Universidade de São Paulo

FCF/FEA/FSP

Programa de Pós-Graduação Interunidades em Nutrição Humana Aplicada

Efeito da suplementação de uma substância simbiótica sobre a permeabilidade intestinal, a inflamação sistêmica, a cognição e sintomas depressivos em idosos da comunidade.

Versão Original

Eliana Regina Louzada

Tese apresentada ao Programa Interunidades em Nutrição Aplicada Humana, Universidade de São Paulo para a obtenção do grau de Doutor.

Orientadora: Prof^a. Associada Sandra Maria Lima Ribeiro

São Paulo

2017

Ficha Catalográfica

Ficha Catalográfica
Elaborada pela Divisão de Biblioteca e
Documentação do Conjunto das Químicas da USP

L886e Louzada, Eliana Regina
Efeito da suplementação de uma substância
simbiótica sobre a permeabilidade intestinal, a
inflamação sistêmica, a cognição e sintomas
depressivos em idosos da comunidade / Eliana Regina
Louzada. - São Paulo, 2017.
67 p.

Tese (doutorado) - Faculdade de Ciências
Farmacêuticas da Universidade de São Paulo.
Departamento de Farmácia.
Orientador: Ribeiro, Sandra Maria Lima

1. Simbiótico. 2. Sintomas depressivos. 3.
Cognição. 4. Inflamação sistêmica. 5. Permeabilidade
intestinal. I. T. II. Ribeiro, Sandra Maria Lima,
orientador.

Nome: Eliana Regina Louzada

Título: Efeito da suplementação de uma substância simbiótica sobre a permeabilidade intestinal, a inflamação sistêmica, a cognição e sintomas depressivos em idosos da comunidade.

Tese apresentada ao Programa Interunidades em Nutrição Aplicada Humana, Universidade de São Paulo para a obtenção do grau de Doutor.

Aprovado em:

Banca Examinadora

Professor Dr. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Professor Dr. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Professor Dr. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

São Paulo, de

de 2017.

Dedicatória

Dedico à minha mãe Valentina Siqueira,
E aos meus irmãos Maurício Louzada e Wagner Louzada.

Agradecimentos

Agradeço à minha querida orientadora professora *Sandra Maria Lima Ribeiro* pela dedicação e paciência com que me passou seus ensinamentos, e pela contribuição na minha carreira acadêmica,

Agradeço aos meus companheiros de pesquisa *João Valentin Neto e Angélica Marques de Freitas*,

Agradeço às queridas formiguinhas *Jéssica Galdino Bento e Bruna da Silva Gusmão*,

Agradeço à minha amiga *Amparo Hurtado Fernandez Filha*

Agradeço à CAPES – Centro de Apoio Profissionalizante Educacional e Social pela bolsa de estudo que me permitiu concluir o doutorado.

RESUMO

LOUZADA, E.R. Efeito da suplementação de uma substância simbiótica sobre a permeabilidade intestinal, a inflamação sistêmica, a cognição e sintomas depressivos em idosos da comunidade.

Tese (Doutorado). Programa Interunidades de Nutrição Humana Aplicada, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2017.

Objetivos: O presente trabalho é secundário a um estudo clínico randomizado, que teve por objetivos investigar os efeitos de uma substância simbiótica sobre a permeabilidade intestinal, a inflamação sistêmica, a cognição e sintomas depressivos em idosos. **Métodos:** quarenta e nove participantes, 65-90 anos de idade, ambos os gêneros, foram randomizados em dois grupos: grupo S (uso de simbióticos); e grupo P (uso de placebo). As seguintes avaliações foram realizadas no início e no final do experimento: Escala de Depressão Geriátrica (GDS-15); Mini Exame do Estado Mental (MEEM); % de gordura corporal (%gordura); citocinas pró-inflamatórias e regulatórias no soro (IL-6, TNF- α e IL-10); e marcadores de permeabilidade intestinal no soro (DAO, IFABP e LPS). **Resultados:** A interação entre tempo e grupo mostrou maior redução do LPS no grupo P e maior aumento do IL-10 no grupo S. Considerando somente o fator tempo, ambos os grupos reduziram a %gordura, TNF- α e DAO. O IL-6, o GDS-15 e MEEM aumentaram em ambos os grupos. O valor final de GDS-15 foi explicado negativamente por DAO, IL-10, TNF- α , %gordura, ser mulher e estar alocado no grupo P. As variáveis que explicaram positivamente o valor final do GDS-15 foram IL-6, IFABP, e LPS. As variáveis positivamente associadas aos valores finais do MEEM foram IL-10, DAO, ser mulher e estar alocado no grupo P; foram encontradas associações negativas entre o MEEM e IL-6, TNF- α , %gordura, IFABP e LPS. Foi discutida a possibilidade de alguma interferência dos medicamentos utilizados pelos idosos, nas variáveis de interesse do estudo. **Conclusões:** de acordo com nossas condições experimentais, foram encontrados efeitos sutis da suplementação de simbióticos sobre sintomas depressivos e cognição em idosos da comunidade, aparentemente saudáveis; entretanto, os efeitos sobre a cognição parecem ter sido mais otimistas. Estudos futuros, com indivíduos com diagnóstico de depressão ou de comprometimento cognitivo, poderão clarear questões levantadas no presente estudo.

Palavras-chave: simbióticos, sintomas depressivos, cognição, inflamação sistêmica, permeabilidade intestinal.

ABSTRACT

LOUZADA, E.R. Effects of nutritional supplementation with a synbiotic substance on the intestinal permeability, systemic inflammation, cognition and depressive symptoms in community-dwelling elderly. Programa Interunidades de Nutrição Humana Aplicada, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2017.

Objectives: This secondary study from a randomized clinical trial aimed to investigate the effect of a synbiotic substance on intestinal permeability, systemic inflammation, cognition and depressive symptoms in elderly. **Methods:** Forty-nine participants, 65-90 years old, both genders, were randomly assigned into two groups: S-group (synbiotic); and P-group (placebo). Evaluations performed at the beginning and at the end of the experiment were: Geriatric Depressive Symptoms scale (GDS-15); Mini-Mental Status Examination (MMSE); % of body fat (%fat); pro-inflammatory and regulatory cytokines (serum IL-6, TNF- α and IL-10); gut permeability (serum DAO, IFABP and LPS). **Results:** The interaction between time and group showed higher reduction of LPS in P-group and higher increase of IL-10 in S-group. Considering only time, both groups had reduced their %Fat, TNF- α and DAO. The IL-6, GDS-15 and MMSE were increased in both groups. The GDS-15 final was negatively explained by DAO, IL-10, TNF- α , %Fat, being woman and being allocated in P-group. The variables that positively explained the GDS-15 final were the IL-6, the IFABP, and the LPS. The variables that were positively associated to MMSE final were the IL-10, DAO, being woman, and being allocated in P-group; The negative associations were IL-6, TNF- α , %Fat, IFABP and LPS. We discussed the possibility of some interference of the medicines used by the elderly on our outcomes of interest. **Conclusions:** our experimental conditions demonstrated weak effects of synbiotic supplementation in the management of depressive symptoms or cognitive decline in apparently healthy elderly living in the community, although the effect on cognition seems to be more optimistic. Other comparative studies, with individuals diagnosed as depressive morbidity or cognitive decline, may clarify our hypothesis.

Key-words: synbiotics, depressive symptoms, inflammation, intestinal permeability, cognition.

Lista de Figuras

Figura 1 - Modificações da pirâmide populacional brasileira através dos anos

Figura 2 - Esquema do processo de imunossenescência

Figura 3 - Expansão do tecido adiposo e inflamação

Figura 4 - Alterações na microbiota intestinal, promoção da endotoxemia e desordens metabólicas.

Figura 5 - Epitélio intestinal e lúmen intestinal

Figura 6 - Delineamento Experimental

Figura 7 – Fluxograma do Estudo

Lista de Tabelas

Tabela 1 - Causa das desistências dos participantes

Tabela 2 - Análise descritiva dos dados iniciais e finais, e análises comparativas

Tabela 3 - Regressão linear múltipla, Modelo 1- Variável dependente GDS-15_{final}

Tabela 4 - Regressão linear múltipla, Modelo 2 - Variável dependente MEEM_{final}

Tabela 5 - Distribuição dos idosos segundo o consumo de medicamentos durante o estudo

Siglas

DAO - Diamina Oxidase

GDS-15 - *Geriatric Depression Scale*

IFABP - Proteína Ligante de Ácidos Graxos (*fatty acid binding proteins*)

IL-6 - Interleucina 6

IL-10 - Interleucina 10

IMC - Índice de Massa Corporal

LPS - Lipopolissacarídeo

MALT – Tecido linfoide associado a mucosa

MEEM - Mini Exame do Estado Mental

P - Grupo que consumiu o placebo

S - Grupo que consumiu o simbiótico

TNF- α - Fator de Necrose Tumoral- α

Sumário

1. Introdução.....	2
1.1 Envelhecimento Populacional e Doenças Crônicas não Transmissíveis	2
1.2 Inflamação Crônica e Sistêmica no Envelhecimento - definições e causas	3
1.2.1 Inflammaging e Imunosenescência	3
1.2.2 Inflammaging e Gordura Corporal.....	4
1.2.3 Inflammaging e Alterações Intestinais	6
1.2.4 Implicações Clínicas da Imunosenescência e Inflammaging	9
1.3 Definições - Morbidade Depressiva e Comprometimento Cognitivo.....	10
1.3.1 Morbidade Depressiva e Depressão	10
1.3.2 Transtornos Cognitivos em Idosos	12
1.4 Estratégias Possíveis para Atenuação da Inflamação Sistêmica , e da Neuroinflamação.....	13
2. Justificativa.....	15
3. Hipóteses	16
4. Objetivos	17
5. Métodos	18
5.1 Tipo de Estudo	18
5.2 Casuística.....	18
5.3 Procedimentos para Recrutamento	18
5.4 Critérios de Inclusão.....	18
5.5 Critérios de Exclusão.....	18
5.6 Aspectos Éticos e Registro Clínico.....	19
5.7 Delineamento Experimental.....	19
5.8 Grupos Experimentais.....	19
5.9 Cálculo Amostral	20
5.10 Avaliações Iniciais e Finais	20
5.11 Análise dos Dados.....	21
6. Resultados	23
7. Discussão	27
8. Conclusões.....	36
Referências	37
Anexos	45

1. Introdução

1.1 Envelhecimento Populacional e Doenças Crônicas não Transmissíveis

A transição demográfica pode ser sumarizada como um aumento progressivo, na população com mais de 60 ou 65 anos, paralelamente à menores taxas de natalidade. Esse processo já está consolidado nos países desenvolvidos, e encontra-se em andamento nos países em desenvolvimento, incluindo o Brasil (Pablos-Mendez *et al.*, 2015). Dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística ilustram essas tendências (Figura 1).

Figura 1 - Modificações da pirâmide populacional brasileira através dos anos. As três camadas da Pirâmide representam as pessoas com até 14 anos (base), entre 15 e 59 anos (camada intermediária), e acima de 60 anos (topo). Fonte: IBGE, 2010.

O processo de transição demográfica pode ser considerado um desafio, visto que ocorre paralelamente outras duas importantes transições: a nutricional e a epidemiológica. A partir da metade do século XX, a despeito de avanços significativos das condições socioeconômicas e maior controle de doenças agudas, tem-se observado mudanças importantes no estilo de vida com o envelhecimento, incluindo hábitos alimentares e atividade física (IBGE, 2013). Essas mudanças de comportamentos têm sido acompanhadas de distúrbios associados ao aumento das doenças crônicas não transmissíveis (Gayathri *et al.*, 2016).

Dentre as doenças crônicas associadas à velhice, os transtornos cerebrais têm se destacado, visto que a morbidade depressiva e o comprometimento cognitivo são causas frequentes de intercorrências e queda na qualidade de vida (de Beurs *et al.*, 1999; Blazer, 2003). Esses transtornos em idosos estão associados a comprometimento funcional, alto custo com os cuidados de saúde e aumento da mortalidade (Beekman *et al.*, 2000; Snowden *et al.*, 2008; Porensky *et al.*, 2009). Desta forma, a compreensão desses transtornos é importante, assim como suas origens, para agregar possíveis estratégias de intervenção.

1.2 Inflamação Crônica e Sistêmica no Envelhecimento - definições e causas

Com o envelhecimento ocorre uma série de alterações metabólicas e fisiológicas que culminam em desfechos relacionados a doenças crônicas, e aos transtornos cerebrais. Essas alterações são explicadas pela própria senescência - aspecto considerado normal do envelhecimento, e também por fatores que ainda precisam ser melhor compreendidos, que podem dar origem à senilidade – considerado envelhecimento patológico. A inflamação sistêmica crônica e de baixo grau tem sido estudada, no sentido de explicar uma série de desfechos negativos associados ao envelhecimento. A inflamação sistêmica é capaz de interferir no metabolismo de praticamente todos os tecidos corporais, e devido à importância na compreensão desse processo, Franceschi e colaboradores (2000) denominaram esse quadro típico do envelhecimento de *inflammaging* (*inflammation + aging*).

O *inflammaging* ou inflamação associada ao envelhecimento é um estado pró-inflamatório de baixo grau, crônico e sistêmico, presente em maior ou menor intensidade em idosos (desde os saudáveis até os doentes), como resultado do desequilíbrio no controle orgânico entre mediadores pró e anti-inflamatórios, com consequentes repercussões negativas sobre o processo de envelhecimento e sobre a promoção da longevidade (Franceschi *et al.*, 2007).

Ainda não há um consenso absoluto sobre a exata origem da inflamação sistêmica associada ao envelhecimento. Várias hipóteses têm sido estudadas, e parece que diferentes sistemas corporais estão envolvidos nesse fenômeno. Três hipóteses podem ser citadas: a própria imunosenescência, a adiposidade e as alterações intestinais.

1.2.1 *Inflammaging* e Imunosenescência

Com as diversas situações de saúde e doença ao longo da vida, o sistema imune envelhece, sofrendo um processo de imunosenescência (Weng, 2006); o aumento do tempo de vida expõe o organismo a agentes ou antígenos de baixa virulência de maneira recorrente. O que se tem observado quanto a isso, é que o organismo humano parece não estar completamente adaptado (Simon *et al.*, 2015), e como resultado, o envelhecimento é acompanhado do desequilíbrio entre processos pró-inflamatório e anti-inflamatório.

Devido a esse desequilíbrio, as alterações imunológicas em idosos se tornam crônicas e disfuncionais, resultando em um envelhecimento com diversos desfechos desfavoráveis (Giunta, 2008). As células mononucleares de idosos passam a produzir mais citocinas pró-inflamatórias que em adultos jovens, levando a hiper-reatividade do sistema imune inato ou inespecífico. Por sua vez, o sistema imune adaptativo, mais complexo, específico e eficiente, responsável também

pela memória imunológica, parece se deteriorar. O repertório de linfócitos T imaturos presentes na medula óssea, e de linfócitos T de memória presentes no sangue periférico, específicos em resposta a cada agente infeccioso, começam a diminuir. Isto leva a uma incapacidade ou lentificação da resposta a uma infecção específica, e ao mesmo tempo, a um excesso da resposta imune inespecífica, e muitas vezes ineficiente, de forma prolongada e inadequada (Giunta *et al.*, 2008). O processo de imunossenescência é complexo e envolve praticamente todas as células do sistema imune. Na (Figura 2) é apresentado um esquema resumido dessas alterações.

Figura 2 - Esquema geral do processo de imunossenescência.
Fonte: Grizzi *et al.*, 2013.

1.2.2 *Inflammaging* e Gordura Corporal

Aliado ao próprio processo de envelhecimento do sistema imune, descrito anteriormente, algumas alterações corporais típicas do envelhecimento parecem “alimentar” a inflamação sistêmica de baixo grau. Dentre essas alterações, a adiposidade exerce um papel importante. Com o envelhecimento, observa-se um aumento da gordura corporal, em especial na gordura abdominal, e concomitantemente uma redução da musculatura esquelética.

O tecido adiposo, principalmente aquele localizado na região abdominal (gordura visceral), tem sido extensamente estudado por suas características inflamatórias. Apenas para relembrar, o tecido adiposo é um órgão endócrino formado por adipócitos, matriz extracelular, tecidos vascular e nervoso, e outros tipos celulares tais como pré-adipócitos, fibroblastos, células tronco e células do sistema imune, principalmente macrófagos e linfócitos T (Ibrahim, 2010). Existe um grande número de moléculas secretadas pelo tecido adiposo. Por exemplo, as adipocinas são importantes na regulação de diversas funções metabólicas como o balanço energético, a pressão arterial, a via

imune, a homeostase da glicose, e ainda a produção de citocinas pró e anti-inflamatórias (Galic *et al.*, 2010), o que deixa clara a relação entre esse tecido e a função imune. Ainda não se conhece por completo, o mecanismo pelo qual o tecido adiposo contribui com a inflamação sistêmica, porém, o desequilíbrio entre as diferentes células e moléculas desse tecido, causado por exemplo pela dieta e/ou pelo aumento do conteúdo dos adipócitos, parece fornecer pista importantes.

Desta forma, as gorduras, especificamente os ácidos graxos saturados podem ligar-se a receptores específicos do tecido adiposo os *toll-like receptor* ou *nod-like receptor*, tendo como resposta o aumento no recrutamento de macrófagos, em especial os que liberam citocinas inflamatórias - os macrófagos do tipo M1 (Magné *et al.*, 2010). Por sua vez, a expansão no tamanho dos adipócitos (Figura 3) que depende de enzimas como as metaloproteinasas e de seus inibidores teciduais, pode também colaborar com o desenvolvimento da inflamação.

Figura 3 - Expansão do tecido adiposo e inflamação
Fonte: Adaptado de Kalupahana *et al.*, 2007; Galic *et al.*, 2010.

O aumento no conteúdo lipídico dos adipócitos parece gerar um desequilíbrio nesse sistema enzimático, o que pode significar uma expansão defeituosa do tecido adiposo, levando a injúrias, inflamação e morte tecidual (Kos e Wilding, 2010). Um fator que pode estar associado a essas alterações é a diminuição do fornecimento de oxigênio tecidual, uma vez que a expansão do tecido pode não ser suportada pela vasculatura existente. Essa hipóxia parece aumentar a expressão de genes inflamatórios (Ye *et al.*, 2007).

1.2.3 *Inflammaging* e Alterações Intestinais

O intestino é considerado um sistema complexo que envolve os nutrientes, as células, os componentes do sistema imune - celulares e humorais, e as bactérias - microbiota. No que diz respeito a essas bactérias, existem as que habitam permanentemente o intestino, e as transitórias que pode incluir também as bactérias patogênicas. Em condições normais, todos esses componentes estão em equilíbrio, e por isso, a comunicação entre a circulação sistêmica e o sistema imune corporal é seletiva.

