



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO

GABRIEL HERMES SCHMITT

EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DE SIMBIÓTICO SOBRE OS SINTOMAS DE
DEPRESSÃO E ANSIEDADE EM INDIVÍDUOS COM DIABETES MELLITUS TIPO
2: ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO, PLACEBO-CONTROLADO E TRIPLO CEGO

Florianópolis

2019

GABRIEL HERMES SCHMITT

EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DE SIMBIÓTICO SOBRE OS SINTOMAS DE
DEPRESSÃO E ANSIEDADE EM INDIVÍDUOS COM DIABETES MELLITUS TIPO
2: ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO, PLACEBO-CONTROLADO E TRIPLO CEGO

Dissertação para exame de defesa de
mestrado submetido ao Programa de Pós-
graduação em Nutrição da Universidade
Federal de Santa Catarina para a obtenção
do Grau de Mestre em Nutrição.

Orientadora: Profa. Dra. Débora Kurrle Rieger
Venske.

Florianópolis

2019

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Schmitt, Gabriel Hermes

Efeito da suplementação de simbiótico sobre os sintomas de depressão e ansiedade em indivíduos com diabetes mellitus tipo 2: ensaio clínico randomizado, placebo controlado e triplo cego / Gabriel Hermes Schmitt ; orientadora, Débora Kurrle Rieger Venske, 2019.

122 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós Graduação em Nutrição, Florianópolis, 2019.

Inclui referências.

1. Nutrição. 2. Simbióticos. 3. Diabetes mellitus tipo 2. 4. Depressão. 5. Ansiedade. I. Venske, Débora Kurrle Rieger . II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Nutrição. III. Título.

Gabriel Hermes Schmitt

EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DE SIMBIÓTICO SOBRE OS SINTOMAS DE
DEPRESSÃO E ANSIEDADE EM INDIVÍDUOS COM DIABETES MELLITUS TIPO
2: ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO, PLACEBO-CONTROLADO E TRIPLO CEGO

O presente trabalho em nível de mestrado foi avaliado e aprovado por banca
examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof.(a) Ana Lúcia Severo Rodrigues, Dr.(a)

UFSC (membro)

Prof.(a) Luciana da Conceição Antunes, Dr.(a)

UFSC (membro)

Prof. Ricardo Fernandes, Dr.

UFGD (membro)

Prof.(a) Emilia Addison Machado Moreira, Dr.(a)

UFSC (suplente)

Prof.(a) Yara Maria Franco Moreno, Dr.(a)

UFSC (suplente)

Certificamos que esta é a versão original e final do trabalho de conclusão que foi
julgado adequado para a obtenção do título de Mestre em Nutrição.

Prof.(a) Patrícia Faria Di Pietro

Prof.(a) Débora Kurrle Rieger Venske

Florianópolis, 2019.

DEDICATÓRIA

*Dedico este trabalho a minha mãe, pai, namorada,
padrinho, e professores, que
agregaram na construção
do meu conhecimento.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha professora orientadora Debora, que teve muita paciência e sempre foi muito flexível, compreensível, querida e sempre esteve disposta a me ensinar.

Agradeço ao professor Erasmo e seus alunos, que contribuíram para a construção do projeto e especialmente à Luana, que auxiliou nas coletas.

Agradeço à minha mãe Suzana, que sempre esteve presente, demonstrou-se interessada e preocupada com minha educação e deu o melhor de si para que eu chegasse até aqui.

Agradeço à minha namorada Mariana, que sempre me apoiou, incentivou e esteve disponível para me ajudar no que fosse preciso.

Agradeço a meu padrinho Jorge, que me ajudou muito durante todo o percurso e me tratou como se fosse seu filho.

Agradeço à minha amiga e colega de mestrado Bruna, por sua amizade e sempre estar disposta a ajudar no que fosse preciso.

Agradeço à bolsista de iniciação científica Even, que auxiliou na coleta e organização dos dados.

Agradeço ao programa de pós-graduação em nutrição – UFSC e seus professores, que tornaram possível a realização do projeto e contribuíram para minha formação.

Agradeço a todo o corpo docente do curso de Nutrição – USFC que ensinaram e contribuíram para minha formação pessoal e profissional.

Agradeço ao HU – UFSC e ao LAPI - UFSC, que tornaram possíveis as análises bioquímicas. Especialmente à professora Júlia Dubois – PPGN; à Júlia Salvan – PGFar e à Eduarda Mohr – PGFar.

Agradeço também a todas as pessoas que estiveram presentes em minha vida e que de alguma forma contribuíram na construção da minha história.

RESUMO

Introdução: descobertas recentes sobre o papel da microbiota intestinal e sua relação com o funcionamento cognitivo e afetivo levaram à hipótese de que a suplementação de simbiótico poderia atuar como uma estratégia adjuvante ao tratamento de sintomas de depressão e ansiedade em pacientes diabéticos. **Objetivos:** avaliar o efeito da suplementação com simbiótico sob sintomas de depressão e ansiedade em pacientes portadores de diabetes mellitus tipo 2 (DM2). Avaliar também a associação entre os sintomas de depressão e ansiedade e marcadores de inflamação e de neuroplasticidade em pacientes com DM2. **Método:** ensaio clínico randomizado, triplo cego, placebo controlado. O estudo teve duração de 60 dias (30 dias de suplementação), no qual participaram 10 sujeitos com DM2 divididos em dois grupos. Sintomas de depressão e ansiedade foram avaliados através do inventário de depressão de Beck e inventário de ansiedade traço-estado, respectivamente. **Resultados:** a suplementação parece possuir uma tendência a um efeito ansiolítico ($p= 0,09$), e um efeito modulador de inflamação ($p= 0,04$). Independente da suplementação, observou-se forte associação negativa entre os níveis de fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) e interleucina – 8 ($p= 0,03$); associação positiva entre BDNF e sintomas de ansiedade – traço ($p= 0,04$); associação positiva entre ansiedade - estado e concentrações de proteína C reativa ($p= 0,03$); também entre sintomas de ansiedade - estado e hemoglobina glicada ($p= 0,01$). **Conclusão:** estes resultados fornecem evidência de que a suplementação de simbiótico poderiam auxiliar no tratamento de sintomas de ansiedade em pacientes com DM2. Mais estudos com maior tamanho amostral são necessários para estabelecer o efeito da suplementação.

Palavras chave: ansiedade - depressão - diabetes mellitus – fator neurotrófico derivado do cérebro – inventário de ansiedade traço-estado – inventário de depressão de Beck – simbiótico

ABSTRACT

Introduction: recent findings on the role of the intestinal microbiota and its relationship with cognitive and affective functioning have led to the hypothesis that synbiotic supplementation could serve as an adjunctive strategy for the treatment of symptoms of depression and anxiety in diabetic patients. Objectives: to evaluate the effect of supplementation with synbiotic under the symptoms of depression and anxiety in type two diabetes mellitus patients (T2D). Also, this study aims evaluating the association between the markers of depression and anxiety and markers of inflammation and neuroplasticity in T2D patients. Design: randomized, triple blind, placebo-controlled trial. The study had a duration of 60 days (30 days of supplementation), in which 10 subjects with T2D were divided into two groups. Symptoms of depression and anxiety were measured with Beck depression inventory and state trait anxiety inventory respectively. Results: supplementation seems to have an anxiolytic effect ($p= 0,09$) and modulate inflammation ($p= 0,04$). Independently of the supplementation, a strong negative association between the levels of brain derived neurotrophic factor (BDNF) and interleukin - 8 was observed ($p= 0,03$); positive association was also observed between BDNF and state anxiety symptoms ($p= 0,04$); positive association of state anxiety symptoms and c-reactive-protein levels ($p= 0,03$); and also between symptoms of state anxiety and glycated hemoglobin ($p= 0,01$). Conclusion: these results provide evidence that synbiotic supplementation may be useful for the treatment of anxiety symptoms in T2D patients. More studies with larger sample size are needed to establish the effects of supplementation.

Keywords: anxiety – Beck depression inventory – brain derived neurotrophic factor - depression - diabetes mellitus – state trait anxiety inventory - synbiotics

LISTA DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1 - Resumo das vias biológicas compartilhadas que contribuem para a patogênese da depressão e diabetes mellitus tipo 2 ao longo da vida. | 25 |
| Figura 2 - O estresse crônico pode levar ao desenvolvimento da síndrome metabólica. | 28 |
| Figura 3 - Efeitos de uma microbiota intestinal saudável e da disbiose intestinal na saúde metabólica do hospedeiro..... | 32 |
| Figura 4 - Fatores que influenciam o eixo intestino-cérebro via microbiota..... | 40 |
| Figura 5 - Projeto temático do programa de Pós-Graduação em Nutrição da linha de pesquisa II, período de realização de 2017-2020..... | 43 |
| Figura 6 - Delineamento do estudo com os momentos experimentais..... | 44 |
| Figura 7 - Etapas da pesquisa..... | 47 |

LISTA DE QUADROS

| | |
|---|----|
| Quadro 1 - Classificação etiológica do Diabetes Mellitus | 18 |
| Quadro 2 - Critérios de diagnóstico do transtorno depressivo maior, segundo o DSM-5. | 22 |
| Quadro 3 - Apresentação dos unitermos da busca literária relativa à pergunta PICO. | 34 |
| Quadro 4 - Publicações envolvendo amostra, intervenção e desfecho estudados. .. | 36 |
| Quadro 5 - Classificação do estado nutricional segundo o Índice de Massa Corporal. | 51 |
| Quadro 6 - Informação da composição do simbiótico (Simbioflora®)..... | 53 |
| Quadro 7 - Informações nutricionais do simbiótico (Simbioflora®)..... | 53 |
| Quadro 8 - Variáveis de exposição, desfecho, controle e de caracterização da amostra, unidades de medida e respectiva classificação teórica utilizada para as análises estatísticas. | 55 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|--|----|
| Tabela 1 – Critérios diagnósticos para DM recomendados pela ADA e pela SBD.... | 35 |
| Tabela 2 - Número de publicações nas bases de dados Pubmed, Cochrane, Scopus e Web of Science. Dezembro, 2018..... | 35 |

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

| | |
|--------|---|
| ADA | Associação Americana de Diabetes |
| AGCCs | Ácidos graxos de cadeia curta |
| ANVISA | Agência Nacional da Vigilância Sanitária |
| AP -1 | Proteína ativadora 1 |
| BDI | Inventário de Depressão de Beck |
| BDNF | Fator neurotrófico derivado do cérebro |
| DALY | <i>Disability adjusted life years</i> |
| DCCT | <i>Diabetes Control and Complications Trial</i> |
| DM | Diabetes mellitus |
| DM2 | Diabetes mellitus tipo 2 |
| DPOC | Doença pulmonar obstrutiva crônica |
| DSM-5 | Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais 5ª edição |
| FOS | Frutooligossacarídeos |
| GLP | Peptídeo semelhante ao glucagon |
| GOS | Galactooligossacarídeos |
| GPCRs | Receptores acoplados à proteína G |
| HbA1c | Hemoglobina glicada |
| HPA | Hipotalâmico-hipofisário-adrenal |
| IDATE | Inventário de ansiedade traço-estado |
| IL | Interleucina |
| IMC | Índice de massa corporal |
| ISAPP | International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics |
| ISRSs | Inibidores seletivos da recaptção da serotonina |
| LBP | Proteína de ligação ao LPS |
| LPS | Lipopolissacarídeos |
| NF-κB | Fator nuclear kb |
| NGSP | <i>National glycohemoglobin standardization program</i> |
| NLR | Proteína repetida rica em leucina |
| NOD | Receptores semelhantes aos do domínio de oligomerização de nucleotídeos |
| SBD | Sociedade Brasileira de Diabetes |
| SNC | Sistema nervoso central |
| SNS | Sistema nervoso simpático |
| SOC3 | Supressores de citocina 3 |
| TACO | Tabela Brasileira de Composição de Alimentos |
| TCLE | Termo de Consentimento Livre e Esclarecido |
| TLR4 | Receptor do tipo Toll 4 |
| TLRs | Receptores do tipo toll |
| TNF | Fator de necrose tumoral |
| TOTG | Teste oral de tolerância à glicose |
| TrkB | Receptor de cinase relacionado à tropomiosina B |
| UFCs | Unidades formadoras de colônias |
| YLDs | <i>Years lived with disability</i> |

SUMÁRIO

| | |
|---|-----------|
| 1. INTRODUÇÃO | 15 |
| 1.1. Apresentação do problema e justificativa..... | 15 |
| 1.2. Objetivos..... | 17 |
| 1.2.1. Objetivo geral..... | 17 |
| 1.2.2. Objetivos específicos..... | 17 |
| 2. REVISÃO DE LITERATURA | 18 |
| 2.1. Diabetes mellitus..... | 18 |
| 2.2. Transtornos de humor no DM2..... | 20 |
| 2.3. Depressão..... | 21 |
| 2.4. Mecanismos fisiopatológicos compartilhados na depressão e no DM2..... | 24 |
| 2.5. Microbiota intestinal..... | 29 |
| 2.6. Probióticos, prebióticos e simbióticos..... | 33 |
| 2.7. Modulação da microbiota intestinal no contexto do DM2 e depressão..... | 34 |
| 3. MÉTODO | 43 |
| 3.1. Inserção do estudo..... | 43 |
| 3.2. Caracterização do estudo..... | 44 |
| 3.3. Descrição do local e população em estudo..... | 44 |
| 3.4. Cálculo do tamanho de amostra e processo de amostragem..... | 45 |
| 3.5. Randomização e cegamento..... | 46 |
| 3.6. Etapas da pesquisa..... | 46 |
| 3.7. Processo de coleta de dados..... | 47 |
| 3.8. Instrumentos e técnicas de coleta de dados..... | 48 |
| 3.8.1. Dados socioeconômicos..... | 48 |
| 3.8.2. Consumo alimentar..... | 48 |
| 3.8.3. Parâmetros clínicos..... | 49 |
| 3.8.4. Inventário de Depressão de Beck..... | 49 |
| 3.8.5. Inventário de Ansiedade Traço-Estado..... | 49 |
| 3.8.6. Avaliação antropométrica..... | 50 |
| 3.8.7. Avaliação laboratorial..... | 51 |
| 3.8.8. Suplementos dietéticos..... | 53 |
| 3.8.9. Orientações nutricionais..... | 54 |
| 3.9. Modelo de análise..... | 54 |
| 3.10. Processamento e análise dos dados..... | 56 |
| 3.11. Procedimentos éticos da pesquisa..... | 56 |
| 4. RESULTADOS | 58 |
| 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS | 83 |
| REFERÊNCIAS | 84 |

| | |
|--|------------|
| ANEXOS | 95 |
| ANEXO A – Avaliação dietética: recordatório 24horas | 95 |
| ANEXO B – Inventário de Depressão de Beck (BDI)..... | 96 |
| ANEXO C - Inventário de ansiedade traço-estado (IDATE)..... | 100 |
| ANEXO D – Escala de <i>Bristol</i>..... | 104 |
| ANEXO E - Critérios diagnósticos de ROMA III para os distúrbios gastrointestinais funcionais .. | 105 |
| APÊNDICES | 109 |
| APÊNDICE A - Caracterização dos indivíduos | 109 |
| APÊNDICE B – Parâmetros clínicos..... | 110 |
| APÊNDICE C - Avaliação antropométrica | 111 |
| APÊNDICE D - Avaliação laboratorial | 112 |
| APÊNDICE E - Formulário para registro de ingestão do suplemento | 114 |
| APÊNDICE F - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido | 115 |
| APÊNDICE G - Orientações nutricionais | 120 |
| APÊNDICE H - Orientações sobre o que evitar durante o período do estudo | 122 |

1. INTRODUÇÃO

1.1. Apresentação do problema e justificativa

O diabetes mellitus (DM) é uma doença crônica e heterogênea com progressão variável de sintomas e distúrbios metabólicos de acordo com a precocidade do diagnóstico e efetividade do tratamento (ADA, 2017). Atualmente, estima-se que a população mundial com DM seja de 425 milhões de pessoas e uma progressão epidêmica de 629 milhões para o ano de 2045, acometendo principalmente os indivíduos residentes em países em desenvolvimento (IDF, 2017).

O diabetes mellitus tipo 2 (DM2) é a forma mais comumente encontrada de diabetes. Estima-se que o DM2 represente aproximadamente 90 - 95% dos casos. Sua ocorrência é devido a uma perda progressiva da secreção de insulina e/ou pela resistência periférica de sua ação relacionada aos hábitos de vida do indivíduo (ADA, 2019).

O DM pode estar comumente associado a várias comorbidades, incluindo transtornos neuropsiquiátricos, como a depressão (FIORE et al., 2015). A prevalência de depressão é cerca de duas a três vezes maior em pacientes diabéticos em comparação com a população em geral (ALI et al., 2006; CHEN et al., 2016; ZANOVELI et al., 2016). No entanto, é um dos sintomas mais negligenciados e está diretamente associada a não adesão ao tratamento, controle glicêmico ineficiente, início precoce e progressão de complicações, bem como aumento dos custos de cuidados de saúde (ANDERSON et al., 2001; DE GROOT et al., 2001; LUSTMAN et al., 2000); levando a uma maior morbidade e mortalidade e menor qualidade de vida (LUSTMAN et al., 2000).

Além disso, o DM também se associa a outro fator, a microbiota intestinal (DELZENNE et al., 2015). Evidências sugerem que a microbiota intestinal participa de manifestações do metabolismo do hospedeiro como um todo, afetando principalmente o balanço energético, metabolismo glicídico e funções do sistema imunológico (CANI et al., 2012). A expressão e comunicação desses sistemas com outros órgãos ocorrem por transmissão dos sinais microbianos intestinais através do epitélio intestinal. Estas moléculas podem ser constituídas por componentes estruturais das bactérias ou os metabólitos produzidos a partir da microbiota do

hospedeiro, assim atingindo órgãos distais de forma direta ou por sinalizações enviadas pelas terminações nervosas do intestino ou pela própria produção hormonal (SCHROEDER; BÄCKHED, 2016).

Alguns estudos revelam a importância da microbiota intestinal também para a função do sistema nervoso central (SNC) e ligam os transtornos psiquiátricos, tais como a depressão, a alterações neste microbioma, tornando-o um alvo potencial para estratégias de tratamento (FOSTER; MCVEY NEUFELD, 2013; JIANG et al., 2015; WANG; KASPER, 2014).

Uma das possíveis intervenções com enfoque dietoterápico para o tratamento do DM2 e transtornos psiquiátricos é a modulação da microbiota intestinal, que pode ser alterada com o consumo de suplementos a base de simbióticos. Simbióticos são produtos que contém tanto prebióticos quanto probióticos (GUARNER. et al., 2012). Os prebióticos são substratos que são seletivamente utilizados por microrganismos que conferem benefícios à saúde do hospedeiro (GIBSON et al., 2017). Probióticos são produtos que fornecem microrganismos vivos com uma contagem viável adequada de cepas bem definidas, com uma expectativa razoável de proporcionar benefícios para o bem-estar do hospedeiro (HILL et al., 2014).

Neste sentido, o uso de simbióticos podem ser considerados como estratégias benéficas para o tratamento do DM (ALIASGHARZADEH et al., 2015; DEGHAN; POURGHASSEM GARGARI; ASGHARI JAFAR-ABADI, 2014) que corroborem com o tratamento de sintomas de depressão (AKKASHEH et al., 2016; BENTON; WILLIAMS; BROWN, 2007). Considerando estes aspectos, a pergunta de partida que motivou este trabalho foi:

Qual o efeito da suplementação de simbiótico sobre sintomas de depressão e ansiedade em indivíduos adultos e idosos portadores de DM2?

1.2. Objetivos

1.2.1. Objetivo geral

- Avaliar o efeito da suplementação de simbiótico sobre sintomas de depressão e ansiedade e as concentrações séricas do fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) em indivíduos adultos e idosos com DM2.

1.2.2. Objetivos específicos

- Avaliar os efeitos da suplementação com simbióticos sobre sintomas de depressão e ansiedade em indivíduos com DM2;
- Avaliar os efeitos da suplementação com simbióticos sobre as concentrações séricas de BDNF em indivíduos com DM2;
- Avaliar os efeitos da suplementação com simbióticos sobre as concentrações de cortisol em indivíduos com DM2;
- Avaliar a associação entre os níveis de BDNF com sintomas de depressão e ansiedade em indivíduos com DM2;
- Avaliar a associação entre os marcadores glicêmicos (glicemia de jejum, hemoglobina glicada, insulina e HOMA-IR) com sintomas de depressão e ansiedade em indivíduos com DM2;
- Avaliar a associação entre a razão cortisol/proteína-C-reativa (PCR) com sintomas de depressão e ansiedade em indivíduos com DM2.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Diabetes mellitus

O DM compreende um grupo heterogêneo de disfunções do metabolismo, sendo a hiperglicemia o fator prevalente. O DM pode ser decorrente de defeitos na secreção de insulina, na ação da insulina, ou seu conjunto; e sua classificação é baseada na sua etiologia (ADA, 2019), conforme apresentado no quadro 1:

Quadro 1 - Classificação etiológica do Diabetes Mellitus

| | |
|---|---|
| 1 | DM tipo 1: - Tipo 1A: deficiência de insulina por destruição autoimune das células β pancreáticas comprovada por exames laboratoriais; - Tipo 1B: deficiência de insulina de natureza idiopática. |
| 2 | DM tipo 2: perda progressiva da secreção de insulina combinada com resistência à insulina. |
| 3 | DM gestacional: hiperglicemia em diferentes graus, diagnosticada durante a gestação, na ausência de critérios de DM prévio. |
| 4 | Outros tipos de DM: - Monogênicos; - Diabetes neonatal; - Secundário a endocrinopatias; - Secundário a doenças do pâncreas exócrino; - Secundário a infecções; - Secundário a medicamentos |

Fonte: adaptado de SBD, 2017.

O DM2 (alvo deste trabalho) caracteriza-se por insuficiência/resistência à ação da insulina. Esta forma de DM também é influenciada por fatores genéticos, porém, sua ocorrência é maior quando associada aos fatores de risco ambientais, como sedentarismo, alto consumo de carboidratos simples e gorduras, presença de sobrepeso e obesidade e o avançar da idade (SBD, 2017). O acúmulo de gordura central/visceral é mais comumente associado ao risco de desenvolver DM2. Este

excesso de tecido adiposo faz com que exista uma produção aumentada de citocinas pró-inflamatórias e auxilia na geração de resistência à ação da insulina; fatores envolvidos no aparecimento do DM2 e suas comorbidades (ADA, 2019).

O diagnóstico da DM2 é feito via exames laboratoriais, sendo que o indivíduo deve apresentar pelo menos um resultado confirmativo para os seguintes exames:

- 1- Glicemia de jejum (após 8 horas de jejum);
- 2- Glicemia 2 horas após teste oral de tolerância a glicose;
- 3- Hemoglobina glicada (HbA1c).

Os valores adotados pela Sociedade Brasileira de Diabetes (SBD) são os mesmos valores recomendados pela Associação Americana de Diabetes (ADA) e encontram-se na tabela 2 (ADA, 2019; SBD, 2017).

Tabela 1 - Critérios diagnósticos para DM2 recomendados pela ADA e pela SBD.

| Exame | Normal | Pré-diabetes | Diabetes |
|--|---------------|---------------------|-----------------|
| Glicemia de jejum (mg/dL) | < 100 | 100 a 125 | ≥ 126 |
| Glicemia 2 horas após TOTG com 75 g de glicose (mg/dL) | < 140 | 140 a 199 | ≥ 200 |
| Hemoglobina glicada (%) | < 5,7 | 5,7 a 6,4 | ≥ 6,5 |

Legenda: DM2 – Diabetes mellitus tipo 2; ADA – Associação Americana de Diabetes; SBD: Sociedade Brasileira de Diabetes; TOTG: teste oral de tolerância à glicose.

O número de pessoas vivendo com DM aumenta a cada ano. Em 2017, estimou-se a prevalência de 425 milhões de casos de DM no mundo. Estima-se que em 2045 a prevalência, em adultos de 20 – 79 anos, seja de 629 milhões. O Brasil destaca-se como o 4º colocado no ranking dos países com maior número de casos, com 12,5 milhões de pessoas com DM, ficando atrás apenas dos Estados Unidos (30.2 milhões), Índia (72,9 milhões) e China (114,4 milhões) (IDF, 2017).

O DM é uma condição que traz consigo uma grande carga econômica, aumentando os gastos dos indivíduos, familiares, e os custos de saúde de países de modo geral. Estes custos estão associados a aumento do uso de serviços de saúde; medicamentos; emergências; e invalidez pelas consequências da doença (FERNANDES et al., 2016). No ano de 2015, no Brasil, estimou-se que o total de despesas gastas com a saúde de indivíduos portadores de DM e de suas complicações foi de 22 bilhões de dólares, com projeção para 2040 de 29 bilhões de dólares (SBD, 2017).

Em muitos países, o DM e suas complicações são as principais causas de mortalidade precoce, representando 14,5% das causas globais de morte. Em 2015, aproximadamente cinco milhões de pessoas com idade entre 20 e 79 anos morreram devido ao DM ou suas complicações (FERNANDES et al., 2016), no entanto, as estatísticas existentes subestimam a mortalidade desta patologia. Além disso, o DM é frequentemente omitido nas declarações de óbito, uma vez que são suas complicações as principais causas de morte (principalmente eventos cardiovasculares) (SBD, 2017).

2.2. Transtornos de humor no DM2

Um estudo que utilizou os dados da Pesquisa Nacional de Saúde de 2013 sobre a prevalência de comorbidades dos pacientes diabéticos demonstrou que apenas 18,1% dos participantes relataram apresentar DM de forma isolada. 26,6% tinham relato de uma comorbidade associada; 23,2%, de duas comorbidades; e 32,0% de três ou mais comorbidades associadas (RZEWUSKA et al., 2017).

Dentre as comorbidades relacionadas ao DM, destacam-se transtornos psiquiátricos como depressão e ansiedade. Cerca de um terço dos pacientes diabéticos sofrem de transtornos depressivos clinicamente relevantes, o que leva a uma maior morbidade, mortalidade e menor qualidade de vida (LUSTMAN et al., 2000). A depressão nestes pacientes associa-se a uma não adesão ao tratamento, a um ineficiente controle glicêmico, início precoce e rápida progressão de complicações, e aumento dos custos de cuidados de saúde (ANDERSON et al., 2001; DE GROOT et al., 2001; LUSTMAN et al., 2000). Além disso, existem fatores ambientais que possuem associações nas duas patologias. Destacam-se o baixo nível socioeconômico, dieta inadequada, insônia e sedentarismo (AGARDH et al., 2011; CHIU et al., 2010; FOLB et al., 2015).

Uma das interpretações para a relação existente entre depressão e o DM2 é que a carga psicológica da vida de um sujeito com uma doença crônica o predispõe à depressão. Outra explicação é que a depressão e o DM2 compartilham fatores ambientais e de estilo de vida semelhantes, como privação socioeconômica, adversidade social, tabagismo e redução da atividade física. Além disso, na idade adulta, o estresse no trabalho está associado ao aumento do risco de DM2 e depressão (MOULTON; PICKUP; ISMAIL, 2015).

2.3. Depressão

Segundo o Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais 5ª edição (DSM-5), os chamados transtornos depressivos são um grupo de transtornos que inclui o transtorno depressivo maior. A característica desse transtorno é a presença de humor triste, vazio ou irritável, acompanhado de alterações somáticas e cognitivas que afetam significativamente a capacidade de funcionamento do indivíduo. O que difere entre eles são os aspectos de duração, momento ou etiologia (AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 2013). O foco deste trabalho é no transtorno depressivo maior, que a partir de agora será chamado de depressão.

A depressão é um transtorno neuropsiquiátrico crônico, recorrente e debilitante, que afeta quase 1/5 da população ao longo da vida, sendo aproximadamente duas vezes mais comum em mulheres que em homens. A depressão afeta aproximadamente 300 milhões de pessoas em todo o mundo. Suas taxas estão aumentando, com um aumento de 18% na prevalência entre 2005 e 2015, causando grandes consequências sociais e econômicas (GERHARD; DUMAN, 2018).

A prevalência anual de depressão no Brasil foi estimada por Munhoz et al. (2016) que encontraram o valor de 4,1% em indivíduos acima de 18 anos, o que corresponde a aproximadamente 5,5 milhões de pessoas. Sua prevalência foi maior em indivíduos na faixa etária de 40 - 59 anos ou acima de 80 anos. Em mulheres, a prevalência foi de duas vezes a dos homens; e em indivíduos morando na área urbana foi 50% maior do que indivíduos morando na área rural. Uma menor escolaridade também parece estar associada a uma maior prevalência de depressão. Além disso, a região Sul foi a região do Brasil com maior prevalência de depressão, com um valor de 4,8%. Existe também uma maior prevalência deste transtorno em indivíduos fumantes (6,1%), hipertensos (7,5%), portadores de DM (8,6%) e cardiopatas (14%).

Além disso, entre as 10 principais causas de anos perdidos por incapacidade (“years lived with disability” – YLDs) os transtornos depressivos ocupam a 3ª posição, estando na frente de doenças como DM, doença pulmonar obstrutiva crônica, doença cardíaca coronariana e asma. Estima-se que para o ano de 2020 a depressão passe a ser a 2ª maior causa de incapacitação do mundo (KASSEBAUM, N. J. et al, 2016). Em relação à sobrecarga dos Transtornos mentais medida pelo DALY (“disability adjusted life years”), que avalia o número de anos perdidos por incapacidade ou morte precoce, a depressão é a doença de maior sobrecarga (KASSEBAUM et al., 2016).

Uma meta-análise realizada em 2014 mostrou que pacientes portadores de depressão possuem um maior risco de mortalidade por todas as causas e de suicídio, quando comparado com indivíduos sem depressão. Esta informação mostra que este transtorno de humor é uma importante questão de saúde pública a ser tratada (CHESNEY; GOODWIN; FAZEL, 2014).

A depressão caracteriza-se pela desregulação das funções afetivas e motivacionais. Seus sinais e sintomas podem incluir humor deprimido, anedonia, lentidão psicomotora, fadiga, aumento na latência de respostas, diminuição na capacidade de concentração e tomada de decisões. Os principais componentes cognitivos presentes são a avaliação negativa de si mesmo, do mundo e do futuro, sentimento de inutilidade, diminuição da autoestima e autoconfiança, desesperança, culpa excessiva e pessimismo. Além disso, sintomas psicóticos e ideação suicida também podem estar presentes, assim como alterações vegetativas (SADOCK et al. 2009).

Para que um indivíduo seja diagnosticado com depressão, ele deverá apresentar pelo menos cinco dos sintomas depressivos, todos os dias, durante um período mínimo de duas semanas. É importante ressaltar que estes cinco sintomas devem incluir humor deprimido e/ou anedonia, além disso, os episódios depressivos devem prejudicar significativamente o funcionamento social ou ocupacional e não devem ser atribuídos ao abuso de substâncias ou melhor explicados por outros transtornos psicológicos. Os critérios para diagnóstico são representados na figura abaixo, segundo o DSM-5 (AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 2013).

Quadro 2 - Critérios de diagnóstico do transtorno depressivo maior, segundo o DSM-5.

| Critérios Diagnósticos | |
|------------------------|--|
| A. | Cinco (ou mais) dos seguintes sintomas devem estar presentes por um período mínimo de duas semanas e representam uma mudança em relação ao funcionamento anterior; pelo menos um dos sintomas é (1) humor deprimido ou (2) perda de interesse ou prazer. |
| 1. | Humor deprimido na maior parte do dia, quase todos os dias. |
| 2. | Acentuada diminuição do interesse ou prazer em todas ou quase todas as atividades na maior parte do dia, quase todos os dias. |

3. Perda ou ganho significativo de peso sem estar fazendo dieta, ou redução ou aumento do apetite quase todos os dias.
4. Insônia ou hipersonia quase todos os dias.
5. Agitação ou retardo psicomotor quase todos os dias.
6. Fadiga ou perda de energia quase todos os dias.
7. Sentimentos de inutilidade ou culpa excessiva ou inapropriada quase todos os dias.
8. Capacidade diminuída para pensar ou se concentrar, ou indecisão, quase todos os dias.
9. Pensamentos recorrentes de morte, ideação suicida recorrente sem um plano específico, uma tentativa de suicídio ou plano específico para cometer suicídio.

