



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE FARMACOLOGIA
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Gustavo Griebner

**EFEITOS NEUROPROTETORES DO CONSUMO CRÔNICO DE
LEVILACTOBACILLUS BREVIS CRL2013 EM MODELO EXPERIMENTAL DA
DOENÇA DE ALZHEIMER**

Florianópolis
2025

Gustavo Griebner

**EFEITOS NEUROPROTETORES DO CONSUMO CRÔNICO DE
LEVILACTOBACILLUS BREVIS CRL2013 EM MODELO EXPERIMENTAL DA
DOENÇA DE ALZHEIMER**

Trabalho de Conclusão de Curso submetido ao curso de Ciências Biológicas do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito parcial para a obtenção do título de Licenciado em Ciências Biológicas.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Helena Iturvides Cimarosti
Coorientador: Dr. Juan Beauquis

Florianópolis

2025

Griebner, Gustavo

Efeitos Neuroprotetores do Consumo Crônico de
Levilactobacillus brevis CRL2013 em Modelo Experimental da
Doença de Alzheimer /Gustavo Griebner ; orientador,
Helena Iturvides Cimarosti, coorientador, Juan Beauquis,
2025.

30 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) -
Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências
Biológicas, Graduação em Ciências Biológicas,
Florianópolis, 2025.

Inclui referências.

1. Ciências Biológicas. 2. Doença de Alzheimer. 3.
Levilactobacillus brevis. 4. GABA. I. Iturvides Cimarosti,
Helena . II. Beauquis, Juan. III. Universidade Federal de
Santa Catarina. Graduação em Ciências Biológicas. IV.
Título.

Gustavo Griebner

**Efeitos Neuroprotetores do Consumo Crônico de *Levilactobacillus brevis* CRL2013 em
Modelo Experimental da Doença de Alzheimer**

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do título de Licenciado em Ciências Biológicas e aprovado em sua forma final pelo Curso de Licenciatura em Ciências Biológicas.

Florianópolis, 25 de novembro de 2025.

Coordenação do Curso

Banca examinadora

Prof.^a Dr.^a Helena Iturvides Cimarosti

Orientador(a)

Prof.^a Dr.^a Luisa Mota da Silva

Universidade Federal de Santa Catarina

Dr. Ericks Sousa Soares

Aptah Bio, Inc.

Florianópolis, 2025

Dedico este trabalho ao meu pai, Valdir, e à minha mãe, Ivonete, que desde sempre me incentivaram a buscar aquilo que me faz feliz, sempre com muito carinho e suporte.

Amo vocês!

AGRADECIMENTOS

Agradeço inicialmente a minha família, meu pai e mãe, Valdir e Ivonete, minha irmã, cunhado e sobrinhos, Pâmela, Fábio, Dudu e Martina, por todo amor e paciência durante todo o tempo, a distância nos reaproximou de forma inigualável e eu sou uma pessoa muito feliz toda vez que ouço falarem de mim com os olhos marejados de orgulho e saudade, estou sempre pensando em vocês.

À minha orientadora, Helena, pela oportunidade quando tudo era apenas potência e meus interesses em nada tinham relação ao que os ventos nos carregaram. Ao Juan Beauquis, pelo tempo concedido, pelo interesse na minha pessoa e por confiar a mim este lindo trabalho.

Aos meus colegas da “Velha-Guarda” do LINq, onde tudo começou, Ericks, Letícia, Jaqueline e Carol, carregos no peito sempre, foram inúmeros os bares, os cafés com muita fofoca e testes de comportamento durante nosso período juntos, cada momento somou uma peça para formar o quebra-cabeça final. Aos meus colegas do IBYME, Juan, Flávia, Charly, Nico, Melina, Melisa e Jessi, pelo acolhimento e carinho durante minha morada em Buenos Aires.

Ao meu excelentíssimo Esteban, por me dar a honra de ser seu pupilo no início do curso, aos campos na Amazônia, os ensinamentos em herpeto e toda a curiosidade envolvida e compartilhada sobre a nossa biodiversidade, você foi luz quando tudo era obscuro, jamais esquecerei do seu valor.

Meus sinceros agradecimentos aos meus amigos da graduação na UFSC, Beatriz, Duda, Gu e Henrique. A companhia de vocês foi essencial para que todo o furacão que é viver longe de casa pudesse ser compensado com boas rodas de conversa, praia, trilhas, cachoeiras, partidas competitivas de jogos de cartas e muitas saídas para frequentar um bar de procedência duvidosa. Percebo como tudo foi mais leve tendo vocês por perto, obrigado por estarem ao meu lado.

Colegas da UBA e companheiros da casa de passagem, Sofí, Martu, Lucía, Homero e Candelaria, Steven, Rai, Fran e Nikita. Lembro-me até hoje a sensação de sair do Brasil chorando prevendo a saudade que iria sentir dos meus entes queridos, porém, ao deixar a Argentina, vi-me novamente na mesma posição de estar saindo do meu país natal, obrigado por serem família quando a minha estava longe assim como me escolherem para pertences às suas.

Ao meu melhor amigo, Henrique, meu confidente, parceiro, sabedor de todos os meus segredos e com quem eu compartilhei a vida ao longo desses 5 anos. Aquela aula de Biologia Celular foi um divisor de águas nas nossas vidas, não imaginávamos o que nos aguardava a partir dela. Não me arrependo nem por uma fração de segundo estar ao seu lado.

Por fim, agradeço à Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) por ser a casa que me moldou e me fez crescer academicamente. À SINTER, pela oportunidade de viajar para o exterior e estudar na Universidade de Buenos Aires (UBA), permitindo-me desenvolver ainda mais como estrangeiro. À Dra. Lucila Saavedra e Dra. Elvira Hebert, Investigadoras do CONICET que também possibilitaram a realização deste Trabalho de Conclusão de Curso.

RESUMO

A doença de Alzheimer (DA) é uma enfermidade neurodegenerativa progressiva caracterizada pelo acúmulo de placas β -amiloides e prejuízos cognitivos. A modulação da microbiota intestinal pode exercer efeitos neuroprotetores, favorecendo a manutenção da plasticidade sináptica e a redução de processos neuroinflamatórios. O presente estudo investigou os efeitos do consumo crônico do probiótico *Levilactobacillus brevis* CRL2013, reconhecido por sua capacidade de produzir ácido gama-aminobutírico (GABA), sobre parâmetros comportamentais e neuropatológicos em camundongos transgênicos PDAPP-J20, modelo experimental de DA. Os animais foram divididos em quatro grupos experimentais: não transgênicos não tratados (NTg), não transgênicos tratados (NTg-LB), transgênicos não tratados (Tg) e transgênicos tratados (Tg-LB). O probiótico foi administrado por via oral na dose de 1×10^9 UFC/mL/dia. Os testes comportamentais incluíram o Campo Aberto, o Labirinto de Barnes e o Teste de Reconhecimento de Objetos, enquanto a carga de placas amiloides foi avaliada por coloração com vermelho Congo. As análises estatísticas incluíram testes paramétricos (t de Student e ANOVA de medidas repetidas) e não paramétricos (Mann-Whitney e Kruskal-Wallis), considerando $p < 0,05$. Os resultados mostraram que os animais tratados com *L. brevis* apresentaram tendência de melhora no desempenho cognitivo e comportamental, com manutenção da atividade exploratória e possível atenuação da ansiedade. Além disso, observou-se redução significativa da carga amiloide no giro denteado dos camundongos tratados, sugerindo um possível efeito neuroprotetor. Esses achados apontam que o consumo crônico de *L. brevis* CRL2013 pode representar uma estratégia não farmacológica promissora para retardar a progressão da DA. Estudos futuros visarão incorporar o uso de marcadores de SUMOilação para aprofundar o conhecimento nos efeitos neuroprotetores vinculados.

Palavras-chave: Doença de Alzheimer; GABA; *Levilactobacillus brevis*.

