

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA

TATIANA TEIXEIRA GOMES

**Estudo da importância da microbiota intestinal em pacientes
portadores de insuficiência cardíaca crônica: estudo
randomizado, duplo-cego**

São Paulo
2024

TATIANA TEIXEIRA GOMES

Estudo da importância da microbiota intestinal em pacientes portadores de insuficiência cardíaca crônica: estudo randomizado, duplo-cego

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências

Programa de Cardiologia

Orientador: Prof. Dr. Fernando Bacal

São Paulo
2024

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Gomes, Tatiana Teixeira

Estudo da importância da microbiota intestinal em pacientes portadores de insuficiência cardíaca crônica : estudo randomizado, duplo-cego / Tatiana Teixeira Gomes; Fernando Bacal, orientador. -- São Paulo, 2024.

Tese (Doutorado) -- Programa de Cardiologia. Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, 2024.

1.Insuficiência cardíaca 2.Transplante de coração
3.Probiótico 4.Fator necrose tumoral alfa 5.Inflamação
I.Bacal, Fernando, orient. II.Título

USP/FM/DBD-409/24

Responsável: Daniela Amaral Barbosa, CRB-8 7533

DEDICATÓRIA

Aos meus pais Walter e Magali, por terem sempre terem feito de tudo para fornecer condições de estudo, por terem me incentivado e apoiado em todos os aspectos de minha vida. Meu pai me ensinou o valor da dedicação e perseverança e minha mãe ensinou a colocar amor em tudo que se faz, ambos foram e sempre serão meu maior exemplo na vida.

Ao meu marido Ronaldo, por ter sido meu apoio, por ter me sustentado em todos os momentos, não somente da tese, mas na vida. Por ter sido meu amparo, minhas pernas quando no decorrer no processo me faltava o chão, por ter me acolhido nos momentos em que tudo era cinzento e principalmente por ter me ajudado a concretizar essa tese, sem seu suporte não teria conseguido.

Ao meu filho Miguel, razão de minha vida, por ter participado de todos os momentos finais da tese, por me fazer sorrir e ter forças para prosseguir independente do cansaço.

Ao meu professor Dr Bacal, por ter confiado em minha capacidade desde o início, por ter me ajudado a sair da minha zona de conforto e pelos ensinamentos. Por ter me apoiado em todos os momentos, especialmente nos mais difíceis durante esse processo, por toda paciência e suporte.

Ao Dr Sandrigo, pelo apoio, ensinamentos, correções e especialmente pela paciência quando tudo desabava ao meu redor, por me lembrar de respirar e que tudo ia dar certo, foi imprescindível para a execução e conclusão desse trabalho.

À minha irmã Tamires por todo apoio e incentivo, por mostrar que com dedicação tudo pode ser alcançado, por ser meu ouvido e ombro nos momentos em que mais precisava.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus e Nossa Senhora por terem concedido saúde e capacidade para o desenvolvimento e concretização dessa tese, que é um sonho realizado e principalmente, um passo importante para que eu me torne uma profissional melhor para ajudar os pacientes que me são confiados diariamente. Por terem me dado a sabedoria e a fortaleza ao longo desse processo que foi a tese.

Às minhas amigas Larissa, Ludmila, Isabella, Mariana, Thaís e Paloma, por desde o começo terem sido minhas companheiras em todos os aspectos, por terem ajudado a iniciar o processo e principalmente a concluí-lo.

Às minhas companheiras diárias de sala Vanessa e Nathália, por serem meu ponto de equilíbrio, meu respiro em meio ao caos e por serem minha dose diária de ânimo e esperança que tudo ia valer a pena e daria certo, que todo cansaço e esforço seriam recompensados.

Às minhas amigas Bruna, Briana, Pamela, Gabriela e Larissa, por serem minha dose diária de risos, abraços e apoio quando tudo parecia perdido e por sempre mostrarem que valia a pena prosseguir, por conseguirem trazer certa leveza à fase final dessa tese.

Pela enfermeira Fernanda, por ter sido meu braço direito ao longo dessa pesquisa, foi imprescindível seu apoio em todas as fases da pesquisa, por ter sido meu amparo e suporte em todos os momentos.

Aos pacientes que são a razão de todo esforço e dedicação, para que eu possa me tornar uma profissional cada vez melhor para eles.

Ao meu terapeuta Webert (Bebeto), que na fase final da tese foi de extrema importância por todo suporte para que eu conseguisse lidar com as pressões e demandas mentais e emocionais nessa fase.

Aos meus amigos Serginho e Fabiana, por durante todos os treinos ajudarem a ter descanso mental e físico, a transpor os ensinamentos do jiu jitsu para a vida fora dos tatames.

À Ana Paula e Rose, do laboratório de pesquisa, por me ajudarem com o processo de coleta das amostras.

À nutricionista Giovana Jamar por sua contribuição com o desenvolvimento da tese.

À minhas chefes Helenice e Stéfany por terem permitido a realização dessa tese e darem incentivo para a conclusão desse sonho.

Aos assistentes do Núcleo de Transplantes do InCor Dra.Mônica, Dra.láscara, Dr.Luis Fernando e Dra. Fabiana pela colaboração com a pesquisa.

Às secretárias do núcleo Silmara e Fátima, por todo acolhimento e ajuda durante o processo.

À equipe FAPESP por fornecer subsídio para a execução dessa pesquisa.

Ao InCor e FMUSP por possibilitarem o processo de aprendizado e aprimoramento da assistência.

À todos os funcionários do InCor que de alguma forma colaboraram com a execução dessa tese.

“Seja você quem for, seja qual for a posição social que você tenha na vida, a mais alta ou a mais baixa, tenha sempre como meta muita força, muita determinação e sempre faça tudo com muito amor e com muita fé em Deus, que um dia você chega lá. De alguma maneira você chega lá.”

Ayrton Senna

RESUMO

Gomes, TT. Estudo da importância da microbiota intestinal em pacientes portadores de insuficiência cardíaca crônica: estudo randomizado, duplo-cego [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2024.