Em um ambiente intestinal saudável ocorre o equilíbrio entre estados pró e anti-inflamatório; esse equilíbrio é alcançado principalmente pelas funções trófica e imune da microbiota. A função trófica ocorre principalmente pela fermentação de substratos provenientes dos alimentos, produzindo ácidos graxos de cadeia curta o acetato, o propionato e o butirato. Esses ácidos graxos auxiliam em processos metabólicos, e também no controle bacteriano. Além disso, por meio de mecanismos de competição por nutrientes e receptores de adesão na mucosa intestinal, a microbiota é capaz de impedir o crescimento de patógenos (Bielecka *et al.*, 2002; Wu *et al.*, 2013). Além destas funções, as bactérias intestinais e seus fragmentos modulam sinais enviados do sistema nervoso entérico para o cérebro. O sistema nervoso entérico é localizado na mucosa intestinal composto por neurônios interconectados nos plexos mioentérico e submucoso, estes neurônios sinalizam mensagens do intestino, através do nervo vago aferente, para o núcleo do trato solitário em áreas envolvidas no humor e na cognição (Wu *et al.*, 2013; Carabotti *et al.*, 2015).

Ainda, na constituição do intestino, a mucosa intestinal é formada por uma barreira física e imune. A barreira física é composta por um revestimento de células epiteliais ligadas por proteínas que constituem junções oclusivas, criando uma “vedação” das vias paracelular e transcelular. Assim, essas proteínas, em condições normais, garantem a estreita ligação entre os enterócitos, de forma a garantir a chamada permeabilidade seletiva. A integridade da parede intestinal permite a manutenção da camada de muco, e conseqüentemente a manutenção da microbiota que interage adequadamente com a via imune do intestino, permitindo a supressão de fatores de virulência (Kamada *et al.*, 2013). Por sua vez, há uma barreira formada pelas células caliciformes localizadas nas criptas do intestino delgado, que liberam muco com proteínas antimicrobianas, prevenindo a colonização de patógenos (Ayabe *et al.*, 2000; Vaishnava *et al.*, 2008; Hardy *et al.*, 2013).

Outro componente do sistema intestinal é a via imune do próprio intestino. O intestino possui um verdadeiro arsenal de células imune, que se denomina tecido linfoide associado à

mucosa - MALT, do inglês *mucosa-associated lymphoid tissue*, composto por células B, células T, células do sangue, macrófagos e outras células apresentadoras de antígenos (Turner, 2009; Tiihonen *et al.*, 2010; Borlioux *et al.*, 2003). Permanentemente ocorre um contato entre as bactérias intestinais e essas células da via imune, o que significa um estímulo permanente. Assim, o MALT é a maneira que o intestino interage com o meio externo, defendendo-se (Turner, 2009). De acordo com o tipo de estímulo, a via imune é ativada diferentemente. Resumidamente, a ligação de bactérias patogênicas com células imune no intestino e/ou com células apresentadoras de antígenos via receptores específicos como *toll-like receptor* e o *nod-like receptor* desencadeiam respostas imunes inflamatórias. Essas respostas consistem, entre outras, na produção de citocinas inflamatórias, como por exemplo, TNF- α (Fator de Necrose Tumoral α), IL-6 (Interleucina 6). Por sua vez, o mesmo tipo de ligação com as bactérias patobiontes (não patogênicas), desencadeiam em última instância a resposta imune regulatória, por meio da liberação de citocinas anti-inflamatórias como por exemplo, a Il-10. Assim, estabelece-se o equilíbrio inflamatório via intestino (Guarner, 2006).

A quebra no equilíbrio de qualquer uma dessas partes pode “perturbar” todo o sistema. Quando o balanço bacteriano é alterado, como no envelhecimento, onde a barreira física se modifica negativamente (Kamada *et al.*, 2013; Turner, 2009); nesta situação pode ocorrer a lesão das proteínas das junções oclusivas, fazendo com que a permeabilidade intestinal seja também alterada; isso faz com que haja passagem de bactérias (translocação bacteriana) ou fragmentos bacterianos para a circulação sistêmica (Anderson, 2001; Cani, 2012). Dentre os fragmentos de origem bacteriana liberados nessas situações, destaca-se o LPS – lipopolissacarídeo. O LPS adentra nos capilares pela permeabilidade intestinal alterada, ou por sua incorporação aos quilomícrons. Posteriormente, o LPS liga-se a receptores específicos, principalmente o *toll-like receptor-4* no tecido adiposo, no tecido muscular, e outros tecidos, estimulando a infiltração de macrófagos, e ativando vias para secreção de citocinas inflamatórias. Essas ligações trazem desfechos como redução da sensibilidade à insulina e aumento nos processos catabólicos (Griffiths *et al.*, 2004; Wang *et al.*, 2004; Wang *et al.*, 2006; Cani e Delzenne, 2009; Manco *et al.*, 2010; Rossol *et al.*, 2011; Doyle *et al.*, 2011; Stryjecki e Mutch, 2011; Lam *et al.*, 2011).

A passagem de conteúdo bacteriano ou de fragmentos bacterianos para a circulação pode ser a explicação para quadros inflamatórios grave e agudo denominado septicemia, ou leve e crônico como o que ocorre na obesidade ou no envelhecimento, o que pode ser, em parte, a explicação para quadros inflamatórios subclínicos (Cani e Delzenne, 2009; Manco *et al.*, 2010; Rossol *et al.*, 2011; Pendyala *et al.*, 2012). Estudos demonstram que há um aumento na ativação da via imune no intestino do idoso, que pode ser decorrente das mudanças na microbiota e mucosa

intestinal, por influência de fatores de expressão de virulência, por bactérias oportunistas, por algum defeito nas barreiras de defesa da mucosa intestinal, pelo aumento do número de bactérias gram-negativas, ou ainda, por alguma mudança no sistema imune do hospedeiro (Krabbe *et al.*, 2004; Guigoz *et al.*, 2008).

O trânsito intestinal diminuído pode significar uma sobrecarga bacteriana presente no intestino, bactérias essas que normalmente seriam eliminadas nas fezes. O uso de medicamentos em excesso, especialmente antibióticos, é um forte componente para a mudança na microbiota intestinal do idoso (Tiihonen *et al.*, 2010). A dieta geralmente sofre modificação com o envelhecimento, devido a mudanças no sistema digestório, como por exemplo, perda de dentes e acloridria. Essas mudanças levam a deficiências nutricionais, o que pode agravar o quadro inflamatório em geral, incluindo o sistema imune do intestino. Assim como o baixo consumo de fibras diminui a fermentação intestinal, reduzindo a proliferação de bactérias benéficas (Guarner, 2006; Tiihonen *et al.*, 2010).

No envelhecimento ocorre uma mudança na microbiota intestinal em comparação com outras faixas etárias, bem como uma diferença de população bacteriana ao longo do trato digestório. Isto pode ocorrer, em parte, pela diminuição na produção de ácido gástrico, o que torna o estômago um ambiente propício para o crescimento de bactérias patobiontes, que se sobrepõe às simbioses, competindo assim pelo sítio de ligação dos probióticos ao epitélio intestinal (Zoetendal *et al.*, 2002; Lebeer *et al.*, 2010). Guigoz e colaboradores (2008) descreveram que é comum ocorrer no intestino de idosos, um aumento de bactérias gram-negativas, principalmente Enterobactérias, e que esse aumento se correlaciona com estados inflamatórios subclínicos. Reforçando essas informações, Van Tongeren e colaboradores (2005) identificaram uma diminuição expressiva de Lactobacilos em idosos frágeis. A Figura 4 sintetiza o papel do intestino em importantes desfechos do envelhecimento.

Figura 4 – Alterações na microbiota intestinal, promoção da endotoxemia e desordens metabólicas.

A avaliação da permeabilidade intestinal assume importância, quando se pensa em identificar mudanças patológicas no intestino. Essa avaliação pode ser feita através de alguns marcadores, entre eles: o lipopolissacarídeo – LPS, a diamina oxidase – DAO, e a proteína ligante de ácidos graxos – IFABP (*intestinal fatty acid-binding protein*), conforme demonstra a Figura 5. O LPS é uma glicoproteína presente na membrana externa das bactérias gram-negativas, ele indica uma medida indireta da função da barreira intestinal, uma vez que pode adentrar a circulação sistêmica pela via paracelular quando ocorre alteração na junção oclusiva no epitélio intestinal (Mitaka, 2005; Galipeau e Verdu, 2016).

Figura 5 - Epitélio intestinal e lúmen intestinal.
Fonte: adaptado Fink e Delude, 2005.

A DAO é uma enzima intracelular localizada no epitélio intestinal nas porções duodenal, jejunal e ileal, quando ela está elevada no plasma pode indicar um aumento da permeabilidade intestinal, devido a alguma injúria na via transcelular (Luk *et al.*, 1980; Song *et al.*, 2009). A IFABP é uma proteína presente nas vilosidades dos enterócitos no jejuno, e em menor quantidade no colón, quando ela está elevada no plasma indica aumento da permeabilidade intestinal, o que pode ser devido à injúria nas vilosidades intestinal (Pelsers *et al.*, 2005).

1.2.4 Implicações Clínicas da Imunosenescência e *Inflammaging*

A inflamação sistêmica tem sido considerada como um dos principais fatores relacionados a desfechos negativos, incluindo os transtornos cerebrais. Estudos têm demonstrado associação entre inflamação sistêmica e neuroinflamação, o que pode afetar a biossíntese de monoaminas fundamentais envolvidas no humor e na cognição tais como serotonina, dopamina, ácido γ -

aminobutírico e fatores neurotróficos, e ao mesmo tempo, aumentar a neurotoxicidade (Myint e Kim, 2003; Frick *et al.*, 2004; Schousboe e Waagepetersen, 2007; Miller *et al.*, 2009; Numakawa *et al.*, 2014; Su *et al.*, 2015). Estudos em ratos observaram um aumento na concentração plasmática e cerebral das citocinas pró-inflamatórias TNF- α e IL-6, e um aumento na expressão de enzimas relacionadas à degradação do triptofano que é precursor da serotonina. Isso resulta na diminuição da conversão de triptofano à serotonina, o que pode levar a alteração de humor e da função cognitiva. No cérebro, a serotonina apresenta diversas funções, dentre elas o controle do apetite, dos movimentos, do sono, do humor e da cognição (Myint e Kim, 2003; Frick *et al.*, 2004). Esses processos podem resultar em transtornos cerebrais, o que inclui a morbidade depressiva e o comprometimento cognitivo (Dantzer *et al.*, 2008; Capuron e Miller, 2011).

Ainda, em algumas etapas da degradação de triptofano à serotonina, ocorre um aumento da conversão de quinurenina em ácido quinurênico nos astrócitos, e em ácido quinolínico na microglia; essas alterações afetam a conversão de glutamato em ácido γ -aminobutírico, o que pode inibir a ação desta substância nas sinapses. O ácido γ -aminobutírico é um neurotransmissor inibitório no sistema nervoso central com ação na atividade neuronal, no processamento de informação, na plasticidade cerebral e na sincronização da rede neuronal (Banks *et al.*, 2000; Schousboe e Waagepetersen, 2007; Miller *et al.*, 2009). Desta maneira, algumas alterações no trato digestório, na microbiota intestinal, na produção e liberação de substâncias que atuam no controle da cognição e humor podem contribuir ou desencadear sintomas depressivos e comprometimento da cognição.

1.3 Definições - Morbidade Depressiva e Comprometimento Cognitivo

1.3.1 Morbidade Depressiva e Depressão

A morbidade depressiva representa um grupo complexo de doenças mentais, que incluem a depressão maior, a distímia, e os sintomas depressivos clinicamente significativos (Castro-de-Araujo *et al.*, 2013). A depressão é uma doença multifatorial que pode comprometer a capacidade funcional do indivíduo. Ela é caracterizada pela somatória de quatro ou mais dos seguintes sintomas: alteração do humor, do apetite, do sono, anedonia, letargia, sentimento de culpa, baixa autoestima, dificuldade de concentração, agitação e ideação suicida. Para um diagnóstico de depressão deve-se observar: a) um período de duas semanas com a apresentação de quatro dos sintomas citados, entre os quais o humor deprimido, ou a perda de interesse ou prazer deve estar presente, ou b) apenas três sintomas citados, mais a presença de um sintoma cardinal - alteração de humor ou anedonia (Sung *et al.*, 2013; APA, 2014; Bretanha, 2015).

Há evidência que quando os rastreios de sintomas depressivos são feitos o mais cedo possível, há uma melhora nos processos de identificação e de tratamento (Scogin e Shah, 2006), prevenindo a evolução para quadros mais graves. Desta forma, várias ferramentas têm sido propostas para auxiliar a avaliação da sintomatologia depressiva, especialmente em idosos. Uma dessas ferramentas é a Escala de Depressão Geriátrica, cuja sigla manteve a nomenclatura original em inglês, GDS - *Geriatric Depression Scale*. Essa escala já foi validada em vários países, e em diferentes níveis de atenção à saúde. A versão original é composta por 30 questões (Yesavage *et al.*, 1982), porém várias versões reduzidas foram propostas. No Brasil, existem estudos publicados sobre a tradução, adaptação e a validação dessa escala, na atenção primária à saúde (Castelo *et al.*, 2010), assim como na atenção secundária (Paradela *et al.*, 2005) e na atenção especializada (Almeida e Almeida, 1999a; 1999b). No estudo de Castelo e colaboradores (2010) na atenção primária, foram avaliadas diferentes versões reduzidas da escala e, comparativamente à versão original o GDS-30, os autores encontraram boa sensibilidade e especificidade nas versões GDS-15, GDS-10 e GDS-4.

A presença de sintomas depressivos é frequente em pessoas idosas. A partir da ferramenta GDS-15, o projeto Saúde Bem-estar e Envelhecimento realizado em São Paulo apontou que 18,1% dos idosos apresentaram esses sintomas (Lebrão e Duarte, 2003). Em Brasília, uma pesquisa em Centros de Convivência, também utilizando o GDS-15, demonstrou uma prevalência de 31% de sintomas depressivos clinicamente significativos na população idosa (Oliveira *et al.*, 2006). Na cidade de Uberlândia, foi demonstrado que 6,9% dos idosos frequentadores dos Centros de Convivência apresentavam sintomas depressivos (Cha, 2006); em Nova Hamburgo, 30% dos idosos apresentavam sintomas depressivos (Reichert *et al.*, 2011).

Alguns fatores contribuem para o maior risco de sintomatologia depressiva em idosos: as enfermidades crônicas e incapacitantes, as morbidades, a dor não controlada, a insuficiência funcional, a polifarmácia, a história familiar de depressão, a desnutrição ou subnutrição (Hancock e Lerner, 2007). Além de todos os fatores citados, a depressão também é associada à hiperatividade da via imune e ao aumento plasmático e cerebral das citocinas pró-inflamatórias, o que pode ser decorrente das alterações neuroendócrinas, como por exemplo, a redução da resposta ao hormônio estimulador da tireoide, a diminuição dos hormônios sexuais e a inflamação crônica e sistêmica (Kop *et al.*, 2002; Liukkonen *et al.*, 2006).

Apesar do conhecimento de todas estas alterações, a depressão em idosos nem sempre é diagnosticada e tratada de maneira adequada. Muitas vezes, a alteração de humor pode ser confundida com alguma doença clínica, com os efeitos colaterais do uso de medicamentos, como

consequência normal do envelhecimento, ou ainda, em decorrência de algum comprometimento da cognição (Cole e Bellavance, 1997).

1.3.2 Transtornos Cognitivos em Idosos

A literatura apresenta diferentes definições para cognição, entre elas: o ato de captar, utilizar e transformar a informação obtida do meio ambiente, e inclui o subconsciente, as experiências afetivas e os sentimentos. A informação é captada através do olfato, audição, gustação, visão e tato, e, posteriormente ela é filtrada pelo tronco cerebral, passa pelo tálamo e então é entregue ao córtex, este decidirá o que fazer com a informação - utilizá-la imediatamente ou armazená-la no hipocampo (Heimer e Van Hoesen, 2006; Pessoa, 2008).

Com o envelhecimento, observa-se a diminuição do volume do hipocampo, o que pode levar ao comprometimento cognitivo. Esse comprometimento pode significar dificuldade progressiva na retenção de memórias recentes, na aquisição de novos conhecimentos, na prática de cálculos numéricos, na manutenção do estado de alerta, na verbalização adequada e na motivação. A diminuição no volume do hipocampo é um processo esperado com o envelhecimento, e consequentemente, comprometimentos cognitivos sem maior relevância também são comuns, e de certa forma, esperados. É importante, nesse contexto, identificar o que significa o envelhecimento cognitivo normal – a senescência, e o envelhecimento cognitivo considerado patológico – a senilidade. Comprometimentos cognitivos negligenciados podem evoluir para o chamado comprometimento cognitivo leve, e esse estágio parece ser prodromico para o desenvolvimento de diferentes tipos de demência na velhice (Köhler *et al.*, 2016).

Dados do *Cardiovascular Health Study Cognition Study* identificaram uma série de fatores de risco para o desenvolvimento do comprometimento cognitivo leve em idosos da comunidade (Lopez *et al.*, 2003). Dentre eles, cabe destacar a própria existência de alterações em testes cognitivos. Esse achado justifica a importância em se pensar nas estratégias que consigam atenuar qualquer sintoma de alteração na cognição com o envelhecimento. Ainda, esse mesmo estudo, em concordância com várias outras constatações na literatura, identificou como fatores de risco a síndrome metabólica, a doença vascular, a inflamação crônica e sistêmica, a depressão e alteração na síntese e liberação de alguns neurotransmissores (Petersen *et al.*, 2001; Bennett *et al.*, 2002). O estudo de Lopez e colaboradores (2003) identifica ainda a afro descendência como um fator adicional de risco; os autores atribuem, parcialmente, à maior prevalência, nesse segmento da população, do polimorfismo Apolipoproteína-E4. Fisiologicamente, a cognição pode ser afetada

por mudanças na ação colinérgica, na diminuição do fluxo sanguíneo cerebral, na alteração do número de neurônios, na alteração nas sinapses e na plasticidade neuronal (Villain *et al.*, 2008).

Da mesma maneira que o rastreio precoce dos sintomas depressivos contribui para um tratamento adequado, a identificação precoce de alterações cognitivas constitui-se numa importante etapa da prevenção de transtornos cognitivos relevantes. No que diz respeito às ferramentas existentes, o Mini Exame do Estado Mental - MEEM é a mais conhecida e utilizada em todo o mundo (de Melo e Barbosa, 2015). Essa ferramenta foi desenvolvida nos Estados Unidos da América com o objetivo de avaliar o estado mental, especificamente os sintomas da demência. O MEEM é composto por duas seções: a primeira que avalia orientação, memória e atenção; a segunda mede a capacidade de nomeação, de obediência a um comando verbal e a um comando escrito, de redação livre de uma sentença e de cópia de um desenho complexo (polígonos). O escore total é de 30 pontos. De Melo e Barbosa (2015), em uma revisão sistemática, identificaram 11 diferentes versões do MEEM utilizadas no Brasil, sendo a mais utilizada e citada a versão proposta por Bertolucci (1994).