ABSTRACT

Alzheimer's disease is a progressive neurodegenerative disease characterized by the accumulation of β -amyloid plaques and cognitive impairments. Modulation of the gut microbiota may exert neuroprotective effects, favoring the maintenance of synaptic plasticity and the reduction of neuroinflammatory processes. This study investigated the effects of chronic consumption of the probiotic *Levilactobacillus brevis* CRL2013, recognized for its ability to produce GABA, on behavioral and neuropathological parameters in transgenic PDAPP-J20 mice, an experimental model of AD. The animals were divided into four experimental groups: untreated non-transgenic (NTg), treated non-transgenic (NTg-LB), untreated transgenic (Tg), and treated transgenic (Tg-LB). The probiotic was administered orally at a dose of 1×10^9 CFU/mL/day. The behavioral tests included the Open Field, Barnes Maze, and Object Recognition Test, while amyloid plaque load was assessed by Congo Red staining. Statistical analyses included parametric tests (Student's t-test and repeated measures ANOVA) and non-parametric tests (Mann-Whitney and Kruskal-Wallis), considering $p < 0.05$. The results showed that animals treated with *L. brevis* exhibited a tendency for improved cognitive and behavioral performance, with maintenance of exploratory activity and possible attenuation of anxiety. Furthermore, a significant reduction in amyloid plaque load in the dentate gyrus of treated mice was observed, suggesting a potential neuroprotective effect. These findings suggest that chronic consumption of *L. brevis* CRL2013 may represent a promising non-pharmacological strategy to slow the progression of AD. Future studies will aim to incorporate the use of SUMOylation markers to deepen the understanding of the linked neuroprotective effects.

Keywords: Alzheimer's disease; GABA; *Levilactobacillus brevis*; SUMOylation.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
1.1	NEURODEGENERAÇÃO ASSOCIADA A PLACAS AMILOIDES	11
1.2	ÁCIDO GAMA-AMINOBTÍRICO.....	12
1.3	TRATAMENTOS FARMACOLÓGICOS NA DA.....	13
1.4	POTENCIAL TERAPÊUTICO DAS BACTÉRIAS LÁCTICAS NA DA	13
1.5	EIXO MICROBIOTA-INTESTINO-CÉREBRO	14
1.6	SUMOILAÇÃO NA DA	14
2	HIPÓTESE.....	15
3	OBJETIVO GERAL	15
3.1	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	16
4	METODOLOGIA.....	16
4.1	ANIMAIS	16
4.2	PREPARAÇÃO DA CEPA PROBIÓTICA E ADMINISTRAÇÃO.....	17
4.3	TESTES DE COMPORTAMENTO	17
4.3.1	Campo Aberto.....	17
4.3.2	Labirinto de Barnes.....	18
4.3.3	Teste de Reconhecimento de Objetos.....	18
4.4	IMUNOHISTOQUÍMICA: VERMELHO CONGO.....	19
4.5	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	20
5	RESULTADOS	21
5.1	ANÁLISE COMPORTAMENTAL DO TIPO ANSIOSO	21
5.2	ANÁLISE COMPORTAMENTAL DE MEMÓRIA ESPACIAL	21
5.3	ANÁLISE HISTOQUÍMICA.....	23
6	DISCUSSÃO	25
7	CONCLUSÃO.....	27
8	REFERÊNCIAS.....	28

1 INTRODUÇÃO

A demência é uma síndrome caracterizada pelo declínio cognitivo em dois ou mais domínios como a memória, linguagem, funções executivas e visoespaciais, comportamento e personalidade que impedem o indivíduo de realizar atividades básicas diárias. Globalmente, a demência afeta cerca de 50 milhões de pessoas (OMS, 2024). A doença de Alzheimer (DA) constitui a forma mais comum de demência, representando entre 60% e 70% dos casos. Estima-se que entre 5% e 8% da população mundial com 60 anos ou mais apresente algum tipo de demência. As projeções indicam que o número total de pessoas com demência alcançará 82 milhões em 2030 e 152 milhões em 2050 (OMS, 2024). O custo global associado à DA e às demais formas de demência é estimado em 605 bilhões de dólares americanos.

No Brasil, de acordo com o Relatório Nacional sobre a Demência (2024), o número de pessoas com DA chegou a 1,8 milhões em 2019. As projeções indicam que até o ano de 2050 esse número possa triplicar. Sabe-se que a prevalência da demência aumenta significativamente com o avanço da idade, sendo esse o principal fator de risco. Em 2019, o número de pessoas idosas com DA entre 60 e 64 anos era de 2%, de 80 a 84 anos era de 21,2% e de 90 ou mais era de 43,8% (Brasil, 2024).

1.1 NEURODEGENERAÇÃO ASSOCIADA A PLACAS AMILOIDES

A hipótese da cascata amiloide postula que a deposição de aglomerados peptídicos em diferentes regiões do cérebro, que são reconhecidos como corpos estranhos, ativa mecanismos de defesa como a microglia, levando à morte celular, autofagia e neurodegeneração (Kumar *et al.*, 2016; Pomilio *et al.*, 2016). A hipótese sustenta que mutações no gene que codifica a proteína precursora amiloide (APP) alteram a dinâmica de clivagem regular pelas secretases α , β e γ , permitindo a formação do peptídeo β -amiloide ($A\beta$), cuja taxa de acumulação é alta, resultando na formação de amiloides (Erkkinen *et al.*, 2018; Knopman *et al.*, 2021). A β -secretase (BACE1) gera fragmentos ligados à membrana, que depois são clivados pela γ -secretase, composta principalmente por presenilinas 1 e 2 (PS1 e PS2). O processo dá origem a duas isoformas principais: $A\beta$ 1-40, que é solúvel e fisiológica, e $A\beta$ 1-42, mais propensa à agregação e formação das placas amiloides (Erkkinen *et al.*, 2018; Knopman *et al.*, 2021; Kumar *et al.*, 2016).

A formação anormal de A β também afeta a proteína tau, que, quando hiperfosforilada, dissocia-se dos microtúbulos, levando à instabilidade estrutural neuronal e à propagação da patologia tau de neurônio a neurônio (Gouras *et al.*, 2014; Knopman *et al.*, 2021). A forma alterada de A β é neurotóxica, e o acúmulo dessas placas no cérebro promove disfunção mitocondrial, estresse oxidativo e neuroinflamação, que amplificam a degeneração sináptica e neuronal (Eratne *et al.*, 2018; Gouras *et al.*, 2014). Tanto o A β quanto a tau hiperfosforilada comprometem a plasticidade sináptica e levam à morte neuronal.

1.2 ÁCIDO GAMA-AMINO BUTÍRICO

O ácido gama-aminobutírico (GABA) é o principal neurotransmissor inibitório do sistema nervoso central (SNC) e atua como regulador essencial da excitabilidade neuronal e da estabilidade das redes sinápticas. Sua sinalização ocorre por meio de receptores ionotrópicos e metabotrópicos distribuídos pelo tecido neural, enquanto a sua recaptação depende de transportadores específicos localizados em neurônios e células gliais, especialmente astrócitos e microglia (Conn *et al.*, 2024). O sistema GABAérgico faz parte do ciclo metabólico “glutamato-GABA-glutamina”, o glutamato é transformado em GABA, liberado na fenda sináptica e posteriormente recaptado por neurônios e células gliais. Após essa recaptação, o GABA é convertido novamente em glutamina nos astrócitos e retorna aos neurônios, sustentando a reposição contínua desses neurotransmissores. Esse ciclo garante a manutenção do equilíbrio entre neurotransmissão excitatória e inibitória, essencial para a estabilidade funcional das redes neurais (Conn *et al.*, 2024).