Fonte: adaptado de American Psychiatric Association (2013).

Esse transtorno de humor também é associado a outras comorbidades, incluindo outros tipos de transtornos mentais (por exemplo: transtorno de ansiedade e transtornos psicóticos) e doenças crônicas (por exemplo: DM2 e hipertensão arterial) podendo indicar mecanismos fisiopatológicos compartilhados (BROWN; VARGHESE; MCEWEN, 2004; KATON; LIN; KROENKE, 2007; THAIPISUTTIKUL et al., 2014).

Geralmente, a depressão e os transtornos de ansiedade relacionados são tratados usando uma combinação de terapia cognitivo-comportamental e agentes farmacológicos. No entanto, um terço dos pacientes necessitará de um tempo até atingir de resposta terapêutica a opções de tratamento antes de encontrar um tratamento adequado; e outro terço dos pacientes apresentará refratariedade aos medicamentos antidepressivos. Além disso, uma das limitações no uso destes medicamentos é que necessitam de um intervalo de tempo que pode variar de semanas a meses para que exista uma resposta terapêutica eficiente (GERHARD; DUMAN, 2018).

2.4. Mecanismos fisiopatológicos compartilhados na depressão e no DM2

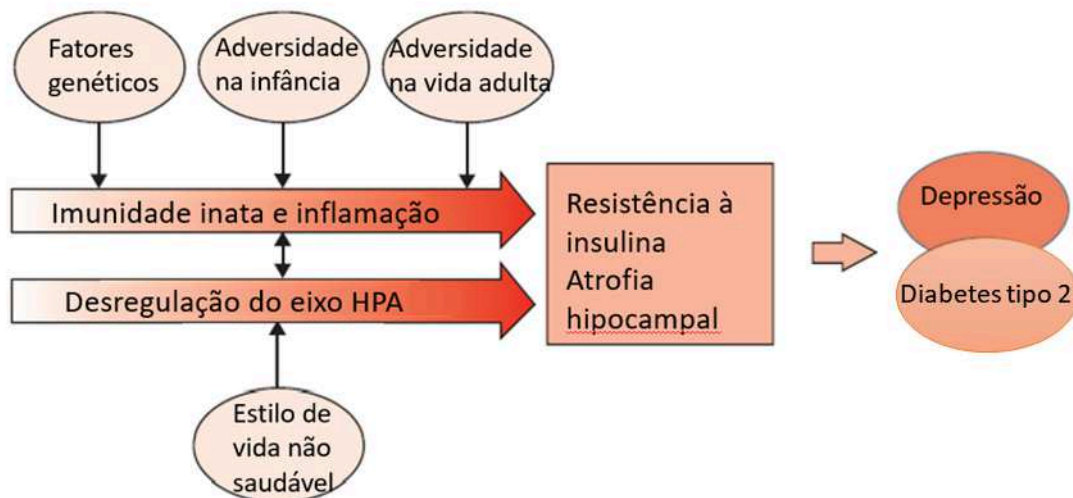
No geral, sugere-se que a relação entre depressão e o DM2 poderia se desenvolver em paralelo por mecanismos biológicos compartilhados. As principais vias candidatas incluem o eixo hipotalâmico-hipofisário-adrenal (HPA), a resposta inflamatória inata e a resistência à insulina, que interagem entre si. Embora sejam fisiologicamente relacionadas, estas vias não são mutuamente exclusivas (MOULTON; PICKUP; ISMAIL, 2015).

Um dos mecanismos que relaciona a DM2 e a depressão possui o estresse crônico como principal fator. O estresse crônico leva a uma desregulação crônica do eixo HPA e do sistema nervoso simpático (SNS), assim, aumentando a produção de cortisol no córtex da glândula adrenal e a produção de adrenalina e noradrenalina na medula adrenal (KYROU; CHROUSOS; TSIGOS, 2006). O aumento crônico de cortisol e a ativação prolongada do SNS também promovem a resistência à insulina e obesidade visceral, podendo resultar em síndrome metabólica e DM2 (CHROUSOS, 2009). Adicionalmente, o aumento crônico da secreção de noradrenalina e cortisol levam a diferentes consequências, dentre elas a ansiedade, a depressão e a disfunções cognitivas (CHROUSOS, 2009).

Fatores ambientais estressores possuem importante papel para o desenvolvimento da depressão. Os principais eventos estressantes em um indivíduo, que estão temporalmente relacionados (geralmente no ano anterior ao início) à depressão, ocorrem mais frequentemente na vida adulta (como perda de emprego, insegurança financeira, problemas de saúde, violência, separação e luto) (OTTE et al., 2016). Existem evidências de que a exposição a eventos na infância também pode anteceder a depressão mais tarde na vida. Esses eventos incluem abuso físico e sexual, negligência psicológica, exposição à violência doméstica ou separação precoce dos pais (principalmente separação materna), com evidência de uma relação dose-resposta entre o número e a gravidade dos eventos adversos da vida e o risco, gravidade e cronicidade da depressão (OTTE et al., 2016).

A figura 1 mostra resumidamente as possíveis vias compartilhadas entre DM2 e depressão.

Figura 1 – Resumo das vias biológicas compartilhadas que contribuem para a patogênese da depressão e diabetes mellitus tipo 2 ao longo da vida.



Fonte: adaptado de Moulton; Pickup; Ismail (2015).

Os transtornos de ansiedade também são frequentemente associados a uma ativação do eixo HPA através de fatores externos como exposição a agentes químicos, fatores biológicos e ambientais que causam distúrbios nos sistemas endócrino, imunológico e nervoso (SANDHU et al., 2017).

Além disso, o estresse crônico também possui consequências comportamentais. O excesso de cortisol dificulta a neurogênese no hipocampo, região do cérebro associada tanto à depressão quanto no DM2 (MOULTON; PICKUP; ISMAIL, 2015). As alterações periféricas nos níveis de cortisol e mecanismos inflamatórios podem induzir sintomas depressivos, afetando a função cerebral, principalmente por alterar a neuroplasticidade e, conseqüentemente, a neurogênese. Seguindo este raciocínio, foram encontrados níveis mais baixos de BDNF no soro de pacientes com depressão (LEVY et al., 2018). O BDNF e outros reguladores da neuroplasticidade podem afetar o comportamento através do controle da neurogênese; e terapias antidepressivas tanto farmacológicas quanto não-farmacológicas podem normalizar os níveis de BDNF (OTTE et al., 2016).

O BDNF é uma neurotrofina envolvida no crescimento, diferenciação e sobrevivência dos neurônios e também é um fator importante na regulação da neurogênese e da plasticidade sináptica. Ele exerce seus efeitos neurotróficos ativando o receptor de cinase relacionado à tropomiosina B (TrkB) (LEVY et al., 2018). O BDNF é abundantemente expresso no cérebro dos mamíferos, com as maiores

concentrações encontradas no hipocampo e no córtex (LEVY et al., 2018). Segundo uma meta-análise feita por Molendijk e colaboradores, os níveis séricos de BDNF são geralmente mais baixos em pacientes com depressão (MOLENDIJK et al. 2013) sendo este resultado confirmado por outras duas meta-análises (POLYAKOVA et al. 2015; KISHI et al. 2018). Ainda, ao analisar tecido cerebral de vítimas de suicídio, foi encontrada uma redução na expressão de BDNF e TrkB nas regiões do hipocampo e do córtex pré-frontal (LEVY et al., 2018). Além disso, pacientes com transtorno de ansiedade frequentemente apresentam uma forte correlação entre o tipo de transtorno de ansiedade e os níveis periféricos de BDNF (SANDHU et al., 2017).

Em relação a neuroplasticidade no DM, uma revisão sistemática feita por Moulton et al. (2015), mostrou que existe uma redução do volume do hipocampo em pacientes com DM2. Em pacientes com depressão, também se observa uma redução no volume hipocampal. Estes achados podem implicar uma fisiopatologia comum entre depressão e DM2. Além disso, baixas concentrações de BDNF tem sido associada tanto à depressão quanto ao DM2, potencialmente via decréscimos na função hipocampal (MOULTON et al., 2015). O DM2 foi associado à atrofia em numerosas áreas cerebrais, mas de forma mais marcante no hipocampo, mostrando uma ligação potencial para sua alta comorbidade e risco para depressão e demência. Os mecanismos responsáveis por esta comorbidade podem incluir processos inflamatórios, estresse oxidativo e apoptose, como resultado da sinalização aberrante de insulina (MOULTON et al., 2015).

O sistema imune também é um importante componente das vias sensíveis ao estresse e interage intimamente com o eixo HPA, o sistema nervoso autônomo e o SNC em circuitos mutuamente regulatórios de retroalimentação e *feedback*. A disfunção imunológica e mecanismos neuroimunológicos na depressão são suportados por evidências de estudos em animais. Modelos animais também fornecem dados sobre como as citocinas periféricas podem, direta e indiretamente, afetar os circuitos cerebrais, o comportamento e o humor (OTTE et al., 2016).

As citocinas periféricas podem ser transportadas através da barreira hematoencefálica para atuar diretamente nas células residentes do SNC, incluindo astrócitos, micróglia e neurônios. Além disso, os sinais inflamatórios podem ser transmitidos ao SNC através de mecanismos celulares (infiltração do SNC por células imunitárias periféricas) ou sinalização através do nervo vago. Modelos animais mostraram que essas rotas convergem no SNC para alterar programas moleculares,

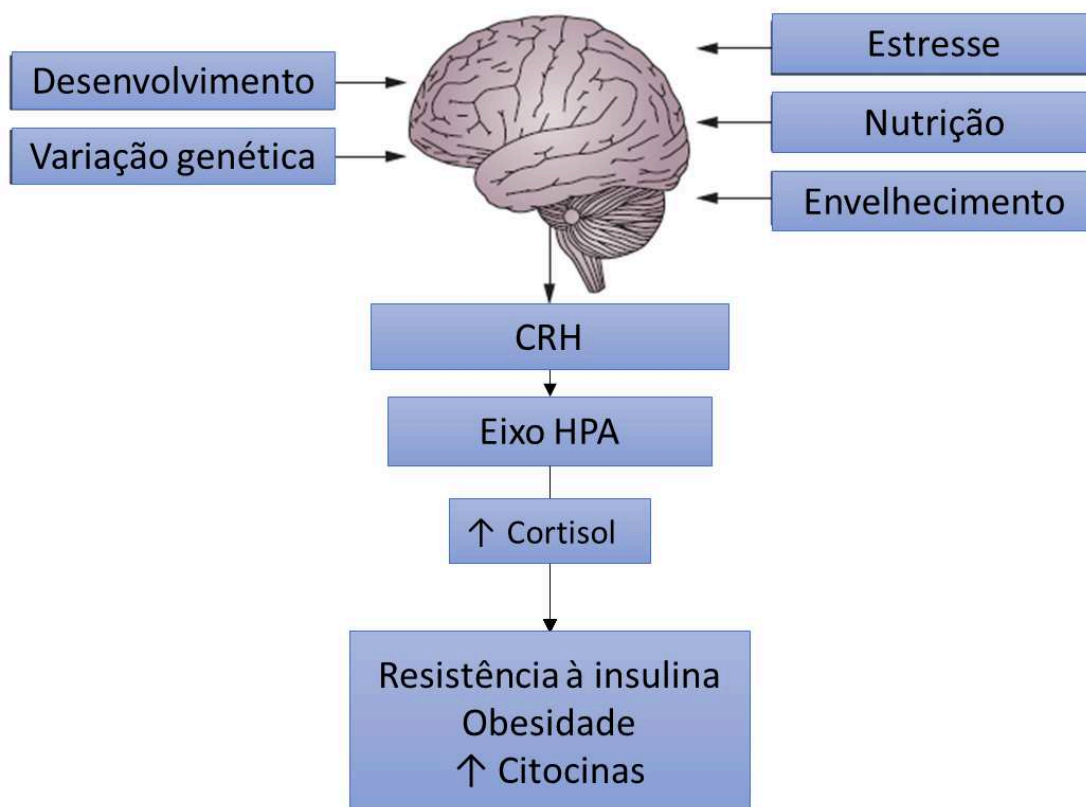
neurogênese e plasticidade. Por fim, pacientes com depressão apresentam níveis séricos aumentados de citocinas, como o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e a interleucina 6 (IL-6), segundo revisão (OTTE et al., 2016).

Segundo Moulton et al. (2015), a inflamação no DM2 pode causar o desenvolvimento paralelo de sintomas depressivos. Pessoas com mais sintomas depressivos e DM2 têm concentrações circulantes de marcadores inflamatórios mais elevadas do que pessoas com DM2 com menos sintomas depressivos. Paralelamente, sintomas depressivos podem surgir em pacientes com DM2 quando existe um excesso de citocinas pró-inflamatórias no cérebro. Estas citocinas pró-inflamatórias levam a um aumento na conversão de triptofano a metabólitos neuroativos como a quinurenina, e, conseqüentemente, a uma diminuição das concentrações de serotonina, causando uma piora no humor destes indivíduos (MOULTON; PICKUP; ISMAIL, 2015).

O papel da imunidade inata no desenvolvimento de depressão em pacientes com DM2 ainda não está completamente estabelecido. Depressão na população geral, tem uma associação pequena, mas significativa, com um estado inflamatório crônico, sistêmico, relacionado a citocinas (ativação da imunidade inata) que difere de acordo com o subtipo de depressão. A resistência à insulina e a DM2 também estão associadas a uma resposta inflamatória crônica de baixo grau devido à ativação da imunidade inata. Estudos prospectivos demonstraram que as concentrações circulantes aumentadas de marcadores inflamatórios, incluindo proteínas de fase aguda como a PCR e citocinas pró-inflamatórias como a interleucina-6 (IL-6), estão associados ao aparecimento de DM2 (MOULTON et al., 2015).

A figura 2 mostra diferentes fatores impactando na ativação do eixo HPA e gerando aumento de cortisol, que predispõem ao aparecimento de comorbidades (CHROUSOS, 2009).

Figura 2 – O estresse crônico pode levar ao desenvolvimento da síndrome metabólica.



Fonte: adaptado de Chrousos (2009). Abreviações: CRH: hormônio liberador de corticotropina; Eixo HPA: eixo Hipotalâmico-hipofisário-adrenal.

O estresse crônico induz a disfunção imune diretamente ou através do eixo HPA ou aumentando a produção de citocinas inflamatórias. Este resultado está embasado pelo fato de que indivíduos com depressão também apresentam aumento da ativação do sistema inflamatório que está sob controle inibitório fisiológico pelo cortisol. De fato, a resistência a glicocorticoides, a hiperatividade do eixo HPA e o aumento da inflamação são evidentes na depressão (OTTE et al., 2016). Também, altas quantidades de citocinas prejudicam o funcionamento normal das células β pancreáticas, induzem resistência à insulina e, assim, promovem o aparecimento de DM2 (PICKUP; CROOK, 1998; WANG et al., 2013).

Resumidamente, tanto o DM2 quanto a depressão estão associados à ativação da resposta inflamatória inata, e foi demonstrado que pacientes com depressão e DM2 apresentam níveis mais altos de marcadores inflamatórios do que os pacientes com DM2 sem depressão. Sujeitos com depressão têm concentrações significativamente maiores de (TNF- α) e interleucina-6 (IL-6), e altos níveis de IL-6 tanto na depressão

como no DM2, estão associados a volumes hipocâmpais reduzidos. Além disso, tanto a depressão quanto o DM2 também estão associados à superativação do eixo HPA. A desregulação do eixo HPA foi observada em pacientes que experimentaram estresse/adversidade na infância e esses pacientes têm risco aumentado de desenvolver depressão e DM2 incidente na vida adulta. Portanto, é possível que a superativação da resposta inflamatória inata e/ou do eixo HPA possam fornecer um elo comum entre o DM2, a depressão e a redução do volume do hipocampo (MOULTON et al., 2015).

Uma abordagem focada apenas na identificação e no tratamento da depressão/sintomas depressivos nos pacientes diabéticos pode não melhorar o prognóstico do paciente como um todo, a menos que sejam incorporadas estratégias dirigidas ao conjunto. Dados reforçam que estratégias para a gestão do DM2 que corroborem com o tratamento de sintomas de depressão podem melhorar a adesão à medicação, o controle glicêmico e diminuir o risco de surgimento de complicações do DM2. Neste contexto, alternativas que possam modular benéficamente a microbiota intestinal do hospedeiro, levando a uma melhora na saúde, parecem contribuir tanto para o tratamento da depressão quanto do DM.

2.5. Microbiota intestinal

A microbiota intestinal é um ecossistema constituído por diferentes nichos ecológicos compostos por uma grande diversidade de espécies e cepas bacterianas. Cada pessoa apresenta uma microbiota intestinal distinta e variável (MARTINEZ; BEDANI; SAAD, 2015).

A microbiota intestinal está em contato direto com a mucosa do intestino. Ambos, juntamente com o muco, formam um importante sistema de defesa contra fatores potencialmente patogênicos e imunogênicos presentes no lúmen intestinal. A membrana mucosa separa o lúmen contendo a microbiota, resíduos de alimentos e secreções (salivares, gástricas, biliares, pancreáticas e intestinais) do tecido linfóide associado à mucosa, composto por estruturas foliculares, placas de Peyer, linfócitos T, células apresentadoras de antígenos e linfócitos B (MARTINEZ; BEDANI; SAAD, 2015).

A alta atividade metabólica da microbiota intestinal, além de seu papel nutricional, resulta em um impacto significativo na saúde e no bem-estar do indivíduo.

A interação entre a microbiota intestinal e o hospedeiro gera vantagens para ambos. As principais funções da microbiota intestinal são: participação na formação da parede intestinal; resistência à colonização contra patógenos; produção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCCs); produção de vitaminas (complexo B e K); interações com o sistema imune da mucosa; e degradação de xenobióticos (MARTINEZ; BEDANI; SAAD, 2015).

A microbiota intestinal também produz moléculas de sinalização que interagem com o metabolismo do hospedeiro. Neste sentido, destacando-se os AGCCs acetato, butirato e propionato, que são produzidos pela fermentação de fibras alimentares por bactérias. A interação dos AGCCs com receptores acoplados à proteína G (GPCRs) afeta a sensibilidade à insulina em adipócitos e órgãos periféricos, auxiliando na regulação do metabolismo energético (BOULANGÉ et al., 2016). Estas substâncias também podem modular os níveis de hormônios intestinais envolvidos com o metabolismo da glicose e com a homeostase de energia, incluindo o peptídeo semelhante a glucagon (GLP) -1 e grelina (CANI et al., 2012).

A composição e a atividade metabólica da microbiota intestinal podem ser modificadas por vários fatores, incluindo idade, tratamento com antibióticos, tabagismo, uso de álcool, processos inflamatórios, envelhecimento, mudanças na dieta e motilidade do trato gastrointestinal (ROBERFROID, 2010). Mudanças na dieta, incluindo a quantidade, tipo e equilíbrio dos principais macronutrientes (carboidratos, proteínas e gorduras) podem afetar significativamente a diversidade da microbiota intestinal, o que pode influenciar sua relação funcional com o hospedeiro (MARTINEZ; BEDANI; SAAD, 2015).

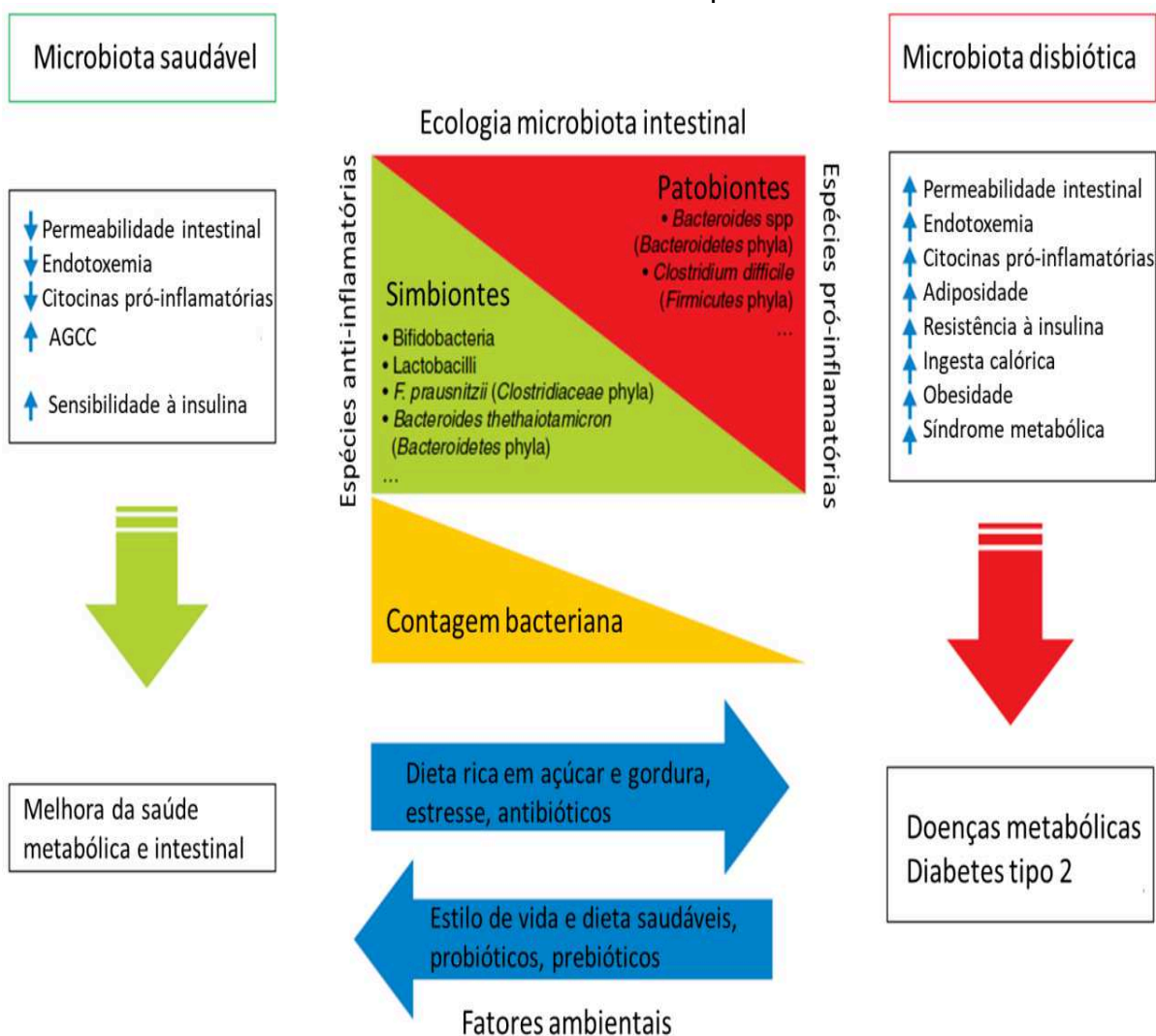
Estas alterações na microbiota intestinal parecem corroborar com o surgimento de distúrbios, incluindo inflamação sistêmica de baixo grau, distúrbios metabólicos, acúmulo excessivo de gordura e perda de sensibilidade à insulina, aumentando o risco de desenvolvimento de doenças metabólicas, incluindo DM2 e obesidade (BOULANGÉ et al., 2016). Mudanças na composição microbiana do intestino causadas por fatores externos podem resultar em uma alteração na relação simbiótica entre as bactérias e hospedeiro, o que pode levar ao desenvolvimento de doenças metabólicas (SCHROEDER; BÄCKHED, 2016). A disbiose intestinal consiste no desequilíbrio do ecossistema intestinal, ou seja, quando as bactérias patobiontes (gêneros com características pró-inflamatórias) se apresentam em maior quantidade em relação às bactérias simbiotes (gêneros com características anti-inflamatórias). Quando a

disbiose intestinal ocorre, existe um aumento de: permeabilidade intestinal; endotoxemia; adiposidade; produção das citocinas pró-inflamatórias; e resistência à insulina, contribuindo para a ocorrência de doenças como DM2 (BOULANGÉ et al., 2016).

Um fator marcante da obesidade e de suas patologias relacionadas (como a DM) é a presença de inflamação crônica de baixo grau. Acredita-se que os lipopolissacarídeos (LPS), derivados da membrana celular externa de bactérias gram-negativas iniciem os processos relacionados à inflamação associados a obesidade e à resistência à insulina (BOULANGÉ et al., 2016). O LPS atravessa a mucosa gastrointestinal pelo aumento da permeabilidade intestinal ou por infiltração de quilomícrons. Quando atinge a circulação, o LPS se infiltra em tecidos como o fígado ou tecido adiposo, desencadeando uma resposta imune, ligando-se à proteína de ligação ao LPS (LBP), que ativa a proteína receptora CD14 (localizada na membrana plasmática dos macrófagos). Este complexo liga-se ao receptor do tipo Toll 4 (TLR4) na superfície dos macrófagos, desencadeando sinais de transdução que ativam a expressão de genes que codificam efetores inflamatórios, como o fator nuclear κ B (NF- κ B) e a proteína ativadora 1 (AP -1) (BOULANGÉ et al., 2016).

O LPS também regula receptores semelhantes aos do domínio de oligomerização de nucleotídeos (NOD) presentes nos macrófagos e células dendríticas, que cooperam com receptores do tipo toll (TLRs) para induzir a expressão de NF- κ B. Além disso, participam do recrutamento de outras moléculas efetoras, como o domínio de ligação a nucleotídeos, receptor de nucleotídeo com domínios de repetição ricos em leucina (NLR), proteína adaptadora ASC e caspase-1, que são componentes do inflamassomo, que ativa o sistema imune inato (BOULANGÉ et al., 2016). Estas informações mostram o papel importante que as vias inflamatórias mediadas por LPS têm na obesidade e nas patologias relacionadas com a obesidade, como a DM2 (BOULANGÉ et al., 2016).

Figura 3 - Efeitos de uma microbiota intestinal saudável e da disbiose intestinal na saúde metabólica do hospedeiro



Fonte: adaptado de Boulangé et al. (2016). Uma microbiota saudável compreende uma representação balanceada de simbiontes (bactérias com funções promotoras de saúde) e patobiontes (bactérias que potencialmente induzem a patologia). Uma mudança para a disbiose resulta de uma diminuição nos simbiontes e / ou um aumento nos patobiontes e é provável que seja desencadeada por fatores ambientais (como dieta, estresse, antibióticos e infecções). As baixas contagens de genes bacterianos também foram associadas a alterações nas funções microbianas e disbiose do intestino e foram associadas a aumento do acúmulo de gordura, inflamação induzida por lipopolissacarídeos, resistência à insulina, obesidade e síndrome metabólica.

A ingestão de alimentos ricos em prebióticos e simbióticos restaura o crescimento de espécies de bactérias benéficas e melhora a integridade da barreira intestinal, prevenindo a ocorrência destas alterações (KELLOW; COUGHLAN; REID, 2014).

2.6. Probióticos, prebióticos e simbióticos

Segundo o ISAPP (*International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics*), os probióticos são definidos como microrganismos vivos com uma contagem viável adequada de cepas bem definidas, com uma expectativa razoável de proporcionar benefícios para o bem-estar do hospedeiro. Para que os microrganismos sejam considerados como probióticos, eles devem: ser reconhecidos como seguros para o consumo humano; ser viáveis no veículo em que são incorporados; ser resistentes às secreções gástricas e intestinais; aderir à mucosa do hospedeiro; ter ação antimicrobiana contra patógenos. São exemplos de micro-organismos probióticos as espécies bacterianas pertencentes aos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* (HILL et al, 2014).

Os prebióticos são substratos que são seletivamente utilizados por microrganismos que conferem benefícios à saúde do hospedeiro (GIBSON et al., 2017). Algumas substâncias consideradas prebióticos são: inulina, FOS (frutooligossacarídeos), GOS (galactooligossacarídeos) e oligofrutose (ROBERFROID, 2010). São encontrados em alimentos como vegetais e cereais integrais (BOULANGÉ et al., 2016). Para ser considerado prebiótico, o produto deve conferir as seguintes características: ser resistente e não digerível à acidez gástrica e as enzimas digestivas do trato gastrointestinal; ser fermentável pela microbiota intestinal aderindo à mucosa do hospedeiro; conferir a qualidade de estimulação seletiva do crescimento ou ação bacteriana, provendo benefícios ao organismo (GIBSON et al., 2004).

Guarner e colaboradores (2012) definiram simbióticos como produtos que contém tanto prebióticos quanto probióticos. Estes produtos alimentares conferem a inibição do crescimento de bactérias patogênicas, a preservação da função da barreira epitelial, aumento da secreção de insulina, redução da produção de citocinas pró-inflamatórias, redução da endotoxemia e regulação do metabolismo lipídico e glicídico, beneficiando o hospedeiro.

Assim sendo, a modulação da microbiota intestinal pode levar a uma melhora na saúde do hospedeiro e, conseqüentemente, reduzir o risco de desenvolvimento de doenças. O consumo de probióticos e prebióticos é uma alternativa interessante para modular a microbiota intestinal, mantendo a homeostase do intestino, controlando a disbiose e, conseqüentemente, melhorando a saúde do indivíduo. Portanto, a

microbiota intestinal é um alvo importante para intervenções com probióticos e prebióticos, administrados como suplementos ou ingredientes alimentares, com o objetivo de modular a composição e a capacidade funcional do microbioma (MARTINEZ; BEDANI; SAAD, 2015).

2.7. Modulação da microbiota intestinal no contexto do DM2 e depressão

Inicialmente, foi feita uma busca na literatura juntando a temática explorada para se ter um panorama geral do estado da arte. A busca da literatura foi realizada com base na estratégia de busca PICO, onde o “P” se refere a população, o “I” a intervenção, o “C” comparação e o “O” desfecho. Não foram utilizados unitermos para a comparação para evitar especificidade na busca e aumentar o número de possíveis trabalhos encontrados. Utilizou-se termos científicos localizados pelo *Medical Subject Headings* (MeSH), vocabulário da base de dados Pubmed.

A busca foi executada a partir de três grupos: população, intervenção e desfecho; sendo a população os indivíduos com DM; a intervenção, os termos que remetem a prebióticos, probióticos e simbióticos; e o desfecho, os termos que se referem a sintomas de depressão, sintomas de ansiedade e marcadores neuronais. Os unitermos são apresentados no quadro 1.

Quadro 3 - Apresentação dos unitermos da busca literária relativa à pergunta PICO.

| | | Unitermos |
|----------|--|--|
| P | Diabetes | “diabetes mellitus” OR diabetes OR DM OR DM2 OR “type 2 diabetes” OR T2D OR T2DM OR “type 2 diabetes mellitus” |
| I | Prebióticos, probióticos e simbióticos | prebiotic* OR *fructan* OR ITF OR fructooligosaccharide* OR fructooligosaccharide OR fos OR *galactan* OR galactooligosaccharide OR galactooligosaccharide OR gos OR inulin OR oligofructose OR synbiotic* OR probiotic* OR bifidobacter* OR lactobacil* OR streptococc* OR enterococc* OR saccharomyces |
| C | - | - |

| | | |
|---|---|--|
| O | Sintomas de depressão, sintomas de ansiedade e marcadores neuronais | “test depression questionnaire” OR “test depression scale” OR “test depression scales” OR “depressive symptoms” OR “depressive symptom” OR “depression symptom” OR “depression symptoms” OR “brain-derived neurotrophic factor” OR BDNF OR “brain derived neurotrophic factor” OR neurotrophin OR cortisol OR ACTH OR “adrenocorticotrophic hormone” |
|---|---|--|

Os termos científicos apresentados no Quadro 1 foram combinados de maneira sistemática para a realização do levantamento bibliográfico nas bases de dados Pubmed, Web of Science, Central (Cochrane) e Scopus. A pesquisa foi atualizada no dia 08/12/2018 e o resultado está exibido na Tabela 1.