1.4 Estratégias Possíveis para Atenuação da Inflamação Sistêmica, e consequentemente da Neuroinflamação

A partir do discutido até agora, pode-se supor que, a partir da atenuação do estado inflamatório, seria possível postergar, atenuar ou prevenir transtornos cerebrais associados. Neste sentido, estratégias para restabelecer o equilíbrio da microbiota intestinal poderiam reduzir a permeabilidade dos enterócitos, atenuando assim a inflamação. O uso de substâncias probióticas, prebióticas ou simbióticas, nesse sentido, pode ser uma alternativa plausível.

Por definição, probióticos são definidos como os ingredientes que afetam benéficamente o hospedeiro, estimulando seletivamente o crescimento e/ou a atividade de um número limitado de bactérias no intestino. Por sua vez, probióticos são os organismos vivos, que quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios à saúde. Finalmente, o termo simbiótico significa um alimento ou suplemento alimentar que contém probióticos e prebióticos ao mesmo tempo (Douglas, 2008).

O uso de bactérias tem sido proposto no tratamento da depressão e do comprometimento cognitivo com resultados promissores; as bactérias que apresentam ação positiva na saúde mental têm sido chamadas de psicobióticos (Dinan *et al.*, 2013; MacQueen *et al.*, 2017). Cepas específicas de bactérias como por exemplo, o *Clostridium sporogenes* ATCC 15579 e *Ruminococcus gnavus* ATCC 29149 são capazes de sintetizar enzimas envolvidas na conversão

de triptofano à serotonina (Cryan *et al.*, 2005; Williams *et al.*, 2014). Ainda, pacientes com Síndrome de Fadiga Crônica (distúrbio associado a sintomas depressivos, comprometimento cognitivo e ansiedade), demonstraram melhora nos sintomas depressivos após a ingestão de *Lactobacillus casei* Shirota que também apresenta a mesma capacidade de síntese enzimática (Benton *et al.*, 2007; Rao *et al.*, 2009). Já o *Lactobacillus rhamnosus* JB1 é capaz de sintetizar a enzima glutamato descarboxilase, responsável pela conversão de glutamato a GABA (Bravo *et al.*, 2011). Outros neurotransmissores também são produzidos por bactérias, como por exemplo, a *Escherichia coli* que produz norepinefrina, e o *Bacillus* que produz norepinefrina e dopamina (Evrensel e Ceylan, 2015).

Outro mecanismo proposto, a partir de administração de substâncias pré, pró ou simbióticas é a restauração da mucosa intestinal e das junções oclusivas. Essa restauração pode limitar a absorção de lipopolissacarídeo e outros produtos bacterianos para a circulação sistêmica, reduzindo a ativação da via imune no intestino. As bactérias presentes no intestino são capazes de fermentar as fibras alimentares, produzindo os ácidos graxos de cadeia curta - o acetato, o propionato e o butirato. Um dos efeitos do butirato é a sua ação anti-inflamatória, que resulta na inibição da ativação do fator de transcrição *fator nuclear kappa β* (Gilmore, 1999), e consequentemente a redução na formação das citocinas pró-inflamatórias (Segain *et al.*, 2000). Ainda, as bactérias probióticas e seus metabólitos podem enviar sinais via nervo vago para regiões cerebrais envolvidas com a depressão e cognição (Maslowski *et al.*, 2009; Fukuda *et al.*, 2011; Forsythe *et al.*, 2012; Fung *et al.*, 2012; Matsumoto *et al.*, 2013; Mayer *et al.*, 2015). Assim, vários estudos têm demonstrado os efeitos benéficos do consumo de simbióticos no humor e na cognição (Steenbergen *et al.*, 2015; Akkasheh *et al.*, 2016; O'Hagan *et al.*, 2017).

2. Justificativa

A presença de sintomas depressivos e sinais de comprometimento cognitivo são relativamente comuns em idosos. Esses sintomas e sinais, se não identificados e modificados precocemente, podem aumentar o risco de desenvolvimento de quadros depressivos mais graves, ou ainda comprometimentos cognitivos que podem ser prodrômicos para as demências. Dessa forma, estudos que identifiquem e que proponham estratégias de prevenção do agravamento desses quadros, são essenciais em uma sociedade que está envelhecendo.

3. Hipóteses

O uso de substâncias simbióticas em idosos inseridos na comunidade, pode melhorar o ambiente intestinal, consequentemente reduzindo a permeabilidade intestinal, atenuando a inflação sistêmica. Esses benefícios poderiam ter efeito na manifestação inicial de sintomas depressivos ou de comprometimentos cognitivos.

4. Objetivos

O presente estudo tem como objetivos avaliar os efeitos da suplementação de uma substância simbiótica na permeabilidade intestinal, na inflamação crônica e sistêmica, e na manifestação de sintomas depressivos e comprometimento cognitivo em idosos residentes na comunidade.

5. Métodos

5.1 Tipo de Estudo

Trata-se de um estudo secundário a um estudo clínico maior “Efeitos da suplementação nutricional sobre a permeabilidade intestinal, a inflamação sistêmica e reflexos na composição corporal de idosos inseridos na comunidade”. Para o presente estudo, foram incluídas nas avaliações do projeto inicial as ferramentas de rastreio dos sintomas depressivos e do estado cognitivo, e os protocolos de suplementação, e serão descritos a seguir.

5.2 Casuística

Os idosos participantes do estudo eram residentes na comunidade, frequentadores de um Centro de Saúde Escola da Universidade de São Paulo, o Centro de Saúde Escola Geraldo de Paula Souza- Faculdade de Saúde Pública. A pesquisa foi iniciada em março 2013 e terminou em dezembro 2014.

5.3 Procedimentos para Recrutamento

Os pesquisadores frequentaram a sala de espera do Centro de Saúde, por um período de três meses. Nesse local, os idosos eram abordados e informados sobre os objetivos da pesquisa e então era feito o convite para participarem do estudo. Para aqueles que concordassem em participar da pesquisa, era agendada uma data na qual eram realizados testes relacionados aos critérios de inclusão e exclusão. A Figura 7 descreve o fluxograma desde o recrutamento dos idosos até o final do estudo.

5.4 Critérios de Inclusão

Os idosos que concordassem em participar deveriam ter entre 65 e 90 anos de idade, ambos os sexos, com índice de massa corporal (IMC) abaixo ou acima do intervalo de normalidade (abaixo de 23 ou acima de 27kg/m²); e deveriam preencher a pelo menos um critério de fragilidade, de acordo com Fried e colaboradores (2001), portanto, foram incluídos os idosos considerados como pre-frágeis.

5.5 Critérios de Exclusão

Os idosos que referiram ter apresentado alguma condição inflamatória crônica ou aguda ou doenças intestinais, nos últimos seis meses foram excluídos. Os participantes também não poderiam estar ingerindo à época do experimento, antibióticos, bem como qualquer substância potencialmente probiótica, prebiótica ou simbiótica (em cápsulas ou pó), ou alimentos industrializados que tivessem em sua composição a adição de algum tipo de probiótico ou prebióticos.

5.6 Aspectos Éticos e Registro Clínico

Todos os procedimentos realizados foram detalhados aos participantes, e também a importância de estarem inseridos no projeto durante os seis meses para a completa interpretação dos dados. Foi esclarecido aos mesmos, que eles tinham a liberdade de abandonar o estudo a qualquer momento, e também os riscos e benefícios da participação no estudo. Todos os resultados dos exames foram entregues aos idosos no final do estudo. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética da Escola de Artes, Ciências e Humanidades da Universidade de São Paulo (Processo número 200.870/2013) Anexo I, todos os participantes assinaram um termo de consentimento esclarecido (Anexo II). O estudo maior está devidamente registrado no Registro Brasileiro de Estudos Clínicos- REBEC (U1111-1155-0607).

5.7 Delineamento Experimental

O estudo foi dividido em cinco momentos, conforme descrito na Figura 6. Os momentos consistiram em abordagem, avaliação de critérios de inclusão e exclusão, avaliações iniciais, suplementação e avaliações finais.

Figura 6 - Delineamento Experimental

5.8 Grupos Experimentais

Após a aceitação dos idosos e avaliação dos critérios de inclusão e exclusão, foram constituídos três grupos experimentais de acordo com o estudo maior. O presente estudo incluiu apenas dois deles, a saber: a) o grupo “simbiótico”, que consumiu uma substância simbiótica [6 gramas de frutooligossacarídeo, *Lactobacillus para casei* (LPC37) 10^9 a 10^8 UFC, *Lactobacillus*

rhamnosus (HN001) 10^8 UFC, *Lactobacillus acidophilus* (NCFM) 10^9 a 10^8 UFC e *Bifidobacterium lactis* (HN019) 10^8 UFC]; b) o grupo “placebo”, que recebeu 6g de maltodextrina. Os participantes ingeriam duas doses diárias desses suplementos, uma dose pela manhã e outra à noite.

A randomização foi feita em blocos, computadorizada, por pessoas que não faziam parte nem do grupo de pesquisadores, nem dos avaliados. A randomização manteve-se cega, tanto para os pesquisadores quanto para os participantes, desde o início do experimento até o final das análises. O mesmo grupo que procedeu à randomização foi responsável pela preparação dos sachês com os suplementos. Ambos os grupos receberam a substância embalada em envelopes opacos, sem diferença entre os grupos da intervenção; os envelopes continham apenas o número correspondente ao participante, e esses envelopes eram embalados em caixas com 60 unidades cada. Os participantes receberam mensalmente no Centro de Saúde a caixa necessária para um mês de suplementação. Após o término de cada caixa, eles deveriam retornar à Unidade, para serem submetidos a algumas avaliações intermediárias e para receberem a caixa para o mês seguinte.

Durante os seis meses todos os idosos receberam ligações semanalmente, nas quais os pesquisadores indagavam sobre a adesão ao tratamento e os possíveis desconfortos. Ao final do sexto mês de suplementação e o início do sétimo mês os idosos foram reavaliados. Os resultados de todas as avaliações foram entregues a cada idoso, com as devidas explicações pertinentes aos resultados, após a conclusão de todas as análises de dados.

5.9 Cálculo Amostral

O cálculo amostral foi feito a partir da proposição de Cohen (1988) utilizando a estimativa da variável com maior variância, no caso os níveis de citocinas, como observado em estudo piloto (Neto *et al.*, 2013). Somado a isso, considerou-se a taxa de abandono observada no mesmo estudo, que foi em torno de 12%. Para o cálculo de f considerou-se que as magnitudes das diferenças entre os tratamentos com simbiótico e placebo são iguais (Cohen, 1988). Os resultados permitiram obter um f de 0,75, e um poder de 70%, e que resultou no número total de sujeitos necessários para compor a amostra como sendo 50, sendo 25 no grupo simbiótico e 25 no grupo placebo.

5.10 Avaliações Iniciais e Finais

Os participantes foram avaliados antes e após o término do experimento quanto aos seguintes aspectos:

Anamnese - com perguntas referentes a informações pessoais e de saúde (Anexo III).

Medidas antropométricas - o peso e a estatura foram aferidos por balança e estadiômetro, respectivamente, a partir dessas duas medidas foi calculado o índice de massa corporal – IMC = peso/altura²).

Sintomas depressivos - foram rastreados a partir da *Geriatric Depression Scale-15* - GDS-15 (Yesavage *et al.*, 1982). Este instrumento foi validado para a população brasileira, e contém 15 questões com resposta dicotômica – sim ou não. O ponto de corte utilizado para o rastreio de sintomas depressivos 5-6 (Paradela *et al.*, 2005) (Anexo IV). Para o presente estudo, optou-se por não utilizar o ponto de corte, e sim, o escore total obtido no questionário.

Avaliação do estado cognitivo - o rastreio cognitivo foi feito a partir da aplicação do instrumento Mini Exame do Estado Mental – MEEM (Bertolucci *et al.*, 1995). As respostas foram obtidas através de perguntas direto ao idoso. Para análise dos dados foi utilizado o escore final obtido nesse questionário (Anexo V).

Medidas bioquímicas - o sangue foi coletado após um período de jejum entre 8-12 horas. O sangue foi centrifugado, e o soro foi utilizado para as análises de citocinas IL-6, IL-10 e TNF- α , pelo método MAP = *Multiple Analyte Profiling* (HCYTMAG-60K-03; Millipore®);

Permeabilidade intestinal - a partir do soro, também foram avaliados os seguintes marcadores de permeabilidade intestinal: lipopolissacarídeo (LPS), *intestinal fatty-acid binding protein* (IFABP), e *diamine-oxidase* (DAO), todos por ELISA, utilizando os kits MyBiosource® número de catálogo MBS291479, MBS 261983, MBS268739, respectivamente.

5.11 Análise dos Dados

O presente estudo foi conduzido como intenção de tratar, os dados finais ausentes foram imputados de acordo com os valores da mediana do respectivo grupo. Após a organização e imputação dos dados, a normalidade foi verificada pelo teste Komorov-Smirnov. Nenhuma das variáveis investigadas apresentou distribuição normal, e por isso as variáveis foram transformadas por *Box-cox*, para que fossem realizadas análises paramétricas dos dados.

A descrição das variáveis (não transformadas) foi feita pela mediana e o intervalo. As variáveis transformadas foram comparadas por grupo (simbiótico e placebo) e pelo tempo (antes e depois da suplementação) usando ANOVA de medidas repetidas, com *LSD-test* como *post-hoc*.

Para investigar os efeitos simultâneos do tratamento e co-variáveis foi feita a análise de regressão (regressão geral, análise de covariância), como segue:

a) Modelo 1 - o escore do GDS-15 final foi considerando como variável dependente, e os preditores investigados: valor inicial do GDS-15, diferença entre valores inicial e final da

porcentagem de gordura ($\Delta\%$ gordura), Δ IL-6, Δ TNF- α , Δ DAO, Δ IFABP, e Δ LPS, idade, gênero e a intervenção (simbiótico e placebo);

b) Modelo 2 - a variável dependente era o escore final do MEEM e os preditores eram: MEEM inicial, $\Delta\%$ gordura, Δ IL-6, Δ TNF- α , Δ DAO, Δ FABP, e Δ LPS, idade, gênero e grupo de intervenção (simbiótico e placebo).

Para todos os modelos de regressão, os preditores tiveram sua entrada simultânea (método “enter”). As análises foram feitas usando o *Statistica software, version 13* (DELL®).

6. Resultados

Após a avaliação dos critérios de inclusão e exclusão, e também do declínio a participar por parte de alguns idosos, 74 participantes foram randomizados nos três grupos relativos ao estudo maior. Assim, a amostra do presente estudo secundário foi composta por 49 idosos, sendo 39 mulheres e 10 homens. A alocação nos grupos experimentais resultou em 25 idosos no grupo simbióticos e 24 no grupo placebo. A idade dos participantes variou entre 63 e 89 anos. A taxa de abandono do estudo foi aproximadamente 30%. O fluxograma do estudo está detalhado na Figura 7, e a descrição das razões para abandono encontra-se na Tabela 1.

Figura 7. Fluxograma do Estudo

Tabela 1 - Causas das desistências dos participantes durante o estudo

Causas das Desistências	Grupo Simbiótico	Grupo Placebo
Falecimento	0	1
Internação	1	0
Constipação	1	0
Cálculo renal	0	1
Razões não relacionadas especificamente aos suplementos ¹	2	5
Reclamação de mal-estar em geral ²	0	1
Total	4	8

¹Dificuldade em lembrar-se de ingerir o suplemento, dificuldade de transportar nas viagens, não ter rotina diária, marido reclamava, ²flatulência.

A descrição das variáveis investigadas juntamente com a análise comparativa, encontra-se na Tabela 2.

Tabela 2 - Análise descritiva dos dados iniciais e finais, e análises comparativas

Variáveis	Grupo	Inicial Mediana (intervalo) <i>Tmédia±DP</i> ^(a)	Final Mediana (intervalo) <i>Tmédia±DP</i> ^(a)	Valor de “p” ANOVA ^(b)		
				Tempo	Grupo	Interação
% Gordura	<i>S</i>	38,0 (16,8-48,5) 974,0±361,8*	37,7 (18,9-49,0) 69,6±16,4*	<0,001	0,34	0,34
	<i>P</i>	36,0 (25,3-45,8) 886,0±273,2*	32,1 (25,7-45,8) 62,5±11,1*			
IL-10 (ng/dL)	<i>S</i>	2,4 (0,8-8,6) 0,73±0,31*	2,5 (0,6-6,9) 0,93±0,35*	<0,001	0,93	0,05
	<i>P</i>	2,5 (1,1-26,1) 0,79±0,29	2,0 (0,7-8,2) 0,85±0,33			
IL-6 (ng/dL)	<i>S</i>	0,9 (0,7-16,6) 0,19±0,10*	0,9 (0,0-4,8) 0,49±0,19*	<0,001	0,26	0,32
	<i>P</i>	0,8 (0,7-4,4) 0,13±0,08*	0,9 (0,3-9,0) 0,48±0,15*			
TNF-α (ng/dL)	<i>S</i>	10,4 (3,5-21,8) 4,73±1,38*	14,0 (5,5-40,0) 3,16±0,49*	<0,001	0,87	0,69
	<i>P</i>	10,9 (4,1-15,1) 4,64±0,92*	15,6 (7,3-25,0) 3,17±0,37*			
DAO (ng/dL)	<i>S</i>	0,56 (0,10-1,71) 0,27±0,10* ^a	0,37 (0,11-1,21) 0,15±0,05*	<0,001	0,03	0,11
	<i>P</i>	0,40 (0,14-0,76) 0,22±0,07* ^b	0,32 (0,18-0,74) 0,13±0,03*			
IFABP (ng/dL)	<i>S</i>	0,01 (0,00-0,26) 0,03±0,04	0,02 (0,00-0,43) 0,03±0,04	0,71	0,99	0,21
	<i>P</i>	0,03 (0,00-0,36) 0,03±0,04	0,02 (0,00-0,29) 0,03±0,04			
LPS (ng/dL)	<i>S</i>	0,00(0,00-56,90) 0,16±0,37 ^a	0,00 (0,00-16,9) 0,15±0,22	<0,001	0,05	0,05
	<i>P</i>	0,95(0,00-85,90) 0,49±0,35* ^b	0,00 (0,00-8,90) 0,04±0,13*			
GDS-15	<i>S</i>	3,0 (0,0-11,0) 1,4±0,1*	3,0 (0,0-8,0) 2,4±0,2*	<0,001	0,82	0,47
	<i>P</i>	2,5 (1,0-10,0) 1,5±0,1*	3,0 (0,0-6,0) 2,3±0,2*			
MEEM	<i>S</i>	25,0 (17,0-29,0) 43097±3119*	25,9 (18,0-30,0) 59639±4107*	<0,001	0,51	0,25
	<i>P</i>	27,0 (19,0-30,0) 48635±3079*	26,5 (19,030,0) 59771±3369*			

^(a) Nenhuma variável contínua apresentou distribuição normal; portanto, foram descritas como mediana e intervalo. Para conduzir as análises paramétricas, as variáveis foram transformadas em *Box-cox*. A média e o desvio padrão foram obtidos a partir dos dados transformados (*TMean±SD*); ^(b)ANOVA de medidas repetidas; *diferença, no mesmo grupo, entre os diferentes tempos (inicial e final); letras diferentes significam diferenças entre os grupos, no mesmo momento.