Introdução: A insuficiência cardíaca (IC) é uma síndrome clínica com sintomas e/ou sinais que são causados por anormalidades estruturais e/ou funcionais associadas, com aumento de peptídeos natriuréticos e citocinas inflamatórias. Evidências mostram uma relação bidirecional entre intestino e coração e a suplementação de probióticos tem potencial de exercer benefícios que podem ir além do intestino, como influência nos níveis plasmáticos de citocinas inflamatórias. **Objetivos:** Verificar a influência da suplementação do probiótico *Lactobacillus acidophilus* (LA) nos níveis plasmáticos do fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), das interleucinas (IL) 6, 1, 10, peptídeo natriurético B (BNP), proteína C reativa (PCR) lipopolissacarídeo (LPS), apetite, parâmetros antropométricos e desfechos clínicos, incluindo infecções, internações, transplante e óbito. **Metodologia:** Ensaio clínico randomizado, duplo cego, placebo – controlado, envolvendo pacientes ambulatoriais com IC avançada (CF III e IV ou em fila para transplante cardíaco), otimizados do ponto de vista medicamentoso, com seguimento durante seis meses. Os parâmetros foram analisados em dois momentos, basal e após a intervenção. **Resultados:** Foram incluídos 57 pacientes, com predominância do gênero masculino (75,9% no grupo probiótico e 57,7% no placebo) e as principais etiologias foram Chagas, dilatada e isquêmica. Ao término do período de seguimento, ao compararmos os grupos, não foram encontradas diferenças nos níveis plasmáticos de TNF- α (4,55 vs 4,63 pg/mL, $p=0,473$) e também não foi encontrada diferença da suplementação do probiótico nos níveis plasmáticos da IL6 (1,21 vs 1,19 pg/mL, $p= 0,914$), IL1 (3,90 vs 3,12 pg/mL, $p=0,684$), IL10 (1,13 vs 1,53 pg/mL, $p=0,144$), BNP (448 vs 270 pg/mL, $p=0,291$), PCR (3,57 vs 3,30 mg/L), LPS (1,39 vs 1,18 ng/mL, $p=0,714$). Ao realizar comparações intragrupos, os pacientes que receberam probiótico apresentaram aumento significativo da IL10 (0,69 para 1,13 pg/mL, $p=0,032$) e da LPS (0,46 para 1,39 ng/mL, $p=0,016$). No grupo probiótico houve aumento da prevalência de pacientes com percepção de apetite preservado (71,4% para 90,5%, $p=0,006$). Não foram observados efeitos nos parâmetros antropométricos, internações, transplante e óbito. **Conclusão:** Ao comparar os dois grupos, não foram encontradas diferenças significativas ao final do estudo. Na análise intragrupos, os pacientes com probiótico apresentaram aumento significativo na IL10, LPS e melhora na percepção de apetite preservado. Nos demais marcadores, a suplementação não exerceu efeito significativo.

Palavras-chave: Insuficiência cardíaca; Transplante de coração; Probiótico; Fator necrose tumoral alfa; Inflamação

ABSTRACT

Gomes, TT. Study on importance of intestinal microbiota in patients with chronic heart failure: randomized, double-blind study [thesis]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2024

Introduction: Heart failure (HF) is a clinical syndrome with symptoms and/or signs caused by structural and/or functional abnormalities, associated with elevated natriuretic peptides and inflammatory cytokines. Evidence shows a bidirectional relationship between the gut and the heart, and probiotic supplementation has the potential to exert benefits beyond the gut, such as influencing plasma levels of inflammatory cytokines.

Objectives: To assess the impact of *Lactobacillus acidophilus* (LA) supplementation on plasmatic levels of tumor necrosis factor-alpha (TNF- α), interleukins (IL) 6, 1, 10, B-type natriuretic peptide (BNP), C-reactive protein (CRP), lipopolysaccharide (LPS), appetite, anthropometric parameters, and clinical outcomes, including infections, hospitalizations, transplantation, and mortality. **Methodology:** A randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial including outpatients with advanced HF (NYHA class III and IV or waiting for heart transplantation), with pharmacological treatment optimized, followed up during six months. Parameters were analyzed at two time points: baseline and after intervention. **Results:** At the end of the follow-up period, comparison between the groups shown no significant differences in plasma levels of TNF- α (4.55 vs. 4.63 pg/mL, $p=0.473$), and no difference in probiotic supplementation effect on plasma levels of IL6 (1.21 vs. 1.19 pg/mL, $p=0.914$), IL1 (3.90 vs. 3.12 pg/mL, $p=0.684$), IL10 (1.13 vs. 1.53 pg/mL, $p=0.144$), BNP (448 vs. 270 pg/mL, $p=0.291$), CRP (3.57 vs. 3.30 mg/L), or LPS (1.39 vs. 1.18 ng/mL, $p=0.714$). Within-group comparisons showed that patients receiving probiotics had a significant increase in IL10 (0.69 to 1.13 pg/mL, $p=0.032$) and LPS (0.46 to 1.39 ng/mL, $p=0.016$). In the probiotic group there was an increase in the prevalence of patients with a preserved appetite perception (71,4 to 90,5%, $p=0.006$). No effects were observed on anthropometric parameters, infections, hospitalizations transplantation or mortality. **Conclusion:** Comparing the two groups, no significant differences were found at the end of the study. In within-group analysis, patients receiving probiotics had a significant increase in IL10, LPS and in the perception of preserved appetite. For other biomarkers, supplementation did not exert a significant effect.

Keywords: Heart failure; Heart transplantation; Probiotics; Tumor necrosis factor alpha; Inflammation

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Fluxo etapas da pesquisa.....	33
Figura 2 – Comparação IL1, IL6, TNF- α e LPS entre grupos nos dois momentos da pesquisa	38
Figura 3 – Curva sobrevivência da população estudada.....	44
Figura 4 – Curva tempo livre de transplante da população	44
Figura 5 – Curva internação por piora da IC.....	45

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Classificação IC mais comumente usadas.....	15
Tabela 2 – Parâmetros para classificação de IC avançada	16
Tabela 3 – Estudos com LA e inflamação.....	21
Tabela 4 – Resumo dos estudos clínicos usando probióticos em pacientes com IC.....	22
Tabela 5 – Características demográficas e clínicas basais dos grupos de acordo com intervenção	34
Tabela 6 – Comparação dados bioquímicos e clínicos entre e intragrupos nos momentos basais e após seis meses.....	36
Tabela 7 – Comparação dados antropométricos entre e intragrupos nos momentos basais e após seis meses.....	39
Tabela 8 – Comparação dos parâmetros basais entre grupos de acordo com etiologia da IC	40
Tabela 9 – Comparação dados bioquímicos e antropométricos de acordo com intervenção e etiologia após seis meses.....	41
Tabela 10 – Queixas TGI nos períodos da pesquisa	43