Tabela 2 – Número de publicações nas bases de dados Pubmed, Central (Cochrane), Scopus e Web of Science. Dezembro, 2018.

| Base | Número de artigos |
|--------------------|-------------------|
| Pubmed | 23 |
| Central (Cochrane) | 4 |
| Scopus | 35 |
| Web of Science | 0 |

Ao refinar a pesquisa lendo os títulos e resumos, foram encontrados apenas três artigos que realmente correspondessem à temática pesquisada (pergunta “PICO”). Sendo dois deles em modelo animal de diabetes e um em mulheres portadoras de DM2, como mostra o quadro 2.

Quadro 4 - Publicações envolvendo amostra, intervenção e desfecho estudados.

| Artigo | Autores/ano | Tipo de estudo | Grupos | Suplemento (tipo e dosagem) | Tempo de estudo | Critérios de avaliação | Resultados |
|--|---------------------------|----------------------------|--|---|-----------------|---|--|
| A randomized controlled trial on the efficacy of resistant dextrin, as functional food, in women with type 2 diabetes: Targeting the hypothalamic-pituitary-adrenal axis and immune system | Abbasalizad, et al, 2018. | Ensaio clínico randomizado | 55 mulheres – Grupo intervenção (n= 30) e Grupo Controle (n= 25) | <u>Grupo intervenção:</u> 10 g/dia de Nutriose® – dextrina resistente <u>Grupo controle:</u> 10 g/dia de maltodextrina | 8 semanas | Questionário Geral de Saúde (QSG) e da Escala de Depressão, Ansiedade e Estresse (DASS); exames bioquímicos: ACTH, cortisol, LPS e interleucinas (IL12, IL4 e IL10) | Grupo intervenção ↓ cortisol, KYN, relação KYN / TRP, IFN γ , IL12, relação IFN γ / IL10, LPS e ↑monócito, GHQ, DASS, CD8, IL10, IL4 em comparação ao basal. ↓ LPS, IFN γ , cortisol, relação IFN γ / IL10, GHQ, DASS, relação KYN / TRP. ↑CD8 e IL10 no grupo intervenção em comparação com o grupo controle. |
| Beneficial psychological effects of novel psychobiotics in diabetic rats: the interaction among the gut, blood and amygdala | Morshedia, et al, 2018 | Estudo experimental | 35 ratos Wistar, divididos em seis grupos: HC - controle | L. plantarum ATCC 8014, 10 ⁷ UFC /ml. Inulina: concentração de 5% do total | 8 semanas | Análise bioquímica (sangue e amígdala): SOD, GPx, | Grupo intervenção: melhora nos marcadores oxidativos do sangue e da amígdala ↑ concentrações de serotonina e BDNF. |

| | | | | | | | |
|--|------------------|---------------------|---|---|-----------|---|---|
| | | | saudável; DC - controle diabético; DLI - diabéticos tratados pelo L. plantarum e insulina; DI - diabéticos tratados por inulina; DL - diabéticos tratados por L. plantarum e DSh - grupo sham diabético | dietético de cada animal | | MDA. BDNF, serotonina e TAC Testes comportamentais: EPM e FST | Melhora no resultado dos testes de labirinto em cruz elevada e nado forçado. |
| Modulation of carbohydrate metabolism and peptide hormones by soybean isoflavones and probiotics in obesity and diabetes | Ali, et al, 2005 | Estudo experimental | 32 ratos SHR/N-cp machos magros (4 grupos de 8 ratos) e 32 ratos SHR/N-cp machos obesos (4 | <u>Grupo 1:</u> dieta com 20% de caseína; <u>Grupo 2:</u> 20 % de caseína com isoflavonas de soja a 0,1% (genisteína, daidzeína e glicetina); <u>Grupo 3:</u> 20% de caseína com 0,1% | 2 semanas | Análises plasmáticas : glicose, triglicerídeos, função renal: creatinina, nitrogênio urinário e sanguíneo | Nos ratos magros, as isoflavonas tiveram efeito hipoglicemiante e hipolipemiante, mediado por alterações na insulina e leptina. Os probióticos não parecem aumentar o efeito das isoflavonas. |

| | | | | | | | |
|--|--|--|--------------------|---|--|---|--|
| | | | grupos de 8 ratos) | de probióticos (<i>Lactobacillus acidophilus</i> (LA 140), <i>L. casei</i> subsp. <i>casei</i> (LC 107) e <i>Bifidobacterium bifidum</i> (BBL 730); <u>Grupo 4</u> : 20% de caseína com 0,1% de isoflavona e 0,1% de probióticos | | (BUN), ácido úrico; AST, ALT, LDH, insulina, leptina, glucagon e ACTH | |
|--|--|--|--------------------|---|--|---|--|

Legenda: QSG - Questionário Geral de Saúde; DASS - Escala de Depressão, Ansiedade e Estresse; ACTH – hormônio adrenocorticotrópico; LPS - lipopolissacarídeo plasmático; IL - interleucinas; KYN – *Kynurenine*; TRP – triptofano; IFN γ – Interferon γ ; GPx - glutatona peroxidase; MDA – malondialdeído; BDNF - fator neurotrófico derivado do cérebro; TAC - capacidade antioxidante total; Testes comportamentais: EPM - labirinto em cruz elevado; FSTs - testes de natação forçada; UFC – unidades formadoras de colônia; SOD: Superóxido dismutase; TAC – capacidade antioxidante total; EPM - labirinto em cruz elevado; AST – aspartato aminotransferase; ALT – alanina aminotransferase; LDH – lactato desidrogenase.

Isto mostra que existe uma lacuna na literatura a ser preenchida, uma vez que estudos utilizando simbióticos para tratamento de sintomas de depressão / ansiedade em pacientes DM2, ou seja, utilizando as três grandes temáticas desta dissertação, ainda são escassos. Estudos com ênfase na modulação da microbiota intestinal no DM2 (duas temáticas) são mais comuns; assim como estudos com ênfase na modulação da microbiota intestinal em transtornos de humor (duas temáticas). A seguir, serão descritos alguns estudos que possuem seus objetivos dentro de duas das três temáticas abordadas nesta dissertação.

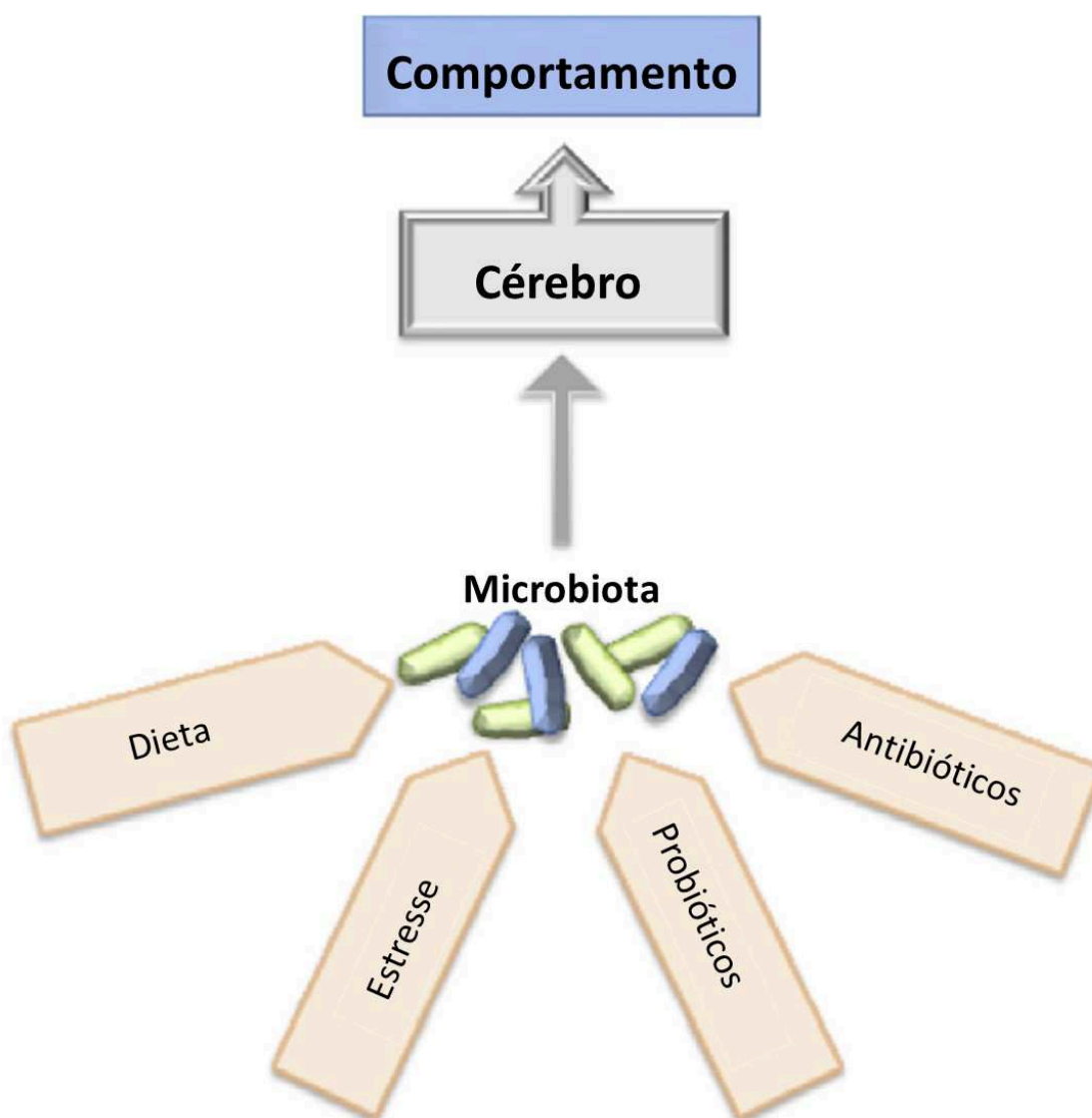
No contexto do DM, o consumo de probióticos, prebióticos ou simbióticos, parece ser uma alternativa promissora por influenciar positivamente a composição da microbiota intestinal, mantendo a homeostase intestinal e melhorando a saúde do hospedeiro (MARTINEZ; BEDANI; SAAD, 2015). Em um ensaio clínico randomizado triplo cego de Dehghan et al. (2014), com 49 mulheres portadoras de DM2 de 20 a 65 anos, foi avaliado o efeito da suplementação de 10g de inulina pelo período de oito semanas. Como resultado, obteve-se redução da glicemia de jejum, da insulina de jejum, da HbA1c e do HOMA-IR. Uma meta-análise realizada por Zhang, Wu e Fei (2016) sob o uso de probióticos no metabolismo da glicose em pacientes com DM2, sugere que o consumo de probióticos pode reduzir os níveis de glicose plasmática, hemoglobina glicada, HOMA-IR e as concentrações de insulina. Uma outra meta-análise realizada por Sun e Buys (2016) sob o uso de probióticos em DM sugere que os probióticos podem ser usados como um importante suplemento dietético na redução de parâmetros relacionados à glicose associados ao DM.

Corroborando com estes achados, outra meta-análise conduzida por Hu et al. (2017) sob o uso de probióticos em pacientes com DM2, também mostrou que os probióticos podem reduzir significativamente a glicemia de jejum e a concentração sérica de insulina, mas sem redução significativa da HbA1c. Além disso, os probióticos também poderiam reduzir significativamente o HOMA-IR. Portanto, a microbiota intestinal parece ser um alvo importante para intervenções com prebióticos e simbióticos, administrados como suplementos ou ingredientes alimentares, para tratamentos de alterações metabólicas do DM2.

Nos últimos anos também tem se demonstrado a importância da microbiota intestinal para a função do SNC, como demonstrado na figura 4. Transtornos psiquiátricos (como depressão e ansiedade) parecem responder a alterações na microbiota intestinal, tornando-a um alvo potencial para novos tratamentos (FOSTER;

MCVEY NEUFELD, 2013; JIANG et al., 2015; WANG; KASPER, 2014). Pesquisas revelaram uma sinalização direta entre o trato gastrointestinal e o SNC, referido como o "eixo intestino-cérebro". Esta rede de comunicação é bidirecional e ocorre por via autonômica envolvendo o SNC, sistema nervoso entérico, sistema neuroendócrino e sistema imunológico (FOSTER; MCVEY NEUFELD, 2013; RHEE; POTHOUKAKIS; MAYER, 2009).

Figura 4 - Fatores que influenciam o eixo intestino-cérebro via microbiota.



Fonte: adaptado de Luna; A Foster (2015). Dieta, estresse, probióticos e antibióticos podem impactar na microbiota intestinal a influenciar às vias cerebrais e, assim, impactar o comportamento.

Evidências de estudos com animais suportam a hipótese de que a microbiota intestinal desempenha um papel importante na função do SNC através da inflamação,

do eixo HPA e por afetar a neurotransmissão. Embora os caminhos que ligam as bactérias do intestino com o cérebro não sejam totalmente compreendidos, a permeabilidade intestinal, induzida pelo estresse poderia desempenhar um importante papel (WANG; KASPER, 2014).

O estresse pode alterar a permeabilidade intestinal proporcionando assim a oportunidade de deslocamento de bactérias através da mucosa, dando acesso a células imunes e neuronais (GAREAU; SILVA; PERDUE, 2008; TEITELBAUM et al., 2008). Um estudo em animais expostos ao estresse de contenção mostrou que o pré-tratamento de ratos com *Lactobacillus farciminis* reduziu a permeabilidade intestinal e evitou hiperatividade do eixo HPA, induzidos por protocolo de estresse (AIT-BELGNAOUI et al., 2012).

Tanto o DM quanto a depressão são frequentemente associados à presença de biomarcadores de inflamação, tais como a IL-6 e o TNF- α (BOULANGÉ et al., 2016; HOWREN; LAMKIN; SULS, 2009; KRISHNADAS; CAVANAGH, 2012). Esses biomarcadores de inflamação são observados nos estados de ansiedade e resultam do estresse (HOWREN; LAMKIN; SULS, 2009). Existem evidências que indicam alterações na função da barreira intestinal, decorrentes da ansiedade, que permitem o acesso à corrente sanguínea de lipopolissacarídeos (LPS) e outras moléculas, que estimulam os receptores do tipo Toll, resultando no aumento de citocinas inflamatórias (GAREAU; SILVA; PERDUE, 2008; KAWAI et al., 2001).

No cérebro, a sinalização induzida pelo estresse é facilitada por sinalização neuroinflamatória mediada pela micróglia. Em situações estressantes, as vias neuroendócrinas alteram as respostas imunes periféricas e centrais, levando ao *priming* e ao tráfico de monócitos, alterações subsequentes no fenótipo da micróglia e, em última instância, resultando em neuroinflamação, processo que parece estar envolvido em uma série de transtornos psiquiátricos, incluindo o transtorno de ansiedade e a depressão. A liberação de citocinas após a ativação da micróglia tem sido relatada por possuir um papel causal no fenótipo comportamental em modelos de estresse. Curiosamente, a ativação da micróglia induzida por estresse ocorre em regiões distintas do cérebro e em circuitos neuronais específicos, fortemente envolvidos na ativação neuroendócrina mediada pelo estresse. Desta forma, existem fortes evidências que ligam diretamente as citocinas à atividade do eixo HPA (WANG; KASPER, 2014).

A microbiota intestinal apresenta funções tanto na programação do eixo HPA no início da vida quanto na sua reatividade ao longo da vida. No nascimento, o sistema de resposta ao estresse é imaturo; desenvolve-se ao longo do período pós-natal, juntamente com o desenvolvimento da colonização bacteriana intestinal (WANG; KASPER, 2014). Estudos em ratos, utilizando modelo de estresse pela separação materna, demonstraram que o estresse neonatal gerou mudanças a longo prazo na diversidade e na composição da microbiota intestinal, o que contribuiu para comportamentos relacionados ao estresse ao longo dos anos. O tratamento com probióticos (*Lactobacillus* sp.) durante o período de estresse (separação materna) normalizou os níveis de cortisol (GARCÍA-RÓDENAS et al., 2006).

Em um ensaio clínico randomizado, duplo-cego e controlado com placebo, indivíduos saudáveis receberam uma mistura de probióticos contendo *Lactobacillus helveticus* R0052 e *B. longum* R0175 ou placebo durante 30 dias. Através de vários questionários, o estudo avaliou ansiedade, depressão, estresse e mecanismos de enfrentamento. O grupo que recebeu probiótico demonstrou significativamente menos sofrimento psicológico do que o grupo que recebeu placebo (MESSAOUDI et al., 2011). Em outro estudo duplo cego, placebo-controlado, indivíduos saudáveis receberam uma bebida contendo probiótico durante três semanas, sendo avaliadas as características de humor e cognição antes da suplementação e após 10 e 20 dias de consumo. Os indivíduos que possuíam um pior humor, apresentaram melhora significativa após o tratamento com probióticos (BENTON; WILLIAMS; BROWN, 2007).

Akkasheh et al. (2016) realizaram um ensaio clínico randomizado duplo-cego placebo-controlado com 40 indivíduos com depressão. Os participantes consumiram um suplemento probiótico ou placebo durante oito semanas, sendo avaliados os sintomas de depressão, através do Inventário de Depressão de Beck (BDI) no início e no pós-tratamento. Os resultados mostraram que o consumo do suplemento probiótico diminuiu significativamente a pontuação no escore BDI, mostrando melhora dos sintomas depressivos.

Espécies específicas dos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* possuem efeitos ansiolíticos. O tratamento probiótico com certas cepas de *B. longum*, *B. infantis*, *L. helveticus* ou *L. rhamnosus*, isoladamente ou em combinação, normalizou os fenótipos comportamentais de ansiedade em modelos animais (WANG; KASPER, 2014).

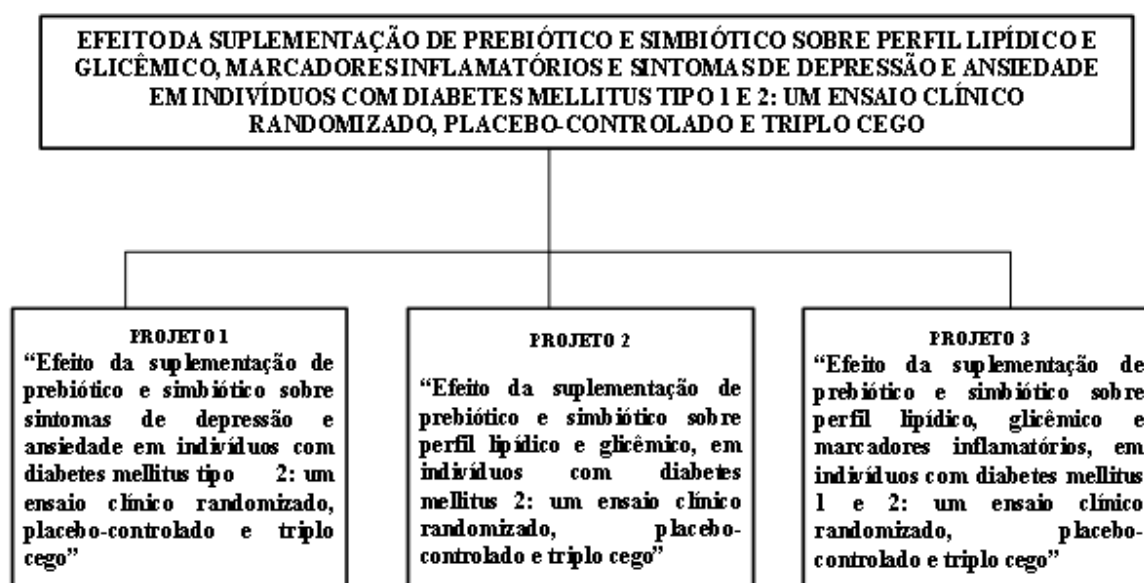
A microbiota intestinal participa da regulação da função neurofisiológica, que regula a neurotransmissão, a cognição e o comportamento. Mudanças no padrão de dieta, mesmo por um curto período de tempo, induzem efeitos na composição da microbiota intestinal, o que pode contribuir para condições psiquiátricas. Estudos pré-clínicos mostraram que a administração de prebióticos e probióticos pode melhorar diferentes condições psiquiátricas, como depressão e ansiedade. Portanto, a modulação da microbiota intestinal via intervenções dietéticas/suplementos alimentares, pode ser explorada como um potencial tratamento para distúrbios gastrointestinais, obesidade, DM e condições neuropsiquiátricas (SANDHU et al., 2017).

3. MÉTODO

3.1. Inserção do estudo

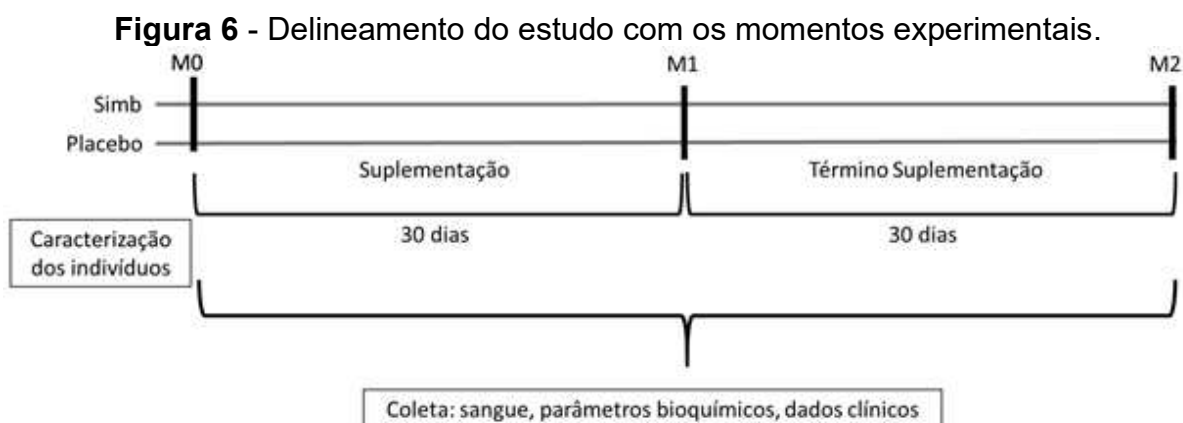
O presente trabalho está inserido em um projeto temático do programa de Pós-graduação em Nutrição, da linha de pesquisa II – Estudo dietético e bioquímico relacionado com o estado nutricional, que faz parte de um projeto temático sob coordenação dos professores Dra. Débora Kurrle Rieger Venske e Dr. Erasmo Benicio Santos de Moraes Trindade.

Figura 5 - Projeto temático do programa de Pós-Graduação em Nutrição da linha de pesquisa II, período de realização de 2017-2020.



3.2. Caracterização do estudo

O presente estudo é um ensaio clínico, randomizado, placebo-controlado, triplo cego. Consiste em três momentos experimentais: M₀ – etapa na qual ocorre a primeira consulta ambulatorial e o início da suplementação; M₁ – etapa após trinta dias da primeira consulta e término da suplementação; M₂ – etapa após trinta dias do término da suplementação (*follow up*).



Legenda: M₀ – Dia 1, entrega dos suplementos; M₁ – dia 30, término da suplementação; M₂ – dia 60, após 30 dias do término do suplemento; Simb– Simbiótico.

3.3. Descrição do local e população em estudo

O estudo foi realizado no Hospital Universitário Polydoro Ernani de São Thiago da Universidade Federal de Santa Catarina (HU-UFSC), em Florianópolis, Santa Catarina. Foram avaliados indivíduos com DM2, assistidos semanalmente pelo ambulatório de nutrição do HU-UFSC.

Os critérios de inclusão dos participantes foram: indivíduos adultos (18-65 anos) e idosos (>65 anos) de ambos os sexos, com diagnóstico de DM2. Os critérios de exclusão foram: indivíduos com doenças gastrointestinais prévias (ex: doenças inflamatórias intestinais); cirurgias gastrointestinais prévias (ex: colectomia, gastrectomia), intolerâncias e/ou alergias alimentares (ex: intolerância à lactose ou doença celíaca); uso de fármacos anti-inflamatórios e/ou antibióticos até três meses antes do estudo ou durante o estudo; uso regular de laxantes, analgésicos narcóticos opióides e inibidores do apetite; uso atual ou prévio (até um mês) de prebióticos, probióticos, simbióticos ou produtos enriquecidos com estes ingredientes; apresentar

intolerância a prebióticos e/ou probióticos e/ou simbióticos; gestantes ou lactantes; seguimento de uma dieta para perda ou ganho de peso nos últimos três meses; seguimento atual de dietas específicas (ex: vegetariana, macrobiótica, paleolítica); dependência alcoólica, de drogas ilícitas e fumantes.

Todos os participantes que aceitaram participar da pesquisa assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE); após sua leitura conjunta e elucidação de possíveis dúvidas (APÊNDICE F).

Os indivíduos participantes receberam orientações para que durante a participação evitassem praticar atividade física intensa, consumir bebida alcoólica e ingerir alimentos enriquecidos com prebióticos, probióticos ou simbióticos (APÊNDICE H).

Os indivíduos participantes foram alocados em dois grupos: G1 – grupo placebo - maltodextrina; G2 – grupo intervenção - simbiótico. Os pesquisadores mantiveram contato presencial com os indivíduos nos dias programados de ambulatório no HU-UFSC ou por via telefônica.

3.4. Cálculo do tamanho de amostra e processo de amostragem

Para o cálculo do tamanho da amostra considerou-se:

- a) O estudo de: Akkasheh et al. (2016) para o uso de probióticos e o inventário de depressão de Beck (BDI);
- b) poder do estudo 80%;
- c) intervalo de confiança de 95%;
- d) acréscimo de 20% referentes a possíveis perdas de seguimentos;
- e) cálculos executados no software online OpenEpi®.

O cálculo mostra um tamanho amostral de 29 indivíduos por grupo para o uso de probióticos e o inventário de depressão de Beck (BDI); considerando um acréscimo de 20% referente a possíveis perdas de segmento chegou-se a um n de aproximadamente 35 indivíduos por grupo.

O estudo utilizado como base para o cálculo do tamanho amostral é um ensaio clínico randomizado duplo-cego placebo-controlado feito com 40 indivíduos com depressão. Os participantes consumiram um suplemento probiótico ou placebo durante oito semanas, sendo avaliados os sintomas de depressão, através do BDI no início e no pós-tratamento. Os resultados mostraram que o consumo do suplemento

probiótico diminuiu significativamente a pontuação no escore do BDI comparado com o placebo (- 5.7 + - 6.4 contra -1.5 + - 4.8, $P = 0.001$), mostrando melhora dos sintomas depressivos.

3.5. Randomização e cegamento

Os indivíduos que aceitaram participar do estudo foram distribuídos aleatoriamente a um dos dois grupos de tratamento (placebo ou simbiótico), por meio de uma lista de randomização gerada pelo website randomizer.org, feita previamente. A lista consiste em blocos permutados de forma aleatória com três pacientes cada. Após isso, os grupos de tratamento foram substituídos por códigos numéricos aleatórios com três dígitos, também gerados por programa de computador (Microsoft Excel 2016®). Todas estas etapas de distribuição e randomização foram feitas por um indivíduo não envolvido com a pesquisa. Os pesquisadores que recrutaram e acompanharam os participantes tiveram acesso apenas a lista contendo os blocos e os códigos numéricos de randomização.

Os suplementos foram pré-embalados em sachês opacos e fechados pelo fornecedor com os códigos de randomização, sendo idênticos em aparência física, sabor e cor. Os códigos de identificação dos suplementos foram revelados após a análise estatística dos dados do estudo, garantindo seu cegamento do estudo e o caracterizando como triplo cego. O cegamento ocorre conjuntamente com a randomização e representa o desconhecimento dos envolvidos na pesquisa (participantes, investigadores e estatístico) quanto à alocação dos pacientes a um grupo ou a outro. Assim, o estudo não foi influenciado pelos indivíduos envolvidos na pesquisa.

3.6. Etapas da pesquisa

Os dados coletados nas três etapas do estudo (M0, M1 e M2), são referentes a caracterização dos indivíduos, aplicação dos questionários para avaliação dos sintomas de depressão e ansiedade, coleta de sangue para avaliação de BDNF, perfil inflamatório e perfil glicêmico.

A inclusão da terceira etapa (M2) após trinta dias do término da suplementação possui o objetivo de verificar se o efeito da suplementação se mantém após um

determinado período sem suplementação. Para esta avaliação, foram observados se os valores dos exames laboratoriais retornam aos valores basais e se existem mudanças nos escores de sintomas de depressão e ansiedade.

Figura 7 - Etapas da pesquisa

1. Planejamento

Elaboração da pergunta de partida

Revisão da literatura

Construção do projeto de pesquisa

2. Execução

Recrutamento dos participantes

Coleta de dados

Análises bioquímicas

Análises e processamento de dados

Elaboração da dissertação

Elaboração do manuscrito

3. Divulgação

Publicação do artigo

3.7. Processo de coleta de dados

A coleta de dados teve seu início em Novembro de 2017 e foi finalizada em Janeiro de 2019.

Os indivíduos participantes do estudo foram caracterizados por meio de dados socioeconômicos e clínicos. Estas informações foram coletadas diretamente com o paciente e via consulta ao prontuário do paciente no HU-UFSC.

Os dados coletados são: dados socioeconômicos (APÊNDICE A); consumo alimentar (recordatório de 24 horas) (ANEXO A); parâmetros clínicos (APÊNDICE B); questionário de depressão de Beck (BDI) (ANEXO B); inventário de ansiedade traço-estado (IDATE) (ANEXO C); avaliação antropométrica (peso corporal, altura e circunferência da cintura) (APÊNDICE C) e avaliação laboratorial (coleta de sangue) (APÊNDICE D).

Os dados socioeconômicos foram coletados apenas na primeira etapa (M0). As demais informações foram coletadas em todas as três etapas (M0, M1 e M2).

3.8. Instrumentos e técnicas de coleta de dados

3.8.1. Dados socioeconômicos

Os dados socioeconômicos foram coletados por meio de entrevista com o participante e com o auxílio de seu prontuário. O instrumento utilizado para coleta foi confeccionado pelos pesquisadores (APÊNDICE A). Os principais dados coletados foram: sexo, idade, escolaridade, renda, prática de atividade física, uso de medicamentos antidepressivos / ansiolíticos, uso de medicamentos antidiabéticos e uso de outros tipos de medicamentos.

3.8.2. Consumo alimentar

Os dados de consumo alimentar foram coletados a partir de entrevista com o participante com o auxílio da ferramenta intitulada recordatório de 24 horas, sempre no mesmo dia da semana (ANEXO A). Neste método, o participante informa todos os alimentos, porções e formas de preparo dos alimentos ingeridos no dia anterior. Utiliza-se a técnica "passagens múltiplas", na qual estimula-se o indivíduo a recordar os alimentos consumidos no dia anterior, em três diferentes fases. Na primeira fase, denominada listagem rápida, solicita-se que liste todos os alimentos consumidos no dia anterior, não necessariamente em ordem cronológica, e sem a interrupção do entrevistador. Na segunda fase, intitulada descrição detalhada, tenta-se obter informações sobre outros alimentos que necessitam ser adicionados à lista, dando ao entrevistado a oportunidade de lembrar alimentos que haviam sido inicialmente omitidos. E na terceira etapa, intitulada revisão, o entrevistador revê a lista com o entrevistado, com o objetivo de completar o relato (JONHSON, SOULTANAKIS & MATTHEWS, 1998).