A Tabela 3 o Modelo 1 de regressão linear múltipla (análise de covariância). Os valores do GDS-15 final foram significativamente explicados somente pela DAO (associação negativa). As variáveis que explicaram de forma positiva e não significativa o GDS-15 final foram o GDS-15 inicial (como esperado), a IL-6, a IFABP e o LPS. As variáveis que explicaram negativamente e de forma não significativa o GDS-15 final foram o IL-10, o TNF- α , a porcentagem de gordura, ser mulher e ser alocado no grupo placebo.

Tabela 3 - Regressão linear múltipla, Modelo 1 - Variável dependente GDS-15_{final} ^(a)

Modelo. 1 – (R²= 0,21; p=0,03) ^(b)		
Preditores	Beta ajustado (SE)	Valor de p (95% CI)
GDS inicial	0,30(0,15)	0,06 [(-0,010)-0,60]
Δ IL-10	-0,14 (0,16)	0,38 [(-0,47)-0,18]
Δ IL-6	0,21(0,16)	0,19 [(-0,11)-0,54]
Δ TNF- α	-0,04 (0,14)	0,76 [(-0,33)-0,24]
Δ %gordura	-0,20 (0,18)	0,26[(-0,57)-0,16]
Δ DAO	-0,35 (0,14)	0,02 [(-0,63) - (-0,06)]
Δ IFABP	0,04 (0,14)	0,78 [(-0,25-0,33]
Δ LPS	0,05 (0,16)	0,34 [(-0,26)-0,37]
Genêro (Feminino)	-0,22 (0,17)	0,19 [(-0,56)-0,12]
Grupo (Placebo)	-0,03 (0,16)	0,86 [(-0,35)-0,29]

^(a) Regressão linear múltipla. Todas as co-variáveis investigadas eram incluídas no modelo final, e a Tabela mostra somente as variáveis com estatística significativa ($p < 0,05$). Todas as variáveis foram transformadas em *Box-cox* antes das análises; ^(b) Método *enter*; ^(c) Todas as variáveis incluídas (*Enter method*).

A Tabela 4 mostra o modelo de regressão tendo o MEEM final como variável dependente. As variáveis significativamente associadas ao MEEM final foram o MEEM inicial (como esperado) e IL-10 (associação positiva). As variáveis que foram associadas positivamente e de forma não significativa ao MEEM final foram a DAO, ser mulher, e ser alocado no grupo placebo. As associações negativas, mas não significativas foram IL-6, TNF- α , porcentagem de gordura, a IFABP e o LPS.

Tabela 4 - Regressão linear múltipla, Modelo 2 - Variável dependente MEEM_{final}^(a)

(R²=0,39; p<0,001)^(c)		
Variáveis	Beta ajustado (SE)	Valor de p (95% CI)
MEEM inicial	0,51 (0,12)	<0,001 (0,25-0,76)
Δ IL-10	0,43(0,14)	0,004(0,14-0,73)
Δ IL-6	-0,15(0,13)	0,29 [(-0,42)-0,13]
Δ TNF- α	-0,02 (0,12)	0,83 [(-0,26)-0,21]
Δ %gordura	-0,17 (0,16)	0,30 [(-0,50)-0,16]
Δ DAO	0,16 (0,12)	0,20 [(-0,09)-0,40]
Δ IFABP	-0,02 (0,13)	0,85 [(-0,28)-0,23]
Δ LPS	-0,17 (0,14)	0,23 [(-0,45)-0,11]
Genêro (Feminino)	0,14 (0,15)	0,38 [(-0,28)-0,30]
Grupo (Placebo)	0,007 (0,14)	0,95 [(-0,28)-0,29]

^(a) Regressão linear múltipla. Todas as co-variáveis investigadas eram incluídas no modelo final, e a Tabela mostra somente as variáveis com estatística significante (p<0,05). Todas as variáveis foram transformadas em *Box-cox* antes das análises; ^(b) Método *enter*; ^(c) Todas as variáveis incluídas (*Enter method*).

Na Tabela 5, observa-se que não houve alteração do consumo de medicamentos para doenças crônicas em nenhum dos grupos, bem como nenhuma alteração no princípio ativo ou marca do medicamento.

Tabela 5 - Distribuição dos idosos segundo o consumo de medicamentos durante o estudo

Medicamentos	Simbiótico n=25	%	Placebo n=24	%
Antihipertensivo ¹	12	60,0	7	46,7
Hipolipemiente ²	9	75,0	6	40,0
Diurético ³	5	25,0	2	13,3
Hipoglicemiante ⁴	8	40,0	-	-

¹Enalapril, Captopril, Atenolol, Losartana, ²Orlistat, Sinvastatina, ³Modiretic, Hidroclorotiazida,

⁴Glicazida, Insulina, Metformina

Em relação aos hábitos alimentares e atividade física não houve alteração ao longo dos seis meses (dados não apresentados).

7. Discussão

A hipótese do presente estudo foi que a modulação do ambiente intestinal, por meio da suplementação de uma substância simbiótica, poderia melhorar aspectos relacionados à inflamação sistêmica, e consequentemente os desfechos relacionados ao cérebro. Após seis meses de suplementação com simbióticos em idosos pre-frágeis inseridos na comunidade, não foram encontradas diferenças (contra placebo, e na interação tempo vs. grupo) nos escores tanto do GDS-15 quanto no MEEM. Considerando somente o tempo no final do estudo, ambos os grupos, suplementado e placebo, mostraram um ligeiro aumento no escore do GDS-15 (o que indica piora dos resultados) e um ligeiro aumento no escore do MEEM (o que indica melhora nos resultados). Além disso, alguns preditores que compuseram nossos modelos de regressão confirmaram, pelo menos em parte, nossa hipótese, mas outros não. Com relação ao GDS-15, as associações positivas confirmaram nossa hipótese (IL-6 e IFABP); com respeito às associações negativas, a IL-10 confirmou nossa hipótese, mas o TNF- α e a DAO não confirmaram. Por um lado, associação positiva do MEEM com a DAO foi contra a nossa hipótese; por outro lado, a associação positiva com o IL-10 e as associações negativas com IL-6, IFABP, e LPS, além de ser alocado no grupo placebo, todas confirmaram a nossa hipótese.

Em resposta a nossa hipótese – se a suplementação de uma substância simbiótica é suficiente para propiciar alteração no escore do instrumento que rastreia os sintomas depressivos, e se há associação com o estado inflamatório (avaliado por algumas citocinas inflamatórias). Foi observado um aumento no GDS-15 sem a presença de sintomas depressivos nos dois grupos, portanto, não se observa efeito direto dos simbióticos nesses sintomas. No entanto, algumas associações encontradas nos modelos de regressão, podem indicar uma ação indireta dos simbióticos nos sintomas depressivos. O aumento plasmático da citocina anti-inflamatória IL-10 ocorreu apenas no grupo simbiótico, o que talvez possa ser explicado pela ação da bactéria *Lactobacillus paracasei* Lpc37, visto que ela tem a habilidade de induzir a expressão da IL-10 *in vitro* (Paineau *et al.*, 2008). Além disso, o nosso modelo de regressão indicou uma associação negativa entre o GDS-15 e a IL-10. O que podemos inferir desses achados é que, o simbiótico foi capaz de elevar a concentração da citocina anti-inflamatória, mas esse aumento não foi suficiente para reduzir a manifestação de sintomas depressivos. Talvez doses mais elevadas, ou um período maior de suplementação, poderiam ser pensados.

Nossos resultados diferem de muitos estudos que são otimistas em relação ao uso do simbiótico no estudo da depressão. De acordo com a pesquisa conduzida por Benton e colaboradores (2007) houve relato de um estado de maior felicidade em humanos após o consumo de *Lactobacillus casei* Shirota por três semanas. Assim também, no estudo conduzido por Steenberg e colaboradores (2015) o consumo das bactérias *Bifidobacterium bifidum* W23, *Bifidobacterium lactis* W52, *Lactobacillus acidophilus* W37, *Lactobacillus brevis* W63, *Lactobacillus casei* W56, *Lactobacillus salivarius* W24, *Lactococcus lactis* W19 e W58 durante quatro semanas, resultou em diminuição dos pensamentos de agressividade, desesperança e suicida, conforme relatos dos próprios participantes. Vale ressaltar que os indivíduos desse estudo, similarmente ao nosso estudo, não apresentavam diagnósticos de depressão (Kovacs e Beck, 1978; Haaga *et al.*, 1991; Scher *et al.*, 2005; Moulds *et al.*, 2008).

Em revisão sistemática conduzida por Wallace e Milev (2017) o consumo de probióticos por humanos em um período de 3 a 12 meses, pode aliviar os sintomas depressivos, porém isso foi identificado somente em indivíduos com diagnóstico de depressão, por gerar mudanças nas regiões cerebrais envolvidas no processo de emoção (Vlainic *et al.*, 2016). Tais mudanças podem ser em decorrência da atenuação da concentração plasmática das citocinas pró-inflamatórias IL-6 e TNF- α , da elevação na concentração plasmática de triptofano e da diminuição no metabólito da serotonina - o ácido 5-hidroxiindolacético no cérebro (Desbonnet *et al.*, 2008). No nosso estudo, não houve avaliação da serotonina e seus metabólitos, o que limita em parte, a avaliação dos nossos resultados.

Paradoxalmente, a IL-6 aumentou e o TNF- α reduziu em ambos os grupos. Ainda, houve associação positiva entre o GDS-15 e a IL-6, e negativa entre GDS-15 e TNF- α ; esses achados podem indicar que o estado inflamatório, mais do que a suplementação, tem um papel no desenvolvimento desses sintomas. A literatura tem tentado explicar a associação do aumento das citocinas pró-inflamatórias com a depressão, visto que elas acessam o cérebro e interagem em diferentes mecanismos, como na função e síntese de neurotransmissores e na plasticidade neuronal (Dantzer, O'connor, *et al.*, 2008; Miller *et al.*, 2009). No entanto, há uma maior associação da citocina pró-inflamatória com os indivíduos diagnosticados como depressivos, comparados aos indivíduos que apresentam apenas sintomas depressivos (Hiles *et al.*, 2012). Em uma revisão sistemática, foi sugerido que a inflamação aguda pode causar mudanças no processo social e emocional,

com papel importante no desenvolvimento e manutenção da depressão. Esses achados levaram os autores da revisão a sugerirem que situações agudas podem ser diferentes de um estado inflamatório crônico (Wilson *et al.*, 2002), o que é o foco de nosso estudo.

A citocina TNF- α induz a ruptura sináptica, levando a um prejuízo na neuroplasticidade e acelerando a apoptose neuronal (Rosenblat *et al.*, 2014). Apesar de estudos demonstrarem os efeitos pró-inflamatórios das citocinas IL-6 e TNF- α associados à depressão e comprometimento da cognição, vale ressaltar que elas são importantes para a sobrevivência dos neurônios, para a regeneração do nervo periférico, e também apresentam efeito anti-inflamatório. Em animais com deficiência em IL-6 foi observado prejuízo na regeneração neuronal e efeitos tróficos no desenvolvimento dos neurônios e da glia (Loddick *et al.*, 1998). Apesar do aumento das citocinas pró-inflamatórias ser associada à depressão e ao comprometimento da cognição, a avaliação destes marcadores isoladamente talvez não seja a melhor opção, visto que alguns fatores presentes no envelhecimento como a alteração do estado nutricional, a presença de doenças crônicas, os efeitos colaterais de medicamentos, a interação com o ambiente social, viuvez, o isolamento social podem ser um viés (Lawhorne, 2005; Briggs *et al.*, 2016).

A outra hipótese deste estudo foi - se a suplementação de uma substância simbiótica é suficiente para propiciar alteração no escore do instrumento que rastreia um possível comprometimento da cognição, e se o estado inflamatório tem relação com essa possível mudança. Nos dois grupos houve um aumento no escore do MEEM. Portanto, algum aspecto não relacionado à suplementação, ou ao placebo, levou a essa melhora na ferramenta utilizada. Uma questão que muito se discute com relação a ferramentas similares ao MEEM, é que os idosos são capazes de “aprender” as questões, ou “treinar” para responde-las, o que pode ser considerado um viés do instrumento. Talvez o tempo de seis meses entre a primeira e a última aplicação do instrumento não tenha sido suficiente para que essa investigação fosse livre desse viés.

Por sua vez, no estudo conduzido por Benton e colaboradores (2007), no qual os indivíduos que consumiram *Lactobacillus casei* Shirota em leite fermentado não demonstraram melhora na memória em relação ao grupo que consumiu o placebo. Na mesma linha, Kelly e colaboradores (2017) não demonstraram uma superioridade da suplementação de *Lactobacillus rhamnosus* (JB-1) em relação ao placebo na função cognitiva, o que corrobora os resultados do presente estudo. Por sua vez, Messoudi e

colaboradores (2011) demonstraram que, após o consumo de *Lactobacillus helveticus* R0052 e *Bifidobacterium longum* RO175 por um período de 30 dias, os participantes demonstraram uma melhora em resolver problemas.

Com relação às citocinas inflamatórias, os resultados relativos à cognição foram bastante coerentes. Os valores finais do MEEM apontaram associação positiva com a IL-10 e negativa com as demais (embora os resultados não tenham sido significativos). Na literatura é observado que o aumento das citocinas pró-inflamatórias IL-6 e TNF- α têm sido associado com mudanças cognitivas desfavoráveis, principalmente no processo de aprendizado e na memória (Weaver *et al.*, 2002); a citocina IL-6 tem sido considerada um preditor do declínio cognitivo, apesar de resultados contraditórios na literatura (Wilson *et al.*, 2002). Em outro estudo, os idosos apresentaram associação positiva entre a concentração plasmática de IL-6 e o declínio cognitivo, mesmo após os autores considerarem os dados com a presença de *diabetes mellitus*, de hipertensão arterial, da depressão, do consumo de álcool e fumo (Economos *et al.*, 2013). A associação da IL-6 com o comprometimento cognitivo tem sido observada em idosos deprimidos, mas não em idosos saudáveis. Estudos indicam que apenas o aumento de uma citocina pró-inflamatória isoladamente não interfere na memória de idosos saudáveis (Charlton *et al.*, 2017), visto que a cognição é afetada por diversos fatores como o volume do hipocampo, grau de educação, memória de recuperação e aprendizado (Cardenas *et al.*, 2011).

Bollen e colaboradores (2017) conduziram uma revisão sistemática para demonstrar os efeitos da inflamação aguda na cognição, e se ela estava associada com negativo viés no processo emocional. Os autores demonstraram que a inflamação aguda estava associada a alguma mudança na atenção e função executiva, no entanto, na maioria dos estudos desta revisão essa observação não se repetiu. As limitações dessa comparação na revisão sistemática foram as diferenças nos métodos de indução da inflamação, a magnitude da resposta inflamatória, ou ainda a diferença no momento da avaliação da cognição.

No presente estudo também foi investigado – se uma substância simbiótica pode modular a permeabilidade intestinal e interferir nos marcadores inflamatórios. Foi demonstrado em ambos os grupos uma redução na DAO. Esta enzima é localizada na parte intracelular do epitélio celular, sensível a leves alterações da barreira intestinal, e quando a permeabilidade está aumentada ela migra para o lúmen intestinal, e então

adentra a corrente sanguínea (Luk *et al.*, 1980; Song *et al.*, 2009). Também houve uma redução do LPS em ambos os grupos, sendo uma maior diminuição no grupo placebo quando considerado interação grupo e tempo. O LPS é uma medida indireta da função da barreira intestinal, não é específica de um tecido, e atravessa a barreira intestinal paracelular em condições de estresse severo ou eventos agudos (Galipeau e Verdu, 2016). IFABP não mostrou diferença estatisticamente significativa em ambos os grupos e no tempo.

Estudo demonstrou que a suplementação de simbióticos atuou favoravelmente na permeabilidade intestinal paracelular, diminuindo as concentrações de LPS. O simbiótico desse estudo era composto por VSL#3 (composto por *Lactobacillus acidophilus* SD5212, *Lactobacillus casei* SD5218, *Lactobacillus bulgaricus* SD5210, *Lactobacillus plantarum* SD5209, *Bifidobacterium longum* SD5219, *Bifidobacterium infantis* SD52201 *Bifidobacterium breve* SD5206, *Streptococcus thermophilus* SD5207). Tal efeito foi atribuído a uma modulação nas junções oclusivas, mediado diretamente pelo aumento da expressão do TNF- α no epitélio intestinal de ratos (Pagnini *et al.*, 2010; Corridoni *et al.*, 2012).

Complementando, vale ressaltar que as bactérias usadas no presente estudo, o *Lactobacillus para casei* LPC37 apresenta ação estimulante da citocina anti-inflamatória IL-10 e o *Bifidobacterium lactis* HN019 ação estimulante da citocina TNF- α *in vitro* (Liu *et al.*, 2010). Talvez isso tenha ocorrido no presente estudo, uma vez que o aumento da citocina IL-10 foi maior no grupo simbiótico que placebo. E este aumento pode ter ocorrido devido à capacidade que aquelas cepas têm em aderir à mucosa epitelial, e prolongar o tempo de ação do probiótico no intestino. Isso proporciona um contato direto das bactérias com a via imune, o que pode levar a uma melhor modulação da resposta imune.

As outras bactérias usadas no presente estudo o *Lactobacillus acidophilus* NCFM e *Lactobacillus rhamnosus* HN001 apresentam algumas habilidades, como a produção de bacteriocinas, a adesão nas células intestinais, maior tolerância ao ácido do estômago e aos sais biliares no intestino. Com todas estas habilidades a interação das cepas pode promover uma estabilização da microbiota autóctone, e com isso melhorar a permeabilidade intestinal. O presente estudo tentou encontrar uma informação indireta da inflamação que poderia refletir a atividade da bactéria no intestino, porém não foi medido

o perfil de bactérias, e nem mesmo o butirato nas fezes dos idosos (Zoetendal *et al.*, 2002; Lebeer *et al.*, 2010); estas substâncias poderiam indicar uma possível efetividade dos probióticos.