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AGB = área gordurosa do braço
AMBc = área muscular do braço corrigida
BNP = peptídeo natriurético tipo B
CB = circunferência braço
CF = classe funcional
CMB = circunferência muscular do braço
CT = colesterol total
FEVE = fração ejeção ventrículo esquerdo
Hb = hemoglobina
HDL = high density lipoprotein – lipoproteína de alta densidade
IC = insuficiência cardíaca
IL1 = interleucina 1
IL6 = interleucina 6
IL10 = interleucina 10
IMC = índice de massa corporal
LA = Lactobacillus acidophilus
LDL = low density lipoprotein – lipoproteína de baixa densidade
LPS = lipopolissacarídeo
NYHA = New York Heart Association
PCT = prega cutânea tricipital
PCR = proteína C reativa
QNSA = questionário nutricional simplificado de apetite
TFG = taxa de filtração glomerular
TG = triglicérides
TGI = trato gastrointestinal
TNF- α = fator de necrose tumoral alfa
TxC = transplante cardíaco
UFC = unidades formadoras de colônia
VE = ventrículo esquerdo

SUMÁRIO

1. Introdução	15
1.1. Definição e classificação IC	15
1.2. Inflamação e alterações metabólicas	16
1.3. Alterações trato gastrointestinal.....	18
1.4. Probióticos	20
1.4.1. <i>Lactobacillus acidophilus</i>	21
1.4.2. Probióticos e IC.....	22
2. Objetivos	25
2.1. Primário	25
2.2. Secundário.....	25
3. Metodologia.....	27
3.1. Desenho estudo e população	27
3.2. Critérios inclusão	28
3.3. Critérios exclusão	28
3.4. Intervenção e randomização.....	29
3.5. Análise de dados bioquímicos	29
3.6. Avaliação antropométrica e apetite.....	30
3.7. Análise estatística	31
4. Resultados	33
5. Discussão.....	47
6. Conclusões.....	58
7. Referências bibliográficas	60
ANEXOS	69
A -Termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE).....	69
B – Questionário nutricional simplificado de apetite (QNSA)	73

1. INTRODUÇÃO

1. Introdução

1.1 Definição e classificação IC

De acordo com a definição universal proposta em 2021, a insuficiência cardíaca (IC) é uma síndrome clínica com sintomas e/ou sinais causados por anormalidades cardíacas estruturais e/ou funcionais associada com aumento dos níveis plasmáticos de peptídeos natriuréticos e/ou evidências objetivas de congestão pulmonar e/ou sistêmica.¹

As limitações acarretadas pelos seus sinais e sintomas exercem impacto direto na qualidade de vida do paciente, reduzindo-a e conseqüentemente, aumentando custos com a saúde, especialmente custos com internação. Entre os anos de 2008 e 2019, a IC descompensada representou 41,3% do total das admissões hospitalares por causas cardiovasculares no Brasil^{2,3,4}

Existem diversas formas de classificar a IC, sendo as mais comuns, a classificação proposta pela *New York Heart Association* (NYHA) em classes funcionais (CF) com base em sintomas e a classificação de acordo com a fração de ejeção do ventrículo esquerdo (FEVE)^{1,5}. A descrição de cada uma dessas classificações está na tabela 1 abaixo.

Tabela 1 – Classificações da IC mais comumente usadas^{1,5}

FEVE
Preservada: $\geq 50\%$
Levemente reduzida: 40 a 49%
Reduzida: $< 40\%$
CF NYHA
I: sem limitações para atividades diárias e poucos sintomas
II: sintomas em atividades físicas acima do habitual
III: sintomas em atividades leves, mas melhoram em repouso
IV: sintomas mais graves e presentes mesmo em repouso

A IC é uma doença com caráter progressivo e, apesar de todas as opções terapêuticas disponíveis, pode evoluir para o que se denomina IC avançada. Na

tabela 2 a seguir, estão descritos quais parâmetros são considerados para classificar a IC como avançada.⁶

Tabela 2 – Parâmetros para classificação de IC avançada.⁶

Parâmetro	Descrição
Sintomas persistentes e graves	CF NYHA III ou IV
Disfunção ventricular grave	FEVE \leq 30% OU IC direita isolada OU Alterações valvares graves não operáveis OU Anormalidades congênitas
Congestão pulmonar ou sistêmica	Necessidades de altas doses de diuréticos endovenoso OU Episódios de baixo débito com necessidade de inotrópicos ou vasodilatadores OU Arritmias que necessitem de idas à emergência ou internação
Redução grave capacidade exercício	Incapacidade em realizar qualquer exercício físico OU Baixo desempenho no teste de caminhada de 6 minutos (< 300m)

Quando já está no estágio avançado, com refratariedade às alternativas terapêuticas disponíveis, o paciente passa então a ser candidato às terapias avançadas, sendo uma delas o transplante cardíaco (TxC). A avaliação do candidato ao TxC engloba aspectos clínicos, laboratoriais, hemodinâmicos e psicossociais.^{4,5}

1.2 Inflamação e alterações metabólicas

A inflamação é a característica mais comum em pacientes com IC, piorando o seu prognóstico independentemente da etiologia e outros fatores. A inflamação contribui com a patogênese e com sua progressão. Apesar das evidências desse caráter inflamatório, os mecanismos ainda não estão totalmente elucidados.^{7,8}

As principais citocinas que estão aumentadas são o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), as interleucinas 1 (IL1) e 6 (IL6). O aumento dessas

citocinas está correlacionado com a gravidade da doença, contribuindo com a piora dos sintomas e maior morbimortalidade ^{8,9,10,11,12}

O TNF- α apresenta vários efeitos deletérios, dentre eles, se destacam o aumento da apoptose dos cardiomiócitos, disfunção e remodelamento do ventrículo esquerdo (VE), disfunção endotelial, edema pulmonar, anorexia, caquexia, resistência à insulina. ^{8,10,13,14}

A IL1 tem sua liberação influenciada pelo TNF- α e atua como depressora da contratilidade cardíaca. Além disso, estudos mostram que favorece a hipertrofia cardíaca e tem ação arritmogênica e em sinergia com o TNF- α induz à apoptose dos cardiomiócitos piorando ainda mais a disfunção cardíaca. ^{10,11,14}

A IL6 também tem sua liberação em resposta ao estímulo dado pelo TNF- α e é uma das principais indutoras de reação de fase aguda no processo inflamatório. Além disso, similarmente ao TNF- α , seus níveis elevados estão associados com pior prognóstico. É uma potente mediadora da redução da contratilidade cardíaca e potencializa os efeitos cardiodepressores da IL1 e do TNF- α , colaborando com a piora da disfunção miocárdica, hipertrofia dos cardiomiócitos e degradação muscular. ^{11,12,14,15}.