Os dados referentes ao consumo alimentar dos participantes foram digitados em computador via programa Microsoft Excel 2016[®]. Com o auxílio da tabela Pinheiro (2002), foram transformados em peso (gramas) para serem posteriormente

transformados em nutrientes com o auxílio da Tabela Brasileira de Composição de Alimentos - TACO (NEPA/UNICAMP, 2011). Este dado foi utilizado para avaliar se houve possíveis mudanças na qualidade da dieta dos sujeitos nos três momentos do estudo.

3.8.3. Parâmetros clínicos

Os parâmetros clínicos foram coletados por meio de entrevista com o participante e com o auxílio de um instrumento pré definido pelos pesquisadores (APÊNDICE B), com questões relacionadas a comorbidades associadas, fármacos utilizados, alterações gastrointestinais, hábitos intestinais através do Roma III (MOSTAFA, 2008) (ANEXO F), consistência e formato das fezes com o auxílio visual da escala de fezes de Bristol (HEATON et al. 1992) (ANEXO D), uso de suplementos, prática de atividade física e informações sobre ciclo menstrual.

3.8.4. Inventário de Depressão de Beck

Para avaliação dos sintomas de depressão foi utilizado o Inventário de Depressão de Beck (BDI) (BECK et al., 1961; GOMES-OLIVEIRA et al., 2012). Esta escala consiste em 21 itens, incluindo sintomas e atitudes, cuja intensidade varia de 0 a 3. Os itens referem-se à tristeza, pessimismo, sensação de fracasso, falta de satisfação, sensação de culpa, sensação de punição, auto depreciação, autoacusações, ideias suicidas, crises de choro, irritabilidade, retração social, indecisão, distorção da imagem corporal, inibição para o trabalho, distúrbio do sono, fadiga, perda de apetite, perda de peso, preocupação somática, diminuição de libido. (GORENSTEIN; ANDRADE, 1998). Os participantes puderam optar em participar ou não da investigação e suas identidades foram preservadas. O questionário foi aplicado verbal e individualmente por pesquisadores treinados.

3.8.5. Inventário de Ansiedade Traço-Estado

Para avaliação dos sintomas de ansiedade foi utilizado o Inventário de Ansiedade Traço-Estado (IDATE); que apresenta duas escalas que avaliam a ansiedade enquanto traço (IDATE-T chamado de IDATE1 neste trabalho) ou estado

(IDATE-E chamado de IDATE2 neste trabalho) (BIAGGIO, A.M.B., 1979; SPIELBERGER, C. D.; GORSUCH, R. L.; LUSHENE, R. D., 1970). Enquanto o estado de ansiedade reflete uma reação transitória diretamente relacionada a uma situação de adversidade que se apresenta em dado momento, o traço de ansiedade refere-se a um aspecto mais estável relacionado à propensão do indivíduo lidar com maior ou menor ansiedade ao longo de sua vida. De acordo com este inventário, a escala estado requer que o participante descreva como se sente “agora, neste momento” em relação a 20 itens apresentados em uma escala de 4 pontos: 1- absolutamente não; 2- um pouco; 3- bastante; 4- muitíssimo. De maneira semelhante, a escala traço também é composta de 20 itens, mas o participante recebe a instrução de que deve responder como “geralmente se sente”, de acordo com uma nova escala de 4 pontos: 1- quase nunca; 2- às vezes; 3- frequentemente; 4- quase sempre. A pontuação do estado de ansiedade é calculada a partir da soma das pontuações dos sintomas mencionados, sendo que os valores mais altos indicam maiores níveis de ansiedade. Os participantes puderam optar em participar ou não da investigação e suas identidades foram preservadas. O questionário foi aplicado verbal e individualmente por pesquisadores treinados.

3.8.6. Avaliação antropométrica

Foram aferidos peso e altura a fim de determinar o índice de massa corporal (IMC) dos indivíduos participantes da pesquisa.

Para mensuração do peso, foi utilizada uma balança da marca Filizola[®], com capacidade máxima de 150 quilogramas e variação de 100 gramas. O avaliado foi orientado a ficar no centro da balança, de pé na posição ereta, com o peso dividido em ambos os pés, mantendo a cabeça e o olhar para frente, descalço, com o mínimo de roupa possível e sem qualquer adorno (WHO, 1995).

Para aferição da altura, foi utilizado o estadiômetro acoplado a balança, que possui comprimento máximo de 190 centímetros e escala de 0,5 centímetros. A medida é aferida com o paciente descalço em cima da balança, com pés unidos, peso corporal distribuído igualmente entre os pés, braços pendentes ao lado do corpo, mantendo cabeça e olhar para frente, encostando superfície posterior da cabeça, costas, nádegas e calcanhares no estadiômetro. O paciente foi orientado a inspirar

profundamente e manter-se nessa posição, até que a régua móvel encostasse no ponto mais alto da cabeça, comprimindo somente o cabelo e não exercendo pressão sobre o mastóide (WHO, 2008).

Para o cálculo do Índice de Massa Corporal (IMC), foi feita a relação do peso atual em quilogramas dividido pela altura em metros elevada ao quadrado. O resultado foi expresso em kg/m^2 (WHO, 2006). A classificação pelo IMC foi realizada de acordo com a classificação proposta pela World Health Organization (2006) conforme descrito no quadro 5.

Quadro 5 - Classificação do estado nutricional segundo o Índice de Massa Corporal.

| Classificação | Índice de Massa Corporal (kg/m^2) |
|----------------------|--|
| Eutrofia | 18,50-24,99 |
| Sobrepeso | $\geq 25,00$ |
| Pré-obesidade | 25,00-29,99 |
| Obesidade grau I | 30,00-34,99 |
| Obesidade grau II | 35,00-39,99 |
| Obesidade grau III | $\geq 40,00$ |

Fonte: WHO (2006).

Para a aferição da circunferência da cintura foi utilizada uma fita métrica inelástica, posicionada no nível natural da cintura, ponto médio entre a crista ilíaca anterior superior e os últimos arcos costais, com precisão de 0,1 cm (OLIVEIRA; RODRIGUES, 2016). Os valores adotados para risco aumentado para doenças cardiovasculares foram de: maior ou igual a 80,0 cm para mulheres e maior ou igual a 90,0 cm para homens (ALBERTI; ZIMMET; SHAW, 2006).

3.8.7. Avaliação laboratorial

Foram coletados 20 mL de sangue venoso periférico em cada momento do estudo por profissional capacitado de acordo com técnica padronizada (WHO, 2010) na região cubital do antebraço, utilizando tubos contendo heparina (Sistema Vacutainer® BD Biosciences - Abingdon, UK), contendo EDTA Sistema Vacutainer® BD Biosciences - Abingdon, UK) ou gel separador (Sistema Vacutainer® BD Biosciences - Abingdon, UK), em jejum prévio de 12 horas.

O tubo de sangue com heparina foi acondicionado em caixa térmica e transportado até o Laboratório de Pesquisa em Imunologia da UFSC (LAPI) para preparação e armazenamento do plasma. As amostras foram centrifugadas no próprio tubo de coleta a 3.500 rpm por 7 minutos a uma temperatura de 4°C para separação do plasma. Alíquotas de 500 µL foram transferidas para eppendorfs, devidamente identificados e armazenados a -80°C, para posterior análise de BDNF e de citocinas (IL-12, IL-10, IL-6, IL-1, IL-8 e TNF-α).

O tubo de sangue com gel separador ficou retido no laboratório de Análises Clínicas do HU-UFSC. O sangue foi deixado em repouso por 10 minutos até completa coagulação. Em seguida, foi centrifugado por um período de cinco minutos a 2.500 rpm para a separação do soro. O tubo de sangue com EDTA também ficou retido no laboratório de análises clínicas do HU-UFSC para determinação de hemoglobina glicada (HbA1c) no sangue total.

Determinação dos parâmetros metabólicos:

a) Insulina de Jejum: foi determinada pelo ensaio imunométrico por quimioluminescência (BABSON, 1991) (Siemens Healthcare Diagnostics Inc., Newark, DE, USA). As concentrações estão expressas em IU/mL.

b) Glicemia de Jejum: foi determinada pelo método enzimático, de acordo com as instruções do fabricante (KADISH; LITTLE; STERNBERG, 1968) (Dimension RxL Max[®] - Siemens Healthcare Diagnostics Inc. Newark, DE, U.S.A.). As concentrações estão expressas em mg/dL.

c) PCR: foi determinada pelo método de turbidimetria (LEDUE et al., 1998), de acordo com o protocolo descrito pelo fornecedor (BN II[®], Siemens Healthcare Diagnostics Inc., Newark, DE, USA). As concentrações estão expressas em mg/L.

d) Cortisol sérico: foi determinado pelo ensaio imunométrico por quimioluminescência (BABSON, 1991) (Siemens Healthcare Diagnostics Inc., Newark, DE, USA). As concentrações estão expressas em ng/dL.

e) BDNF: foi determinado utilizando o kit ChemiKine[™] Brain Derived Neurotrophic Factor; um imunoenensaio enzimático sanduíche (ELISA). As concentrações são expressas em ng/dL.

f) Índice HOMA: foi calculado utilizando o HOMA2 calculator (disponível em: <https://www.dtu.ox.ac.uk/homacalculator/>) sendo que HOMA IR = insulinemia de jejum (mU/L) x glicemia de jejum (mg/dL)/22,5(WALLACE; LEVY; MATTHEWS, 2004).

g) Hemoglobina glicada: sua determinação foi realizada pelo método padronizado no Diabetes Control and Complications Trial (DCCT) e certificado pelo National Glycohemoglobin Standardization Program (NGSP) (SBD, 2017).

h) Citocinas: As concentrações de citocinas séricas foram analisadas pelo método BD® Cytometric Bead Array (CBA) Human Th1/Th2/Th17 Cytokine Kit. Suas concentrações estão expressas em picogramas por mililitro (pg/mL).

3.8.8. Suplementos dietéticos

Os suplementos utilizados no estudo possuem registro na Agência Nacional da Vigilância Sanitária (ANVISA) na categoria de alimentos com alegação de propriedades funcionais e/ou de saúde (BRASIL, 2012). Todos os suplementos foram fornecidos sem nenhum custo pela empresa Invictus Farmanutrição®, e sem nenhum conflito de interesse com os pesquisadores.

Os indivíduos foram orientados a consumir dois sachês por dia durante 30 dias (60 sachês ao total) em momentos distintos do dia. Orientou-se para que um sachê fosse consumido em jejum, e o outro no intervalo das refeições. Cada sachê deveria ser diluído em aproximadamente 100 mL de água em temperatura ambiente.

O suplemento simbiótico (Simbioflora®- Invictus FarmaNutrição, Grupo FQM, Rio de Janeiro, Brasil), apresenta a seguinte composição e informações nutricionais:

Quadro 6 - Informação da composição do simbiótico (Simbioflora®)

| Simbioflora® - 2 sachês | |
|---------------------------------------|-----------------------|
| Composição | Quantidade |
| <i>Lactobacillus paracasei</i> LPC-37 | 2x10 ⁹ UFC |
| <i>Lactobacillus rhamnosus</i> HN001 | 2x10 ⁹ UFC |
| <i>Lactobacillus acidophilus</i> NCFM | 2x10 ⁹ UFC |
| <i>Bifidobacterium lactis</i> HN019 | 2x10 ⁹ UFC |
| Fruto-oligossacarídeos (FOS) | 11 gramas |

Registro no Ministério da Saúde: 6.6637.0001.

Fonte: Invictus, 2015.

Quadro 7 - Informações nutricionais do simbiótico (Simbioflora®)

| |
|---|
| Porção de 12 g de Simbioflora® - 2 sachês |
|---|

| | Quantidade por porção | VD* |
|---|-----------------------|------|
| Valor Energético | 19 kcal ou 40 kJ | 1% |
| Carboidratos | 0,6 g | 0,2% |
| Proteínas | 0 g | 0% |
| Gordura Totais | 0 g | 0% |
| Gorduras Saturadas | 0 g | 0% |
| Gorduras Trans | 0 g | 0% |
| Fibra Alimentar (Fruto-oligossacarídeos) | 11 g | 44% |
| Sódio | 0 mg | 0% |
| *% Valores Diários com base em uma dieta de 2000 kcal ou 8400 kJ. Seus valores diários podem ser maiores ou menores dependendo de suas necessidades energéticas. **VD não estabelecida. | | |

Registro no Ministério da Saúde: 6.6637.0001.
Fonte: Invictus, 2015.

O suplemento utilizado como placebo foi a maltodextrina, na mesma quantidade que o simbiótico.

Para que ocorresse um controle da ingestão dos suplementos, os indivíduos foram orientados a preencher um formulário com as informações de data da ingestão e de quantos suplementos foram ingeridos no dia (APÊNDICE E). Este documento foi entregue para os pesquisadores no encontro seguinte ao final da suplementação (M1).

3.8.9. Orientações nutricionais

Ao final da pesquisa (M2), os participantes receberam orientações nutricionais para um melhor cuidado com sua saúde, focando principalmente no DM2 (APÊNDICE G). Além disso, foram encaminhados para realização de acompanhamento nutricional no ambulatório de nutrição do HU-UFSC.

3.9. Modelo de análise

No quadro 8 estão descritas as variáveis de exposição, desfecho, controle e caracterização da amostra.

Quadro 8 - Variáveis de exposição, desfecho, controle e de caracterização da amostra, unidades de medida e respectiva classificação teórica utilizada para as análises estatísticas.

| Categoria | Variáveis | Unidades de medida/categorias | Classificação teórica |
|------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|---|
| Exposição | Ingestão de simbiótico | Sim / Não | Independente, nominal, dicotômica |
| | Ingestão de placebo | Sim / Não | |
| Desfechos Primários | Proteína C reativa | mg/L | Dependente, quantitativa contínua |
| | Insulina | IU/mL | |
| | Glicemia de jejum | mg/dL | |
| | Hemoglobina glicada | % | |
| | Cortisol sérico | ng/dL | |
| | BDNF | ng/dL | |
| | HOMA IR | % | |
| | Citocinas | pg/dL | |
| | BDI | Número inteiro | Dependente, quantitativa discreta |
| | IDATE | Número inteiro | |
| Desfechos Secundários | Consistência e formato das fezes | 1 a 7 | Dependente, qualitativa ordinal |
| | Constipação | Sim / Não | Dependente, qualitativa nominal, dicotômica |
| | Alterações gastrointestinais | Sim / Não | |
| | Prática de atividade física | Sim / Não | |
| | Uso de suplementos | Sim / Não | |
| | Circ.cintura | Risco / Sem risco | |
| Controle | Ingestão dietética (macronutrientes) | Kcal, g | Dependente, quantitativa contínua |
| | Peso corporal | Kg | |
| | IMC | Kg/m ² | |
| Caracterização | Idade | Anos | Independente, qualitativa nominal |
| | Sexo | Masculino / Feminino | |
| | Comorbidades prévias | Sim / Não | |
| | Uso prévio de medicações | Sim / Não | |

3.10. Processamento e análise dos dados

Os dados foram registrados e organizados no programa Microsoft Office Excel 2016[®]. A análise estatística foi realizada no programa estatístico STATA[®] versão 13.0 para Windows[®].

Para a avaliação da distribuição dos dados, foi aplicado o teste de normalidade de Shapiro-Wilk (resultado $<0,05$, a normalidade é rejeitada); além disso, também foram utilizados os valores de variação entre média e mediana, o coeficiente de variação, skewness, kurtosis e o histograma. Feito isto, as variáveis foram classificadas como paramétricas ou não paramétricas.

As variáveis contínuas foram sintetizadas em duas medidas por grupo: média e desvio padrão (distribuição simétrica), ou mediana e intervalo interquartil (assimétrica). As variáveis classificadas como categóricas foram descritas em categorias e frequência, de acordo com o aparecimento nos grupos estabelecidos.

Para variáveis contínuas, as comparações entre os grupos foram realizadas utilizando o teste de ANOVA de duas vias de medidas repetidas (dados não paramétricos foram submetidos à normalização logarítmica para serem incluídos nos modelos). Foi utilizado o teste de Wilcoxon para comparação entre grupos nos diferentes momentos experimentais.

Para a análise das correlações no M0, foram utilizadas as correlações de Spearman ou de Pearson, de acordo com a normalidade das variáveis.

Para análise da variação percentual das variáveis entre os tempos, foi utilizada uma planilha do Microsoft Office Excel 2016[®]. O valor da variação em % do M1 – M0 foi obtida pela variável do M1- variável do M0 divididos pela variável de M0 multiplicado por 100 ($M1 - M0/M0 \times 100$). M2 – M0 e M2 – M1 seguiu o mesmo raciocínio. Para calcular o valor de p, utilizou-se o teste de Teste de Mann-Whitney.

Para todos os testes, foi adotado o nível de significância de 95% ($p < 0,05$).

3.11. Procedimentos éticos da pesquisa

Os indivíduos convidados a participar do estudo receberam todas as explicações necessárias para o entendimento do protocolo experimental, dos riscos e dos potenciais benefícios. Ao concordar em participar, foi feita a leitura do TCLE

(APÊNDICE F) em conjunto com os pesquisadores, e todas as dúvidas foram sanadas. Em seguida, duas vias do TCLE foram assinadas pelo participante, ficando uma consigo e outra com os pesquisadores.

Nenhum indivíduo foi obrigado a participar do estudo, podendo, a qualquer momento, desistir de participar. Todas as informações coletadas são sigilosas, mas estão disponíveis para o participante, caso haja interesse. Os formulários preenchidos com as informações coletadas dos participantes ficam de posse de um dos coordenadores deste estudo, Profa. Dra. Débora Kurrle Rieger Venske.

O protocolo deste estudo seguiu os preceitos estabelecidos na declaração de Helsinki (RICKHAM, 1964) e na Resolução do Conselho Nacional de Saúde nº 466 de 2012 (BRASIL, 2013); além disso, foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da UFSC sob o número do parecer: 2.229.048.

4. RESULTADOS

Planeja-se publicar o artigo subsequente na revista: “Brain, Behavior, and Immunity”, com o fator de impacto de 6,170. A revista não possui qualis específico para a Nutrição, porém seu qualis para ciências biológicas e interdisciplinar é A1.

EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DE SIMBIÓTICO SOBRE OS SINTOMAS DE DEPRESSÃO E ANSIEDADE EM INDIVÍDUOS COM DIABETES MELLITUS TIPO 2: ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO, PLACEBO-CONTROLADO E TRIPLO CEGO

Introdução: descobertas recentes sobre o papel da microbiota intestinal e sua relação com o funcionamento cognitivo e afetivo levaram à hipótese de que a suplementação de simbiótico poderia atuar como uma estratégia adjuvante ao tratamento de sintomas de depressão e ansiedade em pacientes diabéticos. Objetivos: avaliar o efeito da suplementação com simbiótico sob sintomas de depressão e ansiedade em pacientes portadores de diabetes mellitus tipo 2 (DM2). Avaliar também a associação entre os marcadores de depressão e ansiedade e marcadores de inflamação e de neuroplasticidade em pacientes com DM2. Método: ensaio clínico randomizado, triplo cego, placebo controlado. O estudo teve duração de 60 dias (30 dias de suplementação), no qual participaram 10 sujeitos com DM2 divididos em dois grupos. Sintomas de depressão e ansiedade foram avaliados através do inventário de depressão de Beck e inventário de ansiedade traço-estado, respectivamente. Resultados: a suplementação parece possuir um efeito ansiolítico ($p= 0,09$) e modulador de inflamação ($p= 0,04$). Independente da suplementação, observou-se forte associação negativa entre os níveis de fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) e interleucina – 8 ($p= 0,03$); associação positiva entre BDNF e sintomas de ansiedade – traço ($p= 0,04$); associação positiva entre ansiedade - estado e concentrações de proteína C reativa ($p= 0,03$); também entre sintomas de ansiedade - estado e hemoglobina glicada ($p= 0,01$). Conclusão: estes resultados fornecem evidência de que a suplementação de simbiótico pode auxiliar no tratamento de sintomas de ansiedade em pacientes com DM2. Mais estudos com maior tamanho amostral são necessários para estabelecer o efeito da suplementação.

Palavras chave: ansiedade - depressão - diabetes mellitus – fator neurotrófico derivado do cérebro – inventário de ansiedade traço-estado – inventário de depressão de Beck – simbiótico

1. Introdução

O diabetes mellitus (DM) é uma doença crônica e heterogênea com progressão variável de sintomas e distúrbios metabólicos de acordo com a precocidade do diagnóstico e efetividade do tratamento (ADA, 2017). Atualmente, estima-se que a população mundial com DM seja de 425 milhões de pessoas e uma progressão epidêmica de 629 milhões para o ano de 2045, acometendo principalmente os indivíduos residentes em países em desenvolvimento (IDF, 2017).

O diabetes mellitus tipo 2 (DM2) é a forma mais comumente encontrada de diabetes. Estima-se que o DM2 represente aproximadamente 90 - 95% dos casos. Sua ocorrência é devido a uma perda progressiva da secreção de insulina e/ou pela resistência periférica de sua ação relacionada aos hábitos de vida do indivíduo (ADA, 2019).

O DM pode estar comumente associado a várias comorbidades, incluindo transtornos neuropsiquiátricos, como a depressão (FIORE et al., 2015). A prevalência de depressão é cerca de duas a três vezes maior em pacientes diabéticos em comparação com a população em geral (ALI et al., 2006; CHEN et al., 2016; ZANOVELI et al., 2016). No entanto, é um dos sintomas mais negligenciados e está diretamente associada a não adesão ao tratamento, controle glicêmico ineficiente, início precoce e progressão de complicações, bem como aumento dos custos de cuidados de saúde (ANDERSON et al., 2001; DE GROOT et al., 2001; LUSTMAN et al., 2000); levando a uma maior morbidade e mortalidade e menor qualidade de vida (LUSTMAN et al., 2000).

Além disso, o DM também se associa a outro fator, a microbiota intestinal (DELZENNE et al., 2015). Evidências sugerem que a microbiota intestinal participa de manifestações do metabolismo do hospedeiro como um todo, afetando principalmente o balanço energético, metabolismo glicídico e funções do sistema imunológico (CANI et al., 2012). A expressão e comunicação desses sistemas com outros órgãos ocorrem por transmissão dos sinais microbianos intestinais através do epitélio intestinal. Estas moléculas podem ser constituídas por componentes estruturais das bactérias ou os metabólitos produzidos a partir da microbiota do hospedeiro, assim atingindo órgãos distais de forma direta ou por sinalizações enviadas pelas terminações nervosas do intestino ou pela própria produção hormonal (SCHROEDER; BÄCKHED, 2016).

Alguns estudos revelam a importância da microbiota intestinal também para a função do sistema nervoso central (SNC) e ligam os transtornos psiquiátricos, tais como a depressão, a alterações neste microbioma, tornando-o um alvo potencial para estratégias de tratamento (FOSTER; MCVEY NEUFELD, 2013; JIANG et al., 2015; WANG; KASPER, 2014).

Uma das possíveis intervenções com enfoque dietoterápico para o tratamento do DM2 e transtornos psiquiátricos é a modulação da microbiota intestinal, que pode ser alterada com o consumo de suplementos a base de simbióticos. Simbióticos são produtos que contêm tanto prebióticos quanto

probióticos (GUARNER. et al., 2012). Os prebióticos são substratos que são seletivamente utilizados por microrganismos que conferem benefícios à saúde do hospedeiro (GIBSON et al., 2017). Probióticos são produtos que fornecem microrganismos vivos com uma contagem viável adequada de cepas bem definidas, com uma expectativa razoável de proporcionar benefícios para o bem-estar do hospedeiro (HILL et al., 2014).

Neste sentido, o uso de simbióticos podem ser considerados como estratégias benéficas para o tratamento do DM (ALIASGHARZADEH et al., 2015; DEGHAN; POURGHASSEM GARGARI; ASGHARI JAFAR-ABADI, 2014) que corroborem com o tratamento de sintomas de depressão (AKKASHEH et al., 2016; BENTON; WILLIAMS; BROWN, 2007). A partir da relação entre intestino, microbiota, diabetes e depressão, o principal objetivo deste trabalho é avaliar o efeito da suplementação de simbiótico sobre sintomas de depressão e ansiedade em indivíduos portadores de DM2. Além disto, também serão avaliadas associações entre sintomas de depressão, ansiedade, marcadores inflamatórios e marcadores glicêmicos.

2. Materiais e métodos

2.1 Seleção dos indivíduos

Foram recrutados treze indivíduos, de ambos os sexos, com diagnóstico de DM2, assistidos pelo Hospital Universitário Polydoro Ernani de São Thiago da Universidade Federal de Santa Catarina (HU-UFSC), em Florianópolis, Santa Catarina, Brasil. Foi mantido contato presencial com os participantes nos três momentos do estudo no HU-UFSC e também por via telefônica. O recrutamento e o processo de amostragem são mostrados na figura 1.

O protocolo experimental é dividido em 3 momentos: M0 (*baseline*); M1 (após 30 dias de suplementação) e M2 (*follow up*). Participantes foram randomizados para receber 30 dias de suplementação (intervenção – simbiótico ou placebo – maltodextrina). A inclusão da terceira etapa (M2) após trinta dias do término da suplementação possui o objetivo de verificar se o efeito da suplementação se mantém após um determinado período sem suplementação. Para esta avaliação, foram observados se os valores dos exames laboratoriais retornam aos valores basais e se existem mudanças nos escores de sintomas de depressão e ansiedade.

Figura 1. Fluxograma dos participantes do estudo.



Os critérios de exclusão foram: doenças gastrointestinais prévias; cirurgias gastrointestinais prévias; intolerâncias e/ou alergias alimentares; uso de fármacos anti-inflamatórios e/ou antibióticos até três meses antes ou durante o estudo; uso regular de laxantes, analgésicos narcóticos opióides e inibidores do apetite; uso atual ou prévio de prebióticos, probióticos, simbióticos ou produtos enriquecidos com estes ingredientes; apresentar intolerância a prebióticos e/ou probióticos e/ou simbióticos; gestantes ou lactantes; seguimento de uma dieta para perda ou ganho de peso nos últimos 3 meses; seguimento atual de dietas específicas (ex: vegetariana, macrobiótica, paleolítica); dependência química e tabagismo. Para participar do estudo, todos os indivíduos assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE); e o protocolo experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da UFSC sob o número do parecer: 2.229.048.

Os parâmetros clínicos foram coletados por meio de entrevista com o participante. A caracterização dos participantes que terminaram o protocolo de suplementação (M1) é expressa na tabela 1.

Tabela 1. Características sociodemográficas e medicamentos utilizados pelos participantes do estudo.

| Variável | Medida | | p |
|---|-------------|-------------|--------|
| | Placebo | Intervenção | |
| Sexo: feminino | 5 (71,43%) | 3 (100%) | 0,32 † |
| Idade (anos) | 59 (57- 65) | 64 (58- 72) | 0,32 |
| Escolaridade: ensino fundamental incompleto | 2 (28,57%) | 2 (66,67%) | 0,44 |
| Ensino fundamental completo | 1 (14,29%) | 1 (33,33%) | |
| Ensino médio completo | 4 (57,14%) | . | |
| Renda: até 2 salários mínimos | 2 (28,57%) | 1 (33,33%) | 0,71 |
| Renda: mais de 2 salários mínimos | 5 (71,43%) | 1 (33,33%) | |
| Praticante de atividade física | 2 (28,57%) | 2 (66,67%) | 0,31 |
| Uso de medic. antidepressivos / ansiolíticos: | 2 (28,57%) | 1 (33,33%) | 0,89 |
| Tipo: benzodiazepínico | 1 (50%) | . | 0,47 † |
| Tipo: ISRS | 1 (50%) | 1 (100%) | 0,47 † |
| Uso de medicamentos antidiabéticos: | | | |
| Oral | 4 (57,14%) | 2 (66,67%) | 0,80 |
| Oral e hormonal | 3 (42,86%) | 1 (33,33%) | 0,80 |
| Outros medicamentos | 7 (100%) | 3 (100%) | . † |
| Antihipertensivos | 7 (100%) | 3 (100%) | . † |
| Hipolipemiantes | 7 (100%) | 3 (100%) | . † |
| Antissecretores | 1 (14,29%) | 1 (33,33%) | . |
| Vitamina D | 2 (28,57%) | 1 (33,33%) | 0,89 |
| Antiagregante | 2 (28,57%) | 0 | 0,32 † |

Legenda: medic: medicamentos; ISRS: inibidor seletivo da recaptção de serotonina. Valores expressos em número absoluto e percentual. Idade expressa em mediana e intervalo interquartil.

†: teste de Wilcoxon. Demais valores de p: teste T.

2.2 – Randomização e cegamento

Os indivíduos foram distribuídos aleatoriamente a um dos dois grupos de tratamento (placebo ou simbiótico), por meio de uma lista de randomização gerada pelo website randomizer.org, feita previamente. Após isso, os grupos de tratamento foram substituídos por códigos numéricos aleatórios com três dígitos, também gerados por programa de computador. Todas estas etapas de randomização e distribuição foram feitas por um indivíduo não envolvido com a pesquisa. Os pesquisadores que recrutaram e acompanharam os participantes tiveram acesso apenas a lista contendo os blocos e os códigos numéricos de randomização. A pesquisa foi descegada após as análises estatísticas.

2.3 - Avaliação dos sintomas de depressão e ansiedade

Para avaliação dos sintomas de depressão foi utilizado o Inventário de Depressão de Beck (BDI) (BECK et al., 1961; GOMES-OLIVEIRA et al., 2012). Para avaliação dos sintomas de ansiedade foi utilizado o Inventário de Ansiedade Traço-Estado (IDATE); que apresenta duas escalas que avaliam a ansiedade enquanto traço (chamado de IDATE1 neste trabalho) ou estado (chamado de IDATE2 neste trabalho) (BIAGGIO, A.M.B., 1979; SPIELBERGER, C. D.; GORSUCH, R. L.; LUSHENE, R. D., 1970). Os questionários foram aplicados verbal e individualmente por pesquisadores treinados.

2.4 – Avaliação antropométrica

Para mensuração do peso, foi utilizada uma balança da marca Filizola[®], com capacidade máxima de 150 quilogramas e variação de 100 gramas. Para aferição da altura, foi utilizado o estadiômetro acoplado a balança, que possui comprimento máximo de 190 centímetros e escala de 0,5 centímetros. Para o cálculo do Índice de Massa Corporal (IMC), foi feita a relação do peso atual em quilogramas dividido pela altura em metros elevada ao quadrado. O resultado foi expresso em kg/m² (WHO, 2006).

2.5 – Avaliação laboratorial

Foram coletados 20 mL de sangue venoso periférico em cada momento do estudo por profissional capacitado de acordo com técnica padronizada (WHO, 2010) na região cubital do antebraço, utilizando tubos contendo heparina (Sistema Vacutainer[®] BD Biosciences - Abingdon, UK), contendo EDTA Sistema Vacutainer[®] BD Biosciences - Abingdon, UK) ou gel separador (Sistema Vacutainer[®] BD Biosciences - Abingdon, UK), em jejum prévio de 12 horas.

Os tubos de sangue com heparina foram centrifugados no próprio tubo de coleta a 3.500 rpm por 7 minutos a uma temperatura de 4°C para separação do plasma. Alíquotas de 500 µL foram transferidas para eppendorfs, devidamente identificados e armazenados a -80°C, para posterior análise de BDNF e de citocinas (IL-12, IL-10, IL-6, IL-1, IL-8 e TNF-α).

O tubo de sangue com gel separador foi deixado em repouso por 10 minutos até completa coagulação. Em seguida, foi centrifugado por um período de cinco minutos a 2.500 rpm para a

separação do soro. O tubo de sangue com EDTA foi utilizado para determinação de hemoglobina glicada- (HbA1c%) no sangue total.

2.6- Parâmetros metabólicos:

Insulina de Jejum: foi determinada pelo ensaio imunométrico por quimioluminescência (BABSON, 1991) (Siemens Healthcare Diagnostics Inc., Newark, DE, USA). As concentrações estão expressas em IU/mL.