Entretanto, na DA esse equilíbrio é profundamente comprometido. Czapski e Strosznajder (2021) mostram que a deposição de peptídeos A β alteram diretamente a comunicação entre neurônios e microglia, promovendo a liberação exacerbada de glutamato e ATP pelos neurônios, intensificando a ativação de receptores NMDA (N-metil-D-aspartato) e purinérgicos, contribuindo para estados de hiperexcitabilidade e excitotoxicidade que sobrecarregam o sistema inibitório GABAérgico. Esse mecanismo é reforçado pela própria ativação da microglia mediada por A β , que altera a rota metabólica do triptofano para a via da quinurenina, resultando em aumento de quinurenina e ácido quinolínico (QUIN), ambos moduladores negativos da sinalização glutamatérgica, capazes de intensificar a excitotoxicidade e desregular a homeostase sináptica, levando à morte celular e intensificando a DA (Czapski e Strosznajder, 2021; Tay *et al.*, 2017)

1.3 TRATAMENTOS FARMACOLÓGICOS NA DA

Atualmente, não existe tratamento capaz de interromper ou reverter a DA. As abordagens existentes se concentram na preservação da cognição, retardo do declínio funcional e atenuação dos sintomas clínicos. Os inibidores da acetilcolinesterase (AChE) e o antagonista do receptor NMDA, a exemplo da memantina, constituem as principais terapias aprovadas, embora nenhum desses fármacos modifique de forma significativa a progressão da doença (Czapski e Strosznajder, 2021). Os inibidores de AChE, como donepezila, galantamina e rivastigmina, elevam os níveis sinápticos de acetilcolina e contribuem para a parcial restauração da sinalização colinérgica, comprometida em decorrência da degeneração dos neurônios colinérgicos na DA. A memantina, por sua vez, reduz a sinalização glutamatérgica excessiva associada a processos excitotóxicos, ao promover um bloqueio controlado dos receptores NMDA, mantendo a capacidade de realizar atividades diárias pela estabilização da neurotransmissão comprometida (Czapski e Strosznajder, 2021).

Nos últimos anos, os anticorpos monoclonais anti-A β têm ganhado grande destaque como estratégias de intervenção modificadora da doença. O Lecanemabe (Leqembi®) foi o primeiro fármaco dessa classe a ter sua aprovação pela *Food and Drug Administration* (FDA, 2023), nos EUA, reduzindo a progressão da doença em 27% em comparação ao grupo placebo (Chowdhury e Chowdhury, 2023). De acordo com Barbosa e colaboradores (2024), para o Brasil, tais terapias não são tão vantajosas, pois apresentam benefícios discretos frente a riscos relevantes, como alergias e altos custos, além de demandarem confirmação da patologia amiloide por biomarcadores e criteriosa seleção de pacientes. Por fim, embora o Lecanemabe demonstre eficácia estatística na redução do declínio cognitivo, os efeitos clínicos ainda são baixos tendo em vista que o fármaco não interrompe ou retarda significativamente a progressão da doença (Chowdhury e Chowdhury, 2023).

1.4 POTENCIAL TERAPÊUTICO DAS BACTÉRIAS LÁCTICAS NA DA

Além da abordagem farmacológica, intervenções nutricionais estão sendo estudadas para a DA, com a esperança de encontrar um agente ou uma combinação de agentes que possa ser usada para prevenção ou para melhorar a qualidade de vida dos indivíduos afetados. Nesse contexto, surge o uso de bactérias lácticas benéficas (BLB) como suplemento alimentar, devido à sua longa história de aplicação e consumo em alimentos fermentados. Dados recentes demonstram que a administração de psicobióticos (probióticos que oferecem potenciais

benefícios à saúde mental) produz uma melhora significativa no declínio cognitivo de pacientes com DA, além de melhorar a plasticidade hipocampal e a disfunção mitocondrial observada no cérebro (Akbari *et al.*, 2016; Woo *et al.*, 2014). Esses microrganismos exercem seus efeitos benéficos devido à capacidade de produzir neurotransmissores e outras moléculas que podem regular funções neuronais do SNC, entre elas o GABA. Nesse mecanismo, o sistema nervoso entérico desempenharia um papel muito importante como intermediário (Liu *et al.*, 2015).

1.5 EIXO MICROBIOTA-INTESTINO-CÉREBRO

O Eixo Microbiota-Intestino-Cérebro é um sistema de comunicação bidirecional fundamental que conecta a microbiota intestinal ao SNC, influenciando o neurodesenvolvimento, a função cognitiva e a regulação emocional e do humor (You *et al.*, 2024). Esta comunicação é mediada por múltiplas vias, incluindo rotas neurais, imunológicas, endócrinas e, crucialmente, metabólicas, por meio dos produtos microbianos como neurotransmissores e outros metabólitos (Ullah *et al.*, 2023; You *et al.*, 2024). A alteração no equilíbrio e na diversidade microbiana, conhecida como disbiose intestinal, tem sido consistentemente associada à patogênese de diversos distúrbios neurológicos, assim sendo, a microbiota é estabelecida como um fator de suscetibilidade ativo no avanço de doenças do SNC (Ullah *et al.*, 2023).

Na perspectiva da DA, convém afirmar que a disbiose intestinal e as consequentes alterações nos metabólitos microbianos contribuem ativamente para o desenvolvimento da patologia. Além disso, propõe-se que a perda de diversidade microbiana é um fator de risco e que a modulação da microbiota intestinal por meio de intervenções como dietas direcionadas, probióticos e prebióticos pode se tornar uma promissora aliada terapêutica ou preventiva para a DA (Pluta *et al.*, 2020; Ullah *et al.*, 2023).

1.6 SUMOILAÇÃO NA DA

A SUMOilação é uma modificação pós-traducional e possui caráter reversível, que inicia pela maturação da SUMO (*small ubiquitin-like modifier*) a partir da ação de proteases SUMO-específicas (SENP), expondo os resíduos de di-glicina e tornando a SUMO imatura em SUMO madura. Estando maturada, a proteína é ativada por um complexo de enzimas (SAE1/SAE2) e é conjugada pela enzima Ubc9 dependente de substrato e ligada a substratos com resíduos de lisina com o auxílio de E3 ligases. Ao final, as SENPs promovem também a

desconjugação da SUMO (deSUMOilação), restaurando a proteína à conformação original (Guo; Henley, 2014; Hay, 2005).

A SUMO foi descoberta em 1996 e, até o momento, foram identificadas 5 isoformas (SUMO-1, 2, 3, 4 e 5) em mamíferos, sendo amplamente encontradas em humanos (Han *et al.*, 2018). A SUMO-1 modifica preferencialmente as proteínas no estado fisiológico, enquanto a SUMO-2 e a SUMO-3 modificam as proteínas sob estresse (Jansen e Vertegaal, 2021). Como a SUMO-2 e a SUMO-3 são muito semelhantes em relação à sequência de aminoácidos e não existem anticorpos capazes de distinguir entre estas duas isoformas, elas são frequentemente descritas como SUMO-2/3 (Jansen e Vertegaal, 2021; Princz e Tavernarakis, 2020). Pesquisas relacionadas a SUMO-4 e SUMO-5 ainda são limitadas, uma vez que sua expressão proteica ainda não foi totalmente determinada em estudos *in vivo* (Han *et al.*, 2018).

Embora ainda não totalmente esclarecido, a SUMOilação apresenta evidências de modificação nas lisinas 587 e 595 da APP que estão localizadas próximas ao sítio de clivagem da β -secretase. A modificação dessa região por proteínas SUMO tem sido associada à redução na formação do peptídeo A β , indicando um possível papel neuroprotetor dessa via. No entanto, resultados divergentes também foram relatados, mostrando que a superexpressão de SUMO-2/3 pode aumentar a atividade da β -secretase (BACE1) e, conseqüentemente, elevar os níveis de A β , reafirmando o caráter ambíguo dos estudos da SUMOilação na DA (Hoppe *et. al.*, 2015; Mandel e Agarwal, 2022).

2 HIPÓTESE

A hipótese deste trabalho propõe que *L. brevis* pode modular a produção de metabólitos que impactam positivamente o SNC, diminuindo as placas A β e protege o SNC.

3 OBJETIVO GERAL

O objetivo geral deste trabalho é determinar os efeitos do consumo de bactérias lácticas (LB) sobre as alterações cognitivas e emocionais, bem como sobre as placas amiloides, em um modelo de DA.

3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a atividade locomotora espontânea, memória e comportamento tipo ansioso após o tratamento dos animais transgênicos para DA (PDAPP-J20) com *L. brevis* CRL2013;
- Avaliar as placas amiloides hipocâmpais dos animais transgênicos para DA (PDAPP-J20) após tratamento com *L. brevis* CRL2013.