A interleucina 10 (IL10) é a citocina anti-inflamatória mais importante da resposta imunológica humana. É considerada uma molécula imunossupressora, atuando na limitação da resposta inflamatória e regulando a proliferação de células do sistema imunológico¹⁶. Segundo evidências, a IL10 auxilia na redução da produção de mediadores inflamatórios, como o TNF- α , IL1 e IL6 e pode ajudar a reduzir a hipertrofia cardíaca. ^{10,12,13,17}

A inflamação e lesão tecidual levam a uma resposta do organismo, conhecida como resposta de fase aguda e a proteína C reativa (PCR) é a proteína de fase aguda mais estudada. A IL1, IL6 e TNF- α são os principais indutores da produção da PCR. Na IC, níveis elevados de PCR estão relacionados com piores desfechos, como maiores taxas de hospitalizações e óbitos. ^{14,18}

Na IC, há um desequilíbrio entre os processos de anabolismo e catabolismo, sendo gerado pela ativação de fatores metabólicos, imunológicos

e neuro-hormonais. O aumento do cortisol, peptídeos natriuréticos e catecolaminas estimulam o aumento da lipólise. Já as citocinas TNF- α , IL1 e IL6 colaboram com aumento da proteólise.¹⁹

1.3 Alterações trato gastrointestinal

Alterações intestinais, tanto com relação à estrutura e funcionamento quanto composição da microbiota em pacientes com IC tem sido objeto de estudos nos últimos anos e descrita desde o início dos anos 2000, sendo essas alterações associadas com o desenvolvimento e progressão da IC e comorbidades associadas.^{7,20,21}

O trato gastrintestinal (TGI), em repouso e condições normais, recebe aproximadamente 25% do débito cardíaco. Portanto, com o prejuízo circulatório acarretado pela IC, o trato gastrintestinal, mais especificamente o intestino, é um dos órgãos mais afetados, havendo isquemia e edema de alças. Além da parte circulatória, há outras alterações próprias da IC que afetam o intestino, como a disfunção endotelial e ativação neuro-hormonal.^{22,23}

Essa alteração na perfusão intestinal colabora com mudanças na composição da microbiota local e com alterações estruturais. Dentre as estruturas que sofrem influência da redução da perfusão estão as vilosidades, que são muito sensíveis a oscilações na concentração de oxigênio e com isso, a capacidade absorptiva local fica prejudicada, reduzindo a absorção de nutrientes importantes ao organismo. Além das vilosidades, as células epiteliais, responsáveis pela manutenção da estrutura local e atuantes também na absorção de nutrientes, sofrem com a hipoperfusão, se tornando disfuncionais com consequente prejuízo na integridade da mucosa, tornando-a mais permeável à entrada de microrganismos potencialmente patógenos e dos seus produtos e componentes estruturais.^{21,23,24,25,26,27}

Dentre os componentes que passam para a circulação quando há maior permeabilidade intestinal, merece destaque a endotoxina lipopolissacarídeo (LPS), que é componente da membrana de bactérias *gram negativas* e que, uma vez na circulação, é capaz de estimular o sistema imunológico e aumentar a resposta inflamatória. Evidências sugerem que a congestão e edema de alças

intestinais favorecem aumento da passagem da LPS para a circulação, como mostrou o estudo feito por Sandek et al²⁸, no qual, os pacientes com congestão apresentavam maiores níveis circulantes de LPS e que seus níveis diminuía após diureticoterapia.^{14,20}

Com relação à alteração na composição da microbiota, a hipóxia e alteração do pH local favorecem aumento de microrganismos patógenos e redução dos benéficos, além de redução progressiva da diversidade de microrganismos à medida que a IC vai progredindo.^{20,21,22,27,29}

Existe ainda, com relação aos microrganismos patógenos, um aumento da adesão deles à mucosa, colaborando ainda mais com aumento da permeabilidade intestinal e piora da inflamação.²⁷

Além das alterações intestinais, tanto estrutural quanto composição da microbiota, existem outras alterações que afetam a saúde do paciente com IC. Dentre essas alterações temos as queixas relacionadas ao TGI que impactam diretamente no consumo alimentar dessa população. Dentre essas queixas se destacam alterações no paladar, plenitude gástrica, náuseas, vômitos e redução do apetite (anorexia), contribuindo com redução no consumo alimentar, deficiência de nutrientes e caquexia. Náuseas, vômitos e alterações no paladar normalmente são decorrentes de vários fatores como, congestão visceral, efeitos colaterais farmacológicos e muitas vezes, devido à própria progressão da IC.^{30,31}

A perda do apetite tem origem multifatorial e sua fisiopatologia na IC ainda não está completamente elucidada. Além dos sintomas característicos da IC (náuseas, vômitos, fadiga, dispneia), a inflamação também pode colaborar com a anorexia, principalmente o TNF- α e demais alterações neuro-hormonais que influenciam no controle do apetite.^{32,33,34}

Diante do exposto anteriormente, é evidente que a avaliação do apetite é um ponto importante, porém é difícil a sua mensuração. Pensando nisso, dois questionários foram criados e posteriormente validados para pacientes com IC, sendo o *Council on Nutrition Appetite Questionnaire (CNAQ)* e o *Simplified Nutritional Appetite Auestionnaire (SNAQ)*, sendo o SNAQ traduzido e validado na versão Questionário Nutricional Simplificado de Apetite (QNSA).^{35,36,37}

A partir das evidências da influência e participação intestinal em diversas interfaces da IC, diversos estudos começaram a ser desenvolvidos para compreensão e tentativa de desenvolvimento de possíveis terapias adjuvantes. A disbiose (desequilíbrio entre microrganismos benéficos e patogênicos) já está bem descrita em estudos e correlacionada à IC, tanto na fisiopatologia e progressão quanto como consequência. Diante disso, começaram a ser propostas maneiras de intervenção na composição da microbiota intestinal, na tentativa de restabelecer o equilíbrio. Dentre as maneiras propostas, a suplementação de probióticos aparece como uma alternativa promissora, considerando os benefícios já descritos da suplementação desses microrganismos em outras situações, como nas doenças inflamatórias intestinais^{29,38}

1.4 Probióticos

O termo probiótico deriva do grego e significa “pró-vida” e são definidos como microrganismos que, quando ingeridos em quantidade adequada, promovem benefícios ao hospedeiro.^{38,39,40}

Os probióticos conferem vários benefícios ao organismo, sendo um deles a restauração da microbiota após uso de antibióticos. Além disso, podem atuar no processo de digestão, auxiliando em intolerâncias alimentares, como a intolerância à lactose, além de auxiliarem no tratamento de doenças intestinais como síndrome do intestino irritável, colite ulcerativa, Doença de Chron e prevenção de câncer de cólon^{38,39,40,41,42}