Glicemia de Jejum: foi determinada pelo método enzimático, de acordo com as instruções do fabricante (KADISH; LITTLE; STERNBERG, 1968) (Dimension RxL Max[®] - Siemens Healthcare Diagnostics Inc. Newark, DE, U.S.A.). As concentrações estão expressas em mg/dL.

PCR: foi determinada pelo método de turbidimetria (LEDUE et al., 1998), de acordo com o protocolo descrito pelo fornecedor (BN II[®], Siemens Healthcare Diagnostics Inc., Newark, DE, USA). As concentrações estão expressas em mg/L.

Cortisol sérico: foi determinado pelo ensaio imunométrico por quimioluminescência (BABSON, 1991) (Siemens Healthcare Diagnostics Inc., Newark, DE, USA). As concentrações estão expressas em ng/dL.

BDNF: foi determinado utilizando o kit ChemiKine[™] Brain Derived Neurotrophic Factor; um imunoenensaio enzimático sanduíche (ELISA). As concentrações são expressas em ng/dL.

Índice HOMA: foi calculado utilizando o HOMA2 calculator (disponível em: <https://www.dtu.ox.ac.uk/homacalculator/>) sendo que $HOMA\ IR = \text{insulinemia de jejum (mU/L)} \times \text{glicemia de jejum (mg/dL)} / 22,5$ (WALLACE; LEVY; MATTHEWS, 2004).

Hemoglobina glicada: sua determinação foi realizada pelo método padronizado no Diabetes Control and Complications Trial (DCCT) e certificado pelo National Glycohemoglobin Standardization Program (NGSP) (SBD, 2017).

Citocinas: As concentrações de citocinas séricas foram analisadas pelo método BD[®] Cytometric Bead Array (CBA) Human Th1/Th2/Th17 Cytokine Kit. Suas concentrações estão expressas em picogramas por mililitro (pg/mL).

2.7 – Suplementos dietéticos

Os indivíduos foram orientados a consumir dois sachês por dia (6 gramas cada) durante 30 dias (60 sachês ao total) em momentos distintos do dia. Orientou-se para que um sachê fosse consumido

em jejum, e o outro no intervalo das refeições. Cada sachê deveria ser diluído em aproximadamente 100 mL de água em temperatura ambiente.

O suplemento simbiótico apresenta a seguinte composição: *Lactobacillus paracasei* LPC-37 2×10^9 UFC/dia; *Lactobacillus rhamnosus* HN001 2×10^9 UFC/dia; *Lactobacillus acidophilus* NCFM 2×10^9 UFC/dia; *Bifidobacterium lactis* HN019 2×10^9 UFC/dia; e Fruto-oligossacarídeos (FOS) 11 gramas/dia. O suplemento utilizado como placebo foi a maltodextrina, na mesma quantidade que o simbiótico. A fim de controlar a ingestão dos suplementos, os indivíduos foram orientados a preencher um formulário com as informações de data da ingestão e de quantos suplementos foram ingeridos no dia.

2.8 - Análise estatística

Os dados foram registrados e organizados no programa Microsoft Office Excel 2016[®]. A análise estatística foi realizada no programa estatístico STATA[®] versão 13.0 para Windows[®].

Para a avaliação da distribuição dos dados foi aplicado o teste de normalidade de Shapiro-Wilk (resultado $<0,05$, a normalidade é rejeitada); além disso, também foram utilizados os valores de variação entre média e mediana, o coeficiente de variação, skewness, kurtosis e o histograma. Feito isto, as variáveis foram classificadas como paramétricas ou não paramétricas.

As variáveis contínuas foram sintetizadas em duas medidas por grupo: média e desvio padrão (distribuição simétrica), ou mediana e intervalo interquartil (assimétrica). As variáveis classificadas como categóricas foram descritas em categorias e frequência, de acordo com o aparecimento nos grupos estabelecidos.

Para variáveis contínuas, as comparações entre os grupos foram realizadas utilizando o teste de ANOVA de duas vias de medidas repetidas (dados não paramétricos foram submetidos à normalização logarítmica para serem incluídos nos modelos). Foi utilizado o teste de Wilcoxon para comparação entre grupos nos diferentes momentos experimentais.

Para a análise das correlações no momento basal, foram utilizadas as correlações de Spearman ou de Pearson, de acordo com a normalidade das variáveis.

Para análise da variação percentual das variáveis entre os tempos, foi utilizada uma planilha do Microsoft Office Excel 2016[®]. O valor da variação em % do $M1 - M0$ foi obtida pela variável do $M1 - M0$ divididos pela variável de $M0$ multiplicado por 100 ($(M1 - M0)/M0 \times 100$). $M2 - M0$ e $M2 - M1$ seguiu o mesmo raciocínio. Para calcular o valor de p, utilizou-se o teste de Teste de Mann-Whitney.

Para todos os testes, foi adotado o nível de significância de 95% ($p < 0,05$).

3. Resultados

Os resultados apresentados na tabela 2 são referentes à variação (valores em percentual) de exames bioquímicos, escores dos questionários de depressão e ansiedade e de medidas antropométricas dos indivíduos entre os diferentes tempos do estudo.

Tabela 2 – Variação percentual de parâmetros bioquímicos e antropométricos.

| Variável | Variação entre 30 dias e basal (M1 – M0) (%) | | | Variação entre 60 dias e basal (M2 – M0) (%) | | | Variação entre 60 dias e 30 dias (M2 – M1) (%) | | |
|--------------------------|---|------------------------------|------|---|------------------------------|------|---|------------------------------|--------------|
| | Grupo Placebo (n = 7) | Grupo Intervenção (n = 3) | p | Grupo Placebo (n = 7) | Grupo Intervenção (n = 3) | p | Grupo Placebo (n = 7) | Grupo Intervenção (n = 3) | p |
| Glicemia (mg/dL) | 3,47 (-22,7; 15,6) | -0,81 (-12,6; 38,8) | 0,56 | 2,60 (-2,22; 13,5) | 0,33 (-6,55; 7,2) | 0,73 | -0,06 (-5,16; 20) | -14,29 (-22,8;5,7) | 0,09 |
| Insulina (IU/mL) | 33,74 (-1,4; 56,5) | -49,68 (-54,83; 89,3) | 0,30 | -3,99 (-21,38; 22,8) | -6,65 (-48,47; 35,1) | 0,73 | -22,38 (-49,78; -0,4) | -13,10 (-28,60; 2,4) | 0,73 |
| HOMA IR (%) | 38,69 (-2,4; 60,2) | -42,24 (-55,13; 85,5) | 0,30 | -17,78 (-18, 38; 11,1) | -7,78 (-46,89; 31,3) | 1,00 | -26,51 (-49,08; -12,6) | -18,63 (-29,22; -8,0) | 0,69 |
| HbA1C (%) | 1,53 (0;7,1) | 1,12 (-1,51; 5,8) | 0,56 | 0,70 (0; 6,6) | 3,77 (-3,03; 10,5) | 1,00 | 1,16 (-1,51; 3,5) | 1,45 (-1,53; 4,4) | 1,00 |
| Cortisol (nd/dL) | -21,78 (-29,0; 20,3) | 2,74 (-2,85; 46,23) | 0,30 | -17,49 (-32,73; 12,0) | 32,98 (5,67; 60,3) | 0,31 | 1,04 (-0,35; 12,3) | 14,14 (-27,74; 56,0) | 0,73 |
| PCR (mg/L) | 0 (-14,7; 260,6) | 6,45 (-14,28; 68,4) | 0,90 | -9,39 (-14,70; 0) | 89,76 (8,57; 170,9) | 0,09 | -12,35 (-60; 0) | 90,60 (26,66; 154,5) | 0,09 |
| IL – 12 (pg/dL) | 11,68 (11,0; 37,4) | -22 (-69,71; 2,7) | 0,10 | 19,64 (-12,53; 30,6) | -35,94 (-72,65; 0,7) | 0,16 | -4,10 (-10,56; -1,0) | -5,80 (-9,72; -1,8) | 1,00 |
| TNF-a (pg/dL) | 13,62 (-29,4; 39,3) | 53,71 (-47,08; 816,8) | 0,45 | 20,66 (-44,79; 76,9) | 342,41 (18,95; 665,8) | 0,35 | -16,96 (-25,37; -5,0) | -19,54 (-22,61; 16,4) | 1,00 |
| IL – 10 (pg/dL) | 3,25 (2,8; 12,7) | -4,99 (-20,80; 2,0) | 0,17 | 0,99 (-40,05; 15,3) | -6,40 (-11,00; -1,8) | 0,64 | -4,42 (-8,74; -2,79) | -5,03 (-6,32; -3,7) | 1,00 |
| IL – 6 (pg/dL) | -10,92 (-26,6; -1,4) | -14,73 (-53,62; -12,3) | 0,45 | -6,64 (-58,85; 11,1) | -43,93 (-46,74; -41,1) | 0,35 | -16,00 (-34,34; 13,2) | -35,10 (-39,27; -30,) | 0,43 |
| IL – 1 (pg/dL) | -5,82 (-19,1; 8,7) | -26,86 (-32,03; -1,5) | 0,45 | -14,29 (-44,57; 1,4) | -37,26 (-68,95; -5,5) | 1,00 | -8,47 (-24,15; -3,8) | -29,22 (-54,32; -4,1) | 0,43 |
| IL – 8 (pg/dL) | 11,39 (5,5; 23,8) | -2,60 (-36,24; -0,5) | 0,10 | -28,58 (-62,37; 4,5) | -3,58 (-24,08; 16,9) | 0,64 | -31,61 (-47,26; -29,5) | 19,55 (19,08; 20,0) | 0,05 |
| BDNF (ng/dL) | -1,62 (-22,9; 36,4) | 1,06 (-67,24; 241,1) | 0,88 | -1,77 (-39,13; 45,5) | 4,64 (4,50; 4,7) | 1,00 | -29,01 (-29,57; -11,9) | 111,38 (3,68; 219,0) | 0,12 |
| Cort. / PCR | -28,08 (-71,4; -0,2) | -3,48 (-42,32; 70,6) | 0,56 | -11,62 (-48,81; 48,8) | -21,75 (-40,84; -2,6) | 1,00 | 20,95 (-0,05; 49,2) | -40,82 (-42,95; -38,7) | 0,04* |
| BDI | 66,66 (-21,7; 8) | 33,33 (-33,33; 55,5) | 0,42 | 37,10 (-63,15; 211,1) | 30,55 (-22,22; 83,3) | 1,00 | -17,91 (-50; 20,5) | 62,5 (-50; 175) | 0,61 |
| IDATE1 | -3,92 (-19,6; 4,2) | -5 (-14,58; 11,6) | 0,73 | -6,00 (-8,33; 0) | -17,48 (-23,33; -11,6) | 0,09 | -0,81 (-4,08; 15) | -20,06 (-20,83; -19,2) | 0,09 |
| IDATE2 | -6,97 (-14,2; 12,8) | -13,33 (-22,22; -11,3) | 0,21 | 5,93 (2,5; 36,1) | -17,12 (-18,33; -15,9) | 0,09 | -1,20 (-9,09; 17,5) | -5,44 (-5,76; -5,1) | 1,00 |
| Peso (kg) | 0,33 (-0,6; 1,7) | -1,78 (-1,80; 0) | 0,08 | -0,75 (-1,80; 3,2) | 0 (0; 0) | 1,00 | -0,47 (-1,11; 1,5) | 0,91 (0; 1,8) | 0,31 |
| IMC (kg/m ²) | 0,33 (-1,2; 1,7) | -1,73 (-1,76; 0) | 0,17 | -0,70 (-2,66; 3,3) | 0 (0; 0) | 1,00 | -0,52 (-1,09; 1,5) | 0,88 (0; 1,7) | 0,31 |
| Circ. cintura (cm) | -0,39 (-0,8; 2,0) | 0,53 (-2,02; 2) | 0,90 | -0,45 (-1,99; 1,0) | 0,71 (-1,07; 2,5) | 0,50 | -0,5 (-1,6; 0,5) | -0,55 (-1,60; 0,4) | 0,73 |

Legenda: HOMA IR: avaliação do modelo homeostático de resistência à insulina; PCR: proteína C reativa; IL: interleucina; TNF-a: fator de necrose tumoral alfa; BDNF: fator neurotrófico derivado do cérebro; Cort. / PCR: razão cortisol e proteína C reativa; BDI: inventário de depressão de Beck; IDATE1: inventário de ansiedade traço; IDATE2: inventário de ansiedade estado; Circ.: circunferência. Valores expressos em mediana e intervalo interquartil. p: Teste de Mann-Whitney.

Não foram encontradas diferenças significativas nas análises de variação entre os tempos M1 e M0. Porém, há uma tendência ($p < 0,08$) de redução do peso entre o grupo que recebeu a suplementação de simbióticos em relação ao grupo que recebeu placebo, no entanto esta tendência não se mantém em 60 dias após o início da suplementação.

Em relação as análises de variância entre os tempos M2 e M0, observa-se uma tendência de diminuição no score total do IDATE (traço e estado) no grupo tratado com simbióticos em comparação com grupo placebo ($p=0,09$) entre o período basal e 60 dias (30 dias após o termino da suplementação). No período de 30 a 60 dias, também se observou uma tendência de diminuição no escore do traço de ansiedade (IDATE1) ($p=0,09$) e na glicemia ($p=0,09$). Além disso, observou-se uma diminuição na razão cortisol/PCR no grupo tratado versus grupo placebo ($p=0,04^*$).

Os resultados apresentados nas tabelas 3,4 e 5 são referentes ao teste ANOVA de duas vias de medidas repetidas no perfil glicêmico, perfil inflamatório e escores dos questionários de depressão e ansiedade dos indivíduos entre os grupos placebo e simbióticos nos diferentes tempos do estudo.

Tabela 3 – Efeito da suplementação de simbiótico nas as variáveis relacionadas à depressão e ansiedade.

| Variáveis | Tempo | Mediana (iQQ) | | p ¹ | p ² | p ³ |
|--------------------|-------|-----------------------|-------------------------|----------------|----------------|----------------|
| | | Placebo | Intervenção | | | |
| BDI (escore) | M0 | 18 (5 - 23) | 9 (6 - 9) | 0.46 | 0.39 | 0.91 |
| | M1 | 16 (8 - 30) | 12 (4 - 14) | | | |
| | M2 | 15 (4 - 28) | 9 (7 - 11) | | | |
| BDNF (ng/dL) | M0 | 385.8 (320.9 – 519.0) | 308.7 (113.8 – 1879.0) | 0.98 | 0.10 | 0.33 |
| | M1 | 306.4 (188.0 - 434.8) | 388.2 (101.1 – 1899.0) | | | |
| | M2 | 265.0 (145.5 - 313.1) | 1145.8 (322.6 – 1969.0) | | | |
| IDATE1 (escore) | M0 | 51 (48 - 60) | 48 (43 - 60) | 0.28 | 0.91 | 0.10 |
| | M1 | 49 (40 - 55) | 48 (41 - 57) | | | |
| | M2 | 46 (44 - 49) | 42 (38 - 46) | | | |
| IDATE2 (escore) | M0 | 41 (39 - 46) | 45 (44 - 60) | 0.62 | 0.90 | 0.52 |
| | M1 | 42 (39 - 44) | 39 (35 - 52) | | | |
| | M2 | 44 (40 - 49) | 43 (37 - 49) | | | |

Legenda: BDI: inventário de depressão de Beck. BDNF: fator neurotrófico derivado do cérebro. IDATE 1: inventário de ansiedade traço; IDATE 2: inventário de ansiedade estado. p¹ intervenção; p² tempo; p³ interação. Valores de p referentes ao valor logaritimizado das variáveis.

Tabela 4 – Efeito da suplementação de simbiótico nas as variáveis relacionadas ao perfil glicêmico.

| Variáveis | Tempo | Mediana (iQQ) | | p ¹ | p ² | p ³ |
|---------------------|-------|--------------------|-------------------|----------------|----------------|----------------|
| | | Placebo | Intervenção | | | |
| Glicemia (mg/dL) | M0 | 115.0 (110 - 147) | 180.0 (122 - 230) | 0.88 | 0.68 | 0.12 |
| | M1 | 119.0 (89 - 155) | 201.0 (121 - 250) | | | |
| | M2 | 126.5 (109 - 147) | 153.5 (114 - 193) | | | |
| Insulina (IU/mL) | M0 | 19.9 (13.2 - 22.9) | 17.3 (5.8 - 37.4) | 0.24 | 0.90 | 0.25 |
| | M1 | 23.2 (19.6 - 31.0) | 11.1 (8.7 - 16.8) | | | |
| | M2 | 16.5 (10.1 - 28.1) | 8.4 (7.9 - 8.9) | | | |
| HOMA IR (%) | M0 | 2.3 (2.0 - 2.8) | 2.5 (0.8 - 5.7) | 0.16 | 0.36 | 0.34 |
| | M1 | 2.9 (2.4 - 4.0) | 1.5 (1.4 - 2.5) | | | |
| | M2 | 2.1 (1.7 - 2.3) | 1.2 (1.0 - 1.3) | | | |
| HbA1C (%) | M0 | 6.5 (6.0 - 7.8) | 8.5 (6.6 - 8.9) | 0.35 | 0.67 | 0.22 |
| | M1 | 6.8 (6.0 - 8.4) | 9.0 (6.5 - 9.0) | | | |
| | M2 | 6.5 (6.4 - 7.2) | 7.9 (6.4 - 9.4) | | | |

Legenda: HOMA IR: avaliação do modelo homeostático de resistência à insulina; p¹ intervenção; p² tempo; p³ interação.
Valores de p referentes ao valor logaritmizado das variáveis.

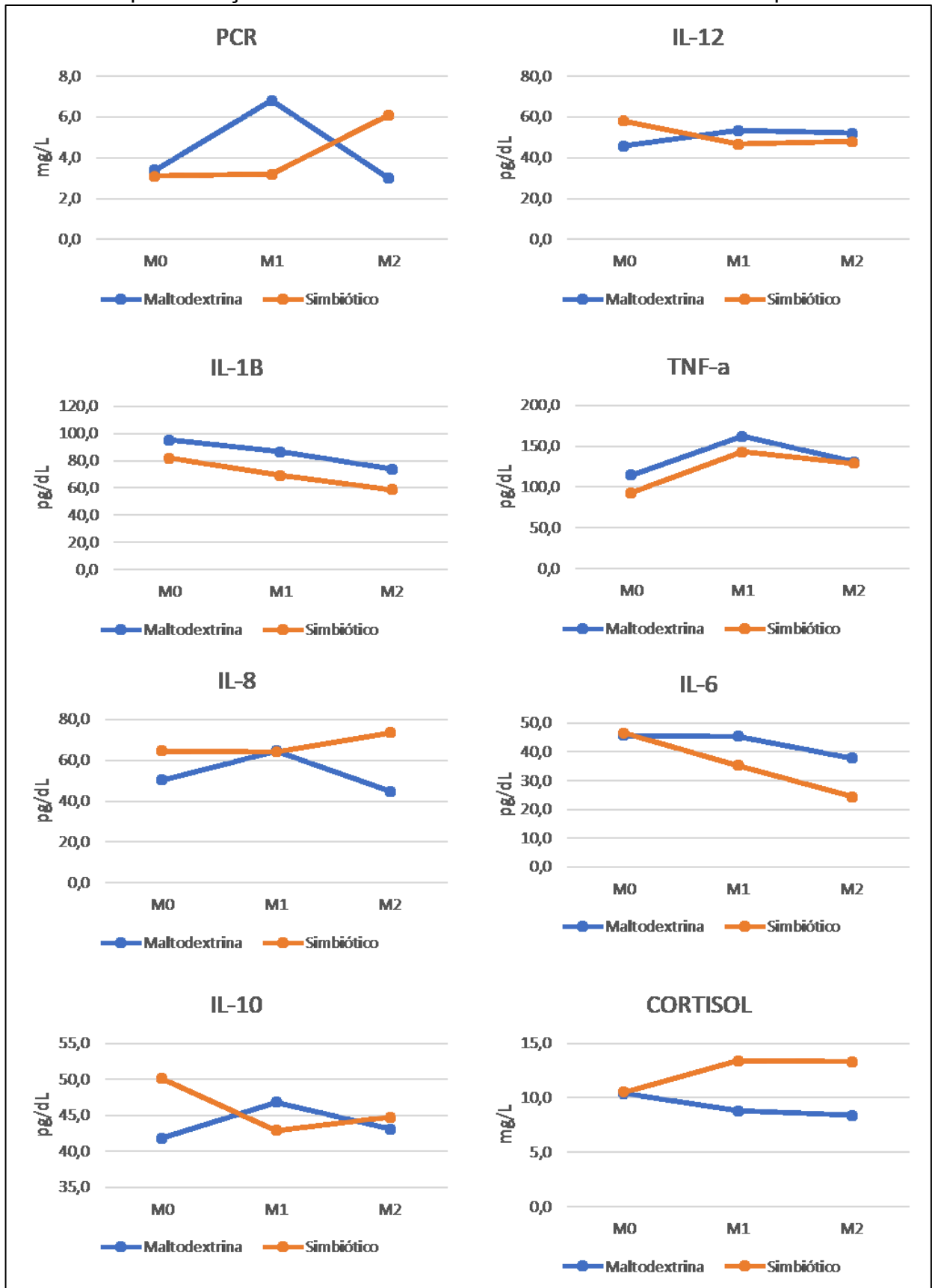
Tabela 5 – Efeito da suplementação de simbiótico nas as variáveis relacionadas ao perfil inflamatório.

| Variáveis | Tempo | Mediana (iQQ) | | p ¹ | p ² | p ³ |
|---------------------|-------|-----------------------|-----------------------|----------------|----------------|----------------|
| | | Placebo | Intervenção | | | |
| Pcr (mg/L) | M0 | 3.4 (1.9 - 5.6) | 3.1 (1.9 - 3.5) | 0.77 | 0.18 | 0.33 |
| | M1 | 6.8 (2.9 - 8.5) | 3.2 (3.0 - 3.3) | | | |
| | M2 | 3.0 (2.9 - 4.3) | 6.1 (3.8 - 8.4) | | | |
| Cortisol (ng/dL) | M0 | 10.4 (7.6 - 12.7) | 10.5 (9.1 - 16.0) | 0.17 | 0.75 | 0.97 |
| | M1 | 8.8 (7.6 - 10.0) | 13.4 (10.8 - 15.6) | | | |
| | M2 | 8.4 (5.9 - 9.0) | 13.3 (9.6 - 16.9) | | | |
| Cortisol/Pcr | M0 | 2.6 (2.1 - 4.3) | 3.4 (2.6 - 8.4) | 0.56 | 0.07 | 0.15 |
| | M1 | 1.4 (0.8 - 5.8) | 4.4 (3.2 - 4.8) | | | |
| | M2 | 2.0 (1.7 - 5.8) | 2.2 (2.0 - 2.5) | | | |
| IL-12 (pg/mL) | M0 | 45.7 (38.1 - 48.8) | 58.0 (45.5 - 183.3) | 0.74 | 0.96 | 0.83 |
| | M1 | 53.3 (51.0 - 63.0) | 46.7 (45.1 - 55.5) | | | |
| | M2 | 52.0 (45.1 - 80.6) | 48.0 (45.8 - 50.1) | | | |
| TNF-a (pg/mL) | M0 | 114.7 (103.3 - 236.5) | 92.9 (19.3 - 262.2) | 0.57 | 0.71 | 0.37 |
| | M1 | 162.2 (144.0 - 197.1) | 142.9 (138.7 - 177.3) | | | |
| | M2 | 130.9 (125.2 - 147.1) | 129.3 (110.6 - 148.1) | | | |
| IL-10 (pg/mL) | M0 | 41.8 (41.6 - 45.4) | 50.1 (45.2 - 50.2) | 0.63 | 0.85 | 0.74 |
| | M1 | 46.8 (44.9 - 47.4) | 42.9 (39.7 - 51.1) | | | |
| | M2 | 43.1 (39.4 - 45.7) | 44.7 (40.2 - 49.2) | | | |
| IL-6 (pg/mL) | M0 | 45.7 (40.0 - 54.7) | 46.5 (40.2 - 62.2) | 0.17 | 0.12 | 0.58 |
| | M1 | 45.4 (39.4 - 52.8) | 35.3 (27.0 - 39.6) | | | |
| | M2 | 37.8 (25.6 - 44.6) | 24.4 (21.4 - 27.3) | | | |
| IL-1B (pg/mL) | M0 | 95.3 (79.9 - 106.6) | 82.0 (70.4 - 165.4) | 0.36 | 0.89 | 0.14 |
| | M1 | 86.6 (81.7 - 89.7) | 69.3 (60.0 - 112.4) | | | |
| | M2 | 74.0 (58.2 - 86.2) | 58.9 (51.3 - 66.4) | | | |
| IL-8 (pg/mL) | M0 | 50.4 (47.7 - 75.2) | 64.6 (48.7 - 119.2) | 0.93 | 0.06 | 0.20 |
| | M1 | 64.7 (58.9 - 79.4) | 64.3 (47.5 - 76.0) | | | |
| | M2 | 44.8 (41.8 - 45.9) | 73.7 (57 - 90.5) | | | |

Legenda: Pcr: proteína C reativa; IL: interleucina; TNF-a: fator de necrose tumoral alfa; p¹ intervenção; p² tempo; p³ interação. Valores de p referentes ao valor logaritmicado das variáveis.

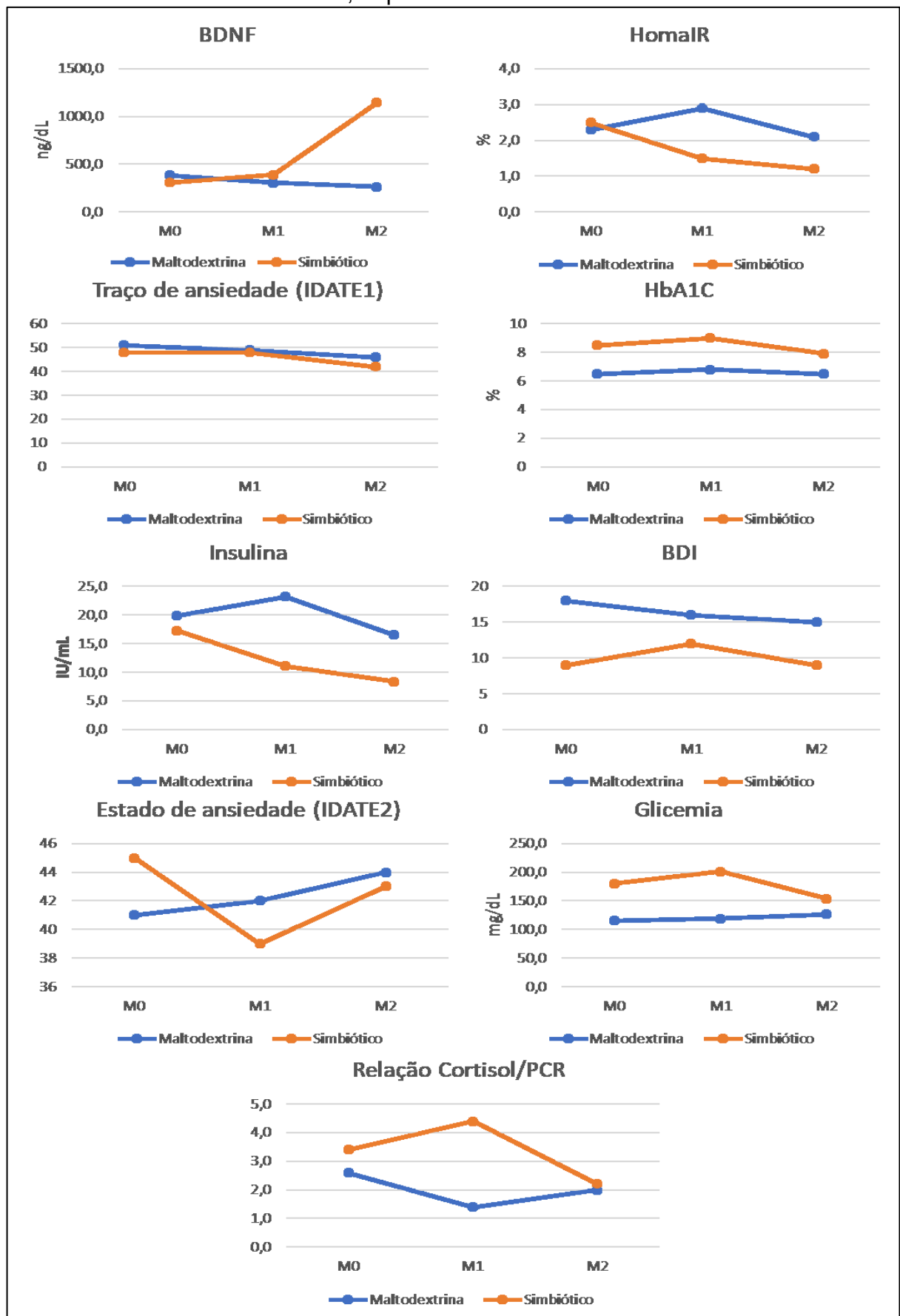
Os resultados apresentados não mostram diferenças significativas entre os grupos, tempos e interação. Os mesmos resultados são mostrados em gráficos, nas figuras 2 e 3. Ao aplicar o teste estatístico de Wilcoxon nos três momentos experimentais (M0, M1 e M2) não foram observados resultados com significância estatística.

Figura 2. Efeito da suplementação de simbiótico nas as variáveis relacionadas ao perfil inflamatório.



Legenda: PCR: proteína C reativa; IL: interleucina.

Figura 3. Efeito da suplementação de simbiótico nas as variáveis relacionadas ao perfil glicêmico, inflamatório, depressão e ansiedade.



Legenda: BDNF: fator neurotrófico derivado do cérebro; HbA1c: hemoglobina glicada; BDI: Inventário de Depressão de Beck.

Os resultados apresentados na tabela 6 são referentes às correlações feitas no momento basal do estudo (M0). Foi optado por fazer as correlações apenas neste momento devido ao baixo número de participantes nos momentos seguintes.

Tabela 6 – Valores de correlação das variáveis referentes à depressão / ansiedade no momento basal.

| | BDNF | | BDI | | IDATE 1 | | IDATE 2 | |
|------------------|---------|--------------|---------|------|---------|--------------|---------|--------------|
| | rho | p | rho | p | rho | p | rho | p |
| BDI | +0,66 † | 0,10 | | | +0,58 † | 0,07 | | |
| BDNF (ng/dL) | | | +0,66 † | 0,10 | +0,76 † | 0,04* | -0,62 † | 0,07 |
| Cortisol (nd/dL) | | | +0,47 † | 0,16 | | | | |
| HbA1C (%) | | | +0,56 † | 0,08 | +0,49 | 0,14 | +0,76 | 0,01* |
| HOMA IR (%) | | | | | +0,64 | 0,08 | | |
| IL-1 (pg/dL) | -0,64 † | 0,11 | | | | | | |
| IL-10 (pg/dL) | -0,6 † | 0,2 | | | | | +0,67 | 0,13 |
| IL-12 (pg/dL) | -0,57 † | 0,18 | | | | | | |
| IL-8 (pg/dL) | -0,78 † | 0,03* | | | | | -0,67 † | 0,09 |
| Insulina (IU/mL) | | | | | +0,59 | 0,11 | | |
| PCR (mg/L) | | | | | +0,57 | 0,10 | +0,74 | 0,03* |
| TNF-a (pg/dL) | | | | | | | +0,60 † | 0,20 |
| IDATE1 | -0,76 † | 0,04* | +0,58 † | 0,07 | | | +0,48 | 0,18 |
| IDATE2 | | | +0,62 † | 0,07 | +0,48 | 0,18 | | |

Legenda: IDATE1: inventário de ansiedade traço; BDNF: fator neurotrófico derivado do cérebro; BDI: inventário de depressão de Beck; IDATE2: inventário de ansiedade estado; HOMA IR: avaliação do modelo homeostático de resistência à insulina; HbA1C: hemoglobina glicada; H.: hemoglobina; IL: interleucina; TNF-a: fator de necrose tumoral alfa; PCR: proteína C reativa. †: correlação de Spearman; demais correlação de Pearson. *p<0,05.