Desta maneira não se pode afirmar que a elevação de um marcador inflamatório como, por exemplo, a IL-6 ou TNF- α *per si* é o suficiente para causar dificuldade na memória e aprendizado, ou ainda desencadear sintomas depressivos (Charlton *et al.*, 2017). Vale mencionar a importância das citocinas e suas propriedades ambíguas. As citocinas agem de maneira autócrina, parácrina, como hormônios, com atividade pleiotrópica e com ações sobrepostas antagônicas ou sinérgicas, sendo que uma exposição simultânea a diferentes citocinas pode resultar em diferentes respostas nas células-alvo, uma citocina pode tanto aumentar, quanto diminuir a produção de outra citocina (Marques *et al.*, 2007). Qual efeito, se anti ou pró inflamatório predominará, depende de vários fatores, como a presença de comorbidades, alteração do estado nutricional, a intensidade com que ocorre a injúria, a síndrome metabólica, o risco cardiovascular, as condições socioeconômicas e saúde de um modo geral (Wilson *et al.*, 2002; Charlton *et al.*, 2017).

Outro aspecto importante na nossa amostra experimental é a presença de medicamentos. Os nossos idosos consumiam de 1 a 4 medicamentos para doenças crônicas não transmissíveis. E, o uso de medicamentos não foi um critério de exclusão, uma vez que a condução do experimento visava justamente aproximar a realidade dos idosos do presente estudo com os idosos da comunidade. Dificilmente se consegue excluir o consumo de medicamento em uma pesquisa com idosos, por diversos fatores desde éticos até a própria condição de saúde do indivíduo. Desta maneira, nosso estudo apenas relacionou os medicamentos que os idosos consumiam para as doenças crônicas não transmissíveis, como a dislipidemia, a resistência à insulina e a hipertensão arterial.

Por isso, julgamos importante tecer comentários a respeito de um possível efeito dos medicamentos em nossos resultados. Neste estudo, a estatina foi o medicamento mais utilizado para modulação do colesterol em ambos os grupos. A estatina aumenta a biodisponibilidade do óxido nítrico, através do aumento da enzima óxido nítrico sintetase endotelial (Laufs *et al.*, 1997; O'driscoll *et al.*, 1997), o que resulta em uma melhora da vascularização dos vasos sanguíneos (Yaffe *et al.*, 2002) e com isso uma possível melhora da cognição. Em casos raros a estatina pode ser associada a uma piora da cognição, porém a causalidade ainda não foi comprovada. Conforme Wagstaff e colaboradores (2003) um

possível mecanismo para a associação da estatina com pior escore na cognição pode ser a inibição excessiva de colesterol pelas estatinas, o que resultaria em uma possível inibição do metabolismo do colesterol cerebral. Para Samaras e colaboradores (2016) o uso da estatina não traz malefícios nem benefícios para o indivíduo com Alzheimer, e evidências demonstram que não levaria a um risco de prejuízo cognitivo, nem uma piora cognitiva em idosos com a cognição normal.

Vários estudos têm demonstrado uma associação positiva entre estatina e depressão, devido à diminuição do colesterol, com consequente diminuição da porção lipídica das membranas das células cerebrais, o que afetaria a função dos neurotransmissores e diminuição da atividade serotoninérgica (Wagstaff *et al.*, 2003; Parsaik *et al.*, 2014). No entanto, há evidências que a propriedade anti-inflamatória das estatinas pode ser útil no tratamento da depressão pela redução do estresse oxidativo (Parisaik *et al.*, 2014), e pela inibição da enzima indolamina com consequente aumento na concentração plasmática de triptofano; esses aspectos foram bastante estudados em ratos (Kilic *et al.*, 2012; Mcfarland *et al.*, 2014; Abassi *et al.*, 2015). De acordo com Salagre (2016) o uso da estatina pode ser um tratamento adjunto na depressão; no entanto, todo cuidado deve ser observado de acordo com as diferentes características dos pacientes.

O anti-hipertensivo foi outro medicamento usado pelos idosos deste estudo. Saxby e colaboradores (2003) observaram uma associação com a piora na função cognitiva em idosos com o uso de anti-hipertensivo. Já em outro estudo, houve efeito positivo na função cognitiva (Fogari *et al.*, 2003). Tedesco e colaboradores (1999) demonstraram que durante 26 meses de uso de anti-hipertensivo ocorreu melhora na memória e preservação da função cognitiva em idosos afro-americanos (Murray *et al.*, 2002). O uso de medicamento com ação diurética como adjuvante no tratamento da hipertensão demonstrou associação positiva com a cognição (Yasar *et al.*, 2012).

Outro distúrbio frequente com o envelhecimento é a alteração no metabolismo da glicose, que tem sido associada ao comprometimento cognitivo. Os idosos deste estudo também apresentavam alteração da glicemia e o uso de medicamentos hipoglicemiantes. Ng e colaboradores (2014) demonstraram após seis anos de uso de Metformina, uma tendência ao menor risco de comprometimento cognitivo. Há controvérsias na literatura se a Metformina está associada à melhora da cognição ou se a normalização da glicemia explicaria tal efeito. Guo e colaboradores (2014) observaram efeitos benéficos nos sintomas depressivos e função cognitiva em diabéticos com depressão após o uso de

Metformina durante 24 semanas, os autores inferiram que o benefício seria decorrente da normalização da glicemia proporcionada pelo medicamento.

Outro aspecto que vale ser explorado em nosso estudo - se existe a possibilidade de interação da microbiota intestinal com os medicamentos usados pelos idosos? A interação da microbiota com os medicamentos no organismo faz parte do conceito de metabolismo xenobiótico, que se refere às modificações bioquímicas dos constituintes dos medicamentos ou alimentos por organismos vivos dentro do corpo (Saad *et al.*, 2012). A microbiota intestinal pode alterar o metabolismo dos medicamentos: a) de maneira direta pela produção de enzimas que degradam ou ativam as moléculas das drogas; b) pela competição das moléculas das drogas e das enzimas produzidas no organismo; c) pela modulação da atividade ou da alteração nos níveis de enzimas metabolizadas pelo hospedeiro; e d) pela produção de metabólitos derivados da dieta que podem interagir com os medicamentos (Saad *et al.*, 2012; Lu *et al.*, 2015).

Um exemplo da interação da microbiota com medicamento é a alteração induzida por Metformina na abundância das bactérias presentes no intestino a *Akkermansia muciniphila* spp. Esta bactéria tem a habilidade de aumentar a produção de mucina no epitélio intestinal, e com isso a adesão das bactérias ao muco (Ng *et al.*, 2014). Isso sugere uma manipulação farmacológica da Metformina a favor da *Akkermansia muciniphila* ssp (Lee e Ko, 2014; Shin *et al.*, 2014; Hur e Lee, 2015; Zuluaga *et al.*, 2017), visto que a biodisponibilidade da Metformina é diferente no intestino e no plasma. A sua acumulação no intestino é 300 vezes aquela do plasma, o que faz do intestino o primeiro reservatório deste medicamento no corpo (Bailey *et al.*, 2008).

Outro aspecto é a ação das bactérias na degradação da Sinvastatina. Essa ação foi observada nas fezes de indivíduos, e isso pode estar associado a alteração da propriedade farmacológica desta droga, e com isso a sua diminuição na ligação ao receptor (Aura *et al.*, 2010).

Finalmente, é importante destacar que o estudo da interação da microbiota na ação de medicamentos é um trabalho árduo, e que emerge muitas questões, uma vez que a variação do microbioma ocorre entre indivíduos, intra-indivíduos, com o decorrer dos anos, com o próprio desenvolvimento do organismo, na presença de hormônios, de acordo com diferentes dietas, e ainda o efeito da droga em diferentes situações dentro do mesmo indivíduo (Aziz *et al.*, 2011; Ursell *et al.*, 2012; ElRakaiby *et al.*, 2014).

Alguns pontos são levantados para futuras pesquisas: a) a suplementação de simbióticos parece ser promissora no manejo dos sintomas depressivos em indivíduos que apresentam sintomas depressivos ou diagnóstico de depressão, ou com algum comprometimento da cognição; b) a escolha de um marcador que avalie a permeabilidade intestinal é difícil; c) o momento adequado para as medidas de citocinas inflamatórias, uma vez que a vida útil delas é cerca de poucos minutos, e vários fatores podem interferir na sua dosagem, como por exemplo: estresse, uma noite de sono agitado; c) a avaliação das bactérias presentes nas fezes seria interessante como método indireto para a verificação se houve a adesão dos probióticos na mucosa intestinal; d) avaliação de possíveis neurotransmissores e seus metabólitos, como por exemplo; a serotonina, o triptofano e o ácido 5-hidroxiindolacético; e) avaliação metabólitos derivados da fermentação das bactérias como o butirato; f) a utilização de mais de um instrumento para avaliar a cognição e depressão; g) um tempo maior de suplementação dos simbióticos; h) a escolha de outras cepas ou a administração de uma única cepa; i) a forma de apresentação do simbiótico, talvez fosse interessante em cápsula pela facilidade de transporte e armazenamento.

8. Conclusões

Como principais conclusões, nossas condições experimentais apontaram efeitos sutis da suplementação de simbióticos no manejo tanto dos sintomas depressivos quanto dos aspectos cognitivos, em idosos aparentemente saudáveis que vivem na comunidade. Cabe destacar que os efeitos dessa substância na cognição parecem ter apontado para um horizonte mais otimista do que nos sintomas depressivos. Estudos futuros, com indivíduos com sintomas depressivos mais significativos, ou com comprometimento cognitivo, poderiam direcionar melhor os aspectos observados no presente estudo.

Referências

- ABBASI, S.H. et al. Simvastatin versus atorvastatin for improving mild to moderate depression in post-coronary artery bypass graft patients: A double-blind, placebo-controlled, randomized trial. **J Affect Disord**, v. 183, p. 149-55, Sep 01, 2015.
- 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**, v. 32, n. 3, p. 315-20, Mar 2016.
- ALMEIDA O.P.; ALMEIDA, S.A. Short versions of the geriatric depression scale: a study of their validity for the diagnosis of a major depressive episode according to ICD-10 and DSM-IV. **Int J Geriatric Psychiatry**, 14: 858-865, 1999(a).
- ALMEIDA, O.P.; ALMEIDA, S.A. Reliability of the Brazilian version of the Geriatric Depression Scale (GDS) short form. **Arq Neuropsiquiatria**, v. 57:421-426, 1999(b).
- ANDERSON, J.M. Molecular structure of tight junctions and their role in epithelial transport. **News Physiol Sci**, v. 16, p. 126-30, Jun 2001.
- APA. DSM-5 - Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais. **Artmed Editora**. 2014.
- AURA, A.M. et al. Drug metabolome of the Simvastatin formed by human microbiota in vitro. **The Royal Society of Chemistry**, v.1, 1 2010.
- AZIZ, R.K; SAAD, R.; RIZKALLAH, M.R. Pharmacomicrobiomics or how bugs modulate drugs: An educational initiative to explore the effects of human microbiome on drugs. **BMC Bioinformatics** 12, A10, 2011.
- AYABE, T. et al. Secretion of microbicidal alpha-defensins by intestinal Paneth cells in response to bacteria. **Nat Immunol**, v. 1, n. 2, p. 113-8, Aug 2000.
- BAILEY, C.J.; WILCOCK, C.; SCARPELLO, J.H. Metformin and the intestine. **Diabetologia**, v. 51, n. 8, p. 1552-3, Aug 2008.
- BANKS, M.I.; WHITE, J.A.; PEARCE, R.A. Interactions between distinct GABA circuits in hippocampus. **Neuron**, v. 25, n. 2, p. 449-57, Feb 2000.
- BEEKMAN, A.T.; DE BEURS, E.; VAN BALKOM, A.J; DEEG, D.J; VAN DYCK, R.; VAN TILBURG, W. Anxiety and depression in later life: Co-occurrence and communality of risk factors. **Am J Psychiatry**, 157(1):89-95, 2000.
- BENNETT, D.A. et al. Natural history of mild cognitive impairment in older persons. **Neurology**, v. 59, n. 2, p. 198-205, Jul 23, 2002.
- BENTON, D.; WILLIAMS, C.; BROWN, A. Impact of consuming a milk drink containing a probiotic on mood and cognition. **Eur J Clin Nutr**, v. 61, n. 3, p. 355-61, Mar 2007.
- BERTOLUCCI, P.H.F.; BRUCKI, S.M.D.; CAMPACCI, S.R.; JULIANO, Y. O Mini-Exame do Estado Mental em uma população geral. Impacto da escolaridade. **Arq Neuropsiquiatr**, 52(1):1-7, 1994.
- BIELECKA, M.; BIEDRZYCKA, E.; MAJKOWSKA, A. Selection of probiotics and prebiotics for synbiotics and confirmation of their in vivo effectiveness. **Food Research International**, v. 35, n. 2-3, p. 125-131, 2002.
- BLAZER, D.G. Depression in late life: review and commentary. **J Gerontol A Biol Sci Med Sci**, 58(3):249-65, 2003.
- BOLLEN, J. et al. The effects of acute inflammation on cognitive functioning and emotional processing in humans: A systematic review of experimental studies. **J Psychosomatic Res**, v. 94, p. 47-55, Mar 2017.
- BOURLIOUX, P.; KOLETZKO, B.; GURNER, F.; BRAESCO, V. The intestine and its microflora are partners for the protection of the host: report on the Danone Symposium "The Intelligent Intestine". **Am Clin Nutr**, v.78, n.4, p.675-83, 2003.
- BRAVO, J.A. et al. Ingestion of Lactobacillus strain regulates emotional behavior and central GABA receptor expression in a mouse via the vagus nerve. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 108, n. 38, p. 16050-5, Sep 20, 2011.
- BRETANHA, A.F. et al. Sintomas depressivos em idosos residentes em áreas de abrangência das Unidades de Saúde da zona urbana de Bagé, RS. **Rev Bras Epidemiol**, jan-mar, 18(1): 1-12, 2015.

BRIGGS, R.; KENNY, R.A.; KENNELLY, S.P. Systematic Review: The Association between Late Life Depression and Hypotension. **J Am Med Dir Assoc**, Aug 11, 2016.

CANI, P.D.; DELZENNE, N.M. The role of the gut microbiota in energy metabolism and metabolic disease. **Curr Pharm Des**, v. 15, n. 13, p. 1546-58, 2009.

CAPURON, L.; MILLER, A.H. Immune system to brain signaling: neuro psychopharmacological implications. **Pharmacol Ther**, 130: 226-238, 2011.

CARABOTTI, M.; SCIROCCO, A.; MASELLI, M.A.; SEVERI, C. The gut-brain axis: interactions between enteric microbiota, central and enteric nervous systems. Review. **Annals of Gastroenterology**, 28, 203-209, 2015.

CARDENAS, V.A. et al. Brain atrophy associated with baseline and longitudinal measures of cognition. **Neurobiology Aging**, v. 32, n. 4, p. 572-80, Apr 2011.

CARICILLI, A.M.; SAAD, M.J. The role of gut microbiota on insulin resistance. **Nutrients**, 12;5(3):829-51, 2013.

CASTELO, M.S.; COELHO-FILHO, J.M.; CARVALHO, A.F.; LIMA, J.W.; NOLETO, J.C.; RIBEIRO, K.G.; SIQUEIRA-NETO, J.I. Validity of the Brazilian version of the Geriatric Depression Scale (GDS) among primary care patients. **Int Psychogeriatric**, 22(1):109-13, 2010.

CASTRO-DE-ARAÚJO, L.F.; BARCELOS-FERREIRA, R.; MARTINS, C.B.; BOTTINO, C.M. Depressive morbidity among elderly individuals who are hospitalized, reside at long-term care facilities, and are under outpatient care in Brazil: a meta-analysis. **Rev Bras Psiquiatr**, 35(2):201-7, 2013.

CHA, S.T.R. Avaliação transversal da qualidade de vida de idosos participantes de centros de convivência e institucionalizados por meio do questionário genérico WHOQOL-BREF. **Horizonte Científico**. 1, 2006.

CHARLTON, R.A. et al. Associations between pro-inflammatory cytokines, learning, and memory in late-life depression and healthy aging. **Int J Geriatr Psychiatry**, Mar 08, 2017.

COHEN, J. Statistical Power Analysis for the Behavioral Sciences. New Jersey: 1988.

COLE, M.G.; BELLAVANCE, F. Depression in elderly medical inpatients: a meta-analysis of outcomes. **Cmaj**, v. 157, n. 8, p. 1055-60, Oct 15, 1997.

CORRIDONI, D. et al. Probiotic Bacteria Regulate Intestinal Epithelial Permeability in Experimental Ileitis by a TNF-Dependent Mechanism. **PLOS ONE**, 7(7): e42067, 2012.

CRYAN, J.F.; VALENTINO, R. J.; LUCKI, I. Assessing substrates underlying the behavioral effects of antidepressants using the modified rat forced swimming test. **Neurosci Biobehav Rev**, v. 29, n. 4-5, p. 547-69, 2005.

DANTZER, R.; O'CONNOR, J.C.; FREUND, G.C; JOHNSON, R.W.; KELLEY, K.W. From inflammation to sickness and depression: when the immune system subjugates the brain. **Nat Rev Neurosci**, v. 9, n. 1, p. 46-56, Jan 2008.

DE BEURS, E.; BEEKMAN, A.T.; VAN BALKOM, A.J.; DEEG, D.J.; VAN DYCK, R.; VAN TILBURG, W. Consequences of anxiety in older persons: its effect on disability, well-being and use of health services. **Psychol Med**, v. 29(3):583-93, 1999.

DE MELO, D.M.; BARBOSA, A.J. Use of the Mini-Mental State Examination in research on the elderly in Brazil: a systematic review. **Cien Saúde Colet**, v. 20(12):3865-76, 2015.

DESBONNET, L. et al. The probiotic *Bifidobacterium infantis*: An assessment of potential antidepressant properties in the rat. **J Psychiatr Res**, v. 43, n. 2, p. 164-74, Dec, 2008.

DINAN, T.G.; STANTON, C.; CRYAN, J.F. Psychobiotics: a novel class of psychotropic. **Biol Psychiatry**, v. 74, n. 10, p. 720-6, 2013.

DOUGLAS, L.C.; SANDERS, M.E. Probiotics and prebiotics in dietetics practice. **J Am Diet Assoc**, v.108:510-21, 2008.