A quantidade mínima que se recomenda para efeitos clínicos, independente da cepa utilizada, é 10^6 unidades (um milhão) formadoras de colônia (UFC) pensando em ação no intestino delgado, e, no cólon, a quantidade mínima é 10^8 UFC (100 milhões). E a dose usualmente efetiva, entre os estudos em seres humanos, varia entre 10^7 (dez milhões) e 10^9 (um bilhão) de UFC.⁴³

Na literatura, há evidências de que os probióticos podem interagir com determinadas células e modular o sistema imunológico e produção de citocinas, especialmente PCR, TNF- α , IL6 e IL1.^{40,44,45}

1.4.1 *Lactobacillus acidophilus*

O *Lactobacillus acidophilus* (LA) é um microrganismo gram-positivo que pode ser encontrado em fórmulas infantis e alimentos com alegações probióticas como leites fermentados e suplementos alimentares.⁴⁶

Dentre as suas propriedades como probiótico, estudos mostram que pode metabolizar a lactose, é tolerante aos ácidos biliares, consegue aderir aos enterócitos, é seguro para o consumo e produz compostos antimicrobianos. Além disso, sugere-se que pode reduzir sintomas de alergias respiratórias, redução de sintomas de síndrome do intestino irritável, prevenção e tratamento de diarreia e redução do colesterol.^{46,47,48}

Tabela 3 – Estudos com LA e inflamação

Autores, ano	Desenho estudo	Dose Tempo	Resultados
Andekar et al,2014⁴⁹	<i>In vivo</i> , ratos com artrite	200 milhões de UFC, 22 dias	Redução IL6 e aumento IL10
Wang et al,2020⁵⁰	<i>In vivo</i> , ratos com colite	200 milhões de UFC, 7 dias	Redução IL6, IL1 e TNF- α
Lee et al,2019⁵¹	<i>In vivo</i> , ratos com osteoartrite	200 bilhões de UFC, 15 dias	Redução IL6, TNF- α e aumento da IL10
Kim et al, 2019⁵²	<i>In vivo</i> , ratos com colite	1 milhão de UFC, 7 dias	Redução IL1 e TNF- α Aumento IL10
Kim et al, 2021⁵³	<i>In vivo</i> , ratos com colite induzida	1 bilhão UFC, 8 dias	Redução IL6, TNF- α e aumento IL10

UFC – unidades formadoras de colônia; IL6- Interleucina 6; IL10 – interleucina 10; TNF- α - Fator de necrose tumoral alfa; IL1 – interleucina 1

A tabela 3 acima mostra os resultados de alguns estudos realizados com o LA e inflamação usando diferentes dosagens do probiótico. Nela é possível observar que, em ratos, com diversas doenças de caráter inflamatório, a suplementação favoreceu a redução significativa de citocinas pró inflamatórias, além de, em alguns casos, colaborar com aumento da IL10, uma interleucina com caráter anti-inflamatório.

1.4.2 Probióticos e IC

Na literatura são escassos estudos já publicados com probióticos em pacientes com IC, principalmente com foco na inflamação.

Na tabela 4 estão resumidos os principais estudos publicados até o momento, com suplementação de probióticos nos pacientes com IC

Tabela 4 – Resumo dos estudos clínicos usando probióticos em pacientes com IC.

Autores, ano	Probiótico Tempo	População	Resultados
Constanza et al, 2015 ⁵⁴	<i>Saccharomyces boulardii</i> 3 meses	IC, ambulatorial, CF II-IV	Redução colesterol total, ácido úrico e PCR Redução diâmetro VE e melhora na FEVE
Awoyemi et al, 2021 ⁵⁵	<i>Saccharomyces boulardii</i> 3 meses	IC, ambulatorial, CF II-IV	Sem efeitos significativos nos biomarcadores e FEVE
Moludi et al, 2021 ⁵⁶	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> 3 meses	Pacientes pós IAM	Redução biomarcadores de remodelamento cardíaco Redução PCR
Karim et al, 2022 ⁵⁷	Mix de probióticos 3 meses	IC, FEVE ≤40%	Redução marcador de permeabilidade intestinal
Pourrajab et al, 2022 ⁵⁸	<i>L.acidophilus</i> + <i>Bifidobacterium lactis</i>	IC, ambulatorial, CF I-III	Melhora marcador inflamatório

IC – insuficiência cardíaca; CF- classe funcional; PCR – proteína C reativa; VE – ventrículo esquerdo; FEVE – fração de ejeção do ventrículo esquerdo;

Justificativa

Levando em consideração a importância da inflamação no prognóstico de pacientes com IC e as evidências de uma relação existente entre intestino e IC, é dada a hipótese de que, a suplementação de probiótico possa auxiliar na redução da inflamação nessa população

2. OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

2.1 Primário

Verificar influência da suplementação de *Lactobacillus acidophilus* LA14 na redução dos níveis plasmáticos de TNF- α em pacientes com insuficiência cardíaca.

2.2 Secundários

Avaliar o impacto da suplementação de *Lactobacillus acidophilus* LA14 nos níveis plasmáticos de IL1, IL6, IL10, peptídeo natriurético tipo B (BNP) e PCR.

Verificar possíveis efeitos da suplementação no apetite, parâmetros antropométricos e desfechos clínicos como infecções, internações, transplante e óbito.

3. METODOLOGIA

3. METODOLOGIA

3.1 Desenho do estudo e população

Esta pesquisa foi desenvolvida após aprovação do Comitê de Ética em pesquisa local, (SDC 4507/19/009, CAAE 84447418.0.0000.0068). Está registrada no *Clinical Trials* (NCT 03968549) e foi financiada pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP (Processo nº 2017/01372-0).

Foram incluídos pacientes com diagnóstico de IC avançada, acompanhados no ambulatório de Transplante Cardíaco do Instituto do Coração do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (InCor HCFMUSP). O período de randomização compreendeu de 06 de Novembro de 2018 à 10 de Março de 2020.

Para que a amostra pudesse fornecer um poder de 80% e erro tipo I de 5%, com desvio padrão de 1,0, foi feito o cálculo esperando uma redução de 16,7% nos níveis plasmáticos de TNF- α , conforme o demonstrado por Bajaj e cols,⁴⁵ nos pacientes que receberam probiótico, e de 8,2% nos pacientes que receberam placebo. Para isso, foi definida uma amostra composta por 58 pacientes, já sendo considerada nesse número uma perda de 15% de participantes.

O presente estudo foi um ensaio clínico, randomizado, duplo cego, placebo controlado. Nele, todos os envolvidos diretamente com o desenvolvimento da pesquisa eram cegos a respeito de qual grupo cada participante seria alocado e os pacientes também; apenas o responsável pela fabricação do placebo e envase do probiótico não era cego.