Foi encontrada uma correlação forte negativa (rho -0,78) entre os níveis de BDNF e a IL-8 (p=0,03*); positiva (rho 0,76) entre os níveis de BDNF e a pontuação no escore de ansiedade (p=0,04*); uma correlação moderada entre BDI e IDATE (IDATE traço = 0,58 e IDATE estado = 0,62, p=0,07), no entanto sem significância estatística. Também foi encontrada uma correlação forte positiva (rho 0,74) entre IDATE2 e PCR (p=0,03*); uma correlação moderada (rho 0,56) entre BDI e os níveis de

hemoglobina glicada ($p=0,08$); uma correlação moderada (0,64) do IDATE1 com Homa IR ($p=0,08$) e a correlação forte entre IDATE2 e a hemoglobina glicada (0,76 $p=0,01^*$).

4. Discussão

Os resultados apresentados neste trabalho não mostram diferenças significativas quanto ao efeito da suplementação com simbióticos no perfil glicêmico, perfil inflamatório, sintomas de depressão e ansiedade e concentrações séricas de BDNF dos indivíduos nos diferentes tempos do estudo. No entanto, com base nas análises de variação percentual, podemos observar resultados promissores que apresentam uma tendência de diminuição no score total do IDATE (traço e estado) no grupo suplementado ($p=0,09$) entre o período basal e 60 dias após o início da suplementação. Tendência que se mantém no escore de ansiedade traço quando comparamos o final da suplementação (M1) com 60 dias após o início da mesma, ($p=0,09$). A diminuição nos escores de ansiedade refletem um comportamento menos ansioso dos participantes.

Estes dados vêm de encontro com alguns dados já descritos na literatura sobre o uso de probióticos e modulação de sintomas de ansiedade/depressão. Um estudo demonstrou que a administração de probióticos em humanos saudáveis leva a uma melhora dos parâmetros relacionados à ansiedade (MESSAOUDI et al., 2011). Outro estudo mostrou que algumas espécies dos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* possuem efeitos ansiolíticos; e que o tratamento probiótico normalizou os fenótipos comportamentais de ansiedade em modelos animais (WANG; KASPER, 2014). Além disso, alterações na microbiota intestinal provenientes de alterações dietéticas relacionadas ao teor de fibras prébioticas podem influenciar comportamentos de ansiedade em modelos animais (LUNA; A FOSTER, 2015). Estes resultados sugerem que a microbiota intestinal pode ter importante papel modulador para a saúde mental, tanto em animais quanto em humanos. Os resultados deste trabalho sugerem que a suplementação de simbióticos poderia auxiliar no tratamento de sintomas de ansiedade de pacientes com DM2.

Com base nas análises de variação percentual, também observou-se uma diminuição na razão cortisol/PCR no grupo tratado versus grupo placebo ($p=0,04^*$). Acredita-se que a etiologia do transtorno depressivo maior (TDM) envolva a desregulação de vários sistemas biológicos, incluindo o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA) e o sistema imunológico (HOWREN et al., 2009). Além disso, a função alterada do eixo HPA e níveis elevados de biomarcadores inflamatórios também têm sido associados à gravidade dos sintomas depressivos e a um espectro de fatores de vulnerabilidade entre indivíduos sem histórico de depressão e sem sintomas (CAPURON et al., 2011 ; FEINBERG et al., 2012; KIRSCHBAUM et al., 1995; KLOK et al., 2011; ROY et al., 2010). É bem compreendido que o eixo HPA e os sistemas inflamatórios estão intrinsecamente entrelaçados de uma maneira recíproca; uma relação que é integral na manutenção da saúde e na prevenção de doenças (JOHNSON et al., 1992; PACE et al., 2009). A sequência normal de eventos regulatórios e a preservação da sinalização de feedback bidirecional são aspectos-chave da homeostase (BESEDOVSKY e DEL REY, 1996). Distinguindo-a dos processos regulatórios normais, os distúrbios da interface do eixo imunológico HPA resultam em uma secreção desproporcional (por exemplo, muito ou pouco) de hormônios adrenais em relação aos níveis de proteínas pró-inflamatórias (STRAUB et al., 2011). Valores de razão CORT / PCR mais baixos são sugestivos de eixo HPA hiporresponsivo relacionado a níveis elevados de PCR (DEMIR et al., 2006; NARVAEZ et al., 2006). Este resultado poderia justificar não termos encontrado diferenças nos sintomas depressivos entre os pacientes que receberam suplementação com simbióticos e o grupo placebo.

Quando avaliamos a associação encontrada entre os marcadores inflamatórios, glicêmicos e os níveis de BDNF com os sintomas de depressão e ansiedade, foi encontrada uma forte correlação negativa entre os níveis de BDNF e a IL-8 ($r = - 0,78$), ou seja, quanto maiores os níveis de BDNF, menores os níveis de IL-8. O BDNF é uma neurotrofina que está envolvida na plasticidade sináptica e na sobrevivência dos neurônios (LEVY et al., 2018). Acredita-se que o BDNF esteja envolvido na patogênese de vários transtornos neuropsiquiátricos, dentre eles, a ansiedade e a depressão. Segundo uma meta-análise (MOLENDIJK et al. 2013), os níveis séricos de BDNF são geralmente mais baixos em pacientes com depressão; este resultado foi confirmado por outras duas meta-análises

(POLYAKOVA et al. 2015; KISHI et al. 2018). É bem estabelecido que mecanismos inflamatórios podem induzir sintomas depressivos, afetando a função cerebral, principalmente por alterar a neuroplasticidade e, conseqüentemente, a neurogênese (LEVY et al., 2018). Além disso, baixas concentrações de BDNF tem sido associada tanto à depressão quanto ao DM2, potencialmente via decréscimos na função hipocampal. Os mecanismos por trás disso podem incluir processos inflamatórios como resultado da sinalização aberrante de insulina (MOULTON et al., 2015).

Também observou-se uma forte correlação positiva entre os níveis de BDNF e o traço de ansiedade ($r = + 0,76$). Embora os níveis de BDNF pareçam estar reduzidos em indivíduos com transtorno de ansiedade, isso não é consistente entre os diversos transtornos de ansiedade existentes. Segundo metanálise, parece existir uma correlação entre o tipo de transtorno de ansiedade e os níveis periféricos de BDNF (SANDHU et al., 2017).

Ainda, foi observada uma correlação moderada entre as escalas BDI e IDATE (traço: $r = + 0.58$ e estado: $r = + 0,62$). Este resultado é coerente com o que a literatura nos mostra, uma vez que depressão e ansiedade possivelmente possuem mecanismos fisiopatológicos compartilhados. A superativação do eixo HPA e o aumento crônico da secreção de noradrenalina e cortisol levam a diferentes conseqüências, dentre elas sintomas de ansiedade, depressão, e a disfunções cognitivas (CHROUSOS, 2009).

No cérebro, a sinalização induzida pelo estresse é facilitada por sinalização neuroinflamatória mediada pela micróglia. Em situações estressantes, as vias neuroendócrinas alteram as respostas imunes periféricas e centrais, levando ao priming e ao tráfico de monócitos, alterações subseqüentes no fenótipo da micróglia e, em última instância, resultando em neuroinflamação, processo que parece estar envolvido em transtornos psiquiátricos, incluindo o transtorno de ansiedade e a depressão (WANG; KASPER, 2014), justificando assim a forte correlação entre os valores de IDATE estado e PCR ($r = + 0,74$) encontrada neste trabalho.

Este estudo também mostra uma correlação moderada entre BDI e os níveis de hemoglobina glicada ($r = + 0,56$). Um achado comum nos pacientes portadores de DM2 é a hemoglobina glicada elevada, possivelmente indicando um tratamento ineficiente da DM2. Uma DM2 descompensada

poderia levar a sintomas depressivos, uma vez que diabetes e depressão são comorbidades. Sugere-se que esta relação poderia se desenvolver em paralelo por mecanismos biológicos compartilhados. As principais vias candidatas incluem o eixo HPA, a resposta inflamatória inata e a resistência à insulina, que interagem entre si (MOULTON; PICKUP; ISMAIL, 2015).

Além disso, os transtornos de ansiedade também são frequentemente associados a uma ativação do eixo HPA através de fatores externos como exposição química, fatores biológicos e ambientais que causam distúrbios nos sistemas endócrino, imunológico e nervoso (SANDHU et al., 2017). Isto poderia justificar a correlação moderada encontrada entre o IDATE traço com HOMA IR ($r = + 0,64$) e a correlação forte entre IDATE estado e a hemoglobina glicada ($r = + 0,76$).

5. Conclusões

Apesar das limitações, como um baixo número de participantes; e possíveis modificações no padrão dietético que poderiam levar a uma alteração na microbiota intestinal; este estudo sugere que a suplementação com simbiótico em pacientes com DM2 parece apresentar uma tendência a um efeito ansiolítico. Mais estudos são necessários para estabelecer o real efeito da suplementação.

No entanto, independente da suplementação, em pacientes com DM2, podemos observar uma associação entre marcadores inflamatórios com níveis de BDNF, e deste com os escores de ansiedade.

Conflito de interesse

Os autores declaram não possuir conflito de interesse. O trabalho foi financiado pela CAPES em parceria com o Programa de Pós Graduação em Nutrição da Universidade Federal de Santa Catarina. Os suplementos simbióticos e placebo foram doado pela empresa Invictus® FarmaNutrição, sem conflitos de interesse com os pesquisadores.

Referências

ADA (American Diabetes Association). **2. Classification and diagnosis of diabetes:** Standards of Medical Care in Diabetes 2019. *Diabetes Care* 2019;42(Suppl. 1):S13–S28

ADA (American Diabetes Association). **Diabetes Care:** Standards of Medical Care in Diabetes 2017. v. 40, s/n, supplement 1. 2017.

AKKASHEH, Ghodarz et al. Clinical and metabolic response to probiotic administration in patients with major depressive disorder: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. **Nutrition**, [s.l.], v. 32, n. 3, p.315-320, mar. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.nut.2015.09.003>.

ALI, S. et al. The prevalence of co-morbid depression in adults with Type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis. **Diabetic Medicine: A Journal of the British Diabetic Association**, v. 23, n. 11, p. 1165–1173, nov. 2006

ALIASGHARZADEH, A. et al. Resistant dextrin, as a prebiotic, improves insulin resistance and inflammation in women with type 2 diabetes: a randomised controlled clinical trial. **The British journal of nutrition**, v. 113, n. 2, p. 321–330, jan. 2015.

ANDERSON, R. J. et al. The prevalence of comorbid depression in adults with diabetes: a meta-analysis. **Diabetes Care**, v. 24, n. 6, p. 1069–1078, jun. 2001

BABSON, A. L. The IMMULITE automated immunoassay system. **Journal of Clinical Immunoassay**, n.14, p.83-88, 1991.

BECK, A. T. et al. An inventory for measuring depression. **Archives of General Psychiatry**, v. 4, p. 561–571, jun. 1961.

BENTON, D.; WILLIAMS, C.; BROWN, A. Impact of consuming a milk drink containing a probiotic on mood and cognition. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 61, n. 3, p. 355–361, mar. 2007.

BESEDOVSKY HO, DEL REY A. Immune-Neuro-Endocrine Interactions: Facts and Hypotheses. **Endocr. Rev.** 1996; 17:64–102. [PubMed: 8641224]

BIAGGIO, A.M.B., N., L. **Manual para Inventário de Ansiedade Traço-Estado (IDATE)**. Rio de Janeiro: Centro Editor de Psicologia Aplicada (CEPA), 1979.

CANI, P. et al. Involvement of gut microbiota in the development of low-grade inflammation and type 2 diabetes associated with obesity. **Gut Microbes**. v. 3, n. 4, p. 279-288, 2012.

CAPURON L. et al. Relationship between adiposity, emotional status and eating behaviour in obese women: role of inflammation. **Psychol. Med.** 2011; 41:1517–1528. [PubMed: 20961476]

CHEN, S. et al. Association of depression with pre-diabetes, undiagnosed diabetes, and previously diagnosed diabetes: a meta-analysis. **Endocrine**, v. 53, n. 1, p. 35–46, jul. 2016.

CHROUSOS, G. P. Stress and disorders of the stress system. **Nature Reviews. Endocrinology**, v. 5, n. 7, p. 374–381, jul. 2009.

DE GROOT, M. et al. Association of depression and diabetes complications: a meta-analysis. **Psychosomatic Medicine**, v. 63, n. 4, p. 619–630, ago. 2001.

DEHGHAN, P. et al. Oligofructose-enriched inulin improves some inflammatory markers and metabolic endotoxemia in women with type 2 diabetes mellitus: a randomized controlled clinical trial. **Nutrients**. v. 30, n. 4, p.418–23, 2014.

DELZENNE, N.M. et al. Gut microorganisms as promising targets for the management of type 2 diabetes. **Diabetologia**. v. 58, n. 10, p. 2206-17, 2015.

DEMIR H. et al. Evaluation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in untreated patients with polymyalgia rheumatica and healthy controls. *Scand. J. Rheumatol.* 2006; 35:217–223. [PubMed: 16766369]

FEINBERG ME. Et al. Anxiety and chronic couple relationship stress moderate adrenocortical response to couple interaction in expectant parents. *Br. J. Psychol.*, n/a- n/a. 2012

FIORE, V. et al. The association between diabetes and depression: a very disabling condition. **Endocrine**, v. 48, n. 1, p. 14–24, fev. 2015.

FOSTER, J. A.; MCVEY NEUFELD, K.-A. Gut–brain axis: how the microbiome influences anxiety and depression. **Trends in Neurosciences**, v. 36, n. 5, p. 305–312, maio 2013.

GOMES-OLIVEIRA, M. H. et al. Validation of the Brazilian Portuguese version of the Beck Depression Inventory-II in a community sample. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, v. 34, n. 4, p. 389–394, dez. 2012.

GUARNER, F. et al. World Gastroenterology Organisation global guidelines: probiotics and prebiotics. **Journal of Clinical Gastroenterology**. v. 46, n. 81, p. 468, 2012.

HAAPAKOSKI, Rita et al. Cumulative meta-analysis of interleukins 6 and 1 β , tumour necrosis factor α and C-reactive protein in patients with major depressive disorder. **Brain, Behavior, And Immunity**, [s.l.], v. 49, p.206-215, out. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbi.2015.06.001>

HEATON, K W et al. Defecation frequency and timing, and stool form in the general population: a prospective study.. **Gut**, [s.l.], v. 33, n. 6, p.818-824, 1 jun. 1992. BMJ. <http://dx.doi.org/10.1136/gut.33.6.818>.

HOWREN MB, LAMKIN DM, SULS J. Associations of Depression With C-Reactive Protein, IL-1, and IL-6: A Meta-Analysis. **Psychosom. Med.** 2009; 71:171–186. [PubMed: 19188531]

IDF (International Diabetes Federation). **IDF Diabetes Atlas**. 8a ed. Brussels: International. Diabetes Federation, 2017.

JIANG, H. et al. Altered fecal microbiota composition in patients with major depressive disorder. **Brain, Behavior, and Immunity**, v. 48, p. 186–194, ago. 2015.

JOHNSON EO. Et al. Mechanisms of stress: a dynamic overview of hormonal and behavioral homeostasis. **Neurosci. Biobehav. Rev.** 1992; 16:115–130. [PubMed: 1630726]

KADISH, A. H.; LITTLE, R. I.; STERNBERG, J. C. A new and rapid method for the determination of glucose by measurement of rate of oxygen consumption. **Clinical Chemistry**, v. 14, n. 2, p. 116-131, 1968.

KIRSCHBAUM C. et al. Persistent high Cortisol responses to repeated psychological stress in a subpopulation of healthy men. **Psychosom. Med.** 1995; 57:468–474. [PubMed: 8552738]

KISHI, Taro et al. Brain-Derived Neurotrophic Factor and Major Depressive Disorder: Evidence from Meta-Analyses. **Frontiers In Psychiatry**, [s.l.], v. 8, p.1-5, 17 jan. 2018. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fpsy.2017.00308>

KLOK MD. Et al. A common and functional mineralocorticoid receptor haplotype enhances optimism and protects against depression in females. **Transl. Psychiatr.** 2011; 1:8.

LEDUE, T. B. et al. Analytical evaluation of particle-enhanced immunonephelometric assays for C-reactive protein, serum amyloid A and mannose-binding protein in human serum. **Annals of Clinical Biochemistry**, v. 35, pt. 6, p.745-753, 1998.

LEVY, Marion J. F. et al. Neurotrophic factors and neuroplasticity pathways in the pathophysiology and treatment of depression. **Psychopharmacology**, [s.l.], v. 235, n. 8, p.2195-2220, 30 jun. 2018. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1007/s00213-018-4950-4>.

LUNA, Ruth Ann; A FOSTER, Jane. Gut brain axis: diet microbiota interactions and implications for modulation of anxiety and depression. **Current Opinion In Biotechnology**, [s.l.], v. 32, p.35-41, abr. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.copbio.2014.10.007>.

LUSTMAN, P. J. et al. Depression and poor glycemic control: a meta-analytic review of the literature. **Diabetes Care**, v. 23, n. 7, p. 934–942, jul. 2000.

MESSAOUDI, M. et al. Beneficial psychological effects of a probiotic formulation (*Lactobacillus helveticus* R0052 and *Bifidobacterium longum* R0175) in healthy human volunteers. **Gut Microbes**, v. 2, n. 4, p. 256–261, ago. 2011.

MOLENDIJK, M L et al. Serum BDNF concentrations as peripheral manifestations of depression: evidence from a systematic review and meta-analyses on 179 associations (N=9484). **Molecular**

Psychiatry, [s.l.], v. 19, n. 7, p.791-800, 20 ago. 2013. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1038/mp.2013.105>.

MOSTAFA, Randa. Rome III: The functional gastrointestinal disorders, third edition, 2006. **World Journal Of Gastroenterology**, [s.l.], v. 14, n. 13, p.2124, 2008. Baishideng Publishing Group Inc.. <http://dx.doi.org/10.3748/wjg.14.2124>.

MOULTON, C. D.; PICKUP, J. C.; ISMAIL, K. The link between depression and diabetes: the search for shared mechanisms. **The Lancet. Diabetes & Endocrinology**, v. 3, n. 6, p. 461–471, jun. 2015.

MOULTON, Calum D. et al. Meta-analyses of structural regional cerebral effects in type 1 and type 2 diabetes. **Brain Imaging And Behavior**, [s.l.], v. 9, n. 4, p.651-662, 7 jan. 2015. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1007/s11682-014-9348-2>.

NARVAEZ J. et al. Low serum levels of DHEAS in untreated polymyalgia rheumatica/giant cell arteritis. **J. Rheumatol.** 2006; 33:1293–1298. [PubMed: 16783861]

OLIVEIRA, Leonardo Furtado de; RODRIGUES, Paula Alves Salmito. Waist circumference: measurement protocols and their practical applicability. **Nutrivisa - Revista de Nutrição e Vigilância em Saúde**, [s.l.], v. 3, p.90-95, 8 nov. 2016. Galoa Events Proceedings. <http://dx.doi.org/10.17648/nutrivisa-vol-3-num-2-h>

PACE, TWW.; RAISON, CL.; MILLER, AH. Neuroendocrine-Immune Interactions: Implications for Health and Behavior. In: Donald, WP.; Arthur, PA.; Susan, EF.; Anne, ME.; Robert, TR., editors. *Hormones, Brain and behavior*. San Diego: Academic Press; 2009. p. 2597-2632.

POLYAKOVA, Maryna et al. BDNF as a biomarker for successful treatment of mood disorders: A systematic & quantitative meta-analysis. **Journal Of Affective Disorders**, [s.l.], v. 174, p.432-440, mar. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jad.2014.11.044>.

ROY B. et al. Association of optimism and pessimism with inflammation and hemostasis in the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). **Psychosom. Med.** 2010; 72:134–140. [PubMed: 20100888]

SANDHU, Kiran V. et al. Feeding the microbiota-gut-brain axis: diet, microbiome, and neuropsychiatry. **Translational Research**, [s.l.], v. 179, p.223-244, jan. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.trsl.2016.10.002>.

SCHROEDER; BÄCKHED. Signals from the gut microbiota to distant organs in physiology and disease. **Nature Medicine**. v. 22, n. 10, 2016.

SMITH, Kimberley J. et al. The association between C-reactive protein, Interleukin-6 and depression among older adults in the community: A systematic review and meta-analysis. **Experimental Gerontology**, [s.l.], v. 102, p.109-132, fev. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.exger.2017.12.005>.

SPIELBERGER, C. D.; GORSUCH, R. L.; LUSHENE, R. D. **The State-Trait Anxiety Inventory (STAI)**. Palo Alto, CA: Consulting Psychologists Press., 1970.

STRAUB R, BUTTGEREIT F, CUTOLO M. Alterations of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in systemic immune diseases: a role for misguided energy regulation. **Clin. Rheumatol.** 2011; 29:S23–S31.

WALLACE, T. M.; LEVY, J. C.; MATTHEWS, D. R.. Use and Abuse of HOMA Modeling. **Diabetes Care**, [s.l.], v. 27, n. 6, p.1487-1495, 25 maio 2004. American Diabetes Association. <http://dx.doi.org/10.2337/diacare.27.6.1487>.

WANG, Y.; KASPER, L. H. The role of microbiome in central nervous system disorders. **Brain, Behavior, and Immunity**, v. 38, p. 1–12, maio 2014.

WHO Guidelines on drawing blood: best practices in phlebotomy. WHO Library Cataloguing-in-Publication Data. Geneva: WHO, 2010.

WHO. **Global Database on Body Mass Index - World Health Organization**. 2006. Disponível em: <<http://www.assessmentpsychology.com/icbmi.htm>>. Acesso em: 10 dez. 2018.

ZANOVELI, J. M. et al. Depression Associated with Diabetes: From Pathophysiology to Treatment. **Current Diabetes Reviews**, v. 12, n. 3, p. 165–178, 2016.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A suplementação com simbióticos em pacientes portadores de DM2 parece apresentar uma tendência a um efeito ansiolítico. No entanto, para confirmar este potencial achado, seria necessário recrutar um número maior de participantes. Também, mais estudos são necessários para estabelecer o real efeito da suplementação.

No entanto, independente da suplementação, em pacientes diabéticos podemos observar uma associação entre marcadores inflamatórios com níveis de BDNF, e deste com os escores de ansiedade encontrados nestes pacientes.

Como limitação deste estudo, destaca-se um baixo número de participantes. Outro fator limitante seriam possíveis modificações no padrão dietético, levando assim, a uma alteração da microbiota intestinal.

Sugere-se que estudos futuros foquem em estratégias para melhor compreensão dos mecanismos compartilhados entre transtornos de humor e DM2. Além disso, estes estudos devem analisar o perfil inflamatório e as neurotrofinas, como o BDNF, nestes pacientes. Estas abordagens são importantes para a caracterização da heterogeneidade destas doenças e para o desenvolvimento de possíveis estratégias de tratamento em conjunto.

REFERÊNCIAS

ADA (American Diabetes Association). **2. Classification and diagnosis of diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes 2019**. *Diabetes Care* 2019;42(Suppl. 1):S13–S28

ADA (American Diabetes Association). **Diabetes Care: Standards of Medical Care in Diabetes 2017**. v. 40, s/n, supplement 1. 2017.

AGARDH, E. et al. Type 2 diabetes incidence and socio-economic position: a systematic review and meta-analysis. **International Journal of Epidemiology**, v. 40, n. 3, p. 804–818, jun. 2011.

AIT-BELGNAOUI, A. et al. Prevention of gut leakiness by a probiotic treatment leads to attenuated HPA response to an acute psychological stress in rats. **Psychoneuroendocrinology**, v. 37, n. 11, p. 1885–1895, nov. 2012.

AKKASHEH, Ghodarz et al. Clinical and metabolic response to probiotic administration in patients with major depressive disorder: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. **Nutrition**, [s.l.], v. 32, n. 3, p.315-320, mar. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.nut.2015.09.003>.

ALBERTI, K. G. M. M.; ZIMMET, P.; SHAW, J.. Metabolic syndrome-a new world-wide definition. A Consensus Statement from the International Diabetes Federation. **Diabetic Medicine**, [s.l.], v. 23, n. 5, p.469-480, maio 2006. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1464-5491.2006.01858.x>.

ALI, S. et al. The prevalence of co-morbid depression in adults with Type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis. **Diabetic Medicine: A Journal of the British Diabetic Association**, v. 23, n. 11, p. 1165–1173, nov. 2006

ALIASGHARZADEH, A. et al. Resistant dextrin, as a prebiotic, improves insulin resistance and inflammation in women with type 2 diabetes: a randomised controlled clinical trial. **The British journal of nutrition**, v. 113, n. 2, p. 321–330, jan. 2015.

ALLEN, A P et al. Bifidobacterium longum 1714 as a translational psychobiotic: modulation of stress, electrophysiology and neurocognition in healthy volunteers. **Translational Psychiatry**, [s.l.], v. 6, n. 11, p.1-7, nov. 2016. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1038/tp.2016.191>.

American Psychiatric Association – DSM-5. **MANUAL DIAGNÓSTICO E ESTATÍSTICO DE TRANSTORNOS MENTAIS**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. p. 155-188.

ANDERSON, R. J. et al. The prevalence of comorbid depression in adults with diabetes: a meta-analysis. **Diabetes Care**, v. 24, n. 6, p. 1069–1078, jun. 2001

ASEMI, Zatollah et al. Effect of Multispecies Probiotic Supplements on Metabolic Profiles, hs-CRP, and Oxidative Stress in Patients with Type 2 Diabetes. **Annals Of Nutrition And Metabolism**, [s.l.], v. 63, n. 1-2, p.1-9, 2013. S. Karger AG. <http://dx.doi.org/10.1159/000349922>.

ASEMI, Zatollah et al. Effects of synbiotic food consumption on metabolic status of diabetic patients: A double-blind randomized cross-over controlled clinical trial. **Clinical Nutrition**, [s.l.], v. 33, n. 2, p.198-203, abr. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.clnu.2013.05.015>.

BABSON, A. L. The IMMULITE automated immunoassay system. **Journal of Clinical Immunoassay**, n.14, p.83-88, 1991.

BECK, A. T. et al. An inventory for measuring depression. **Archives of General Psychiatry**, v. 4, p. 561–571, jun. 1961.

BENTON, D.; WILLIAMS, C.; BROWN, A. Impact of consuming a milk drink containing a probiotic on mood and cognition. **EuropeanJournalofClinicalNutrition**, v. 61, n. 3, p. 355–361, mar. 2007.

BESEDOVSKY HO, DEL REY A. Immune-Neuro-Endocrine Interactions: Facts and Hypotheses. **Endocr. Rev.** 1996; 17:64–102. [PubMed: 8641224]

BIAGGIO, A.M.B., N., L. **Manual para Inventário de Ansiedade Traço-Estado (IDATE)**. Rio de Janeiro: Centro Editor de Psicologia Aplicada (CEPA), 1979.

BOULANGÉ et al. Impact of the gut microbiota on inflammation, obesity, and metabolic Disease. **Genome Medicine**. v. 8, n. 42, 2016.

BROWN, E. S.; VARGHESE, F. P.; MCEWEN, B. S. Association of depression with medical illness: does cortisol play a role? **Biological Psychiatry**, v. 55, n. 1, p. 1–9, 1 jan. 2004.

CANI, P. et al. Involvement of gut microbiota in the development of low-grade inflammation and type 2 diabetes associated with obesity. **Gut Microbes**. v. 3, n. 4, p. 279-288, 2012.

CAPURON L. et al. Relationship between adiposity, emotional status and eating behaviour in obese women: role of inflammation. **Psychol. Med.** 2011; 41:1517–1528. [PubMed: 20961476]

CHEN, S. et al. Association of depression with pre-diabetes, undiagnosed diabetes, and previously diagnosed diabetes: a meta-analysis. **Endocrine**, v. 53, n. 1, p. 35–46, jul. 2016.

CHESNEY, E.; GOODWIN, G. M.; FAZEL, S. Risks of all-cause and suicide mortality in mental disorders: a meta-review. **World Psychiatry**, v. 13, n. 2, p. 153–160, jun. 2014.

CHIU, C.-J. et al. The role of health behaviors in mediating the relationship between depressive symptoms and glycemic control in type 2 diabetes: a structural equation modeling approach. **Social Psychiatry and Psychiatric Epidemiology**, v. 45, n. 1, p. 67–76, jan. 2010.

CHROUSOS, G. P. Stress and disorders of the stress system. **Nature Reviews. Endocrinology**, v. 5, n. 7, p. 374–381, jul. 2009.

DAVID, L. A. et al. Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome. **Nature**, v. 505, n. 7484, p. 559-563, 2014.

DE GROOT, M. et al. Association of depression and diabetes complications: a meta-analysis. **Psychosomatic Medicine**, v. 63, n. 4, p. 619–630, ago. 2001.

DEGHAN, P. et al. Oligofructose-enriched inulin improves some inflammatory markers and metabolic endotoxemia in women with type 2 diabetes mellitus: a randomized controlled clinical trial. **Nutrients**. v. 30, n. 4, p.418–23, 2014.

DELZENNE, N.M. et al. Gut microorganisms as promising targets for the management of type 2 diabetes. **Diabetologia**. v. 58, n. 10, p. 2206-17, 2015.

DEMIR H. et al. Evaluation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in untreated patients with polymyalgia rheumatica and healthy controls. **Scand. J. Rheumatol.** 2006; 35:217–223. [PubMed: 16766369]

FEINBERG ME. Et al. Anxiety and chronic couple relationship stress moderate adrenocortical response to couple interaction in expectant parents. *Br. J. Psychol.*, n/a- n/a. 2012.

FERNANDES, J. D. et al. IDF Diabetes Atlas estimates of 2014 global health expenditures on diabetes. **Diabetes Research and Clinical Practice**. 2016.

FIORE, V. et al. The association between diabetes and depression: a very disabling condition. **Endocrine**, v. 48, n. 1, p. 14–24, fev. 2015.

FOLB, N. et al. Socioeconomic predictors and consequences of depression among primary care attenders with non-communicable diseases in the Western Cape, South Africa: cohort study within a randomised trial. **BMC Public Health**, v. 15, 30 nov. 2015.

FOSTER, J. A.; MCVEY NEUFELD, K.-A. Gut–brain axis: how the microbiome influences anxiety and depression. **Trends in Neurosciences**, v. 36, n. 5, p. 305–312, maio 2013.

GARCÍA-RÓDENAS, C. L. et al. Nutritional approach to restore impaired intestinal barrier function and growth after neonatal stress in rats. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, v. 43, n. 1, p. 16–24, jul. 2006.

GAREAU, M. G.; SILVA, M. A.; PERDUE, M. H. Pathophysiological mechanisms of stress-induced intestinal damage. **Current Molecular Medicine**, v. 8, n. 4, p. 274–281, jun. 2008.

GERHARD, Danielle M.; DUMAN, Ronald S.. Rapid-Acting Antidepressants: Mechanistic Insights and Future Directions. **Current Behavioral Neuroscience Reports**, [s.l.], 5 fev. 2018. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1007/s40473-018-0139-8>.

GIBSON, G.R. et al. Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics. **Nutrition Research Reviews**. v. 17, s/n, p. 259–275, 2004.

GIBSON, Glenn R. et al. Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. **Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology**, [s.l.], v. 14, n. 8, p.491-502, 14 jun. 2017. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/nrgastro.2017.75>.

GOMES-OLIVEIRA, M. H. et al. Validation of the Brazilian Portuguese version of the Beck Depression Inventory-II in a community sample. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, v. 34, n. 4, p. 389–394, dez. 2012.

GORENSTEIN, C.; ANDRADE, L. H. S. G. DE. Inventario de depressão de Beck: propriedades psicométricas da versão em português. **Rev. psiquiatr. clín. (São Paulo)**, v. 25, n. 5, p. 245–50, 1998.