4 METODOLOGIA

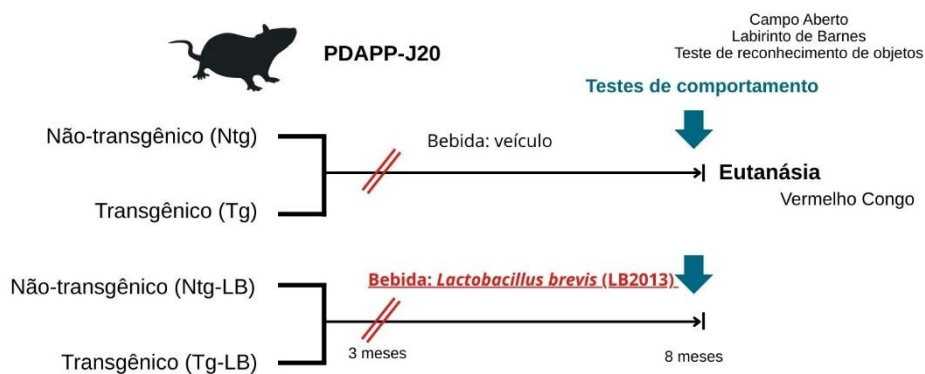
4.1 ANIMAIS

Foram utilizadas fêmeas de camundongos transgênicos PDAPP-J20 do Biotério do Instituto de Biologia e Medicina Experimental (IBYME-CONICET, Buenos Aires, Argentina). Essa linhagem carrega o gene APP humano em forma hemizigótica com as mutações sueca (K670N/M671L) e indiana (V717F), presentes na DA (Mucke *et al.*, 2000). Esses animais desenvolvem progressivamente a patologia amiloide cerebral, alterações sinápticas e alterações cognitivas. Déficits na memória espacial e no aprendizado aparecem com o envelhecimento dos camundongos. Aos 4 meses, camundongos J20 apresentam déficits de memória espacial antes do aparecimento de placas amiloides (Beauquis *et al.*, 2013, Beauquis *et al.*, 2014, Gregosa *et al.*, 2019, Pomilio *et al.*, 2016). A seleção transgênica foi realizada por genotipagem por PCR. Irmãos não transgênicos dos camundongos transgênicos foram usados como controles. O peso corporal foi medido semanalmente antes do início do tratamento e, posteriormente, a cada 2 dias na semana durante o tratamento, para garantir que os animais recebessem a ingestão adequada da ração experimental. Os camundongos foram alojados em condições ambientais controladas, com ciclos de 12 h de claro-escuro; água e ração balanceada foram fornecidas *ad libitum*. Esses experimentos foram aprovados pela Comissão Institucional para o Cuidado e Uso de Animais de Laboratório (CICUAL), em 2022, sob o número de aprovação 12/2022. Os experimentos foram conduzidos de acordo com o Guia para o Cuidado e Uso de Animais de Laboratório dos Institutos Nacionais de Saúde (NIH). Essas recomendações visam garantir a proteção dos animais utilizados em experimentos e outros fins científicos; que esses animais recebam os cuidados adequados, que não sintam dor, sofrimento, estresse ou lesões desnecessárias; que toda duplicação desnecessária de experimentos seja evitada; e que o número de animais utilizados seja reduzido ao mínimo.

4.2 PREPARAÇÃO DA CEPA PROBIÓTICA E ADMINISTRAÇÃO

Foi utilizada a cepa *Levilactobacillus brevis* CRL2013 para o tratamento dos animais. A cepa foi cultivada em caldo ágar MRS (Man, Rugosa e Sharpe) a 30°C por 16 h. As células foram coletadas por centrifugação, lavadas com solução salina, liofilizadas e ressuspensas em leite desnatado reconstituído a 10% para administração oral em camundongos na dose de 1×10^9 UFC/mL/dia na água de beber. Estudos anteriores demonstraram que essa dose de *L. brevis* induz uma resposta imunomoduladora *in vivo* (Cataldo *et al.*, 2020b). Ensaio preliminares mostraram que *L. brevis* CRL2013 na dose de 1×10^9 UFC/mL/dia não induziu efeitos adversos em camundongos PDAPP-J20 (Figura 1). Testes em nosso laboratório mostraram que *L. brevis* CRL2013 permanece viável na água potável por pelo menos 48 h, por isso, as soluções foram substituídas a cada 2 dias nos frascos de cada gaiola (Cataldo *et al.*, 2020b).

Figura 1 – Metodologia de tratamento dos camundongos PDAPP-J20.



Legenda: Esquema de formação dos quatro (4) grupos de estudo divididos em não-transgêncios não tratados (NTg), transgêncios não tratados (Tg), não transgêncios tratados (NTg-LB) e transgêncios tratados (Tg-LB). Fonte: IBYME-CONICET.

Fonte: Elaborado pelo autor.

4.3 TESTES DE COMPORTAMENTO

4.3.1 Campo Aberto

O teste de campo aberto foi realizado para avaliar a atividade exploratória e o comportamento do tipo ansioso conforme analisado por Beauquis e colaboradores (2014). O aparato consistia em uma caixa de madeira branca ($55 \times 3 \times 55$ cm com paredes de 25 cm de altura). Os camundongos foram colocados individualmente no centro da arena e o

comportamento foi analisado por 5 min a partir de arquivos de vídeo (Beauquis *et al.*, 2014). A arena foi dividida digitalmente em 25 quadrados iguais e 2 regiões foram definidas: uma região central compreendendo os 9 quadrados internos e uma região periférica correspondente aos 16 quadrados externos. O comportamento do tipo ansioso foi inferido a partir da preferência por permanecer na região periférica em detrimento da região central, sendo calculada a razão entre o tempo gasto na região central e o tempo total de teste. Além deste, foi calculada a distância percorrida de indivíduos por grupo.

4.3.2 Labirinto de Barnes

O labirinto de Barnes é utilizado para avaliar a memória espacial dos animais conforme reproduzido por Bentivegna e colaboradores (2025). Consiste em uma plataforma circular iluminada (85 cm de diâmetro), contendo 20 buracos dispostos de forma equidistante ao longo da periferia da arena, sendo apenas um deles o alvo de fuga, que leva a uma caixa escura. Os camundongos passaram por 4 testes diários de até 180 s, durante 4 dias consecutivos (fase de treino), e cada tentativa era encerrada quando o animal encontrava e entrava na caixa escura, ou quando se atingia o tempo limite. No quinto dia, 24 h após a última sessão de treino, foi realizado o teste final, desta vez sem a presença da caixa de fuga, registrando-se a latência até o buraco alvo (Bentivegna *et al.*, 2025).

4.3.3 Teste de Reconhecimento de Objetos

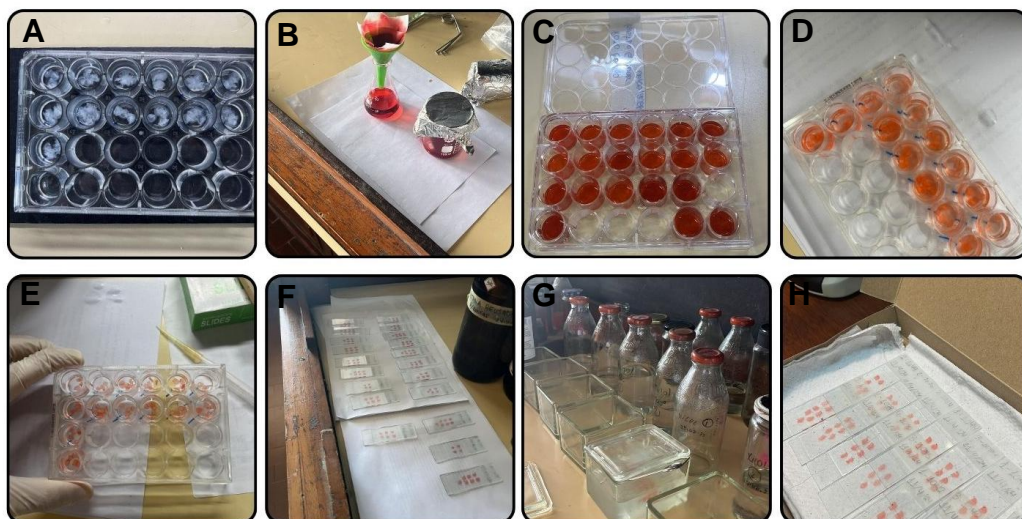
Os animais foram submetidos ao teste de reconhecimento de objetos para a avaliação da memória de trabalho de acordo com Beauquis e colaboradores (2014). Os animais foram acondicionados em uma caixa plástica preta ($30 \times 30 \times 30 \text{ cm}^3$), após um período de habituação de 6 dias. No primeiro dia, todos os animais foram colocados juntos na caixa por 10 min, nos 5 dias seguintes, cada camundongo foi posicionado individualmente na caixa por 5 min. O protocolo de teste consistiu em 2 ensaios de 10 min cada, 1 teste amostral (T1) e 1 teste de reconhecimento (T2), separados por um intervalo de 1 h e registrados em vídeo. No T1, os animais foram expostos a 2 objetos plásticos idênticos, posicionados de forma paralela na caixa. No T2, um dos objetos foi deslocado para o canto oposto, ficando na diagonal, permanecendo o outro na posição original. A exploração foi contabilizada quando o focinho do camundongo estava a menos de 1 cm do objeto. O desempenho foi avaliado pela porcentagem de tempo gasto explorando o objeto deslocado em relação ao tempo total de exploração durante o T2 (Beauquis *et al.*, 2014).