As cápsulas de placebo, foram confeccionadas idênticas às cápsulas que continham probiótico e eram compostas por cápsula gelatinosa transparente, amido de milho (aproximadamente 100mg por cápsula) e óleo de girassol (aproximadamente 1ml por cápsula).

O placebo e as cápsulas contendo probiótico eram manipulados pela mesma farmácia. As cápsulas de probióticos eram entregues periodicamente e

envasadas em recipientes idênticos aos recipientes contendo placebo. Cada recipiente continha uma numeração que, apenas a pessoa responsável pelo envase sabia o que cada número representava (placebo ou probiótico). Essa relação do que cada numeração correspondia foi entregue à pesquisadora principal após o término de seguimento do último paciente e partir de então iniciadas as análises dos dados obtidos.

As cápsulas de probiótico continham 1 bilhão de unidades formadoras de colônia (UFC) – 1×10^9 do probiótico *Lactobacillus acidophilus* La14 e foram adquiridas em farmácia convencional.

3.2 Critérios de inclusão

Os critérios de inclusão foram:

- Adultos, com dezoito anos ou mais;
- IC com classe funcional segundo a *New York Heart Association* (NYHA) III ou IV ou estarem listados para transplante cardíaco, estáveis, em acompanhamento ambulatorial;
- Medicamentos para IC otimizados por, no mínimo, dois meses;
- Ausência de internação por IC descompensada ou infarto agudo do miocárdio nos últimos trinta dias;
- Ter lido e assinado o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (ANEXO A).

3.3 Critérios de exclusão

Foram considerados como critérios de exclusão:

- Uso de corticoesteróides e/ou antibióticos nos últimos trinta dias;
- Apresentarem doenças que influenciem no perfil inflamatório, como doenças intestinais;
- Cirurgia cardíaca nos últimos seis meses ou qualquer outra cirurgia nos últimos três meses;

3.4 Intervenção e randomização

A cada consulta, era entregue o pote para o paciente, com o respectivo número, com quantidade de cápsulas suficientes até a próxima consulta (trinta dias). O paciente recebeu a mesma numeração de pote do início ao final do seguimento, sendo em cada consulta, perguntado se havia esquecido de tomar algum dia e anotado o número de dias caso tivesse ocorrido. Cada paciente, após inclusão, era seguido por 6 meses.

O controle da adesão (consumo das cápsulas) era feito via contato frequentes com os pacientes via *WhatsApp*. A cada consulta, era feito o reforço para que, durante o tempo de seguimento, cada paciente não consumisse alimentos ou suplementos contendo probióticos (iogurtes, leites fermentados, *kefir*, cápsulas, entre outros).

A ordem de entrega dos potes, de acordo com os números, foi realizada de forma randomizada. Para isso, a numeração dos potes era colocada no *website Research Randomizer®* e gerada uma ordem de entrega a partir dos números.

3.5 Análise dados bioquímicos

Para analisar as concentrações plasmáticas das citocinas e demais biomarcadores, foram coletadas amostras de sangue em dois momentos, quando o paciente era incluído na pesquisa e após seis meses de seguimento. As amostras foram coletadas através de venopunção, em tubo com gel separador. Após coagulação, foram centrifugadas por quinze minutos a 3000 rpm e o soro armazenado a -80°C até a coleta do último paciente a terminar o seguimento. O armazenamento das amostras foi realizado no laboratório de Análises Clínicas do InCor HCFMUSP, sob a responsabilidade da Diretora Célia Maria C. Strunz.

As análises foram realizadas todas no mesmo momento, após o término do seguimento do último paciente, utilizando a mesma curva de calibração e mesmo controle, para garantir homogeneidade dos resultados.

As IL1,6 e 10 e TNF- α foram dosados utilizando testes ELISA (*Enzyme-linked immunosorbent assay*) da marca IBL *International GmbH*, Hamburgo, Alemanha. Os resultados foram expressos em pg/mL. As sensibilidades para as IL1, 6 e 10 foram, respectivamente, 0,3 pg/mL, 0,92 pg/mL e 1 pg/mL. A sensibilidade do TNF- α foi 5,0 pg/mL.

Para a dosagem sérica do LPS, também foi usado teste ELISA (*Enzyme-linked immunosorbent assay*), da marca *Cloud-Clone Corp*, Katy, Texas, EUA. O resultado foi expresso em ng/mL e a sensibilidade foi de 0,19 ng/mL.

Os demais marcadores bioquímicos, peptídeo natriurético tipo B (BNP) e PCR foram coletados em prontuário eletrônico, não sendo necessária a aquisição de kits, pois são exames solicitados em rotina de consulta médica institucional.

3.6 Avaliação antropométrica e apetite

Para avaliação antropométrica, dados de peso (kg), estatura (m), circunferência do braço (CB - cm) e prega cutânea tricipital (PCT - mm) foram aferidos na primeira e na última consulta, quando se encerrava o seguimento do paciente, sempre aferidos pela mesma pessoa para evitar variações interavaliadores e tomando devidos cuidados para evitar influência no peso, sendo para isso solicitado que os pacientes tirassem objetos do bolso e os sapatos.

A partir dessas medidas aferidas, foram calculados outros parâmetros para auxiliar na estimativa da composição corporal dos pacientes. Foram calculados: índice de massa corporal (IMC – kg/m²), circunferência muscular do braço (CMB - cm), área muscular do braço corrigida de acordo com gênero (AMBc – cm²) e área gordurosa do braço (AGB – cm²). Para classificação dos parâmetros, foram usadas as referências respectivas para cada um.^{59,60,61,62,63,64}

Para mensurar o apetite, foi aplicado o questionário nutricional simplificado de apetite (QNSA- ANEXO B), composto por cinco questões, cada uma com cinco alternativas de resposta e cada alternativa corresponde a uma pontuação. De acordo com as respostas, um escore era calculado e, uma

pontuação menor ou igual a 14 indicaria apetite prejudicado e risco de perda ponderal.³⁶

3.7 Análise estatística

Para avaliar a normalidade da distribuição dos dados foi aplicado o teste de Kolmogorov Smirnov, sendo as variáveis contínuas descritas em mediana (percentis 25 e 75) e as discretas descritas em número absoluto (n) e frequência relativa (%).

Para comparar as variáveis contínuas, intragrupos nos dois momentos (basal e após 6 meses), foi aplicado o teste de Wilcoxon e para comparar os grupos, foi aplicado o teste de Mann-Whitney. Para comparação das variáveis categóricas, foram aplicados os testes Qui Quadrado de Pearson e Teste exato de Fisher.

Para demonstração de efeitos da intervenção na sobrevida, transplante e hospitalização, foram feitas curvas de Kaplan Meyer.

