VASQUEZ EC, CAMPOS-TOIMIL M. cAMP Compartmentalização em células endoteliais cerebrovasculares: novas oportunidades terapêuticas na doença de Alzheimer. *Células.* (2021) 10 :1951. doi: 10.3390/cells10081951

WANG, X. et al. "Oxidative stress and mitochondrial dysfunction in Alzheimer's disease." *Biochimica et biophysica acta* vol. 1842,8 (2014): 1240-7. doi:10.1016/j.bbadis.2013.10.015.

WEISS GA e HENNET T. Mecanismos e consequências da disbiose intestinal . *Cell Mol Life Sci.* (2017) 74 :2959–77. 10.1007/s00018-017-2509-x.

WIMO A, GUERCHET M, ALI GC, WU YT, et al. The worldwide costs of dementia 2015 and comparisons with 2010. *Alzheimers Dement.* 2017 Jan;13(1):1-7. doi: 10.1016/j.jalz.2016.07.150.

WU S, ZHANG J, JIANG C, WANG S, QUE R, AN L. A regulação positiva da neprilisina medeia a proteção dos fruto-oligossacarídeos contra a doença de Alzheimer . *Função Alimentar.* (2020) 11 :6565–72. 10.1039/D0FO00161A

XIE J, VAN HOECKE L, VANDENBROUCKE RE. O impacto da inflamação sistêmica na patologia da doença de Alzheimer. *Front Immunol.* (2022) 12 :796867. 10.3389/fimmu.2021.796867.

YANG D, QIAO J, WANG JX et al. Efeitos de B-GOS no comportamento cognitivo e depressão de camundongos transgênicos com doença de Alzheimer. *Zhongguo Ying Yong Sheng Li Xue Za Zhi.* (2021) 37 :240–6. 10.12047/j.cjap.6105.2021.028

YANO JM YU K, DONALDSON GP, SHASTRI GG, et al.. Bactérias indígenas da microbiota intestinal regulam a biossíntese de serotonina do hospedeiro . *Célula.* (2015) 161 :264–76. 10.1016/j.cell.2015.02.047

YIANNPOULOU, K. G.; PAPAGEORGIOU, S. G. Current and future treatments in Alzheimer disease: an update. *J Cent Nerv Syst Dis*,v.6, n. 1, n. 19-33, 2020.

YU, B. P. Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. *Physiol Rev*, v. 74, n. 1, 1994.

YUE Q, CAI M, XIAO B, ZHAN Q, ZENG C. O eixo microbiota-intestino-cérebro e epilepsia . *Cell Mol Neurobiol.* (2022) 42 :439–53. 10.1007/s10571-021-01130-2.

ZARROS ACH, KALOPITA KS, TSAKIRIS ST. Comprometimento serotoninérgico e comportamento agressivo na doença de Alzheimer . *Acta Neurobiol Exp.*

ZHANG H, CHEN Y, WANG Z, XIE G, LIU M, et al.. Implicações da microbiota intestinal em doenças neurodegenerativas . *Front Immunol.* (2022) 13 :785644. 10.3389/fimmu.2022.785644.

ZUCKERMAN MK, HARPER KN, BARRETT R, ARMELAGOS GJ. The evolution of disease: anthropological perspectives on epidemiologic transitions. *Glob Health Action.* 2014 May 15;7:23303. doi: 10.3402/gha.v7.23303.

9. ANEXOS

A. TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

Efeitos de Probióticos nos Parâmetros que Caracterizam a Demência em Pacientes com Doença de Alzheimer

Quem Somos?

Dra Alyne MM Ton - Médica Neurologista e pós-doutoranda da UVV

Dr. Elisardo C Vasquez – Pesquisador e Professor da UVV

Dra. Denise Sayuri Calheiros da Silveira – pós-doutoranda da UVV

Sarha Santos Andrade – médica e aluna de Mestrado da UVV

Larissa Martinelli - acadêmica de Medicina da UVV

Rebeca Motta Morais Werly - acadêmica de Medicina da UVV

Eu e minha equipe, estamos realizando uma pesquisa científica para avaliar um novo tratamento para melhorar a cognição de pacientes portadores de Alzheimer com uso de um suplemento aprovado pela Anvisa chamado de probiótico. Para isso, precisaremos realizar alguns testes cognitivos, coletar amostras sanguíneas, fecais e de mucosa oral para dosagem de biomarcadores. Em seguida, você receberá o probiótico a ser utilizado via oral 01 cápsula ao dia durante 60 dias. Após este período, você novamente fará os testes cognitivos e dosagem dos biomarcadores. Finalmente, após 15 dias sem usar o probiótico, será feita a última análise cognitiva residual.