4.4 IMUNOHISTOQUÍMICA: VERMELHO CONGO

A carga de placas amiloides no hipocampo foi avaliada no *estrato radiatum* da região CA1, CA3, hilo e giro denteado (Wilcock *et al.*, 2007). Em resumo, cortes coronais foram incubados por 5 min, à temperatura ambiente, em uma solução composta por 0,2% de vermelho Congo (Biopack, Argentina), 3% de NaCl (até saturação) e 0,01% de hidróxido de sódio em etanol a 80%. Após a incubação, os cortes foram lavados, montados em lâminas revestidas com gelatina, deixados secar ao ar durante a noite, desidratados em etanol e posteriormente clarificados em xilol (Figura 2). As lâminas foram então cobertas com lamínulas utilizando bálsamo do Canadá (Biopack, Argentina). As imagens dos cortes corados foram adquiridas em um microscópio Nikon Eclipse E200, com aumento de x40 (Beauquis *et al.*, 2014).

A quantificação da carga de placas foi realizada calculando-se a porcentagem da área de referência ocupada por placas amiloides corados com vermelho Congo. A área de referência foi delimitada manualmente no *estrato radiatum* e no giro denteado com auxílio do software ImageJ (NIH) (Abramoff *et al.*, 2004). Utilizando o mesmo software, a área corada foi mensurada a partir de um limiar de intensidade de uma escala de cinza definida pelo autor.

Figura 2 – Sequência de coloração das placas amiloides com o protocolo de coloração com vermelho Congo.



Legenda: (A) Cortes do hipocampo; (B) Processo de diluição e filtragem de vermelho Congo; (C e D) Lavagens para retirada do excesso do pigmento; (E) Estágio final após lavagens; (F) Montagem dos cortes nas lâminas gelatinizadas; (G) Desidratação com concentrações de etanol e xilol; (H) Selagem com bálsamo do Canadá e lamínulas.

Fonte: Arquivo pessoal.

4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

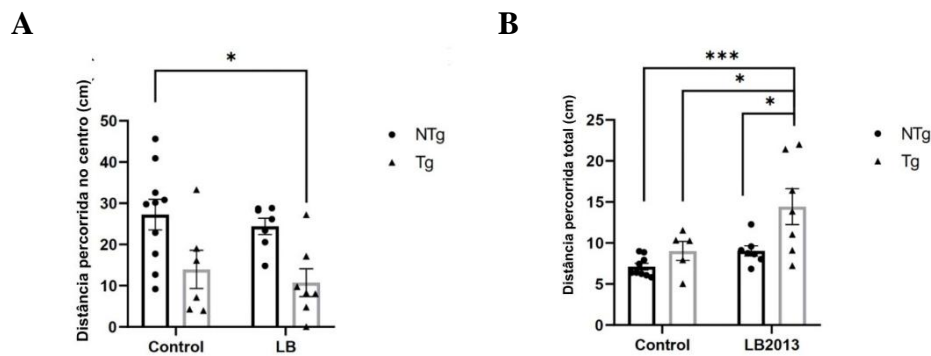
Os grupos experimentais foram variáveis ($n=5-9/\text{grupo}$). O cálculo do tamanho amostral foi realizado considerando a variabilidade esperada das variáveis comportamentais e histológicas, adotando-se um nível de significância de 5% ($\alpha = 0,05$). A normalidade dos dados foi avaliada pelo teste de Shapiro-Wilk e a homogeneidade pelo teste de Levene. Para comparações entre dois grupos independentes com distribuição normal, utilizou-se o teste t de Student; quando os pressupostos paramétricos não foram atendidos, aplicou-se o teste de Mann-Whitney. Para comparações entre três ou mais grupos independentes, foram empregados ANOVA de uma via (dados paramétricos) ou teste de Kruskal-Wallis (dados não paramétricos), conforme a distribuição dos dados. Nos experimentos com medidas repetidas, como avaliações comportamentais ao longo dos dias, utilizou-se ANOVA de medidas repetidas com correção de Greenhouse-Geisser quando necessário, seguida de testes post hoc de Tukey (dados paramétricos) ou de Dunn (dados não paramétricos). Os resultados foram expressos como média \pm erro padrão da média (EPM) para dados paramétricos ou mediana e intervalo interquartil para dados não paramétricos. Todas as análises foram realizadas utilizando o software GraphPad Prism versão 9.0, considerando $p < 0,05$ como estatisticamente significativo.

5 RESULTADOS

5.1 ANÁLISE COMPORTAMENTAL DO TIPO ANSIOSO

A análise da atividade locomotora e do comportamento do tipo ansioso (Figura 3) demonstrou (NTg $n = 9$; NTg-LB $n = 7$; Tg $n = 7$; Tg-LB $n = 5$) redução significativa no parâmetro de distância percorrida no centro da caixa entre os animais dos grupos TG-LB e controle (* $p = 0,0018$; $p < 0,01$), indicando que os animais apresentaram comportamento do tipo ansioso. Este comportamento se vê ainda no gráfico B, onde os animais TG-LB percorreram significativamente mais que todos os outros grupos (*** $p = 0,0033$; $p < 0,01$), sugerindo maior atividade de locomoção.

Figura 3 – Avaliação da atividade locomotora e do comportamento do tipo ansioso pelo teste de campo aberto em camundongos PDAPP-J20 submetidos ao tratamento com *L. brevis*.



Legenda: (A) A distância percorrida no centro foi significativamente reduzida no grupo Tg-LB2013 (* $p = 0,0018$; $p < 0,01$) em comparação ao grupo controle. (B) O grupo Tg-LB2013 apresentou aumento significativo na distância percorrida em comparação ao grupo Tg-Control (*** $p = 0,0033$; $p < 0,01$). As demais comparações não apresentaram diferenças estatisticamente significativas.

Fonte: Elaborado pelo autor.