GREGG, Edward W; SATTAR, Naveed; ALI, Mohammed K. The changing face of diabetes complications. *The Lancet Diabetes & Endocrinology*, [s.l.], v. 4, n. 6, p.537-547, jun. 2016. **Elsevier BV**. [http://dx.doi.org/10.1016/s2213-8587\(16\)30010-9](http://dx.doi.org/10.1016/s2213-8587(16)30010-9).

GUARNER, F. et al. World Gastroenterology Organisation global guidelines: probiotics and prebiotics. **Journal of Clinical Gastroenterology**. v. 46, n. 81, p. 468, 2012.

HEATON, K W et al. Defecation frequency and timing, and stool form in the general population: a prospective study.. **Gut**, [s.l.], v. 33, n. 6, p.818-824, 1 jun. 1992. *BMJ*. <http://dx.doi.org/10.1136/gut.33.6.818>.

HERBERT, J. et al. Do corticosteroids damage the brain? **Journal of Neuroendocrinology**, v. 18, n. 6, p. 393–411, jun. 2006.

HILL, C. et al. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. **Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology**. v. 11, nº, p. 506–514, 2014.

HOWREN, M. B.; LAMKIN, D. M.; SULS, J. Associations of depression with C-reactive protein, IL-1, and IL-6: a meta-analysis. **Psychosomatic Medicine**, v. 71, n. 2, p. 171–186, fev. 2009.

HU, Yi-meng et al. Efectos del suplemento de probióticos en pacientes con diabetes mellitus tipo 2: metaanálisis de ensayos aleatorizados. **Medicina Clínica**, [s.l.], v. 148, n. 8, p.362-370, abr. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.medcli.2016.11.036>.

IDF (International Diabetes Federation). **IDF Diabetes Atlas**. 7a ed. Brussels: International. Diabetes Federation, 2015.

IDF (International Diabetes Federation). **IDF Diabetes Atlas**. 8a ed. Brussels: International. Diabetes Federation, 2017.

INVICTUS. **Simbioflora®**. Disponível em: <<http://www.bacteriasdobeminvictus.com.br/simbioflora>>. Acesso em: 30 nov. 2015.

JIANG, H. et al. Altered fecal microbiota composition in patients with major depressive disorder. **Brain, Behavior, and Immunity**, v. 48, p. 186–194, ago. 2015.

JOHNSON EO. Et al. Mechanisms of stress: a dynamic overview of hormonal and behavioral homeostasis. **Neurosci. Biobehav. Rev.** 1992; 16:115–130. [PubMed: 1630726]

JOHNSON, R. K.; SOULTANAKIS, R. P. & MATTHEWS, D. E. Literacy and body fatness are associated with underreporting of energy intake in US low-income women using the multiple-pass 24-hour recall: a doubly labeled water study. **Journal of the American Dietetic Association**, 98(10): 1.136-1.140, 1998.

KADISH, A. H.; LITTLE, R. I.; STERNBERG, J. C. A new and rapid method for the determination of glucose by measurement of rate of oxygen consumption. **Clinical Chemistry**, v. 14, n. 2, p. 116-131, 1968.

KASSEBAUM, N. J. et al. Global, regional, and national disability-adjusted life-years (DALYs) for 315 diseases and injuries and healthy life expectancy (HALE), 1990–2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. **The Lancet**, v. 388, n. 10053, p. 1603–1658, 8 out. 2016.

KATON, W.; LIN, E. H. B.; KROENKE, K. The association of depression and anxiety with medical symptom burden in patients with chronic medical illness. **General Hospital Psychiatry**, v. 29, n. 2, p. 147–155, abr. 2007.

KAWAI, T. et al. Lipopolysaccharide stimulates the MyD88-independent pathway and results in activation of IFN-regulatory factor 3 and the expression of a subset of lipopolysaccharide-inducible genes. **Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)**, v. 167, n. 10, p. 5887–5894, 15 nov. 2001.

KELLOW, N.; COUGHLAN, M.; REID, Christopher. Metabolic benefits of dietary prebiotics in human subjects: a systematic review of randomised controlled trials. **British Journal of Nutrition**. v.11, n.7, 2014.

KIRSCHBAUM C. et al. Persistent high Cortisol responses to repeated psychological stress in a subpopulation of healthy men. **Psychosom. Med.** 1995; 57:468–474. [PubMed: 8552738]

KISHI, Taro et al. Brain-Derived Neurotrophic Factor and Major Depressive Disorder: Evidence from Meta-Analyses. **Frontiers In Psychiatry**, [s.l.], v. 8, p.1-5, 17 jan. 2018. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fpsy.2017.00308>

KLOK MD. Et al. A common and functional mineralocorticoid receptor haplotype enhances optimism and protects against depression in females. **Transl. Psychiatr.** 2011; 1:8.

KRISHNADAS, R.; CAVANAGH, J. Depression: an inflammatory illness? **Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry**, v. 83, n. 5, p. 495–502, maio 2012.

KYROU, I.; CHROUSOS, G. P.; TSIGOS, C. Stress, visceral obesity, and metabolic complications. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1083, p. 77–110, 2006.

LAAKE, Jean-pierre S. et al. The Association Between Depressive Symptoms and Systemic Inflammation in People With Type 2 Diabetes: Findings From the South London Diabetes Study. **Diabetes Care**, [s.l.], v. 37, n. 8, p.2186-2192, 19 maio 2014. American Diabetes Association. <http://dx.doi.org/10.2337/dc13-2522>.

LEDUE, T. B. et al. Analytical evaluation of particle-enhanced immunonephelometric assays for C-reactive protein, serum amyloid A and mannose-binding protein in human serum. **Annals of Clinical Biochemistry**, v. 35, pt. 6, p.745-753, 1998.

LEVY, Marion J. F. et al. Neurotrophic factors and neuroplasticity pathways in the pathophysiology and treatment of depression. **Psychopharmacology**, [s.l.], v. 235, n. 8, p.2195-2220, 30 jun. 2018. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1007/s00213-018-4950-4>.

LUNA, Ruth Ann; A FOSTER, Jane. Gut brain axis: diet microbiota interactions and implications for modulation of anxiety and depression. **Current Opinion In Biotechnology**, [s.l.], v. 32, p.35-41, abr. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.copbio.2014.10.007>.

LUSTMAN, P. J. et al. Depression and poor glycemic control: a meta-analytic review of the literature. **Diabetes Care**, v. 23, n. 7, p. 934–942, jul. 2000.

MARTINEZ, R. C. R.; BEDANI, R.; SAAD, S. M. I. Scientific evidence for health effects attributed to the consumption of probiotics and prebiotics: an update for current perspectives and future challenges. **British Journal of Nutrition**. v. 114, n. 12, 1993-2015, 2015.

MESSAOUDI, M. et al. Beneficial psychological effects of a probiotic formulation (*Lactobacillus helveticus* R0052 and *Bifidobacterium longum* R0175) in healthy human volunteers. **Gut Microbes**, v. 2, n. 4, p. 256–261, ago. 2011.

MOLENDIJK, M L et al. Serum BDNF concentrations as peripheral manifestations of depression: evidence from a systematic review and meta-analyses on 179 associations (N=9484). **Molecular Psychiatry**, [s.l.], v. 19, n. 7, p.791-800, 20 ago. 2013. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1038/mp.2013.105>.

MOSTAFA, Randa. Rome III: The functional gastrointestinal disorders, third edition, 2006. **World Journal Of Gastroenterology**, [s.l.], v. 14, n. 13, p.2124, 2008. Baishideng Publishing Group Inc.. <http://dx.doi.org/10.3748/wjg.14.2124>.

MOULTON, C. D.; PICKUP, J. C.; ISMAIL, K. The link between depression and diabetes: the search for shared mechanisms. **The Lancet. Diabetes & Endocrinology**, v. 3, n. 6, p. 461–471, jun. 2015.

MOULTON, Calum D. et al. Meta-analyses of structural regional cerebral effects in type 1 and type 2 diabetes. **Brain Imaging And Behavior**, [s.l.], v. 9, n. 4, p.651-662, 7 jan. 2015. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1007/s11682-014-9348-2>.

MOULTON, Calum D; PICKUP, John C; ISMAIL, Khalida. The link between depression and diabetes: the search for shared mechanisms. **The Lancet Diabetes & Endocrinology**, [s.l.], v. 3, n. 6, p.461-471, jun. 2015. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s2213-8587\(15\)00134-5](http://dx.doi.org/10.1016/s2213-8587(15)00134-5).

MUNHOZ, Tiago N. et al. A nationwide population-based study of depression in Brazil. **Journal Of Affective Disorders**, [s.l.], v. 192, p.226-233, mar. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jad.2015.12.038>.

NARVAEZ J. et al. Low serum levels of DHEAS in untreated polymyalgia rheumatica/giant cell arteritis. **J. Rheumatol.** 2006; 33:1293–1298. [PubMed: 16783861]

NEPA-UNICAMP. NÚCLEO DE ESTUDOS E PESQUISAS EM ALIMENTAÇÃO; UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS. **Tabela brasileira de composição de alimentos**. 4. ed. Campinas: NEPA/Unicamp, 2011. 161 p.

OLIVEIRA, Leonardo Furtado de; RODRIGUES, Paula Alves Salmito. Waist circumference: measurement protocols and their practical applicability. **Nutrivisa - Revista de Nutrição e Vigilância em Saúde**, [s.l.], v. 3, p.90-95, 8 nov. 2016. Galoa Events Proceedings. <http://dx.doi.org/10.17648/nutrivisa-vol-3-num-2-h>

OTTE, Christian et al. Major depressive disorder. **Nature Reviews Disease Primers**, [s.l.], v. 2, p.16065, 15 set. 2016. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1038/nrdp.2016.65>.

PACE, TWW.; RAISON, CL.; MILLER, AH. Neuroendocrine-Immune Interactions: Implications for Health and Behavior. In: Donald, WP.; Arthur, PA.; Susan, EF.; Anne, ME.; Robert, TR., editors. **Hormones, Brain and behavior**. San Diego: Academic Press; 2009. p. 2597-2632.

PICKUP, J. C.; CROOK, M. A. Is type II diabetes mellitus a disease of the innate immune system? **Diabetologia**, v. 41, n. 10, p. 1241–1248, out. 1998.

PINHEIRO, A. B. V. et al. **Tabela para Avaliação de Consumo Alimentar em Medidas Caseiras**. 4. ed. São Paulo: Atheneu, 2002. 75p.

POLYAKOVA, Maryna et al. BDNF as a biomarker for successful treatment of mood disorders: A systematic & quantitative meta-analysis. **Journal Of Affective Disorders**, [s.l.], v. 174, p.432-440, mar. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jad.2014.11.044>.

Resolução nº 466, de 12 de dezembro de 2012. Aprova diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos. Brasília: **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 2013.

Resolução-RE n.º 4.858, de 14 de novembro de 2012. Conceder a Alteração, Retificação, Revalidação, Declaração de Caducidade, Cancelamento e o Desarquivamento dos processos dos Produtos para a Saúde Concede alteração de unidade fabril e inclusão de marca. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 26 nov. 2012. Seção 1, p.13. Suplemento.

RHEE, S. H.; POTHOUKAKIS, C.; MAYER, E. A. Principles and clinical implications of the brain–gut–enteric microbiota axis. **Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology**, v. 6, n. 5, p. 306–314, maio 2009.

RICKHAM, P. P. Human Experimentation. Code of Ethics of the World Medical Association. Declaration of Helsinki. **British Medical Journal**. v. 2, n. 5402, p. 177, 1964.

ROBERFROID, M. et al. Prebiotic effects: metabolic and health benefits. **British Journal of Nutrition**. v. 104, s/n, 2010.

ROY B. et al. Association of optimism and pessimism with inflammation and hemostasis in the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). **Psychosom. Med.** 2010; 72:134–140. [PubMed: 20100888]

RZEWUSKA, Magdalena et al. Epidemiology of multimorbidity within the Brazilian adult general population: Evidence from the 2013 National Health Survey (PNS 2013). *Plos One*, [s.l.], v. 12, n. 2, p.1-13, 9 fev. 2017. **Public Library of Science (PLoS)**. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0171813>.

SADOCK, B. J. et al. Mood Disorders. *Comprehensive Textbook of Psychiatry*. Philadelphia, PA, **Lippincott Williams & Wilkins**. I., 2009.

SANDHU, Kiran V. et al. Feeding the microbiota-gut-brain axis: diet, microbiome, and neuropsychiatry. **Translational Research**, [s.l.], v. 179, p.223-244, jan. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.trsl.2016.10.002>.

SBD, Sociedade Brasileira de Diabetes. **Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes**. São Paulo: Editora Clannad, 2017. 383 p.

SCHROEDER; BÄCKHED. Signals from the gut microbiota to distant organs in physiology and disease. **Nature Medicine**. v. 22, n. 10, 2016.

SPIELBERGER, C. D.; GORSUCH, R. L.; LUSHENE, R. D. **The State-Trait Anxiety Inventory (STAI)**. Palo Alto, CA: Consulting Psychologists Press., 1970.

STRAUB R, BUTTGEREIT F, CUTOLO M. Alterations of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in systemic immune diseases: a role for misguided energy regulation. **Clin. Rheumatol**. 2011; 29:S23–S31.

SUN, Jing; BUYS, Nicholas J.. Glucose- and glycaemic factor-lowering effects of probiotics on diabetes: a meta-analysis of randomised placebo-controlled trials. **British Journal Of Nutrition**, [s.l.], v. 115, n. 07, p.1167-1177, 22 fev. 2016. Cambridge University Press (CUP). <http://dx.doi.org/10.1017/s0007114516000076>.

TAJADADI-EBRAHIMI, Maryam et al. Effects of Daily Consumption of Synbiotic Bread on Insulin Metabolism and Serum High-Sensitivity C-Reactive Protein among Diabetic Patients: A Double-Blind, Randomized, Controlled Clinical Trial. **Annals Of Nutrition And Metabolism**, [s.l.], v. 65, n. 1, p.34-41, 2014. S. Karger AG. <http://dx.doi.org/10.1159/000365153>.

TEITELBAUM, A. A. et al. Chronic peripheral administration of corticotropin-releasing factor causes colonic barrier dysfunction similar to psychological stress. **American Journal of Physiology. Gastrointestinal and Liver Physiology**, v. 295, n. 3, p. G452-459, set. 2008.

THAIPISUTTIKUL, P. et al. Psychiatric comorbidities in patients with major depressive disorder. **Neuropsychiatric Disease and Treatment**, v. 10, p. 2097–2103, 2014.

WALLACE, T. M.; LEVY, J. C.; MATTHEWS, D. R.. Use and Abuse of HOMA Modeling. **Diabetes Care**, [s.l.], v. 27, n. 6, p.1487-1495, 25 maio 2004. American Diabetes Association. <http://dx.doi.org/10.2337/diacare.27.6.1487>.

WANG, X. et al. Inflammatory markers and risk of type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis. **Diabetes Care**, v. 36, n. 1, p. 166–175, jan. 2013.

WANG, Y.; KASPER, L. H. The role of microbiome in central nervous system disorders. **Brain, Behavior, and Immunity**, v. 38, p. 1–12, maio 2014.

WHO Guidelines on drawing blood: best practices in phlebotomy. WHO Library Cataloguing-in-Publication Data. Geneva: WHO, 2010.

WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Physical status the use and interpretation of anthropometrics. Report of a World Health Organization.** Expert Committee. WHO. Tech Rep Ser., 854: 1-452, 1995.

WHO. **Global Database on Body Mass Index - World Health Organization.** 2006. Disponível em: <<http://www.assessmentpsychology.com/icbmi.htm>>. Acesso em: 10 dez. 2018.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **BMI classification.** Geneva, Switzerland: WHO, [2008]. Disponível em:<<http://apps.who.int/bmi/index.jsp?introPage=intro3.html>> Acesso em: 10 de jan. 2018.

ZANOVELI, J. M. et al. Depression Associated with Diabetes: From Pathophysiology to Treatment. **Current Diabetes Reviews**, v. 12, n. 3, p. 165–178, 2016.

ZHANG, Qingqing; WU, Yucheng; FEI, Xiaoqiang. Effect of probiotics on glucose metabolism in patients with type 2 diabetes mellitus: A meta-analysis of randomized controlled trials. **Medicina**, [s.l.], v. 52, n. 1, p.28-34, 2016. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.1016/j.medic.2015.11.008>.

ANEXOS**ANEXO A – Avaliação dietética: recordatório 24horas****AVALIAÇÃO DIETÉTICA- RECORDATÓRIO 24HORAS**

Nome: _____ N°
prontuário: _____

Data: ____ / ____ / ____ Momento: _____

| Horário/Refeição | Alimento | Quantidade (medida caseira) |
|-------------------------|-----------------|------------------------------------|
| | | |

Consumo Hídrico:

ANEXO B – Inventário de Depressão de Beck (BDI)

- ❖ Este questionário consiste em 21 grupos de afirmações. Depois de ler com cuidado cada grupo, fazer um círculo em torno do número (0, 1, 2 ou 3) próximo à afirmação, em cada grupo, que descreve melhor a maneira como tu tens te sentido na **última semana, incluindo hoje.**

01. (0) Não me sinto triste.

- (1) Eu me sinto triste
- (2) Estou triste o tempo todo e não consigo sair disto.
- (3) Estou tão triste ou infeliz que não consigo suportar.

02. (0) Não estou especialmente desanimado quanto ao futuro.

- (1) Eu me sinto desanimado quanto ao futuro.
- (2) Acho que nada tenho a esperar.
- (3) Acho o futuro sem esperança e tenho impressão de que as coisas não podem melhorar.

03. (0) Não me sinto um fracasso.

- (1) Acho que fracassei mais do que uma pessoa comum.
- (2) Quando olho para trás, na minha vida, tudo o que posso ver é um monte de fracassos.
- (3) Acho que, como pessoa, sou um completo fracasso.

04. (0) Tenho tanto prazer em tudo como antes.

- (1) Não sinto mais prazer nas coisas como antes.
- (2) Não encontro um prazer real em mais nada.
- (3) Estou insatisfeito ou aborrecido com tudo.

05. (0) Não me sinto especialmente culpado.

- (1) Eu me sinto culpado grande parte do tempo.

(2) Eu me sinto culpado na maior parte do tempo.

(3) Eu me sinto sempre culpado.

06. (0) Não acho que esteja sendo punido.

(1) Acho que posso ser punido.

(2) Creio que vou ser punido.

(3) Acho que estou sendo punido.

07. (0) Não me sinto decepcionado comigo.

(1) Estou decepcionado comigo mesmo.

(2) Estou enojado de mim.

(3) Eu me odeio.

08. (0) Não me sinto de qualquer modo pior que os outros.

(1) Sou crítico em relação a mim por minhas fraquezas ou erros.

(2) Eu me culpo sempre por minhas falhas.

(3) Eu me culpo por tudo de mal que acontece.

09. (0) Não tenho quaisquer ideias de me matar.

(1) Tenho idéias de me matar, mas não as executaria.

(2) Gostaria de me matar.

(3) Eu me mataria se tivesse oportunidade.

10. (0) Não choro mais que o habitual.

(1) Choro mais agora do que costumava.

(2) Agora, choro o tempo todo.

(3) Costumava ser capaz de chorar, mas agora não consigo, mesmo que queira.

11. (0) Não sou mais irritado agora do que já fui.

(1) Fico aborrecido ou irritado mais facilmente do que costumava.

- (2) Agora, me sinto irritado o tempo todo.
- (3) Não me irrita mais por coisas que costumavam me irritar.

12. (0) Não perdi o interesse pelas outras pessoas.

- (1) Estou menos interessado pelas outras pessoas do que costumava estar.
- (2) Perdi a maior parte do meu interesse pelas outras pessoas.
- (3) Perdi todo o interesse pelas outras pessoas.

13. (0) Tomo decisões tão bem quanto antes.

- (1) Adio as tomadas de decisões mais do que costumava.
- (2) Tenho mais dificuldades de tomar decisões do que antes.
- (3) Absolutamente não consigo mais tomar decisões.

14. (0) Não acho que de qualquer modo pareço pior do que antes.

- (1) Estou preocupado em estar parecendo velho ou sem atrativo.
- (2) Acho que há mudanças permanentes na minha aparência, que me fazem parecer sem atrativo.
- (3) Acredito que pareço feio.

15. (0) Posso trabalhar tão bem quanto antes.

- (1) É preciso algum esforço extra para fazer alguma coisa.
- (2) Tenho que me esforçar muito para fazer alguma coisa.
- (3) Não consigo mais fazer qualquer trabalho.

16. (0) Consigo dormir tão bem quanto antes.

- (1) Não durmo tão bem como costumava.
- (2) Acordo 1 a 2 horas mais cedo que o habitualmente e acho difícil voltar a dormir.
- (3) Acordo várias horas mais cedo que costumava e não consigo voltar a dormir.

17. (0) Não fico mais cansado que o habitual.

(1) Fico cansado mais facilmente do que costumava.

(2) Fico cansado ao fazer qualquer coisa.

(3) Estou cansado demais para fazer qualquer coisa.

18. (0) O meu apetite não está pior do que o habitual.

(1) Meu apetite não é tão bom como costumava ser.

(2) Meu apetite é muito pior agora.

(3) Absolutamente não tenho mais apetite.

19. (0) Não tenho perdido muito peso se é que perdi algum recentemente.

(1) Perdi mais do que 2 quilos e meio.

(2) Perdi mais do que 5 quilos.

(3) Perdi mais do que 7 quilos.

Eu estou tentando perder peso de propósito, comendo menos: () Sim () Não

20. (0) Não estou mais preocupado com minha saúde do que o habitual.

(1) Estou preocupado com problemas físicos, tais como dores, indisposição do estômago ou constipação.

(2) Estou muito preocupado com problemas físicos e é difícil pensar em outra coisa.

(3) Estou tão preocupado com meus problemas físicos que não consigo pensar em qualquer outra coisa.

21. (0) Não notei nenhuma mudança no meu interesse por sexo.

(1) Estou menos interessado por sexo do que costumava.

(2) Estou muito menos interessado por sexo agora.

(3) Perdi completamente o interesse por sexo

ANEXO C - Inventário de ansiedade traço-estado (IDATE)

1ª Parte – Questionário de autoavaliação para traço de ansiedade. Por favor, leia cada um dos itens abaixo e assinale o número que melhor indica como você geralmente se sente. Não gaste muito tempo em um único item.

**Quase nunca – 1 Às vezes – 2 Frequentemente – 3 Quase
sempre – 4**

1. Sinto-me bem
..... 1 2 3
4
2. Canso-me com facilidade
..... 1 2 3 4
3. Tenho vontade de chorar
..... 1 2 3 4
4. Gostaria de ser tão feliz como os outros parecem ser
..... 1 2 3 4
5. Perco oportunidades porque não consigo tomar decisões rapidamente
..... 1 2 3 4
6. Sinto-me descansada
.....1 2 3 4
7. Sou calma, ponderada e senhora de mim mesma
..... 1 2 3 4
8. Sinto que as dificuldades estão se acumulando de tal forma que não consigo resolvê-las1 2 3 4
9. Preocupo-me demais com coisas sem importância
..... 1 2 3 4
10. Sou feliz
.....1
2 3 4

11. Deixo-me afetar muito pelas coisas
..... 1 2 3 4
12. Não tenho confiança em mim mesma
..... 1 2 3 4
13. Sinto-me segura
..... 1 2 3 4
14. Evito ter que enfrentar crises ou
problemas..... 1 2 3 4
15. Sinto-me deprimida
..... 1 2 3 4
16. Estou satisfeita
..... 1 2 3 4
17. Ideias sem importância me entram na cabeça e ficam me pressionando.
..... 1 2 3 4
18. Levo os desapontamentos tão a sério que não consigo tirá-los da cabeça
..... 1 2 3 4
19. Sou uma pessoa estável
..... 1 2 3 4
20. Fico tensa e perturbada quando penso em meus problemas do momento
..... 1 2 3 4

2ª Parte – Questionário de autoavaliação para estado de ansiedade. Por favor, leia cada um dos itens abaixo e assinale o número que melhor indica como você se sente.

Não gaste muito tempo em um único item.

Absolutamente não – 1 Um pouco – 2 Bastante – 3 MUITÍSSIMO - 4

1. Sinto-me calma
..... 1 2 3 4
2. Sinto-me seguro
..... 1 2 3 4
3. Estou tensa
..... 1 2
3 4
4. Estou arrependida
..... 1 2 3 4
5. Sinto-me à vontade
..... 1 2 3 4
6. Sinto-me perturbada
..... 1 2 3 4
7. Estou preocupada com possíveis
infortúnios..... 1 2 3 4
8. Sinto-me descansada
..... 1 2 3 4
9. Sinto-me ansiosa
..... 1 2 3 4
0. Sinto me “em casa”
..... 1 2 3 4
11. Sinto-me confiante
..... 1 2 3 4
12. Sinto-me nervosa
..... 1 2 3 4
13. Estou agitada
..... 1 2 3 4

14. Sinto-me “uma pilha de nervos”

..... 1 2 3 4

15. Estou descontráida

..... 1 2 3 4

16. Sinto-me satisfeita

..... 1 2 3 4

17. Estou preocupada

..... 1 2 3 4

18. Sinto-me superexcitada e confusa

..... 1 2 3 4

19. Sinto-me alegre

..... 1 2 3 4

20. Sinto-me bem

..... 1 2 3 4

3ª Parte Descreva como você se sente neste exato momento

.....

....

.....

....

.....

....

.....

....

ANEXO D – Escala de Bristol

| | | |
|---------|---|--|
| Tipo 01 |  | Pedaços separados, duros como amendoim |
| Tipo 02 |  | Forma de salsicha, mas segmentada |
| Tipo 03 |  | Forma de salsicha, mas com fendas na superfície |
| Tipo 04 |  | Forma de salsicha ou cobra, lisa e mole |
| Tipo 05 |  | Pedaços moles, mas contornos nítidos |
| Tipo 06 |  | Pedaços aerados, contornos esgarçados |
| Tipo 07 |  | Aquosa, sem peças sólidas |

ANEXO E - Critérios diagnósticos de ROMA III para os distúrbios gastrointestinais funcionais

A. DISTÚRBIOS ESOFÁGICOS FUNCIONAIS

A1. Pirose funcional

Os critérios* diagnósticos devem incluir **todos** os itens a seguir:

1. Queimação ou dor retroesternal;
2. Falta de evidência de que o refluxo gastroesofágico é a causa do sintoma;
3. Ausência de distúrbios da motilidade esofágica baseados em alterações histopatológicas.

* Critérios preenchidos nos últimos 3 meses com início dos sintomas pelo menos 6 meses antes do diagnóstico.

A2. Dor torácica funcional de presumível origem esofágica

Os critérios* diagnósticos devem incluir **todos** os itens a seguir:

1. Dor ou desconforto retroesternal que não é em queimação;
2. Falta de evidência de que o refluxo gastroesofágico é a causa do sintoma;
3. Ausência de distúrbios da motilidade esofágica baseados em alterações histopatológicas.

* Critérios preenchidos nos últimos 3 meses com início dos sintomas pelo menos 6 meses antes do diagnóstico.

A3. Disfagia funcional

Os critérios* diagnósticos devem incluir **todos** os itens a seguir:

1. A percepção da passagem dos alimentos, líquidos ou sólidos, ao longo do esôfago. Na linguagem do paciente pode ser referido como alimento que tranca, fica retido ou passa com dificuldade;
2. Falta de evidência de que o refluxo gastroesofágico é a causa do sintoma;

3. Ausência de distúrbios da motilidade esofágica baseados em alterações histopatológicas.

* Critérios preenchidos nos últimos 3 meses com início dos sintomas pelo menos 6 meses antes do diagnóstico.

A4. Globus

Os critérios* diagnósticos devem incluir **todos** os itens a seguir:

1. Sensação não dolorosa persistente ou intermitente de presença de um nó ("bola" ou "bolo") ou de um corpo estranho na garganta;
2. Ocorrência da sensação entre as refeições;
3. Ausência de disfagia ou de odinofagia;
4. Falta de evidência de que o refluxo gastroesofágico é a causa do sintoma;
5. Ausência de distúrbios da motilidade esofágica baseados em alterações histopatológicas.

* Critérios preenchidos nos últimos 3 meses com início dos sintomas pelo menos 6 meses antes do diagnóstico.

B. DISTÚRBIOS GASTRODUODENAIS FUNCIONAIS

B1. Dispepsia funcional

Os critérios* diagnósticos devem incluir **todos** os itens a seguir:

1. Um ou mais dos itens a seguir:
 - a. sensação incômoda de plenitude pós-prandial;
 - b. saciedade precoce;
 - c. dor epigástrica;
 - d. queimação epigástrica.
2. Nenhuma evidência de doença estrutural (presente na endoscopia do trato digestivo superior) que seja capaz de explicar os sintomas.

* Critérios preenchidos nos últimos 3 meses com início dos sintomas pelo menos 6 meses antes do diagnóstico.

B1a. Síndrome do desconforto pós-prandial

Os critérios* diagnósticos devem incluir **um ou ambos** os itens a seguir:

1. Sensação incômoda de plenitude pós-prandial que ocorre após refeições habituais, pelo menos várias vezes na semana;
2. Saciedade precoce que impede finalizar uma refeição comum, pelo menos várias vezes na semana.

* Critérios preenchidos nos últimos 3 meses com início dos sintomas pelo menos 6 meses antes do diagnóstico.

Críticos de apoio

1. Empachamento/estufamento abdominal superior ou náusea pós-prandial ou eructação excessiva podem estar presentes;
2. Síndrome da dor epigástrica pode coexistir.

B1b. Síndrome da dor epigástrica

Os critérios* diagnósticos devem incluir **todos** os itens a seguir:

1. Dor ou queimação localizada no epigástrio com intensidade moderada, pelo menos uma vez por semana;
2. A dor é intermitente;
3. Não é generalizada ou localizada para outras regiões do abdome ou do tórax;
4. Não é aliviada com a defecação ou por flatulência;
5. Não preenche os critérios para os distúrbios da vesícula e do esfíncter de Oddi.

* Critérios preenchidos nos últimos 3 meses com início dos sintomas pelo menos 6 meses antes do diagnóstico.

Críticos de apoio

1. A dor pode ser em queimação, mas sem um componente retroesternal;
2. A dor é comumente induzida ou aliviada pelas refeições, mas pode ocorrer também durante o jejum;
3. A síndrome do desconforto pós-prandial pode coexistir

B2. Distúrbios da eructação**B2a. Aerofagia**

Os critérios* diagnósticos devem incluir **todos** os itens a seguir:

1. Aerofagia repetitiva e incômoda pelo menos várias vezes na semana;
2. Engolir o ar de modo que possa ser objetivamente observado ou medido.

* Critérios preenchidos nos últimos 3 meses com início dos sintomas pelo menos 6 meses antes do diagnóstico.

B2b. Eructação excessiva inespecífica

Os critérios* diagnósticos devem incluir **todos** os itens a seguir:

1. Aerofagia repetitiva e incômoda pelo menos várias vezes na semana;
2. Não há evidências de que engolir ar em excesso seja a causa do sintoma.

* Critérios preenchidos nos últimos 3 meses com início dos sintomas pelo menos 6 meses antes do diagnóstico.

B3. Distúrbios da náusea e do vômito**B3a. Náusea idiopática crônica**

Os critérios* diagnósticos devem incluir **todos** os itens a seguir:

1. Náusea significativa, ocorrendo pelo menos algumas vezes na semana;
2. Habitualmente não está associada com vômito;
3. Ausência de anormalidades na endoscopia digestiva superior ou doença metabólica que explique a náusea.

* Critérios preenchidos nos últimos 3 meses com início dos sintomas pelo menos 6 meses antes do diagnóstico.