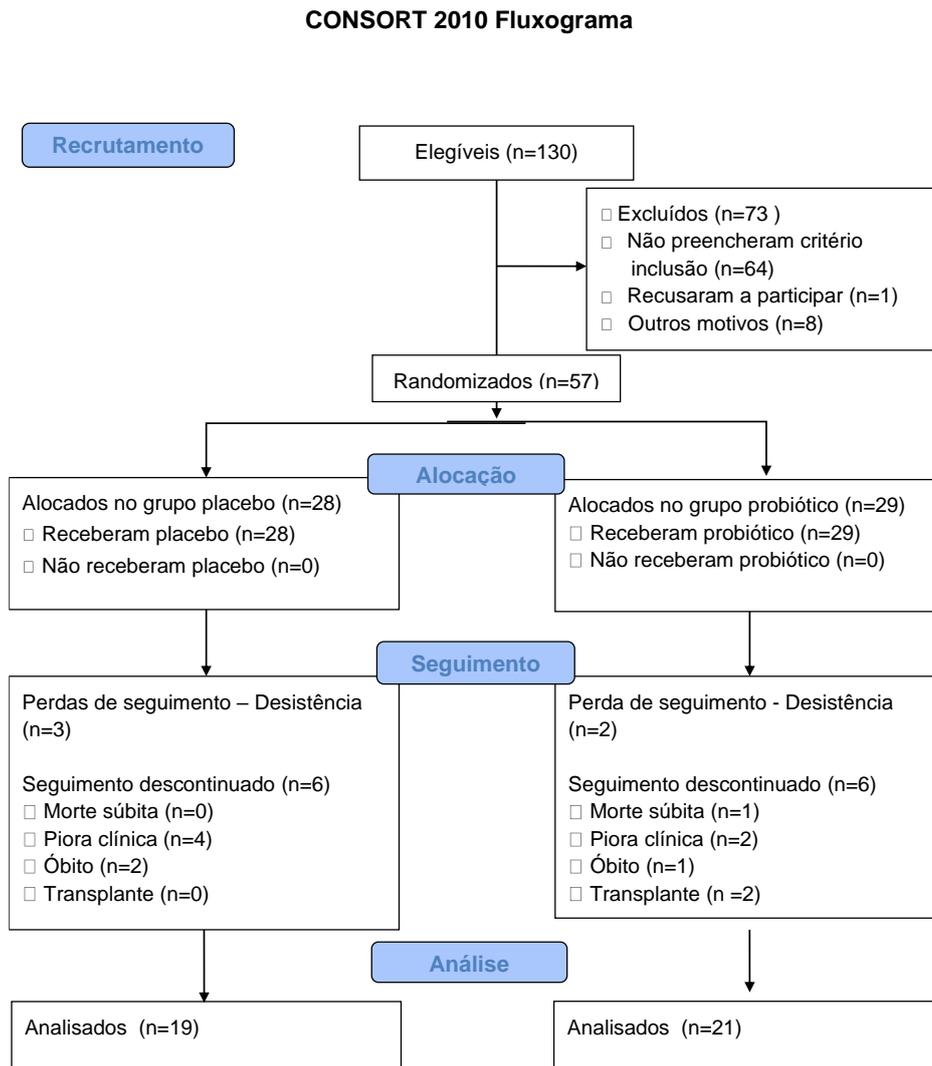
Para as análises foi usado o software JASP versão 0.18.3.0, sendo considerado estatisticamente significativo o valor de p menor que 0,05.

4. RESULTADOS

4. Resultados

A figura 1 a seguir descreve o fluxograma detalhado do processo de recrutamento, alocação, seguimento e análise dos pacientes participantes, de acordo com o CONSORT Statement, 2010⁶⁵.

Figura 1 – Fluxo das etapas da pesquisa.



Durante o período de recrutamento, compreendido entre 06 de Novembro de 2018 a 10 de Março de 2020, foram considerados elegíveis 130 pacientes, sendo desse total, incluídos 57. Dentre os principais motivos de não inclusão nesse estudo, se destacaram a não otimização dos fármacos, uso de antibióticos

e/ou corticoesteróides nos últimos 30 dias, encaminhamento para pronto atendimento após consulta devido descompensação da IC e alta há menos de 30 dias (36, 9, 9 e 4 pacientes, respectivamente).

Ao observar a tabela 5 a seguir, com a descrição e comparação dos dados basais dos grupos, pode-se notar que, a maior parte dos indivíduos participantes da pesquisa foram do gênero masculino em ambos os grupos (75,9% probiótico e 57,1% placebo, $p=0,134$). Os indivíduos participantes do grupo probiótico eram mais velhos do que os alocados no placebo (54 vs 49 anos, $p=0,028$). Dentre as etiologias mais prevalentes na amostra, em ambos os grupos, miocardiopatia chagásica foi a mais prevalente, seguida pela miocardiopatia dilatada e isquêmica. Os pacientes alocados no grupo probiótico apresentavam FEVE menor do que os do grupo placebo (24% vs 30%, $p=0,007$).

Tabela 5- Características demográficas e clínicas basais dos grupos de acordo com intervenção.

	Probiótico (n=29)	Placebo (n =28)	P
Idade (anos)	54 [44- 60]	49 [32- 56]	0,028*
Gênero			0,134**
Masculino, n (%)	22 [75,9]	16 [57,1]	
Feminino, n (%)	7 [24,1]	[42,9]	
Etiologia			0,739***
Chagas, n (%)	8 [27,6]	8 [28,6]	
Isquêmica, n (%)	7 [24,1]	5 [17,9]	
Dilatada, n (%)	9 [31]	7 [25]	
Outras, n (%)	5 [17,2]	8 [28,6]	
CF NYHA			0,190***
2, n (%)	5 [17,2]	7 [25]	
3, n (%)	1 [72,4]	21 [75]	
4, n (%)	3 [10,3]	0 [0]	
FEVE (%)	24 [22- 27]	30 [25- 36]	0,007*
DDVE (mm)	70 [63- 75]	66 [56- 73]	0,084*
Função VD			0,889**
Normal/Discreta, n (%)	15 [51,7]	15 [53,6]	
Moderada/importante, n (%)	14 [48,3]	13 [46,4]	