DOYLE, A.; ZHANG, G.; ABDEL, F.E.A.; EISSA, N.T.; LI, Y.P. Toll-like receptor 4 mediates lipopolysaccharides-induced muscle catabolism via coordinate activation of ubiquitin-proteasome and autophagy-lysosome pathways. **FASEB J**, 25(1):99-110, 2011.

ECONOMOS, A. et al. Interleukin 6 plasma concentration associates with cognitive decline: the northern Manhattan study. **Neuroepidemiology**, v. 40, n. 4, p. 253-9, 2013.

ELRAKAIBY, M.; DUTILH, B.E.; RIZKALLAH, M.R.; BOLEIJ, A.; COLE, J.N.; AZIZ, R.K. Pharmacomicrobiomics: The Impact of Human Microbiome Variations on Systems Pharmacology and Personalized Therapeutics. **A Journal of Integrative Biology**, v.18, n.7, 2014.

EVRENSEL, A.; CEYLAN, M.E. The Gut-Brain Axis: The Missing Link in Depression. **Clinical Psychopharmacology and Neuroscience**, v.13, (3):239-244, 2015.

FINK, M. P.; DELUDE, R. L. Epithelial barrier dysfunction: a unifying theme to explain the pathogenesis of multiple organ dysfunction at the cellular level. **Crit Care Clin**, v.21, n. 2, p. 177-96, Apr 2005.

FOGARI, R. et al. Influence of losartan and atenolol on memory function in very elderly hypertensive patients. **J Hum Hypertension**, v. 17, n. 11, p. 781-5, 2003.

FORSYTHE, P.; KUNZE, W.A.; BIENENSTOCK, J. On communication between gut microbes and the brain. **Curr Opin Gastroenterol**, v. 28, n. 6, p. 557-62, Nov 2012.

FRANCESCHI, C.; BONAFE, M.; VALENSIN, S. Human immunosenescence: the prevailing of innate immunity, the failing of clonotypic immunity, and the filling of immunological space. **Vaccine**, v. 18, n. 16, p. 1717-20, Feb 25, 2000.

FRANCESCHI, C.; CAPRI, M.; MONTI, D.; GIUNTA, S.; OLIVIERI, F.; SEVINI, F.; PANOURGIA, M.P.; INVIDIA, L.; CELANI, L.; SCURTI, M.; CEVENINI, E.; CASTELLANI, G.C.; SALVIOLI, S. Inflammaging and anti-inflammaging: A systemic perspective on aging and longevity emerged from studies in humans. **Mechanisms of Ageing and Development**, 128: 92-105, 2007.

FRICK, B. et al. Increasing production of homocysteine and neopterin and degradation of tryptophan with older age. **Clin Biochem**, v. 37, n. 8, p. 684-7, Aug 2004.

FRIED, L.P. et al. Frailty in older adults: evidence for a phenotype. **J Gerontol A Biol Sci Med Sci**, v. 56, n. 3, p. M146-56, Mar 2001.

FUKUDA, S. et al. Bifidobacteria can protect from enteropathogenic infection through production of acetate. **Nature**, v. 469, n. 7331, p. 543-7, Jan 27 2011.

FUNG, K.Y. et al. A review of the potential mechanisms for the lowering of colorectal oncogenesis by butyrate. **Br J Nutr**, v. 108, n. 5, p. 820-31, Sep 2012.

GALIC, S.; OAKHILL, J.S.; STEINBERG, G.R. Adipose tissue as an endocrine organ. **Mol Cell Endocrinol**, v. 316 (2):129-39, 2010.

GALIPEAU, H.J.; VERDU, E.F. The complex task of measuring intestinal permeability in basic and clinical science. **Neurogastroenterol Motil**, v. 28, n. 7, p. 957-65, Jul 2016.

GAYATHRI, R.; RUCHI, V.; MOHAN, V. Impact of nutrition transition and resulting morbidities on economic and human development. **Curr Diabetes Rev**. 2016.

GILMORE, T.D. The Rel/NF- κ B signal transduction pathway: introduction. **Oncogene**, 18, 6842-6844, 1999.

GIUNTA, B.; FERNANDEZ, F.; NIKOLIC, W.V.; OBREGON, D.; RRAPO, E.; TOWN, T.; TAN, J. Inflammaging as a prodrome to Alzheimer's disease. **J Neuroinflammation**, 11(5):51, 2008.

GIUNTA, S. Exploring the complex relations between inflammation and aging (inflammaging): anti-inflammaging remodeling of inflammaging, from robustness to frailty. **Inflamm Res**, 57(12):558-63, 2008.

GRIFFTITHS, E.A.; DUFFY, L.C.; SCHANBACHER, F.L.; QIAO, H. DRYJA, D.; LEAVENS, A.; ROSSMAN, J. RICH, G.; DIRIENZO, D. OGRA, P.L. In vivo effects of bifidobacteria and lactoferrin on gut endotoxin concentration and mucosal immunity in Balb/c mice. **Dig Dis Sci**, 49(4):579-89, 2004.

GUARNER, F.; KHAN, A.G.; GARISCH, J. et al. World Gastroenterology Organization Global Guidelines: probiotics and prebiotic. **J Clin Gastroenterol**, 46(6):468-81, 2012.

GUIGOZ, Y.; DORE, J.; SCHIFFRIN, E. J. The inflammatory status of old age can be nurtured from the intestinal environment. **Curr Opin Clin Nutr Metab Care**, v. 11, n. 1, p. 13-20, Jan 2008.

GUO, M. et al. Metformin may produce antidepressant effects through improvement of cognitive function among depressed patients with diabetes mellitus. **Clin Exp Pharmacol Physiol**, v. 41, n. 9, p. 650-6, Sep 2014.

GRIZZI, F.; CARO, G.; LAGHI, L.; HERMONAT, P.; MAZZOLA, P.; NGUYEN, D.D.; RADHI, S.; FIGUEROA, J.A.; COBOS, E.; ANNONI, G.; CHIRIVA-INTERNATI, M. Mast cells and the liver aging process. **Immun Ageing**, 10(1):9, 2013.

HAAGA, D.A.; DYCK, M.J.; ERNST, D. Empirical status of cognitive theory of depression. **Psychol Bull**, v. 110, n. 2, p. 215-36, Sep, 1991.

HANCOCK, P.; LARNER, A.J. The diagnosis of dementia: diagnostic accuracy of an instrument measuring activities of daily living in a clinic-based population. **Dement Geriatr Cogn Disord**, v. 23, n. 3, p. 133-9, 2007.

HARDY, H.; HARRIS, J.; LYON, E.; BEAL, J.; FOEY, A.D. Probiotics, Prebiotics and Immunomodulation of Gut Mucosal Defenses: Homeostasis and Immunopathology. **Nutrients**, 5, 1869-1912, 2013.

HEIMER, L.; VAN HOESSEN, G.W. The limbic lobe and its output channels: implications for emotional functions and adaptive behavior. **Neurosci Biobehav Rev**, v. 30, n. 2, p. 126-47, 2006.

HILES, S.A; BAKER, A.L; DE MALMANCHE, T; ATTIA, J. A meta-analysis of differences in IL-6 and IL-10 between people with and without depression: exploring the causes of heterogeneity. **Brain Behav Immun**, 26(7):1180-8, 2012.

HUR, K.Y.; LEE, M.S. New mechanisms of metformin action: Focusing on mitochondria and the gut. **Diabetes Invest.**, 2015.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Censo populacional - www.ibge.org, 2010.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Pesquisa Nacional de Saúde - Percepção do estado de saúde, estilos de vida e doenças crônicas. Brasília, 2013.

IBRAHIM, M.M. Subcutaneous and visceral adipose tissue: structural and functional differences. **Obes. Res**, 11(1): 11-18, 2010.

KALUPAHANA, N.S.; MOUSTAID-MOUSSA, N.; CLAYCOMBE, K.J. Immunity as a link between obesity and insulin resistance. **Mol Aspects Med**, 33(1):26-34, 2012.

KAMADA, N.; CHEN, G.Y.; INOHARA, N.; NUÑEZ, G. Control of pathogens and pathobionts by the gut microbiota. **Nature Immunology**, v.14, n.7, 0.685-690, 2013.

KELLY, J.R. et al. Lost in translation? The potential psychobiotics *Lactobacillus rhamnosus* (JB-1) fails to modulate stress or cognitive performance in healthy male subjects. **Brain Behav Immun**, v. 61, p. 50-59, Mar 2017.

KILIC, F.S. et al. Acute antidepressant and anxiolytic effects of simvastatin and its mechanisms in rats. **Neurosciences (Riyadh)**, v. 17, n. 1, p. 39-43, Jan 2012.

KÖHLER, C.A.; MAGALHAES, T.F.; OLIVEIRA, J.M.; ALVES, G.S.; KNOCHER, C.; OERTEL-KNÖCHER, V.; PANTEL, J.; CARVALHO, A, F. Neuropsychiatric Disturbances in Mild Cognitive Impairment (MCI): A Systematic Review of Population-Based Studies. **Curr Alzheimer Res**, 13(10):1066-82, 2016.

KOP, W.J. et al. Inflammation and coagulation factors in persons > 65 years of age with symptoms of depression but without evidence of myocardial ischemia. **Am J Cardiol**, v. 89, n. 4, p. 419-24, Feb 15, 2002.

KOS, K.; WILDING, J.P. SARC: a key player in the pathologies associated with obesity and diabetes. **Nat Rev Endocrinol**, 6(4): 225-235, 2010.

KOVACS, M.; BECK, A.T. Maladaptive cognitive structures in depression. **Am J Psychiatr**, v. 135, n. 5, p. 525-33, May 1978.

KRABBE, K.S.; PEDERSEN, M.; BRUUNSGAARD, H. Inflammatory mediators in the elderly. **Exp Gerontol**, v. 39, n. 5, p. 687-99, May 2004.

LAM, Y.Y.; MITCHELL, A.; HOLMES, A.J.; DENYER, G.S.; GUMMESSON, A.; CATERSON, I.D.; HUNT, N.H.; STORLIEN, L.H. Role of the gut in visceral fat inflammation and metabolic disorders. **Obesity**, v.19, n.11, p.2113-2120, 2011.

LAUFS, U.; FATA, V. L.; LIAO, J. K. Inhibition of 3-hydroxy-3-methylglutaryl (HMG)-CoA reductase blocks hypoxia-mediated down-regulation of endothelial nitric oxide synthase. **J Biol Chem**, v. 272, n. 50, p. 31725-9, Dec 12 1997.

LAWHORNE, L. Depression in the older adult. **Prim Care**, v. 32, n. 3, p. 777-92, Sep. 2005.

LEBEER, S.; VANDERLEYDEN, J.; KEERSMAECKER, S. Host interactions of probiotic bacterial surface molecule: comparison with commensals and pathogens. **Nature Reviews Microbiology**, 8: 171-184 p. 2010.

- LEBRÃO ML; YAO, D. SABE – Saúde, Bem-estar e Envelhecimento – O Projeto Sabe no município de São Paulo: uma abordagem inicial. Brasília: **Organização Pan Americana da Saúde**, p. 233, 2003.
- LEE, H.; KO, G. Effects of metformin on metabolic improvement and gut microbiota. **Appl Environ Microbiol**, v. 80, n. 19, p. 5935-43, Oct 2014.
- LIU, WH.; CHUANGB, HL.; HUANGB, YT.; WUA, C.C.; CHOUA, GT.; WANGD, S.; TSAIA, Y.C. Alteration of behavior and monoamine levels attributable to *Lactobacillus plantarum* PS128 in germ-free mice. **Behavioural Brain Research**, 298, 202–209, 2016.
- LIUKKONEN, T. et al. The association between C-reactive protein levels and depression: Results from the northern Finland 1966 birth cohort study. **Biol Psychiatry**, v. 60, n. 8, p. 825-30, Oct 15 2006.
- LODDICK, S.A.; TURNBULL, A.V.; ROTHWELL, N.J. Cerebral interleukin-6 is neuroprotective during permanent focal cerebral ischemia in the rat. **J Cereb Blood Flow Metab**, v. 18, n. 2, p. 176-9, Feb 1998.
- LOPEZ, O.L.; JALOGUST, W.J.; DULBERG, C.; BECKER, J.T.; DEKOSKY, S.T.; FITZPATRICK, A.; BREITNER, J.; LYKETSOS, C.; JONES, B.; KAWAS, C.; CARLSON, M.; KULLER, L.H. Risk factors for mild cognitive impairment in the Cardiovascular Health Study Cognition Study: part 2. **Arch Neurol**, 60(10):1394-9, 2003.
- LU, k.; MAHBUB, R.; FOX, J.G. Xenobiotics: Interaction with the Intestinal Microflora. **ILAR Journal**, v. 56, No. 2, 218–227, 2015.
- LUK, G.D.; BAYLESS, T.M.; BAYLIN, S.B. Diamine oxidase (histaminase). A circulating marker for rat intestinal mucosal maturation and integrity. **J Clin Invest**, v. 66, n. 1, p. 66-70, Jul 1980.
- MACQUEEN, G.; SURETTE, M.; MOYYEDI, P. The gut microbiota and psychiatric illness. Editorial. **J Psychiatry Neurosci**, 42(2), 2017.
- MAGNÉ, J.; MARIOTTI, F.; FISCHER, R.; MATHÉ, V.; TOMÉ, D.; HUNEAU, J.F. Early postprandial low-grade inflammation after high-fat meal in healthy rats: possible involvement of visceral adipose tissue. **J Nutr Biochem**, 21(6):550-5, 2010.
- MANCO, M.; PUTIGNANI, L.; BOTTAZZO, G.F. Gut microbiota, Lipopolysaccharides, and Innate Immunity in the Pathogenesis of Obesity and Cardiovascular Risk. **End Rev**, v.31, n.6, p817-844, 2010.
- MARQUES, A.H.; CIZZA, G.; STERNBERG, E. Brain-immune interactions and implications in psychiatric disorders. **Rev Bras Psiquiatr**, v. 29 Suppl 1, p. S27-32, May 2007.
- MASLOWSKI, K.M. et al. Regulation of inflammatory responses by gut microbiota and chemoattractant receptor GPR43. **Nature**, v. 461, n. 7268, p. 1282-6, Oct 29 2009.
- MATSUMOTO, M. et al. Cerebral low-molecular metabolites influenced by intestinal microbiota: a pilot study. **Front Syst Neurosci**, v. 7, p. 9, 2013.
- MAYER, E.A.; TILLISCH, K.; GUPTA, A. Gut/brain axis and the microbiota. **J Clin Invest.**, 125(3):926–938, 2015.
- MCFARLAND, A.J. et al. Molecular mechanisms underlying the effects of statins in the central nervous system. **Int J Mol Sci**, v. 15, n. 11, p. 20607-37, Nov 10 2014.
- MESSAOUDI, M.I.; LALONDE, R.; VIOLLE, N.; JAVELOT, H. DESOR, D.; NEJDI, A.; BISSON, JF.; ROUGEOT, C.; PICHELIN, M. CAZAUBIEL, M. CAZAUBIEL, JM. Assessment of psychotropic-like properties of a probiotic formulation (*Lactobacillus helveticus* R0052 and *Bifidobacterium longum* R0175) in rats and human subjects. **British Journal of Nutrition**, 105, 755–764, 2011.
- MILLER, A.H.; MALETIC, V.; RAISON, C.L. Inflammation and its discontents: the role of cytokines in the pathophysiology of major depression. **Biol Psychiatry**, v. 65, n. 9, p. 732-41, May 1 2009.
- MITAKA, C. Clinical laboratory differentiation of infectious versus non-infectious systemic inflammatory response syndrome. **Clin Chim Acta**, 351, 2005.
- MOULDS, M. L. et al. An investigation of the relationship between cognitive reactivity and rumination. **Behav Ther**, v. 39, n. 1, p. 65-71, Mar 2008.
- MURRAY, M.D. et al. Preservation of cognitive function with antihypertensive medications: a longitudinal analysis of a community-based sample of African Americans. **Arch Intern Med**, v. 162, n. 18, p. 2090-6, Oct 14 2002.

MYINT, A.M.; KIM, Y.K. Cytokine-serotonin interaction through IDO: a neurodegeneration hypothesis of depression. **Med Hypotheses**, v. 61, n. 5-6, p. 519-25, Nov-Dec 2003.

NETO, J.V.; DE MELO, C.M.; RIBEIRO, S.M. Effects of three-month intake of synbiotic on inflammation and body composition in the elderly: a pilot study. **Nutrients**, v. 5, n. 4, p. 1276-86, Apr 2013.

NG, T.P. et al. Long-term metformin usage and cognitive function among older adults with diabetes. **J Alzheimers Dis**, v. 41, n. 1, p. 61-8, 2014.

NUMAKAWA, T.; RICHARDS, M.; NAKAJIMA, S.; ADACHI, N.; FURUTA, M.; ODAKA, H. et al. The role of brain-derived neurotrophic factor in comorbid depression: possible linkage with steroid hormones, cytokines, and nutrition. **Front Psychiatr**, 5: 136, 2014.

O'DRISCOLL, G.; GREEN, D.; TAYLOR, R.R. Simvastatin, an HMG-coenzyme A reductase inhibitor, improves endothelial function within 1 month. **Circulation**, v. 95, n. 5, p. 1126-31, Mar 4 1997.

O'HAGAN, C. et al. Long-term multi-species Lactobacillus and Bifidobacterium dietary supplement enhances memory and changes regional brain metabolites in middle-aged rats. **Neurobiol Learn Mem**, v. 144, p. 36-47, Jun. 2017.

OLIVEIRA; DAAP; GOMES L, O.R. Prevalência de depressão em idosos que frequentam centros de convivência. **Ver Saúde Pública**, 40(4):734-6, 2006.

PABLOS-MENDEZ, A.; RADLOFF, S.R.; KHAJAVI, K.; DUNST, S.A. The Demographic Stretch of the Arc of Life: Social and Cultural Changes That Follow the Demographic Transition. **Glob Health Sci Pract**, 3(3):341-51, 2015.

PAINEAU, D. et al. Effects of seven potential probiotic strains on specific immune responses in healthy adults: a double-blind, randomized, controlled trial. **FEMS Immunol Med Microbiol**, v. 53, n. 1, p. 107-13, Jun 2008.

PAGNINI, C. et al. Probiotics promote gut health through stimulation of epithelial innate immunity. **PNAS**, n. 1, vol. 107, 454-459, 2010.

PARADELA, E.; LOURENÇO, R.; VERAS, R. Validação da Escala de Depressão Geriátrica em um ambulatório geral. **Revista de Saúde Pública**. São Paulo. Brasil, 39, 2005.

PARSAIK, A.K. et al. Statins use and risk of depression: a systematic review and meta-analysis. **J Affect Disord**, v. 160, p. 62-7, May 2014.