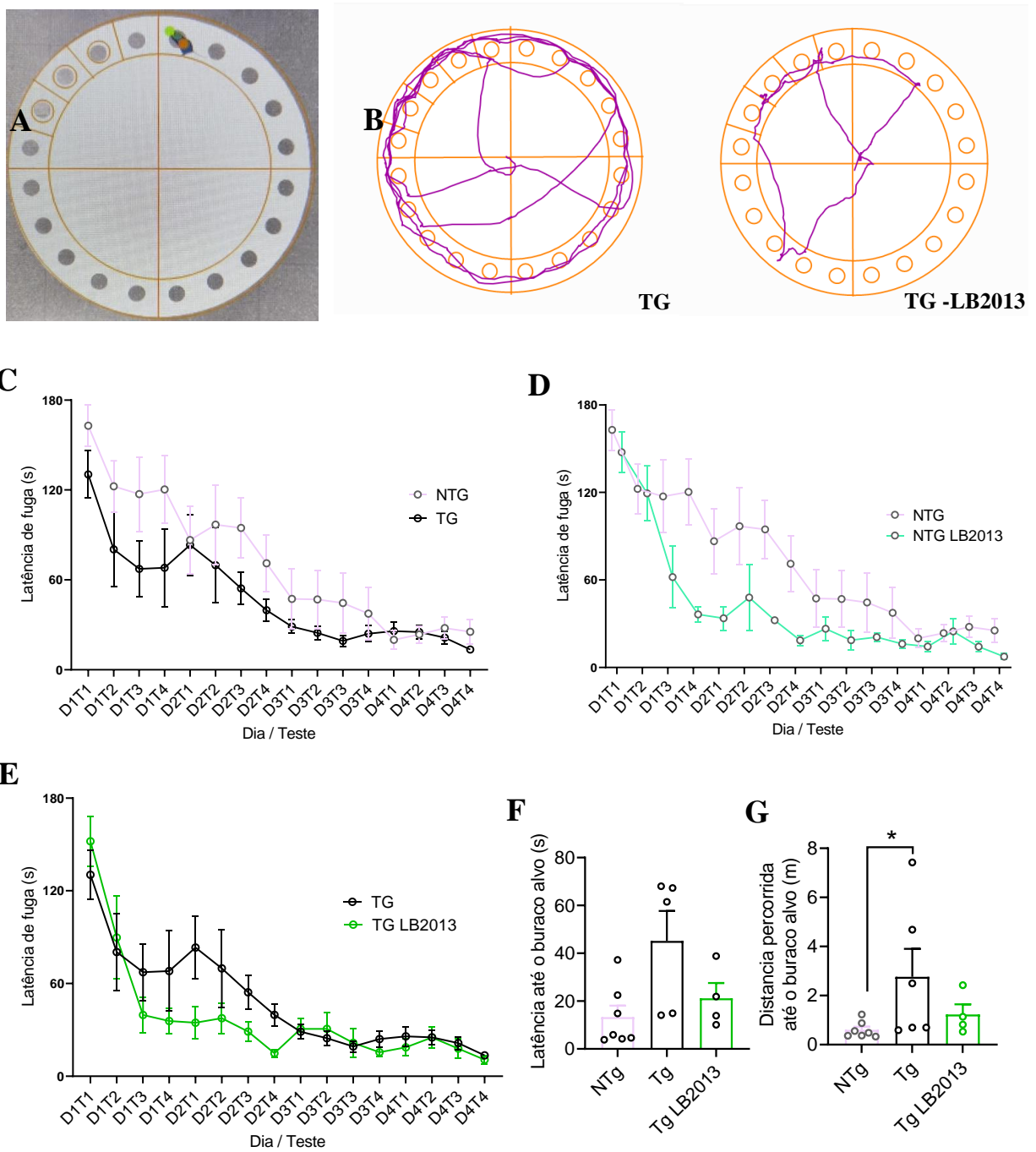
5.2 ANÁLISE COMPORTAMENTAL DE MEMÓRIA ESPACIAL

Na avaliação de memória espacial (Figura 4), feita pelo teste de Labirinto de Barnes, os animais (NTg $n = 9$; NTg-LB $n = 7$; Tg $n = 7$; Tg-LB $n = 5$) não demonstraram divergências significativas na progressão dos dias de teste. É possível perceber no gráfico D que os animais NTg-LB demonstraram melhor desempenho quando comparados ao seu grupo controle, percebe-se uma tendência a uma diferença estatística. Curiosamente, no gráfico E os animais Tg-LB mostraram maior velocidade de aprendizado nos primeiros dias de teste quando

comparados ao seu grupo controle, embora ao final todos os grupos tenham aprendido de forma semelhante. Outro dado interessante neste teste foi que nos gráficos F e G os animais

Figura 4 – Avaliação de memória espacial pelo teste de labirinto de Barnes em camundongos PDAPP-J20 submetidos ao tratamento com *L. brevis*.

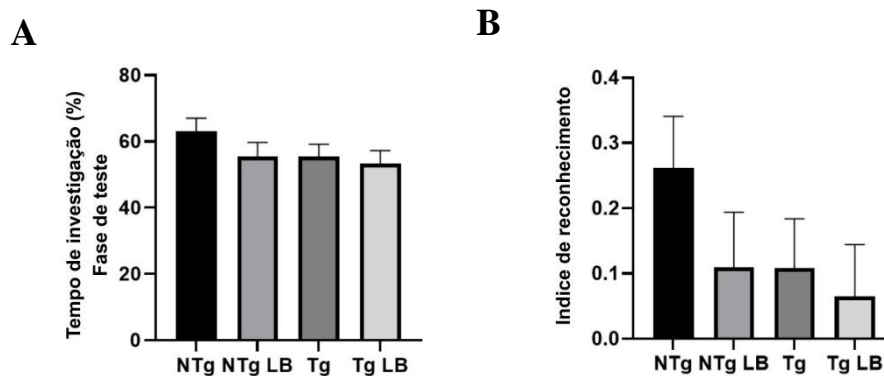
transgênicos apresentaram maior latência e maior distância percorrida até o objetivo no último dia de teste, tendo este último divergido significativamente do grupo NTg ($p = 0,372$).



Legenda: (A) Imagem representativa do labirinto de Barnes evidenciando a zona objeto de exploração. (B) Dois gráficos de pontos de rastreamento mostrando a diferença de exploração entre TG e TG-LB. (C) Curvas de aprendizado confrontando os genótipos NTg e Tg, demonstrando aprendizagem sem diferença estatística (genótipo, $p = 0,0965$; interação tempo \times genótipo, $p = 0,7942$). (D) Curvas de aprendizado confrontando o uso do tratamento e em animais controle, tendência estatística no grupo tratado (tratamento (LB), $p = 0,0191$; interação tempo \times LB, $p = 0,0597$). (E) Curvas de aprendizado confrontando o uso do tratamento em animais transgênicos, o tratamento com LB2013 tende à melhora cognitiva (tratamento (LB), $p = 0,0550$; interação tempo \times LB, $p = 0,4219$). (F) Os animais transgênicos mostraram maior latência até o alvo ($p = 0,0643$). (G) Os animais transgênicos percorreram maiores distâncias para encontrar o alvo ($p = 0,0372$).
Fonte: Elaborado pelo autor.

No teste de exploração de objetos (Figura 5), os animais (NTg $n = 6$; NTg-LB $n = 6$; Tg $n = 6$; Tg-LB $n = 6$) apresentaram a mesma taxa de investigação do objeto modificado (Figura 5A), contudo, a taxa de reconhecimento (Figura 5B) se manteve sem diferença estatística aparente.

Figura 5 – Avaliação da memória de reconhecimento de objetos por camundongos PDAPP-J20 tratados com *L. brevis*.



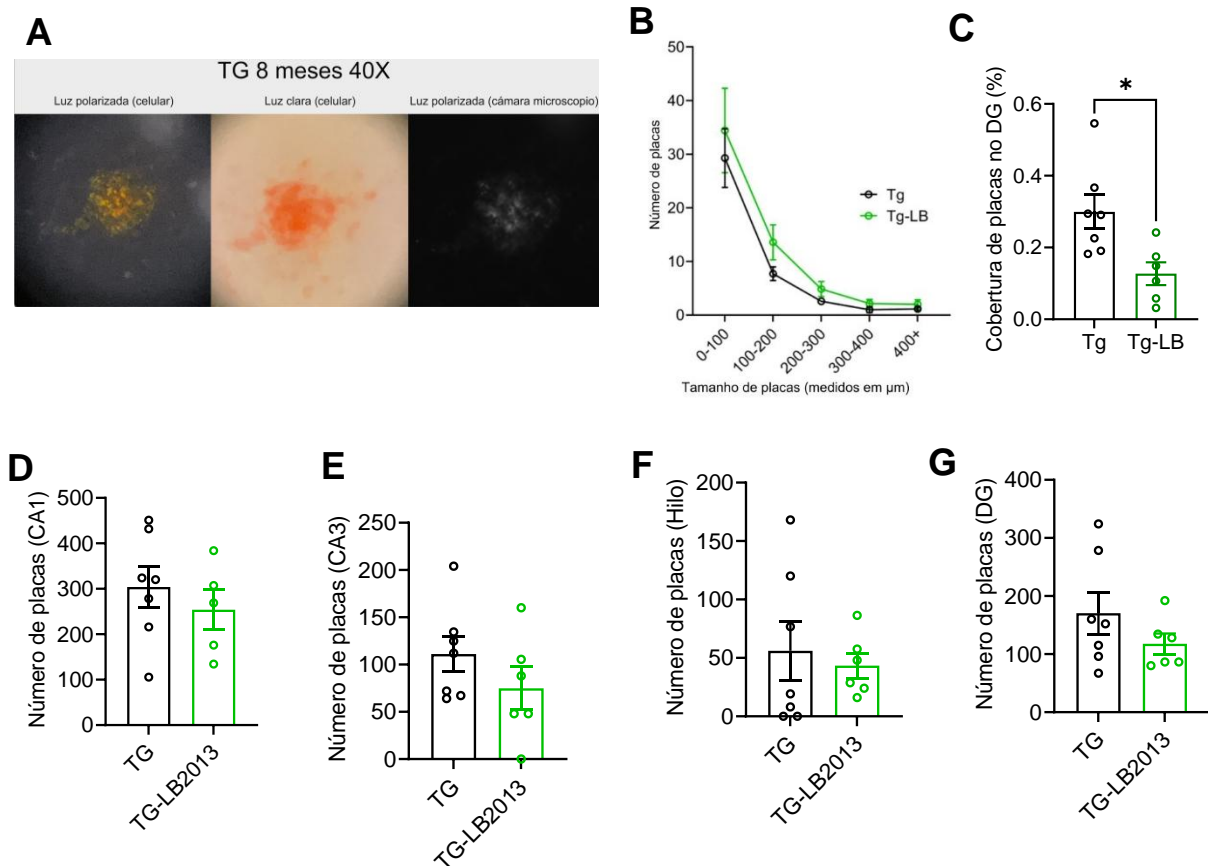
Legenda: (A) Tempo de investigação (%) durante a fase de teste no teste de reconhecimento de objeto, indicando o tempo total de exploração dos objetos familiares e novos. (B) Índice de reconhecimento entre o tempo de exploração do objeto novo e o tempo total de exploração.
Fonte: Elaborado pelo autor.