Os riscos envolvidos com a sua participação serão: a contaminação cutânea

ou sangramento durante a coleta; possibilidade de hematomas após a coleta sanguínea e o surgimento de alterações gastrointestinais (constipação ou diarreia) com o uso do probiótico.

No entanto, estes riscos e desconfortos serão minimizados através de todo o cuidado durante a coleta sanguínea que será realizada apenas em três ocasiões precedida pela higienização adequada do local de coleta com álcool 70%, utilização de luvas descartáveis, realização de compressão da estrutura vascular para evitar o aparecimento do hematoma. Além disso, todos os procedimentos serão realizados por profissional treinado para minimizar os riscos decorrentes da coleta, caso ocorra o hematoma a equipe médica e técnica estará a postos para intervir aplicando o curativo compressivo e demais intervenções necessárias. Os possíveis efeitos colaterais do probiótico serão monitorizados diariamente por profissionais envolvidos no projeto.

Ao participar da pesquisa, você poderá ter uma melhora potencial da cognição e qualidade de vida. Sua participação poderá ajudar no maior conhecimento sobre a doença de Alzheimer, sobre a microbiota intestinal e poderá também ajudar na elaboração de projetos para incentivar novos tratamentos para a Doença de Alzheimer. Todas as informações obtidas serão sigilosas. O material com as suas informações ficará guardado em local seguro sob a responsabilidade dos pesquisadores com a garantia de manutenção do sigilo e confidencialidade e que será destruído após a pesquisa.

A divulgação dos resultados será feita de forma a não identificar os voluntários. Os resultados deste trabalho poderão ser apresentados em encontros ou revistas científicas, entretanto, ele mostrará apenas os resultados obtidos como um todo, sem revelar seu nome ou qualquer informação que esteja relacionada com sua privacidade.

Este documento que você está lendo é chamado de Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). A equipe deste estudo responderá às suas perguntas a qualquer momento. Sua participação é voluntária, o que significa que você poderá desistir a qualquer momento, bastando entrar em contato conosco.

Conforme previsto pelas normas brasileiras de pesquisa com a participação de seres humanos você não receberá nenhum tipo de compensação financeira pela participação neste estudo. Você ficará com uma via deste Termo e toda a dúvida que você tiver a respeito desta pesquisa, poderá perguntar diretamente para o

pesquisador responsável: Sarha Santos Andrade através do e-mail sarha.andrade@hotmail.com.

Dúvidas sobre a pesquisa envolvendo princípios éticos poderão ser questionadas ao Comitê de Ética em Pesquisa da UVV localizado Prédio da Reitoria no subsolo: na Rua Comissário José Dantas de Melo, nº 21, Boa Vista, Vila Velha-ES, CEP: 29.102-770, Tel.: (27) 3421-2063, E-mail: CEP@uvv.br.

Horário de funcionamento: 2ª a 5ª 07h às 12h e das 13h às 17h e 6ª feira - 07h às 12h e das 13h às 16h. Reclamações e/ou insatisfações relacionadas à participação do paciente na pesquisa poderão ser comunicadas por escrito à Secretaria do CEP/UVV, desde que os reclamantes se identifiquem, sendo que o seu nome será mantido em anonimato.

Consentimento Livre e Esclarecido

Declaro que fui devidamente informado e esclarecido pelo pesquisador sobre a pesquisa Efeitos de Probióticos nos Parâmetros que Caracterizam a Demência em Pacientes com Doença de Alzheimer, dos procedimentos nela envolvidos, assim como dos possíveis riscos e benefícios decorrentes de minha participação. Foi-me garantido que posso retirar meu consentimento a qualquer momento, sem que isso me traga prejuízo ou penalidade.

Participante da Pesquisa (Paciente):

(assinatura, nome e CPF)

Declaro que compreendi os objetivos e procedimentos desta pesquisa, como ela será realizada, os riscos e benefícios envolvidos, e como responsável pelo Sr.(a) _____, inscrito em número de CPF _____, declaro que autorizo a participação dele na pesquisa Efeitos de Probióticos nos Parâmetros

que Caracterizam a Demência em Pacientes com Doença de Alzheimer.

Responsável do Participante:

(assinatura, nome e CPF)

Dra. Alyne MM Ton (CPF: 120.870.387-08)

Dr. Elisardo C Vasquez (CPF: 057.256.741-34)

Sarha Andrade Lobo de Queiroz (CPF: 116.337.176-90)

B. PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Estresse Oxidativo em Pacientes com Doenças Neurodegenerativas: Efeitos da Suplementação Probiótica

Pesquisador: Elisardo Corral Vasquez

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 60349516.0.0000.5064

Instituição Proponente: SOC EDUC DO ESP SANTO UNIDADE DE V VELHA ENSINO SUPERIO

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.804.392

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

VILA VELHA, 03 de Novembro de 2016

Assinado por:
Zilma Maria Almeida Cruz
(Coordenador)