PELSERS, M.M.; HERMENS, W.T.; GLATZ, J. F. Fatty acid-binding proteins as plasma markers of tissue injury. **Clin Chim Acta**, v. 352, n. 1-2, p. 15-35, Feb 2005.

PENDYALA, S.; WALKER, J.M.; HOLT, P.R. A high-fat diet is associated with endotoxemia that originates from the gut. **Gastroenterology**, v.142, n.5, p.110-1101, 2012.

PESSOA, L. On the relationship between emotion and cognition. **Nat Rev Neurosci**, v. 9, n. 2, p. 148-58, Feb 2008.

PETERSEN, R.C. et al. Current concepts in mild cognitive impairment. **Arch Neurol**, v. 58, n. 12, p. 1985-92, Dec 2001.

PORENSKY, E.K.; DEW, M.A.; KARP, J.F.; SKIDMORE, E.; ROLLMAN, B.L.; SHEAR, M.K.; LENZE, E.J. The burden of late-life generalized anxiety disorder: effects on disability, health-related quality of life, and healthcare utilization. **Am J Geriatr Psychiatr**, Jun;17(6):473-82, 2009.

RAO, A.V. et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled pilot study of a probiotic in emotional symptoms of chronic fatigue syndrome. **Gut Pathog**, v. 1, n. 1, p. 6, 2009.

REICHERT. et al. Atividade física e sintomas depressivos em idosos sul-brasileiros da comunidade. **Ver Bras Psiquiatr**, 33: 165-70 p. 2011.

ROSENBLAT, J. D. et al. Inflamed moods: a review of the interactions between inflammation and mood disorders. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry**, v. 53, p. 23-34, Aug. 2014.

ROSSOL, M. et al. LPS-induced cytokine production in human monocytes and macrophages. **Crit Rev Immunol**, v. 31, n. 5, p. 379-446, 2011.

SAAD, R.; RIZKALLAH, M. R.; AZIZ, R. K. Gut Pharmacomicrobiomics: the tip of an iceberg of complex interactions between drugs and gut-associated microbes. **Gut Pathog**, v. 4, n. 1, p. 16, Nov 30, 2012.

SALAGRE, E.; FERNANDES, B.S.; DODD, S.; BROWNSTEIN, M.B. Statins for the treatment of depression: A meta-analysis of randomized, double-blind, placebo controlled trials. **Journal of Affective Disorders**, 200, 235–242, 2016.

SAMARAS, K.; BRODATY, H.; SACHDEV, P.S. Does statin use cause memory decline in the elderly? **Trends in Cardiovascular Medicine**, 26, 550 – 565, 2016.

SAXBY, B.K. et al. Effects of hypertension on attention, memory, and executive function in older adults. **Health Psychol**, v. 22, n. 6, p. 587-91, Nov 2003.

SCHER, C.D.; INGRAM, R.E.; SEGAL, Z.V. Cognitive reactivity and vulnerability: empirical evaluation of construct activation and cognitive diatheses in unipolar depression. **Clin Psychol Rev**, v. 25, n. 4, p. 487-510, Jun 2005.

SCHOUSBOE, A.; WAAGEPETERSEN, H. S. GABA: Homeostatic and pharmacological aspects. In: JAMES M. TEPPER, E. D. A. A. J. P. B. (Ed.). **Progress in Brain Research**: Elsevier, v. Volume 160, p 9-19, 2007.

SCOGIN F, SHAH A. Screening older adults for depression in primary care settings. **Health Psychol**, v. 25: 675–677, 2006.

SEGAIN, J.P., DELABLETIERE, D.R., BOUREILLE, A., LERAY, V., GERVOIS, N., ROSALES, C., FERRIER, L., BONNET, C., BLOTTIERE, H.M.; GLAMICHE, J.P. Butyrate inhibits inflammatory responses through NF-kappa β inhibition: implications for Crohn's disease. **Gut**, 47, 397-403, 2000.

SHIN, N. R. et al. An increase in the Akkermansia spp. population induced by metformin treatment improves glucose homeostasis in diet-induced obese mice. **Gut**, v. 63, n. 5, p. 727-35, May 2014.

SIMON, A.K.; HOLLANDER, G.A.; MCMICHAEL, A. Evolution of the immune system in humans from infancy to old age. **Proc Biol Sci**, 282(1821), 2015.

SONG, W.B. et al. Soluble intercellular adhesion molecule-1, D-lactate and diamine oxidase in patients with inflammatory bowel disease. **World J Gastroenterol**, v. 15, n. 31, p. 3916-9, Aug 21 2009.

SNOWDEN, M.; STEINMAN, L.; FREDERICK, J. Treating depression in older adults: challenges to implementing the recommendations of an expert panel. **Prev Chronic Dis**, 5(1), 2008.

STEENBERGEN, L. et al. A randomized controlled trial to test the effect of multispecies probiotics on cognitive reactivity to sad mood. **Brain Behav Immun**, v. 48, p. 258-64, Aug 2015.

STRYJECKI, C. MUTCH, D.M. Fatty acid-gene interactions, adipokines and obesity. **Eur J Clin Nutr**, v.65, n.3, p.285-97, 2005.

SU, J. et al. Role for inflammatory cytokines in regulating expression of GABA transporter type 1 and 3 in specific brain regions of kainic acid-induced status epilepticus. **Neurochem Res**, v. 40, n. 3, p. 621-7, Mar 2015.

SUNG, S.C. et al. Screening for major and minor depression in a multiethnic sample of Asian primary care patients: a comparison of the nine-item Patient Health Questionnaire (PHQ-9) and the 16-item Quick Inventory of Depressive Symptomatology - Self-Report (QIDS-SR16). **Asia Pac Psychiatry**, v. 5, n. 4, p. 249-58, Dec 2013.

TEDESCO, M.A. et al. Comparison of losartan and hydrochlorothiazide on cognitive function and quality of life in hypertensive patients. **Am J Hypertens**, v. 12, n. 11 Pt 1, p. 1130-4, Nov 1999.

TIIHONEN, K.; OUWEHAND, A.C.; RAUTONE, N. Human intestinal microbiota and healthy ageing. **Ageing Rev**, 9(2):107-16, 2010.

TURNER, J.T. Intestinal mucosal barrier function in health and disease. **Nat Rev Immunol**, 9(11):799-809, 2009.

URSELL, L.K.; CLEMENTE, J.C.; RIDEOUT, J.R.; GEVERS, D.; CAPORASO, J.G.; KNIGHT, R. The interpersonal and intrapersonal diversity of human-associated microbiota in key body sites. **J Allergy Clin Immunol**, 129, 1204–1208, 2012.

VAISHNAVA, S. et al. Paneth cells directly sense gut commensals and maintain homeostasis at the intestinal host-microbial interface. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 105, n. 52, p. 20858-63, Dec 30 2008.

VAN TONGEREN, S.P. et al. Fecal microbiota composition and frailty. **Appl Environ Microbiol**, v. 71, n. 10, p. 6438-42, Oct 2005.

VILLAIN, N. et al. Relationships between hippocampal atrophy, white matter disruption, and gray matter hypometabolism in Alzheimer's disease. **J Neurosci**, v. 28, n. 24, p. 6174-81, Jun 11 2008.

- VLAINIĆ, J. et al. Probiotics as an Adjuvant Therapy in Major Depressive Disorder. **Current Neuropsychopharmacology**, 14, 952-958, 2016.
- WAGSTAFF, L. R. et al. Statin-associated memory loss: analysis of 60 case reports and review of the literature. **Pharmacotherapy**, v. 23, n. 7, p. 871-80, Jul 2003.
- WALLACE, C.J.K.; MILEV, R. The effects of probiotics on depressive symptoms in humans: a systematic review. **Ann Gen Psychiatr**, v. 16, p. 14, 2017.
- WANG, Z.T.; YAO, Y.M. XIAO, G.X. SHENG, Z.Y. Risk factors of development of gut-derived bacterial translocation in thermally injured rats. **World J Gastroenterol**, v. 10, n.11, p.1619, 2004.
- WANG, Z.; XIAO, G.; YAO, Y.; GUO, S.; LU, K.; SHENG, Z. The role of bifidobacteria in gut barrier function after thermal injury in rats. **J. Trauma**, v.61, n.3, p.650-7, 2006.
- WEAVER, J.D. et al. Interleukin-6 and risk of cognitive decline: MacArthur studies of successful aging. **Neurology**, v. 59, n. 3, p. 371-8, Aug 13 2002.
- WENG, N.P. Aging of the immune system: how much can the adaptive immune system adapt? **Immunity**, 24(5):495-9, 2006.
- WILLIAMS, B.B. et al. Discovery and characterization of gut microbiota decarboxylases that can produce the neurotransmitter tryptamine. **Cell Host Microbe**, v. 16, n. 4, p. 495-503, Oct 8 2014.
- WILSON, C.J.; FINCH, C.E.; COHEN, H.J. Cytokines and cognition--the case for a head-to-toe inflammatory paradigm. **J Am Geriatr Soc**, v. 50, n. 12, p. 2041-56, Dec 2002.
- WU, R.Y. et al. Spatiotemporal maps reveal regional differences in the effects on gut motility for *Lactobacillus reuteri* and *rhamnosus* strains. **Neurogastroenterol Motil**, v. 25, n. 3, p. e205-14, Mar 2013.
- YAFFE, K. et al. Serum lipoprotein levels, statin use, and cognitive function in older women. **Arch Neurol**, v. 59, n. 3, p. 378-84, Mar 2002.
- YASAR, S. et al. Diuretic use is associated with better learning and memory in older adults in the Ginkgo Evaluation of Memory Study. **Alzheimers Dement**, v. 8, n. 3, p. 188-95, May 2012.
- YE, J.; GAO, Z.; YIN, J.; H.E Q. Hypoxia is a potential risk factor for chronic inflammation and adiponectin reduction in adipose tissue of ob/ob and dietary obese mice. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, 293(4): E1118-1128, 2007.
- YESAVAGE, J.A. et al. Development and validation of a geriatric depression screening scale: a preliminary report. **J Psychiatr Res**, v. 17, n. 1, p. 37-49, 1982.
- ZOETENDAL, E.G. et al. Mucosa-associated bacteria in the human gastrointestinal tract are uniformly distributed along the colon and differ from the community recovered from feces. **Appl Environ Microbiol**, v. 68, n. 7, p. 3401-7, Jul 2002.
- ZULUAGA, J.C. et al. Metformin Is Associated With Higher Relative Abundance of Mucin-Degrading *Akkermansia muciniphila* and Several Short-Chain Fatty Acid-Producing Microbiota in the Gut. **Diabetes Care**, 40:54-62, 2017.

Anexos

Anexo I – Parecer Consubstanciado do CEP

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO NUTRICIONAL SOBRE A PERMEABILIDADE INTESTINAL, A INFLAMAÇÃO SISTÊMICA E CONSEQUÊNCIAS NA COMPOSIÇÃO CORPORAL DE IDOSOS

Pesquisador: Sandra Maria Lima Ribeiro

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 06109712.6.0000.5390

Instituição Proponente: Escola de Artes, Ciências e Humanidades - EACH/USP

Patrocinador Principal: Fundação de Amparo a Pesquisa de São Paulo ((FAPESP))

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 200.870

Data da Relatoria: 05/02/2013

Apresentação do Projeto:

O projeto trata-se de uma investigação sobre os efeitos de determinadas intervenções com suplementos nutricionais, com efeito em aspectos relativos ao intestino e à inflamação sistêmica, que podem resultar em efeitos benéficos na composição corporal de idosos. A inflamação sistêmica, com provável origem no intestino e no tecido adiposo, guarda relação importante com as alterações na composição corporal associadas ao envelhecimento. O presente estudo pretende testar três hipóteses: a-) A modulação da microbiota intestinal por meio de substâncias simbióticas colabora com a mudança no padrão de inflamação sistêmica, minimizando a perda de massa magra em idosos; b-) A modulação da permeabilidade intestinal pela ingestão de suplemento à base de glutamina pode reduzir a perda de massa magra em idosos; c-) Um programa de educação nutricional é suficiente para reduzir a inflamação e alterações da

Endereço: Av. Arturdo Bétio, nº 1000

Bairro: Ermelino Matarazzo

UF: SP **Município:** SÃO PAULO

Telefone: (11)3091-1046

CEP: 03.828-000

E-mail: cep-each@usp.br

composição

corporal relacionadas ao envelhecimento, sem necessidade de suplementação nutricional. Serão estudados 60 idosos, que serão submetidos aos seguintes procedimentos: randomização (de forma duplo-cego) em três grupos que farão ingestão de diferentes suplementos: - substância simbiótica; - glutamina; ou -placebo. Um mês antes da randomização, e durante todo o estudo, os participantes serão submetidos a atividades de educação nutricional, semanalmente (no primeiro mês) e quinzenalmente (a partir do segundo mês). Todos serão avaliados no início e no final do programa quanto a: medidas antropométricas, composição corporal por DEXA e BIA, nível de atividade física, concentração plasmática de citocinas inflamatórias, marcadores de permeabilidade intestinal, e análise da dieta. Ao final do estudo, os resultados serão comparados entre grupos e intragrupos comparação entre resultados iniciais e finais).

Objetivo da Pesquisa:

Identificar e comparar estratégias nutricionais que possam reduzir a inflamação sistêmica de origem intestinal, diminuindo consequentemente, a perda muscular em idosos.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

O pesquisador descreve que "haverá risco mínimo" no projeto, coloca que poderá haver complicações decorrentes da coleta de sangue, dificuldades para preenchimento de diários alimentares, constrangimentos para realização das medidas antropométricas.

Os critérios de inclusão: Serão recrutados 60 idosos, de ambos os sexos, com idades entre 60 e 75 anos, independentes fisicamente e não institucionalizados, que atendam a pelo menos um dos critérios de fragilidade biológica propostos por Fried et al (2001).

Como critérios de exclusão, os indivíduos não poderão relatar nenhuma doença inflamatória intestinal aguda ou crônica, não deverão estar fazendo uso de antibióticos, não deverão estar fazendo uso de

Endereço: Av. Arlindo Bétio, nº 1000

Bairro: Ermelino Matarazzo

CEP: 03.828-000

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)3091-1046

E-mail: cep-each@usp.br

suplementos

protéico, anabolizante ou outro medicamento destinado a manter ou aumentar a massa muscular, assim como não deverão fazer uso de qualquer substância potencialmente probiótica, prebiótica ou simbiótica disponível no mercado, ou qualquer outro suplemento alimentar.

Os benefícios citados são: Estratégias que previnam a sarcopenia e consequentemente a síndrome da fragilidade que podem colaborar com o envelhecimento bem sucedido.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Pesquisa relevante na gerontologia. Será realizada em 3 etapas, sendo:

Etapa 1- pré-avaliações e educação nutricional

Após o recrutamento dos voluntários, todos serão avaliados quanto a medidas antropométricas, nível de atividade física e concentração de citocinas plasmáticas. As aulas de educação nutricional continuarão sendo ministradas, quinzenalmente, durante os seis meses de suplementação nutricional, para todos os participantes. Nas aulas, será reforçada a importância de elaboração do registro alimentar semanal, e do uso recomendado dos suplementos a serem distribuídos na Etapa 2.

Etapa 2- Distribuição em grupos experimentais e suplementação

Na Etapa 2 terá início a distribuição dos participantes, de forma duplo-cego, em três grupos, com 20 indivíduos em cada grupo, que receberão os suplementos, e serão submetidos a avaliações iniciais e finais:

- . Grupo SIM- receberá, diariamente, uma dose do simbiótico, após a última refeição do dia.
- . Grupo GLU- o grupo receberá, diariamente, em uma única dose, com uma média de 0,5g de glutamina por quilograma de peso corporal.
- . Grupo PLA- esse grupo receberá cápsulas similares aos demais grupos, e será orientado a ingerir nos mesmos horários que os demais.

Serão realizadas várias avaliações:

- Anamnese geral, com questões relativas a funcionamento intestinal, nível de atividade física e histórico de doenças.

Endereço: Av. Arlindo Bétio, nº 1000	CEP: 03.828-000
Bairro: Ermelino Matarazzo	
UF: SP	Município: SAO PAULO
Telefone: (11)3091-1046	E-mail: cep-each@usp.br

- Ingestão dietética: os participantes preencherão registros alimentares, após esclarecimentos e treinamento inicial.
- Nível de atividade física: será avaliado a partir da aplicação do International Physical Activity Questionnaire (IPAQ), versão curta.
- O nível de
 - a-) Teste da lactulose/manitol- de acordo com o método descrito por Farhadi et al (2003) e padronizado por Mendonça et al (2009). A preparação do material e a leitura das amostras será realizada no Instituto de
 - b-) Concentração plasmática de LPS- por fluorimetria, a partir do kit comercial denominado IMUNOLISA ®. A preparação do material e a leitura das amostras será realizada no Instituto de Química da Universidade Estadual Paulista- UNESP.
- Medidas antropométricas: O peso e a estatura serão avaliados por equipamentos portáteis (balança e estadiômetro), e a partir dessas duas medidas será calculado o índice de massa corporal (IMC= peso/altura²).
- Composição corporal por Bioimpedância elétrica: A resistência (R) e a reactância (Xc) serão medidas em Ohms a 50kHz em todos os participantes, utilizando o equipamento de bioimpedância (BIA) Biodinamics modelo 450e).
- Composição corporal por DEXA: os participantes serão submetidos à análise da composição corporal por DEXA de corpo todo. Para tal, eles serão inicialmente pesados em uma balança convencional, e em seguida repousarão sobre a maca do aparelho. O feixe de raios-X percorrerá o corpo todo, em uma análise que levará cerca de 20 minutos. As análises serão interpretadas para a massa óssea, massa de gordura e massa muscular, a partir de um software para adultos. A análise por DEXA será realizada no Rhesus- Medicina Diagnóstica.

Os instrumentos de avaliação (questionários) foram anexados no projeto. O Cronograma está adequado, bem como, o orçamento de gastos que tem o financiamento da FAPESP.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos os termos foram apresentados. No TCLE há uma explicação detalhada sobre a pesquisa, no qual explicita que o risco será baixo. A palavra "suplementação" foi melhor explicada para melhor entendimento pelo sujeito da pesquisa.