5.3 ANÁLISE HISTOQUÍMICA

Na avaliação do hipocampo através da análise histológica com vermelho Congo (Figura 6), a maioria das placas amiloides apresentou diâmetro inferior a 100 μm , sem diferença significativa entre grupos. Os animais (Tg $n = 8$; Tg-LB $n = 6$) analisados não apresentaram resultados estatísticos significativos em nenhum campo específico do hipocampo, embora tenham apresentado certa tendência de redução de número de placas no grupo Tg-LB. Na

análise de área total coberta por placas amiloides do giro denteado, o grupo Tg-LB se mostrou reduzido significativamente em comparação ao grupo sem o tratamento.

Figura 6 - Avaliação de placas amiloides do hipocampo de camundongos PDAPP-J20 tratados com *L. brevis*.



Legenda: (A) Imagem representativa de placas amiloides de animais transgênicos PDAPP-J20 de 8 meses de idade sob luz polarizada (celular), luz clara (celular) e luz polarizada (microscópio com câmera acoplada). (B) Distribuição do tamanho das placas amiloides de camundongos TG e Tg-LB. (C) Carga total de placas na região do giro denteado. (D-G) Número total de placas amiloides nas sub-regiões do hipocampo: CA1, CA3, hilo e giro denteado. ((D) CA1: $p = 0,4675$; (E) CA3: $p = 0,2411$; (F) Hilo: $p = 0,6608$; (G) giro denteado: $p = 0,2253$)

Fonte: Elaborado pelo autor.

6 DISCUSSÃO

Este estudo apresenta resultados sobre o comportamento das placas amiloides na presença do tratamento crônico com o probiótico *L. brevis* da cepa CRL2013, que é hiperprodutor de GABA, administrado *ad libitum* em um modelo de DA utilizando camundongos transgênicos PDAPP-J20. Embora sutis, os achados permitem a percepção de que existe uma tendência de melhora nos animais tratados em alguns dos testes realizados.

No teste de campo aberto, os camundongos Tg-LB apresentaram manutenção da atividade locomotora comparável aos animais não transgênicos, sugerindo que o tratamento com *L. brevis* preservou o perfil exploratório preservado, possivelmente associado à regulação de neurotransmissores como GABA, principal metabólito produzido pela cepa CRL2013. Sabe-se que em cenários de disfunção gabaérgica, os animais tendem a apresentar maior ansiedade, depressão e prejuízos cognitivos (Knopman *et al.*, 2021; Mitew *et al.*, 2013). Dessa forma, a modulação gabaérgica observada nos resultados do presente estudo pode ter atenuado a excitotoxicidade e contribuído para a manutenção da atividade exploratória, conforme descrito por Cataldo e colaboradores (2020b) e Ruiz Rodríguez e colaboradores (2016).

No labirinto de Barnes, os animais tratados demonstraram tendência de melhora em parâmetros de memória espacial, o que está alinhado com estudos que associam a modulação da microbiota intestinal à preservação da plasticidade sináptica e da memória (Akbari *et al.*, 2016; Woo *et al.*, 2014). Ainda que os resultados não tenham alcançado significância estatística concreta, a tendência de melhor desempenho nos animais tratados corrobora a hipótese de que o probiótico exerce ação moduladora sobre o eixo intestino-cérebro.

Corroborando os achados comportamentais, a redução significativa da carga amiloide no giro denteado dos animais tratados sugere que *L. brevis* pode interferir diretamente em mecanismos de formação ou remoção de A β . Essa observação é consistente com a ativação da autofagia astrogliar descrita por Pomilio e colaboradores (2016), indicando um possível reforço na capacidade de depuração de A β , possivelmente mediada por sinais neuroimunes modulados pelo probiótico.

A redução específica da carga amiloide no giro denteado observada nos animais tratados com *L. brevis* merece destaque, uma vez que essa região do hipocampo desempenha papel crítico na neurogênese adulta e na formação de memórias episódicas, processos frequentemente comprometidos nos estágios iniciais da DA (Mu e Cage, 2011). O giro denteado é

particularmente vulnerável ao acúmulo de A β , que prejudica a proliferação e diferenciação de células progenitoras neurais, contribuindo para déficits de memória espacial (Mu e Cage, 2011). Estudos anteriores demonstraram que essa região apresenta deposição precoce de oligômeros de A β em modelos transgênicos de DA, precedendo o comprometimento cognitivo detectável (Pomilio *et al.*, 2016). A redução da carga amilóide especificamente no giro denteado dos animais Tg-LB sugere que o probiótico pode ter exercido efeitos neuroprotetores regionalmente seletivos, possivelmente mediados pela modulação de processos neuroinflamatórios locais ou pela potencialização de mecanismos de clearance de A β através da ativação microglial e astrogliar. Além disso, a produção de GABA por *L. brevis* pode ter contribuído para a estabilização da atividade neuronal no giro denteado, atenuando a hiperexcitabilidade associada ao acúmulo de A β , fenômeno descrito como preditor de declínio cognitivo em modelos de DA. A preservação funcional do giro denteado pode, portanto, explicar a tendência de melhora na memória espacial observada no labirinto de Barnes, reforçando a hipótese de que intervenções direcionadas ao eixo microbiota-intestino-cérebro podem exercer efeitos anatomicamente específicos com relevância terapêutica.

Embora o presente estudo ainda não tenha avaliado os níveis de SUMO, é possível supor que a melhora cognitiva e a redução da carga amiloide possa estar associadas à restauração de vias celulares moduladas pela SUMOilação, conforme demonstrado por Chenfei e colaboradores (2022). A fim de testar esta hipótese, experimentos de imuno-histoquímica para SUMO estão em andamento no Laboratório de Investigação Neuroquímica (LINq).

7 CONCLUSÃO

Em suma, os resultados deste trabalho indicam que o tratamento crônico com *Levilactobacillus brevis* CRL2013 pode ter um efeito benéfico sobre parâmetros comportamentais e neuropatológicos em um modelo experimental de DA. Observou-se uma tendência de melhora cognitiva e redução da carga amiloide no giro denteado dos animais tratados (Tg-LB), sugerindo que o probiótico pode interferir positivamente no momento de formação ou remoção do peptídeo A β . Esses efeitos podem estar ligados à hiperprodução de GABA pela cepa CRL2013 utilizada, o que possivelmente ajudou na modulação da plasticidade neural.

Estes resultados evidenciam o papel que a microbiota desempenha na regulação de múltiplas vias neuroquímicas por meio do eixo microbiota-intestino-cérebro. Portanto, estudos futuros com análises moleculares complementares, incluindo marcadores para SUMOilação, inflamação e função mitocondrial, podem ajudar a confirmar os mecanismos envolvidos e ampliar o entendimento sobre a ação desses probióticos em modelos pré-clínicos de DA.