B3b. Vômito funcional

Os critérios* diagnósticos devem incluir **todos** os itens a seguir:

1. Cerca de um ou mais episódios de vômito por semana;
2. Ausência de critério para distúrbio alimentar, ruminação ou distúrbio psiquiátrico maior de acordo com o DSM-IV;
3. Ausência de vômito auto-induzido, uso crônico de canabinoide, ausência de anormalidades no sistema nervoso central ou doenças metabólicas que expliquem o vômito recorrente.

* Critérios preenchidos nos últimos 3 meses com início dos sintomas pelo menos 6 meses antes do diagnóstico.

B3c. Síndrome do vômito cíclico

Os critérios* diagnósticos devem incluir **todos** os itens a seguir:

1. Episódios de vômito que se repetem de forma semelhante, considerando-se o início (agudo) e a duração (menos de 1 semana);
2. Três ou mais episódios distintos no ano anterior;
3. Ausência de náusea e de vômito entre os episódios.

Críticos de apoio

História ou histórico familiar de dores de cabeça tipo enxaqueca.

B4. Síndrome da ruminação em adultos

Os critérios* diagnósticos devem incluir **todos** os itens a seguir:

1. Regurgitação persistente ou recorrente do alimento recém-ingerido à boca, sendo subsequentemente cuspidos ou remastigado e engolidos;
2. A regurgitação não é precedida por esforço de vômito.

Críticos de apoio

1. Os episódios de regurgitação geralmente não são precedidos de náusea;
2. Interrupção do processo quando o material regurgitado se torna ácido;
3. A regurgitação contém alimentos que são reconhecidos e cujo sabor é agradável.

* Critérios preenchidos nos últimos 3 meses com início dos sintomas pelo menos 6 meses antes do diagnóstico.

C. DISTÚRBIOS INTESTINAIS FUNCIONAIS

C1. Síndrome do intestino irritável

Os critérios* diagnósticos devem incluir **todos** os itens a seguir:

Dor ou desconforto abdominal recorrente** pelo menos 3 dias/mês, nos últimos 3 meses, associada com dois ou mais dos seguintes:

1. Melhora com a defecação;
2. Início associado com mudança na frequência das evacuações;
3. Início associado com mudança no formato (aparência) das fezes.

* Critérios preenchidos nos últimos 3 meses com início dos sintomas pelo menos 6 meses antes do diagnóstico.
** "Desconforto" significa uma sensação desconfortável não descrita como dor.

Recomenda-se que, para uma pessoa possa participar e ser incluída nos protocolos de pesquisas de fisiopatologia e em estudos clínicos, tenha frequência de dor/desconforto de ao menos 2 dias por semana durante o período de avaliação.

C2. Estufamento/Empachamento funcional

Os critérios* diagnósticos devem incluir **os dois** itens a seguir:

1. Sensação recorrente de estufamento/empachamento ou distensão visível por pelo menos 3 dias/mês em 3 meses.
2. Critérios insuficientes para diagnóstico de dispepsia funcional, síndrome do intestino irritável ou outro distúrbio gastrointestinal funcional.

* Critérios preenchidos nos últimos 3 meses com início dos sintomas pelo menos 6 meses antes do diagnóstico.

C3. Constipação funcional

Os critérios* diagnósticos devem incluir:

1. Dois ou mais dos seguintes:
 - a. Esforço evacuatório durante pelo menos 25% das defecações;
 - b. Fezes grumosas ou duras em pelo menos 25% das defecações;
 - c. Sensação de evacuação incompleta em pelo menos 25% das defecações;
 - d. Sensação de obstrução/bloqueio anorretal das fezes em pelo menos 25% das defecações;
 - e. Manobras manuais para facilitar pelo menos 25% das defecações (por exemplo, evacuação com ajuda digital, apoio do assoalho pélvico);
 - f. Menos de três evacuações por semana.
2. Fezes moles estão raramente presentes sem o uso de laxantes;
3. Critérios insuficientes para SII.

* Critérios preenchidos nos últimos 3 meses com início dos sintomas pelo menos 6 meses antes do diagnóstico.

C4. Diarreia funcional

Critérios diagnósticos*

Fezes moles ou aquosas sem dor, ocorrendo em pelo menos 75% das evacuações.

* Critérios preenchidos nos últimos 3 meses com início dos sintomas pelo menos 6 meses antes do diagnóstico.

C5. Distúrbio intestinal funcional inespecífico

Critérios diagnósticos*

Sintomas intestinais não atribuíveis a uma etiologia orgânica e que não preencham critérios para as categorias definidas previamente.

* Critérios preenchidos nos últimos 3 meses com início dos sintomas pelo menos 6 meses antes do diagnóstico.

D. DOR ABDOMINAL FUNCIONAL

D. Síndrome da dor abdominal funcional

Os critérios* diagnósticos devem incluir **todos** os itens a seguir:

1. Dor abdominal contínua ou quase contínua;
2. Ausência ou relacionamento somente ocasional de dor com eventos fisiológicos (por exemplo, alimentação, defecação ou menstruação);
3. Alguma diminuição no funcionamento diário;
4. A dor não é dissimulada (por exemplo, fingir-se de doente);
5. Sintomas insuficientes para atingir o critério para outro distúrbio gastrointestinal funcional que explicariam a dor abdominal.

* Critérios preenchidos nos últimos 3 meses com início dos sintomas pelo menos 6 meses antes do diagnóstico.

E. DISTÚRBIOS FUNCIONAIS DA VESÍCULA BILIAR E DO ESFÍNCTER DE ODDI

E. Distúrbios funcionais da vesícula biliar e do esfíncter de Oddi

Critérios diagnósticos* devem incluir episódios de dor localizada no epigástrico e/ou quadrante superior direito e **todos** os seguintes:

1. Episódios com duração de 30 minutos ou mais;
2. Sintomas recorrentes ocorrendo em diferentes intervalos de tempo (não diariamente);
3. A dor aumenta até chegar a um nível que se mantém constante;
4. A dor é de moderada a grave, suficiente para interromper as atividades cotidianas do paciente ou levá-lo a buscar por ajuda em serviço de emergência;
5. A dor não é aliviada pelas evacuações;
6. A dor não é aliviada por alteração postural;
7. A dor não é aliviada com antiácidos;
8. Exclusão de outras doenças estruturais que explicariam os sintomas.

Critério de apoio

A dor pode apresentar com um ou mais dos seguintes itens:

1. Estar associada com náusea e vômito;
2. Irradiar para as costas e/ou para a região subescapular direita;
3. Despertar do sono no meio da noite.

E1. Distúrbio funcional da vesícula biliar

Os critérios* diagnósticos devem incluir **todos** os itens a seguir:

1. Critério para distúrbio funcional da vesícula biliar e do esfíncter de Oddi;
2. A vesícula biliar está presente;
3. Enzimas hepáticas, bilirrubina conjugada e amilase/lipase normais.

E2. DISTÚRBO FUNCIONAL DO ESFÍNCTER DE ODDI BILIAR

Os critérios* diagnósticos devem incluir **todos** os itens a seguir:

1. Critério para distúrbio funcional do esfíncter de Oddi;
2. Amilase/lipase normais.

Critério de apoio

Elevação temporária de transaminases, fosfatase alcalina ou bilirrubina conjugada séricas, relacionada a, pelo menos, dois episódios de dor.

E3. Distúrbio funcional do esfíncter de Oddi pancreático

Os critérios* diagnósticos devem incluir **ambos** os itens a seguir:

1. Critérios para distúrbios funcionais da vesícula e do esfíncter de Oddi;
2. Amilase/lipase elevadas.

F. DISTÚRBIOS FUNCIONAIS ANORRETAIS**F1. Incontinência fecal funcional**

Critérios diagnósticos*:

1. Eliminação recorrente e descontrolada de material fecal em indivíduo com desenvolvimento correspondente a, pelo menos, 4 anos de idade associada a um ou mais dos itens a seguir:
 - a. Funcionamento anormal dos músculos esfínterianos, normalmente enervados e estruturalmente intactos;
 - b. Discreta anormalidade estrutural e/ou enervação da musculatura esfínteriana;
 - c. Hábito intestinal normal ou alterado (por exemplo, retenção fecal ou diarreia);
 - d. Causas psicológicas.
2. Exclusão de todos os itens seguintes:
 - a. Enevação anormal causada por lesão(ões) no cérebro (por exemplo, demência), na medula espinhal, ou na inervação sacral, ou lesões mistas (por exemplo, esclerose múltipla), ou como parte de neuropatia generalizada periférica ou autonômica (por exemplo, em decorrência de diabetes);

de repouso, avaliada por manometria, exame de imagem ou eletromiografia (EMG);

- c. Força propulsiva evacuatória inadequada, avaliada por manometria ou exames de imagem;

* Critérios preenchidos nos últimos 3 meses com início dos sintomas pelo menos 6 meses antes do diagnóstico.

** Critério diagnóstico para constipação funcional:

(1) Deve incluir dois ou mais dos seguintes itens: (a) esforço evacuatório aumentado durante pelo menos 25% das defecações, (b) Fezes grumosas ou duras em pelo menos 25% das defecações, (c) Sensação de evacuação incompleta em pelo menos 25% das defecações, (d) Sensação de obstrução/bloqueio anorretal em pelo menos 25% das defecações, (e) Manobras manuais para facilitar pelo menos 25% das defecações (por exemplo, evacuação com ajuda digital, apoio do assoalho pélvico), (f) Menos de três defecações por semana.

- b. Anormalidades da função esfínteriana anal associadas com uma doença sistêmica (por exemplo, esclerodermia);
- c. Anormalidades estruturais ou neurogênicas creditadas como causa mais importante ou primária da incontinência fecal;

* Critérios preenchidos nos últimos 3 meses.

F2. Dor anorretal funcional**F2a. Proctalgia crônica**

Os critérios* diagnósticos devem incluir **todos** os itens a seguir:

1. Dor ou dolorimento retal crônico ou recorrente;
2. Episódios devem durar 20 minutos ou mais;
3. Exclusão de outras causas de dor retal, tais como isquemia, doença inflamatória intestinal, criptite, abscesso intramuscular, fissura anal, hemorroida, prostatite e coccidíndia.

* Critérios preenchidos nos últimos 3 meses com início dos sintomas pelo menos 6 meses antes do diagnóstico. A proctalgia crônica deve ser a seguir caracterizada como Síndrome do Elevador do Ânus ou como dor anorretal inespecífica, baseada no exame digital retal.

F2a1. Síndrome do elevador do ânus

Critério diagnóstico:

Critérios de sintomas para proctalgia crônica e desconforto doloroso durante tração posterior no músculo puborretal.

F2a2. Dor anorretal funcional inespecífica

Critério diagnóstico:

Critérios de sintoma para proctalgia crônica, mas sem desconforto doloroso durante a tração posterior no músculo puborretal.

F2b. Proctalgia fugaz

Os critérios* diagnósticos devem incluir **todos** os itens a seguir:

1. Episódios recorrentes de dor localizada no ânus ou no reto baixo;
 2. Os episódios duram de segundos a minutos;
 3. Ausência de dor anorretal entre os episódios;
- Para propósitos de pesquisa, os critérios devem ser preenchidos por 3 meses; entretanto, o diagnóstico clínico e a avaliação devem ter sido feitos antes de 3 meses.

F3. Distúrbios funcionais da defecação

Critérios diagnósticos*:

1. O paciente deve satisfazer os critérios diagnósticos para constipação funcional**;
2. Durante tentativas repetidas de defecar deve haver pelo menos dois dos seguintes itens:
 - a. Evidência de incapacidade de evacuação, baseada no teste de expulsão do balão ou por exames de imagem;
 - b. Contração inadequada dos músculos do assoalho pélvico (por exemplo, do esfíncter anal ou do puborretal) ou menos de 20% de relaxamento da pressão esfínteriana

(2) Fezes moles raramente estão presentes sem o uso de laxantes. (3) Existem critérios insuficientes para síndrome do intestino irritável.

F3a. Defecação dissinérgica

Critério diagnóstico*

Contração inapropriada dos músculos do assoalho pélvico ou menos de 20% de relaxamento da pressão esfínteriana basal em repouso, com força propulsiva adequada durante tentativa de evacuação

F3b. Propulsão defecatória inadequada

Critério diagnóstico*

Força propulsiva inadequada com ou sem contração inapropriada ou menos de 20% de relaxamento esfínteriano anal durante tentativa de defecação.

APÊNDICES**APÊNDICE A - Caracterização dos indivíduos**

Nº prontuário HU/UFSC: _____ Nº da

Randomização: _____

Nome: _____ DN:

_____/_____/_____

E-

mail: _____

Telefones:

Procedência/Endereço: _____

Sexo: () Masculino () Feminino

Profissão: _____ Renda da

família: _____

Escolaridade: _____ Nº de filhos: _____ Nº de pessoas em

casa: _____

Comorbidades: _____

Tempo de diagnóstico de diabetes mellitus:

Medicamentos previamente utilizados (antes da inclusão no estudo): _____

Início da suplementação (**M₀**): ____/____/_____Término da suplementação (**M₁**): ____/____/_____Última consulta (**M₂**) ____/____/_____

Número de suplementos ingeridos: _____

APÊNDICE B – Parâmetros clínicos

| | |
|---|---|
| Comorbidades associadas: | |
| Fármacos utilizados: | |
| M ₀ – | |
| M ₁ – | |
| M ₂ – | |
| Alterações gastrointestinais: | |
| M ₀ - | () Não () Sim Quais: |
| M ₁ - | () Não () Sim Quais: |
| M ₂ - | () Não () Sim Quais: |
| Hábitos Intestinais (segundo critérios do ROMA III, 2006): | |
| M ₀ – | |
| M ₁ – | |
| M ₂ – | |
| Consistência e formato das fezes (segundo critérios da Escala de Bristol, 1997): | |
| M ₀ – | () 1 () 2 () 3 () 4 () 5 () 6 () 7 |
| M ₁ – | () 1 () 2 () 3 () 4 () 5 () 6 () 7 |
| M ₂ – | () 1 () 2 () 3 () 4 () 5 () 6 () 7 |
| Uso de suplementos vitamínicos e minerais: () Não () Sim | |
| Qual: | Dose: |
| Prática de atividade física: () Não () Sim | |
| Quantas vezes por semana: | |
| Tipo de atividade: | |
| Duração da atividade: | |
| <u>*Somente para o sexo feminino:</u> | |
| 1ª menstruação: ____ anos Última menstruação: ____ / ____ / ____ | |
| Ciclo: () Regular () Não regular Climatério: () Sim () Não Menopausa: () | |
| Sim () Não | |
| Ausência de ovulação por contracepção hormonal contínua: () Sim () Não | |

APÊNDICE C - Avaliação antropométrica

Nome: _____

_ N° prontuário: _____

Estatura: _____

| Marcador | M₀ (Basal) | M₁ (30 dias) | M₂ (60 dias) |
|--------------------------------|------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| Peso atual (kg) | | | |
| IMC (kg/m ²) | | | |
| Circunferência da cintura (cm) | | | |

APÊNDICE D - Avaliação laboratorial

| Marcador | M₀ (Basal) Jejum: ___ hrs ____ / ____ / ____ | M₁ (30 dias) Jejum: ___ hrs ____ / ____ / ____ | M₂ (60 dias) Jejum: ___ hrs ____ / ____ / ____ |
|-------------------------------------|---|--|--|
| PCR (mg/L) | | | |
| Albumina (g/ dL) | | | |
| Sódio (mEq/L) | | | |
| Potássio (mEq/L) | | | |
| Fósforo (mg/dL) | | | |
| Vitamina D (ng/mL) | | | |
| Vitamina B ₁₂ (pg/ mL) | | | |
| Ácido fólico (ng/ mL) | | | |
| Ferro sérico (mg/dL) | | | |
| Cálcio sérico (mg/dL) | | | |
| Insulina (IU/mL) | | | |
| Glicemia de jejum (mg/ dL) | | | |
| Hemoglobina glicada (%) | | | |
| Colesterol total (mg/ dL) | | | |
| HDL-c (mg/dL) | | | |
| LDL-c (mg/ dL) | | | |
| Triglicerídeos (mg/ dL) | | | |
| Hemácias (milhões/mm ³) | | | |
| Hemoglobina (g/dL) | | | |
| Hematócrito (%) | | | |
| Vol.Glob. Média (U2 fl) | | | |
| Hem. Glob. Média (pg) | | | |
| C.H. Glob. Média (g/dL) | | | |
| Leucócitos (p/mm ³) | | | |
| Segmentados (número absoluto) | | | |

| | | | |
|--|--|--|--|
| Linfócitos (número absoluto) | | | |
| Monócitos (número absoluto) | | | |
| Eosinófilos (número absoluto) | | | |
| Basófilos (número absoluto) | | | |
| Contagem de Plaquetas (p/mm ³) | | | |
| AST/TGO (U/L) | | | |
| ALT /TGP (U/L) | | | |
| Gama-GT (U/L) | | | |
| Fosfatase Alcalina (U/L) | | | |
| TSH (μIU/ mL) | | | |
| Paratormônio (pg/mL) | | | |
| Transferrina | | | |
| Ferritina | | | |
| Índice de Saturação (%) | | | |
| Cortisol | | | |

APÊNDICE E - Formulário para registro de ingestão do suplemento

Nome: _____

Lembre-se de consumir o conteúdo de dois (2) sachês por dia. Cada sachê deve ser diluído em 100 mL de água em temperatura ambiente, preferencialmente um sachê em jejum e outro sachê no intervalo das refeições.

Devem ser consumidos todos os dias, durante trinta (30) dias.

Em caso de problemas com o consumo, entre em contato com a nutricionista Ethiene da Silva Fontoura pelo fone (48) 99113-9753 ou ainda pelo e-mail: ethiene.fontoura@gmail.com. A ligação pode ser feita a cobrar.

- Marque um “X” no quadradinho se você não consumiu o suplemento no dia.
- Marque “1” no quadradinho se você consumiu o conteúdo de apenas um suplemento no dia.
- Marque “2” no quadradinho se você consumiu o conteúdo de dois suplementos no dia.

Dia ____ / ____ / ____

Dia ____ / ____ / ____

Dia ____ / ____ / ____

Dia ____ / ____ / ____

Dia ____ / ____ / ____

Dia ____ / ____ / ____

Dia ____ / ____ / ____

Dia ____ / ____ / ____

Dia ____ / ____ / ____

Dia ____ / ____ / ____

Dia ____ / ____ / ____

Dia ____ / ____ / ____

Dia ____ / ____ / ____

Dia ____ / ____ / ____

Dia ____ / ____ / ____

Dia ____ / ____ / ____

Dia ____ / ____ / ____

Dia ____ / ____ / ____

Dia ____ / ____ / ____

Dia ____ / ____ / ____

Dia ____ / ____ / ____

Dia ____ / ____ / ____

Dia ____ / ____ / ____

Dia ____ / ____ / ____

Dia ____ / ____ / ____

Dia ____ / ____ / ____

Dia ____ / ____ / ____

Dia ____ / ____ / ____

Dia ____ / ____ / ____

Dia ____ / ____ / ____

- **Quando for a segunda consulta, ao término da suplementação, retorne com esse registro.**

APÊNDICE F - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

O(A) Senhor(a) está sendo convidado (a) a participar, como voluntário, numa pesquisa científica resultante de parceria entre a Universidade Federal de Santa Catarina e o Hospital Universitário Polydoro Ernani de São Thiago (HU). Por favor, leia com atenção e cuidado as informações a seguir e se desejar, discuta com sua família, para que a sua participação possa ser uma decisão bem informada. Caso aceite fazer parte do estudo assine ao final deste documento (nas duas vias). Uma delas é sua e a outra do pesquisador responsável.

INFORMAÇÕES SOBRE A PESQUISA

1. Instituição sede da pesquisa: Departamento de Nutrição (NTR) do Centro de Ciências da Saúde (CCS) no Campus Trindade (Florianópolis-SC) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC). Telefone fixo: (48) 3721-9784 (ramal 23).

2. Título do projeto: Efeito da suplementação de prebiótico e simbiótico sobre perfil lipídico e glicêmico, marcadores inflamatórios e sintomas de depressão e ansiedade em indivíduos com diabetes mellitus tipo 1 e 2: um ensaio clínico randomizado, placebo-controlado e triplo cego

3. Pesquisador responsável: Prof. Dr. Erasmo Benicio Santos de Moraes Trindade.

4. Garantia de informação e desistência: O(A) Senhor(a) será esclarecido(a) sobre a pesquisa em qualquer ponto que desejar. Você é livre para recusar-se a participar, retirar seu consentimento ou interromper a participação, a qualquer momento. Mesmo que o(a) Senhor(a) não queira participar do estudo, não haverá nenhuma desvantagem, inclusive em relação ao seu tratamento e aos cuidados que tenha direito a receber.

5. Descrição do estudo: A pesquisa acontecerá no Hospital Universitário Polydoro Ernani de São Thiago, localizado no Campus Universitário, município de Florianópolis, estado de Santa Catarina. Serão convidados a participar do estudo pessoas com diagnóstico de diabetes mellitus tipo 1 e 2. Neste estudo, pretende-se avaliar se a suplementação de prebiótico ou simbiótico apresenta benefícios à saúde humana. *Prebióticos* são produtos alimentares não digeridos pelo corpo e que estimulam o crescimento de bactérias benéficas no intestino. *Probióticos* são micróbios vivos (ou bactérias vivas) que, quando ingeridos em quantidades

adequadas, produzem benefícios à saúde humana. Essas bactérias são consideradas seguras para o consumo, desde que consumidas na dose correta. Já os simbióticos são produtos que contêm tanto prebióticos quanto probióticos. Entre os benefícios que estes suplementos podem trazer, destaca-se a melhora da saúde do intestino e a melhora da defesa do organismo, além de auxiliar no controle da glicemia de jejum. Apesar disso, em seres humanos com diabetes mellitus tipo 1 e 2, ainda existe dúvida se estes suplementos podem trazer todos estes benefícios. Assim, o resultado da pesquisa pode trazer informações importantes para indivíduos que tem esta condição de saúde (diabetes mellitus).

Caso aceite participar, serão coletados: dados do prontuário; peso, altura; amostras de sangue para avaliação em laboratório.

As avaliações serão realizadas em três momentos: na primeira consulta: 1, 30 e 60 dias após a primeira consulta. O Senhor(a) receberá um tipo específico de suplemento (placebo OU prebiótico OU simbiótico) na quantidade de 12 gramas por dia. A ingestão dos suplementos terá duração de 30 dias, e será iniciada logo após a primeira consulta no respectivo ambulatório. Após este período a suplementação será encerrada, mas o Senhor(a) será acompanhado por mais 30 dias, totalizando 60 dias de pesquisa. Em todos os momentos da pesquisa (0, 15, 30 e 60 dias) haverá coleta de dados clínicos, de sangue, de peso, altura.

É importante esclarecer que haverá uso de placebo (substância inativa). Neste estudo, o placebo que será utilizado é a polidextrose. A suplementação com placebo é necessária para verificar se a suplementação de prebiótico ou simbiótico traz benefícios à saúde de indivíduos obesos comparado aos indivíduos que são suplementados com uma substância inativa.

É importante deixar claro que o(a) Senhor(a) não poderá escolher qual suplemento quer receber. Durante o período da pesquisa, nem o(a) Senhor(a), nem os pesquisadores terão conhecimento de qual suplemento o(a) Senhor(a) recebeu, apenas ao término do estudo será revelado qual suplemento foi fornecido. Em todos os quatro momentos do estudo será necessário que o(a) Senhor(a) forneça 20 mL de sangue (totalizando 80 mL na soma dos quatro momentos) que serão coletados pela equipe do laboratório de análises clínicas do HU. Essas amostras de sangue serão usadas para dosagem de substâncias e células que servirão de indicadores para os possíveis efeitos do prebiótico e simbiótico. Além disso, haverá contatos telefônicos uma vez por semana, a fim de acompanhar o andamento do estudo.

Caso o(a) Senhor(a) não aceite a suplementação, solicito a utilização dos dados do seu prontuário. Reafirmo o compromisso ético da não violação destas informações.

6. Riscos e desconfortos: Os efeitos prejudiciais decorrentes da suplementação de prebiótico e simbiótico não são frequentes, entretanto, pode ocorrer aumento de gases, náuseas e dor na barriga. Estudos em indivíduos sem obesidade, com diabetes mellitus ou que realizaram cirurgia de redução do estômago não apresentaram efeitos prejudiciais à saúde humana após a suplementação dessas substâncias. Caso o(a) Senhor(a) aceite participar do estudo e ocorra algum desconforto após o início da suplementação, favor interromper o consumo e entrar em contato com os pesquisadores. Importante: Se você for alérgico a prebiótico e/ou simbiótico e/ou maltodextrina, NÃO aceite participar do estudo. No que diz respeito à coleta de sangue, pode existir desconforto decorrente da entrada da agulha e retirada do sangue. Com relação à coleta de peso e altura, o estudo não prevê riscos. Ainda assim, se houver qualquer dano à sua saúde decorrente da sua participação na pesquisa, o(a) Senhor(a) receberá todo o tratamento gratuitamente, inclusive despesas com transporte ou medicamentos, sem custos para o(a) Senhor(a), assim como terá direito à indenização por danos, por parte do pesquisador e da instituição envolvida nas diferentes fases da pesquisa.

7. Benefícios: Ao participar desta pesquisa você não terá nenhum benefício direto (financeiro, por exemplo). Entretanto, esperamos que este estudo contribua com informações importantes à ciência. Os resultados podem trazer benefícios a todos os seres humanos com diabetes mellitus tipo 1 ou 2.

8. Custos: O(a) Senhor(a) não terá nenhum gasto com a pesquisa, uma vez que os procedimentos serão feitos na própria instituição onde é realizado o tratamento da diabetes e os suplementos serão doados pelo pesquisador.

9. Esclarecimentos e dúvidas: Se o(a) Senhor(a) tiver alguma dúvida em relação ao estudo ou não quiser mais fazer parte do mesmo, pode entrar em contato com o pesquisador responsável, Prof. Dr. Erasmo Benicio Santos de Moraes Trindade, com a mestrandia Ethiene Fontoura pelos seguintes meios: telefone fixo: (48) 3721-9784 (ramal 23); telefone celular: (48) 9615-6587 / 9113-9753; e-mail: erasmotrindade@gmail.com; ethiene.fontoura@gmail.com. O(a) Senhor(a) pode também entrar em contato com o pesquisador responsável, Prof. Dr. Erasmo

Trindade, no seguinte endereço: Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências da Saúde, Departamento de Nutrição, 3º andar, sala 214, Rua Delfino Conti, s/n, Trindade, Florianópolis, Santa Catarina.

Se o(a) Senhor(a) estiver de acordo em participar do estudo, garantimos que as informações fornecidas serão confidenciais e só serão utilizadas neste trabalho com a finalidade de gerar conhecimento em saúde. Os pesquisadores têm o compromisso de utilizar os dados e o material coletado somente para esta pesquisa. Os resultados do estudo poderão ser publicados em revistas científicas, apresentados em congressos ou eventos científicos, sem que seu nome seja mencionado em parte alguma.

Esta pesquisa está pautada nas orientações e recomendações da Resolução do Conselho Nacional de Saúde 466/2012 e suas complementares.

Se tiver dúvidas sobre seus direitos, o(a) Senhor(a) pode entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de Santa Catarina, coordenador Ylmar Corrêa Neto pelo telefone (48) 3721-6094 ou diretamente no próprio Comitê que fica localizado no prédio Reitoria II, 4º andar, sala 401, Rua Desembargador Vitor Lima, nº 222, Trindade, Florianópolis, Santa Catarina.

CONSENTIMENTO DO SUJEITO DA PESQUISA

Eu

.....
, portador do RG: Fone para contato:..... concordo de maneira livre e esclarecida em participar da pesquisa: Efeito da suplementação de prebiótico e simbiótico sobre perfil lipídico e glicêmico, marcadores inflamatórios e sintomas de depressão e ansiedade em indivíduos com diabetes mellitus tipo 1 e 2: um ensaio clínico randomizado, placebo-controlado e triplo cego

Além de ter lido e entendido todas as informações fornecidas sobre minha participação na pesquisa, tive oportunidade de discuti-las e fazer perguntas. Todas as minhas dúvidas foram esclarecidas satisfatoriamente. Foi-me garantido que posso retirar meu consentimento a qualquer momento, sem que isto leve a qualquer penalidade ou interrupção de meu acompanhamento, assistência e/ou tratamento.

Florianópolis, _____ de _____ de 201__.

Nome e assinatura do paciente

Prof. Dr. Erasmo B. S. M. Trindade

APÊNDICE G - Orientações nutricionais

Retirar/Evitar na alimentação:

- Embutidos (salsicha, linguiça, bacon, mortadela, salame, etc.)
- Enlatados e conservas
- Temperos industrializados (caldo Knorr, Sazon, Ajinomoto e similares)
- Chocolate
- Bebida alcoólica e refrigerante
- Açúcar refinado
- Evitar adoçar os alimentos. Em caso de extrema necessidade: adoçante à base de Stévia.

Incluir na alimentação:

- 2 litros de água e consumir chás e sucos (sugestão: água saborizada – acrescentar hortelã, alecrim, cravo, canela, gengibre).
- Frutas como: abacaxi, melancia, melão, goiaba, acerola, morango (3-4 porções/dia)
- Folhosos verde-escuros: couve, hortelã, alface e rúcula (2x/dia).
- Alimentos integrais ao invés de refinados (arroz integral, aveia, pão integral, granola sem açúcar, etc.).
- Leguminosas: feijão (todos os tipos), lentilha, soja, quinoa, amaranto.
- Carnes magras (de preferência brancas): peixe, frutos do mar, frango sem pele, ovos (de preferência caipira e não fritos).
- Controlar o consumo de sal, evitar excessos. Não levar o saleiro à mesa. Temperar a salada somente com azeite de oliva e limão. Pode acrescentar linhaça, gergelim, etc.

DICAS

- Não pule nenhuma refeição. Faça 3 grandes refeições (café da manhã, almoço e janta) e 2-3 pequenos lanches entre as grandes refeições.
- Prepare todo e qualquer tipo de carne retirando toda a gordura aparente e/ou peles.
- Alimentos como: azeite de oliva, sementes de linhaça, de girassol, peixes, aveia, farinha de mandioca, soja e leite de soja auxiliam no combate ao colesterol elevado.

- A castanha de caju granulada pode também ser usada para temperar as saladas, assim como o azeite de oliva, suco de limão, gergelim ou linhaça (use 1 colher de sopa).
- Manter horário regular para as refeições (não ultrapassar 3 horas sem comer).
- Evitar líquidos durante as refeições. Espere no mínimo 40 minutos para beber água ou sucos.

APÊNDICE H - Orientações sobre o que evitar durante o período do estudo

Durante o período da pesquisa (60 dias), evitar:

- Praticar atividade física intensa, ou seja, correr velozmente, caminhada veloz em colina/montanha (por exemplo, em trilhas), pedalada rápida, ginástica aeróbica, natação rápida, carregar cargas pesadas (> 20 kg).
- Consumir bebida alcoólica.
- Consumir alimentos enriquecidos com prebióticos, probióticos ou simbióticos, tais como:
 - Kefir
 - Kimchii
 - Missoshiro
 - Chucrute
 - Coalhada
 - Molho shoyu (ou molho de soja)
 - Alguns tipos de iogurtes (Activia[®], Actimel[®], Pense Bio Fibras[®], Sofyl[®], Piá Essence[®], Biociclos[®], entre outros)
 - Leite fermentado (Yakult[®], Chamyto[®], Danito[®], Batavito[®], entre outros).

IMPORTANTE: Sempre olhar o rótulo para se certificar de que o produto não contenha prebiótico e probiótico. Palavras como “fibras” na embalagem são sinônimos para prebióticos e palavras como “cultura viva” e “cultura ativa” na embalagem também são sinônimos para probióticos.

Observação: Ao uso de qualquer medicamento ou suplemento nutricional, anotar o nome, dose e tempo utilizado.