Recomendações:

O Projeto contribuirá para a manutenção da qualidade de vida do idoso. As recomendações abaixo

Endereço: Av. Arlindo Bettio, nº 1000 Bairro: Ermelino Matarazzo UF: SP Município: SAO PAULO Telefone: (11)3091-1046	CEP: 03.828-000 E-mail: cep-each@usp.br
--	--

foram totalmente atendidas:

- Explicitar onde serão recrutados os idosos e em que local serão coletados as informações para as avaliações e local para educação alimentar, exceto exames que o pesquisador informou o local a serem realizados;
- Explicitar que os sujeitos, inclusive os que receberam os placebos sejam, ao final, informados sobre o tipo de suplemento que receberam;
- Anexar os instrumentos que serão utilizados nas avaliações;
- Quanto ao TCLE:
 - . deixar mais claro a palavra "suplementação" para melhor entendimento pelo sujeito da pesquisa;
 - . deixar claro de que haverá duas cópias, sendo uma para o pesquisador e outra para o sujeito da pesquisa;
 - . colocar ao final o CEP-EACH com telefone e e-mail;
 - . Inserir no TCLE a informação de que, ao final da pesquisa, todos os sujeitos serão esclarecidos sobre o tipo e a dose do suplemento ingerido;
 - . Ao entregar o TCLE, rubricar todas as vias e folhas, pelo pesquisador e pelo sujeito da pesquisa.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

As pendências foram totalmente atendidas pelo pesquisador. Recomendo que estes idosos, participantes da pesquisa, sejam monitorados após a realização da pesquisa por um determinado tempo a ser definido pela pesquisadora. Sugiro a aprovação do referido projeto.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Perante as pendências atendidas pelo pesquisador em relação ao projeto, consideramos que o mesmo poderá ser desenvolvido sob o ponto de vista ético.

Endereço: Av. Arlindo Béttio, nº 1000	CEP: 03.828-000
Bairro: Ermelino Matarazzo	
UF: SP Município: SAO PAULO	
Telefone: (11)3091-1046	E-mail: cep-each@usp.br

Anexo II - Termo de consentimento livre e esclarecido

Título da pesquisa: Efeito da suplementação nutricional sobre a permeabilidade intestinal, a inflamação sistêmica e consequências na composição corporal de idosos.

Você está sendo convidado a participar de um estudo que tem como objetivo avaliar os efeitos da suplementação de algumas substâncias nutricionais no estado nutricional (que é uma forma de avaliar sua saúde) e na composição corporal (que significa saber quanto do seu peso corporal é composto por gordura, e quanto é composto por músculos, água e ossos). Cabe ressaltar que se entende como “suplemento” uma substância (no caso do nosso estudo será um pó), que tem como objetivos complementar ou incluir alguns elementos à dieta. Você poderá receber um dos três diferentes tipos de suplemento: uma substância simbiótica (que consiste de uma combinação de bactérias benéficas ao intestino, assim como existe em iogurtes disponíveis no mercado), ou uma substância denominada placebo (que não faz nenhum efeito ao organismo, e que será utilizada apenas para controle dos resultados. O nome da substância escolhida como placebo é maltodextrina, que é um tipo de carboidrato (ou um açúcar). O estudo será do tipo duplo cego, isto é, nem você e nem o pesquisador saberão, no momento do recebimento dos suplementos, qual dos três diferentes tipos você estará recebendo. Somente no final do estudo que os suplementos serão revelados. Ou seja, ao final do experimento você será informado do tipo de substância que recebeu durante o experimento. Você deverá, portanto, ingerir uma cápsula, diariamente, durante seis meses. Para avaliar os resultados da suplementação, você será submetido às seguintes avaliações, antes de começar e após o término do experimento: - peso, estatura, que serão avaliados por equipamentos portáteis (balança e estadiômetro), a circunferência do seu braço, cintura, quadril e de sua batata da perna (com uma fita métrica); composição corporal- com um aparelho chamado adipômetro, que apenas aperta ligeiramente a sua gordura no braço, nas costas, no braço, na batata da perna e no abdômen; composição corporal do DEXA, que é um exame de raio-X do corpo todo (que você fará em um laboratório especializado, e para o qual deverá permanecer deitado em uma maca por cerca de 20 minutos); bioimpedância, que avalia quanto de água você tem no corpo, através de um aparelho que utiliza eletrodos como os do eletrocardiograma (para esse exame você também permanecerá deitado em uma maca por cerca de 5 minutos); - coleta de sangue- que será feita por um profissional especializado, após jejum de oito horas. O seu sangue será avaliado para identificar inflamação corporal. Todo o material utilizado para todos os exames é descartável e esterilizado. Durante todo o período de nosso experimento, nós iremos pedir para você anotar a sua ingestão de alimentos e bebidas. Todos os exames serão realizados com uma cópia que será entregue para você. Nós explicaremos todos os resultados, e você também poderá mostrar para seu médico. A sua participação nesta pesquisa oferece a você um risco baixo. Podemos considerar como sendo risco: você se sentir constrangido ao ter as medidas de seu corpo coletadas, medo de coletar sangue, formação de gases intestinais. Algumas informações também são importantes: - você pode nos procurar (ou procurar o comitê de ética em pesquisa) a qualquer momento, caso necessite de mais explicações; - a qualquer momento que desejar, você pode retirar o seu consentimento e deixar de participar do estudo, sem que isto traga prejuízo a você; - todos os dados que coletarmos não terá o seu nome divulgado, ou seja, o trabalho é anônimo e os seus dados servirão apenas para trabalhos científicos que pretendem colaborar com os estudos sobre o envelhecimento. O pesquisador que conduzirá o estudo: Eliana Regina Louzada – e-mail: elianalouzada@gmail.com

Anexo III – Anamnese

Nome										
Data de nascimento					Sexo					
Endereço										
Telefones										
Escolaridade										
Renda média familiar	(Salários mínimos)									
MEDICAMENTOS										
Medicamento	Modo de usar									
CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO										
Doença Inflamatória intestinal	Não	Sim	Qual:							
Antibiótico	Não	Sim	Qual:							
Suplemento alimentar	Não	Sim	Qual:							
Substância prebiótica	Não	Sim	Qual:							
Substância probiótica	Não	Sim	Qual:							
Substância simbiótica	Não	Sim	Qual:							
Substância laxativa	Não	Sim	Qual:							
Outras	Não	Sim	Qual:							
ANTROPOMETRIA										
Peso					IMC					
Altura										
Circunferências					Quadril					
Braço					Coxa					
Abdominal					Panturrilha					
Dobra cutânea	1º medida	2º medida			3º medida			Média		
Bicipital										
Tricipital										
Subescapular										
Abdominal										
Supra ilíaca										
Coxa										
Panturrilha										
Densidade corporal		Percentual de massa gorda						Percentual de massa magra		
CRITÉRIOS DE FRAGILIDADE										
Força de preensão palmar	1º medida	2º medida			3º medida			Média		
Lentidão	1º medida	2º medida			3º medida			Média		
Perda de peso não intencional					Não			Sim		
Exaustão	Eu sinto que tudo que eu fiz foi um esforço				Não			Sim		
	Eu não consigo seguir adiante				Não			Sim		
Atividade Física					Escore total IPAQ					

Anexo IV – Escala Geriátrica da Depressão - 15

Vou lhe fazer algumas perguntas para saber como vem se sentido na última semana.	Sim	Não
1. O/a senhor/a está basicamente satisfeito com sua vida?	1	2
2. O/a senhor/a deixou muitos de seus interesses e atividades?	1	2
3. O/a senhor/a sente que sua vida está vazia?	1	2
4. O/a senhor/a se aborrece com frequência?	1	2
5. O/a senhor/a se sente de bom humor a maior parte do tempo?	1	2
6. O/a senhor/a tem medo que algum mal vá lhe acontecer?	1	2
7. O/a senhor/a se sente feliz a maior parte do tempo?	1	2
8. O/a senhor/a sente que sua situação não tem saída?	1	2
9. O/a senhor/a prefere ficar em casa a sair e fazer coisas novas?	1	2
10. O/a senhor/a se sente com mais problemas de memória do que a maioria?	1	2
11. O/a senhor/a acha maravilhoso estar vivo?	1	2
12. O/a senhor/a se sente um inútil nas atuais circunstâncias?	1	2
13. O/a senhor/a se sente cheio de energia?	1	2
14. O/a senhor/a acha que sua situação é sem esperança?	1	2
15. O/a senhor/a sente que a maioria das pessoas está melhor que o/a senhor/a?	1	2

MINI EXAME DO ESTADO MENTAL

Registros – questão 3.1 até 3.d pontuação máxima de 3 pontos.

Atenção e cálculo – questão 4.1 até 4.f pontuação máxima 5 pontos.

Lembrança ou memória de evocação – 5.a até 5.d pontuação máxima 3 pontos.

Linguagem – questão 5 até questão 10, pontuação máxima 9 pontos.

Nome: _____ Sexo: _____
 Data de nascimento/idade: _____
 Escolaridade: Analfabeto () 0 a 3 anos () 4 a 8 anos () mais de 8 anos ()
 Avaliação em: _____ Avaliador: _____

AValiação do escore obtido	TOTAL DE PONTOS OBTIDOS
Pontos de corte – MEEM Brucki et al. (2003)	
20 pontos para analfabetos	
25 pontos para idosos com um a quatro anos de estudo	
26,5 pontos para idosos com cinco a oito anos de estudo	
28 pontos para aqueles com 9 a 11 anos de estudo	
29 pontos para aqueles com mais de 11 anos de estudo.	

Anexo VI – Artigo referente a Tese submetido para publicação

Nutritional Neuroscience

Synbiotic supplementation, systemic inflammation and symptoms of brain disorders in elders: a secondary study from a randomized clinical trial.

--Manuscript Draft--

Manuscript Number:		
Full Title:	Synbiotic supplementation, systemic inflammation and symptoms of brain disorders in elders: a secondary study from a randomized clinical trial.	
Article Type:	Original Research Paper	
Keywords:	synbiotics, depressive symptoms, cognitive impairment, systemic inflammation, intestinal permeability, elderly	
Corresponding Author:	Sandra ML Ribeiro, PhD Universidade de Sao Paulo São Paulo, São Paulo BRAZIL	
Corresponding Author Secondary Information:		
Corresponding Author's Institution:	Universidade de Sao Paulo	
Corresponding Author's Secondary Institution:		
First Author:	Sandra ML Ribeiro, PhD	
First Author Secondary Information:		
Order of Authors:	Sandra ML Ribeiro, PhD Eliana Regina Louzada, MSc	
Order of Authors Secondary Information:		
Abstract:	<p>Objectives: This secondary study from a randomized clinical trial aims to investigate the effect of a synbiotic substance on symptoms of some brain disorders and inflammation in elderly. Methods: Forty-nine participants, 65-90 years old, both genders, were randomly assigned into two groups: S-group (synbiotic); and P-group (placebo). Evaluations performed at the beginning and at the end of the experiment were: geriatric depressive symptoms scale (GDS-15); mini-mental status examination (MMSE); % of body fat (%fat); pro-inflammatory and regulatory cytokines (serum IL-6, TNF-α and IL-10); gut permeability (serum DAO, IFABP and LPS). Results: The interaction between time and group showed higher reduction of LPS in P-group and higher increase of IL-10 in S-group. Considering only time, both groups had reduced their %Fat, TNF-α and DAO. The IL-6, GDS-15 and MMSE were increased in both groups. The GDS-15final was negatively explained by DAO, IL-10, TNF-α, %Fat, being woman and being allocated in P-group. The variables that positively explained the GDS-15final were the IL-6, the IFABP, and the LPS. The variables that were positively associated to MMSE final were the IL-10, DAO, being woman, and being allocated in P-group; The negative associations were IL-6, TNF-α, %Fat, IFABP and LPS. Conclusions: our experimental conditions demonstrated weak effects of synbiotic supplementation in the management of depressive symptoms or cognitive decline in apparently healthy elderly living in the community, although the effect on cognition seems to be more optimistic. Other comparative studies, with individuals diagnosed as depressive morbidity or cognitive decline, may clarify our hypothesis.</p>	
Funding Information:	FAPESP (2012/15976-0)	Dr Sandra ML Ribeiro

Synbiotic supplementation, systemic inflammation and symptoms of brain disorders in elders: a secondary study from a randomized clinical trial.

Objectives: This secondary study from a randomized clinical trial aims to investigate the effect of a synbiotic substance on symptoms of some brain disorders and inflammation in elderly.

Methods: Forty-nine participants, 65-90 years old, both genders, were randomly assigned into two groups: S-group (synbiotic); and P-group (placebo). Evaluations performed at the beginning and at the end of the experiment were: geriatric depressive symptoms scale (GDS-15); mini-mental status examination (MMSE); % of body fat (%fat); pro-inflammatory and regulatory cytokines (serum IL-6, TNF- α and IL-10); gut permeability (serum DAO, IFABP and LPS). **Results:** The interaction between time and group showed higher reduction of LPS in P-group and higher increase of IL-10 in S-group. Considering only time, both groups had reduced their %Fat, TNF- α and DAO. The IL-6, GDS-15 and MMSE were increased in both groups. The GDS-15_{final} was negatively explained by DAO, IL-10, TNF- α , %Fat, being woman and being allocated in P-group. The variables that positively explained the GDS-15_{final} were the IL-6, the IFABP, and the LPS. The variables that were positively associated to MMSE_{final} were the IL-10, DAO, being woman, and being allocated in P-group; The negative associations were IL-6, TNF- α , %Fat, IFABP and LPS. **Conclusions:** our experimental conditions demonstrated weak effects of synbiotic supplementation in the management of depressive symptoms or cognitive decline in apparently healthy elderly living in the community, although the effect on cognition seems to be more optimistic. Other comparative studies, with individuals diagnosed as depressive morbidity or cognitive decline, may clarify our hypothesis. **Registration of Clinical Studies – REBEC (U1111-1155-0607)].**

Key-words: synbiotics, depressive symptoms, cognitive impairment, systemic inflammation, intestinal permeability, elderly.

Anexo VII – Ficha do Aluno

Janus – Sistema Administrativo da Pós-Graduação

Universidade de São Paulo
Interunidades em Nutrição Humana Aplicada
Documento sem validade oficial

FICHA DO ALUNO

89131 – 2164907/1 – Eliana Regina Louzada

Email: elianalouzada@usp.br
Data de Nascimento: 03/11/1964
Cédula de Identidade: RG – 13,454,483-3 – SP
Local de Nascimento: Estado de São Paulo
Nacionalidade: Brasileira
Graduação: Nutricionista – Faculdade Paulista de Ciências da Saúde – Centro de Ensino Unificado Bandeirante – Brasil – 1993
Mestrado: Mestre em Educação Física – Área: Atividade Física, Esporte e Saúde (2) – Universidade São Judas Tadeu – São Paulo – Brasil – 2007

Curso: Doutorado
Programa: Nutrição Humana Aplicada (1)
Data de Matrícula: 17/07/2014
Início da Contagem de Prazo: 17/07/2014
Data Limite para o Depósito: 17/07/2018
Orientador Acadêmico: Prof(a), Dr(a), Julio Orlando Tirapegui Toledo – 17/07/2014 até 12/10/2014, Email: tirapegu@usp.br
Orientador: Prof(a), Dr(a), Flávia Mori Sarti – 13/10/2014 até 02/02/2015, Email: flamori@usp.br
Orientador: Prof(a), Dr(a), Sandra Maria Lima Ribeiro – 03/02/2015 até o presente, Email: smlribeiro@usp.br
Proficiência em Línguas: Inglês, Aprovado em 17/07/2014
Data de Aprovação no Exame de Qualificação: Aprovado em 02/02/2017
Data do Depósito do Trabalho:
Título do Trabalho:
Data Máxima para Aprovação da Banca:
Data de Aprovação da Banca:
Data Máxima para Defesa:
Data da Defesa:
Resultado da Defesa:
Histórico de Ocorrências: Primeira Matrícula em 17/07/2014

Aluno matriculado no Regimento da Pós-Graduação USP (Resolução nº 5473 em vigor de 18/09/2008 até 19/04/2013).

Última ocorrência: Matrícula de Acompanhamento em 17/07/2017

Impresso em: 09/09/2017 11:01:03

Janus – Sistema Administrativo da Pós-Graduação

9/9/2017

89131 - 2164907/1 - Eliana Regina Louzada

Sigla	Nome da Disciplina	Início	Término	Carga Horária	Cred.	Freq.	Conc.	Exc.	Situação
MNE5768-2/1	Envelhecimento e Cognição (Faculdade de Medicina - Universidade de São Paulo)	05/09/2014	02/10/2014	60	4	75	A	N	Concluída
BMF5872-1/1	Compostos Bioativos com Propriedades Antioxidantes e Antiinflamatórias (Instituto de Ciências Biomédicas - Universidade de São Paulo)	08/10/2014	04/11/2014	60	4	75	A	N	Concluída
HEP5800-3/9	Bioestatística (Faculdade de Saúde Pública - Universidade de São Paulo)	02/03/2015	13/05/2015	90	6	100	C	N	Concluída
NEC5745-2/5	Neurociência Cognitiva: Atenção e Memória (Instituto de Psicologia - Universidade de São Paulo)	13/03/2015	07/05/2015	120	0	-	-	N	Turma cancelada
NHA5706-1/1	Fragilidade no Idoso: Prevenção e Intervenções Relacionadas à Nutrição e Atividade Física	02/04/2015	22/04/2015	30	2	100	A	N	Concluída
BMI5897-1/4	Resposta Imune Inata e Adaptativa no Sistema Nervoso Central (Instituto de Ciências Biomédicas - Universidade de São Paulo)	01/06/2015	28/06/2015	60	0	-	-	N	Matrícula cancelada
EAE5876-5/3	Economia da Alimentação e Nutrição (Faculdade de Economia, Administração e Contabilidade - Universidade de São Paulo)	07/08/2015	30/11/2015	120	8	83	B	N	Concluída
FBC5719-3/2	Trato Gastrointestinal: Imunomodulação da Colonização e Infecção Bacteriana (Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Universidade de São Paulo)	10/08/2015	22/11/2015	90	6	100	A	N	Concluída
ICB5709-6/3	Ensaios Pedagógicos (Instituto de Ciências Biomédicas - Universidade de São Paulo)	04/11/2015	08/12/2015	45	3	90	A	N	Concluída
BMB5788-6/1	Comunicação Celular no Sistema Nervoso (Instituto de Ciências Biomédicas - Universidade de São Paulo)	08/08/2016	03/10/2016	90	0	-	-	N	Matrícula cancelada
ICB5748-1/2	Imunologia de Mucosas (Instituto de Ciências Biomédicas - Universidade de São Paulo)	04/11/2016	01/12/2016	60	0	-	-	N	Matrícula cancelada
FBT5788-1/2	Aplicação de Alimentos Probióticos na Modulação de Imunidade de Mucosas (Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Universidade de São Paulo)	06/03/2017	26/03/2017	60	4	100	A	N	Concluída

	Créditos mínimos exigidos		Créditos obtidos
	Para exame de qualificação	Para depósito de tese	
Disciplinas:	20	20	37
Estágios:			
Total:	20	20	37

Créditos Atribuídos à Tese: 147

Observações:

4) Unidades de Ensino responsáveis pelo programa: Faculdade de Saúde Pública - Faculdade de Ciências Farmacêuticas