8 REFERÊNCIAS

ABRAMOFF, M. D.; MAGELHAES, P. J.; RAM, S. J. Image processing with ImageJ. **Biophotonics International**, v. 11, n. 7, p. 36–42, 2004.

AKBARI, E. *et al.* Effect of probiotic supplementation on cognitive function and metabolic status in Alzheimer’s disease: a randomized, double-blind and controlled trial. **Frontiers in Aging Neuroscience**, v. 8, p. 256, 2016.

ARAÚJO, S. R. M. *et al.* Doença de Alzheimer no Brasil: uma análise epidemiológica entre 2013 e 2022. **Research, Society and Development**, v. 12, n. 2, e29412240345, 2023.

BARBOSA, B. *et al.* Uso de terapias anti-amiloide para a doença de Alzheimer no Brasil: um posicionamento do Departamento Científico de Neurologia Cognitiva e do Envelhecimento da Academia Brasileira de Neurologia. **Dementia & Neuropsychologia**, v. 18, e2024C002, 2024.

BEAUQUIS, J. *et al.* Environmental enrichment prevents astroglial pathological changes in the hippocampus of APP transgenic mice, model of Alzheimer’s disease. **Experimental Neurology**, v. 239, p. 28–37, 2013.

BEAUQUIS, J. *et al.* Hippocampal and cognitive alterations precede amyloid deposition in a mouse model for Alzheimer’s disease. **Medicina (B Aires)**, v. 74, n. 4, p. 282–286, 2014.

BENTIVEGNA, M. *et al.* Amyloid beta regulates astrocytic glucose metabolism and insulin signaling in experimental models of Alzheimer’s disease. **Aging and Disease**, v. 17, n. 4, p. 1–20, 2025.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção Primária à Saúde. Departamento de Gestão do Cuidado Integral. **Relatório Nacional sobre a Demência: epidemiologia, (re)conhecimento e projeções futuras**. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2024.

CATALDO, P. G. *et al.* Enhancement of γ -aminobutyric acid (GABA) production by *Lactobacillus brevis* CRL 2013 based on carbohydrate fermentation. **International Journal of Food Microbiology**, v. 333, art. 108792, 2020a.

CATALDO, P. G. *et al.* Immunomodulatory properties of γ -aminobutyric acid-enriched strawberry juice produced by *Levilactobacillus brevis* CRL 2013. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, 610016, 2020b.

CHENFEI, Z. *et al.* Effects of aerobic exercise on hippocampal SUMOylation in APP/PS1 transgenic mice. **Neuroscience Letters**, v. 767, 136303, 2022.

CHOWDHURY, S.; CHOWDHURY, N. Novel anti-amyloid-beta (A β) monoclonal antibody lecanemab for Alzheimer's disease: a systematic review. **International Journal of Immunopathology and Pharmacology**, v. 37, p. 1–9, 2023.

CONN, K. A. *et al.* Implications of microbe-derived γ -aminobutyric acid (GABA) in gut and brain barrier integrity and GABAergic signaling in Alzheimer's disease. **Gut Microbes**, v. 16, n. 1, p. 2371950, 2024.

CZAPSKI, G. A.; STROSZNAJDER, J. B. Glutamate and GABA in Microglia-Neuron Cross-Talk in Alzheimer's Disease. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 21, p. 11677, 2021.

ERATNE, D. *et al.* Alzheimer's disease paper 1: clinical update on epidemiology, pathophysiology and diagnosis. **Australasian Psychiatry**, v. 26, n. 4, p. 1–11, 2018.

ERKKINEN, M. G.; KIM, M.-O.; GESCHWIND, M. D. Clinical neurology and epidemiology of the major neurodegenerative diseases. **Cold Spring Harbor Perspectives in Biology**, v. 10, n. 4, a033118, 2018.

GOURAS, G. K.; OLSSON, T. T.; HANSSON, O. β -amyloid peptides and amyloid plaques in Alzheimer's disease. **Neurotherapeutics**, v. 12, p. 3–11, 2014.

GREGOSA, A. *et al.* Periodic dietary restriction ameliorates amyloid pathology and cognitive impairment in PDAPP-J20 mice: potential implication of glial autophagy. **Neurobiology of Disease**, v. 132, 104542, 2019.

GUO, C.; HENLEY, J. M. Wrestling with stress: roles of protein SUMOylation and deSUMOylation in cell stress response. **IUBMB Life**, v. 66, n. 2, p. 71–77, 2014.

HAN, Z.-J. *et al.* The post-translational modification, SUMOylation, and cancer (Review). **International Journal of Oncology**, v. 52, n. 4, p. 1081–1094, 2018.

HAY, R. T. SUMO: a history of modification. **Molecular Cell**, v. 18, p. 1–12, 2005.

HOPPE, J. B. *et al.* SUMOylation: novel neuroprotective approach for Alzheimer's disease? **Aging and Disease**, v. 6, n. 5, p. 322–330, 2015.

JANSEN, N. S.; VERTEGAAL, A. C. O. A chain of events: regulating target proteins by SUMO polymers. **Trends in Biochemical Sciences**, v. 46, n. 2, p. 113–123, 2021.

KNOPMAN, D. S. *et al.* Alzheimer disease. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 7, n. 33, 2021.

LIU, H. *et al.* Effects of *Lactobacillus brevis* preparation on growth performance, fecal microflora and serum profile in weaned pigs. **Livestock Science**, v. 178, p. 251–254, 2015.

MANDEL, N.; AGARWAL, N. Role of SUMOylation in neurodegenerative diseases. **Cells**, v. 11, n. 3395, p. 1–22, 2022.

MITEW, S. *et al.* Altered synapses and gliotransmission in Alzheimer's disease. **Psychiatry Research**, v. 214, p. 144–151, 2013.

MU, Y.; GAGE, F. H. Adult hippocampal neurogenesis and its role in Alzheimer's disease. **Molecular Neurodegeneration**, v. 6, p. 85, 2011.

PLUTA, R. *et al.* Gut microbiota and pro/prebiotics in Alzheimer's disease. **Aging**, Albany, v. 12, n. 6, p. 5539–5550, 2020.

POMILIO, C. *et al.* Glial alterations from early to late stages in a model of Alzheimer's disease: evidence of autophagy involvement in A β internalization. **Hippocampus**, v. 26, p. 194–210, 2016.

PRINCZ, A.; TAVERNARAKIS, N. SUMOylation in neurodegenerative diseases. **Gerontology**, v. 66, n. 2, p. 122–130, 2020.

RODRÍGUEZ, L. R. *et al.* Biodiversity and technological-functional potential of lactic acid bacteria isolated from spontaneously fermented quinoa sourdoughs. **Journal of Applied Microbiology**, v. 120, n. 5, p. 1289–1301, 2016.

TAY, T. L. *et al.* Microglia across the lifespan: from origin to function in brain development, plasticity and cognition. **Journal of Physiology**, v. 595, n. 6, p. 1929–1945, 2017.

ULLAH, H. *et al.* The gut microbiota-brain axis in neurological disorder. **Frontiers in Neuroscience**, v. 17, art. 1225875, 2023.

VILLEGAS, J. M. *et al.* GABA production by *Lactobacillus brevis* CRL 1942 isolated from cereal-based fermented products. **LWT – Food Science and Technology**, v. 67, p. 22–26, 2016.

WILCOCK, D. M. *et al.* Amyloid-beta vaccination, but not nitro-nonsteroidal anti-inflammatory drug treatment, increases vascular amyloid and microhemorrhage while both reduce parenchymal amyloid. **Neuroscience**, v. 144, n. 3, p. 950–960, 2007.

WOO, J. *et al.* Enhancement of GABA production and quality characteristics of kimchi using fermented sea tangle juice by *Lactobacillus brevis* BJ20. **Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry**, Seoul, v. 57, n. 1, p. 123–130, 2014.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). *Dementia*. Fact sheet. 2025. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/dementia>.

YOU, M. *et al.* The gut microbiota–brain axis in neurological disorders. **MedComm**, v. 5, e656, 2024.

ZHANG, X.-X. *et al.* The epidemiology of Alzheimer's disease modifiable risk factors and prevention. **Journal of Prevention of Alzheimer's Disease**, v. 8, n. 3, p. 313–321, 2021.