Continua

			Conclusão
	Probiótico (n=29)	Placebo (n =28)	P
Fármacos Usados			
IECA/BRA, n (%)	19 [65,5]	22 [78,6]	0,273**
Betabloqueadores, n (%)	29 [100]	28 [100]	----
Ivabradina, n (%)	4 [13,8]	2 [7,1]	0,413**
Digoxina, n (%)	12 [41,4]	10 [35,7]	0,661**
Espironolactona, n (%)	23 [79,3]	24 [85,7]	0,525**
Sacubitril+Valsartan, n (%)	2 [6,9]	3 [10,7]	0,610**
Dispositivos			
Marcapasso, n (%)	1 [3,4]	5 [17,9]	0,283**
Ressincronizador, (%)	3 [10,3]	0 [0]	0,042**
CDI, n (%)	7 [24,1]	8 [28,6]	0,922**
Comorbidades			
HAS, n (%)	12 [41,4]	5 [17,9]	0,052**
DM, n (%)	7 [24,1]	5 [17,9]	0,561**
PAS (mmHg)	100 [85- 100]	100 [87- 100]	0,450*
FC (bpm)	69 [62- 76]	65 [60- 74]	0,378*

Valores numéricos expressos em mediana (percentis 25 – 75)

* Teste de Mann Whitney

** Teste Exato de Fisher

*** Teste Qui Quadrado de Pearson

FEVE- fração ejeção ventrículo esquerdo; CF- classe funcional; NYHA – *New York Heart Association*; DDVE – diâmetro ventrículo esquerdo; VD – ventrículo direito; IECA – inibidores da enzima conversora de angiotensina; BRA – bloqueadores do receptor de angiotensina; CDI – cardiodesfibrilador implantável; HAS – hipertensão arterial sistêmica; DM – diabetes mellitus; PAS – pressão arterial sistólica; FC – frequência cardíaca

Em relação aos parâmetros antropométricos e laboratoriais no período basal da pesquisa, não houve diferença estatisticamente significativa entre os participantes, mas numericamente, algumas diferenças puderam ser observadas entre os grupos, como o BNP mais elevado nos pacientes do grupo probiótico (780 vs 407 pg/mL, $p=0,132$), bem como menor taxa de filtração glomerular (TFG) também menor no grupo probiótico (52,4 vs 62,1 mL/mil/1,73m², $p=0,095$).

A tabela 6 a seguir traz a comparação das citocinas e demais parâmetros bioquímicos no período basal e final, tanto entre os grupos quanto intragrupos. Quando é feita a comparação entre grupos, não se observou diferença entre eles ao final dos seis meses de seguimento.

Tabela 6 - Comparação dados bioquímicos e clínicos entre e intragrupos, nos momentos basais e após seis meses.

		Probiótico (n=21)	Placebo (n=19)	p*
IL1 (pg/mL)	Inicial	2,37 [2,06-3,50]	3,22 [2,41-4,06]	0,244
	Final	3,90 [2,66- 4,38]	3,12 [2,61-4,15]	0,684
	p**	0,157	0,768	
IL6 (pg/mL)	Inicial	2,84 [0,91-3,95]	1,67 [0,47-2,10]	0,124
	Final	1,21 [1,02-1,76]	1,19 [0,70-3,42]	0,914
	p**	0,119	0,045	
TNF-α (pg/mL)	Inicial	4,18 [3,57- 5,31]	4,97 [2,30- 8,11]	0,807
	Final	4,55 [3,61- 6,26]	4,63 [3,40- 7,50]	0,473
	p**	0,338	0,891	
IL10 (pg/mL)	Inicial	0,69 [0,23- 1,46]	0,92 [0,50- 2,13]	0,364
	Final	1,13 [0,59- 1,56]	1,53 [0,99- 2,15]	0,144
	p**	0,032	0,182	
LPS (ng/mL)	Inicial	0,46 [0,31- 1,17]	1,28 [0,43- 2,48]	0,107
	Final	1,39 [0,70- 3,34]	1,18 [0,60- 1,71]	0,714
	p**	0,016	0,860	
BNP (pg/mL)	Inicial	772 [293- 1123]	292 [141- 829]	0,088
	Final	448 [323- 609]	270 [117- 924]	0,291
	p**	0,216	0,984	
PCR (mg/L)	Inicial	3,12 [2,04- 5,60]	4,58 [1,03- 7,24]	0,725
	Final	3,57 [1,89- 7,36]	3,30 [1,35- 13,1]	0,830
	p**	0,168	0,104	
Hb (g/dL)	Inicial	13,9 [13,1- 15]	13,6 [13- 14,5]	0,440
	Final	12,9 [12,3- 14,8]	13,7 [12,3- 15,1]	0,093
	p**	0,089	0,687	
Ureia (mg/dL)	Inicial	48 [40- 58]	54 [44- 64]	0,472
	Final	49 [39- 70]	50 [39- 79]	0,665
	p**	0,357	0,983	
Creatinina (mg/dL)	Inicial	1,24 [1,08- 1,55]	1,17 [1,02- 1,41]	0,440
	Final	1,18 [0,99- 1,46]	1,18 [1,02- 1,49]	0,755
	p**	0,972	0,920	
TFG (ml/min/1,73m²)	Inicial	54 [45- 68,1]	65,3 [45- 100,7]	0,218
	Final	65,9 [49- 72,6]	55 [47,5- 97,3]	0,694
	p**	0,357	0,519	
CT (mg/dL)	Inicial	158 [136- 193]	172 [135- 207]	0,401
	Final	157 [117- 190]	155 [140- 187]	0,655
	p**	0,520	0,446	Continua

				Conclusão
		Probiótico (n=21)	Placebo (n=19)	p*
HDL (mg/dL)	Inicial	40 [33- 48]	42 [40- 52]	0,423
	Final	38 [35- 49]	43 [40- 48]	0,393
	p**	0,355	0,393	
LDL (mg/dL)	Inicial	97 [68- 111]	106 [70- 139]	0,416
	Final	95 [69- 117]	93 [73- 122]	0,860
	p**	0,629	0,408	
TG (mg/dL)	Inicial	75 [63- 125]	89 [64- 131]	0,797
	Final	95 [60- 104]	104 [86- 132]	0,189
	p**	0,732	0,760	
Ác.úrico (mg/dL)	Inicial	6,7 [5,7- 8,5]	6,8 [6- 9,6]	0,473
	Final	7 [5,5 – 9]	8,3 [5,9- 10,1]	0,167
	p**	0,777	0,938	

Variáveis numéricas expressas em mediana (percentis 25-75)

* Teste Mann Whitney

** Teste Wilcoxon

IL1= interleucina 1; IL6= interleucina 6; IL10= interleucina 10; TNF- α = fator necrose tumoral alfa; LPS= lipopolissacarídeo; BNP= peptídeo natriurético tipo B; PCR= proteína C reativa; Hb= hemoglobina; TFG= taxa de filtração glomerular; CT= colesterol total; HDL= *High density lipoprotein* (lipoproteína de alta densidade); LDL= *low density lipoprotein* (lipoproteína de baixa densidade); TG= triglicérides;

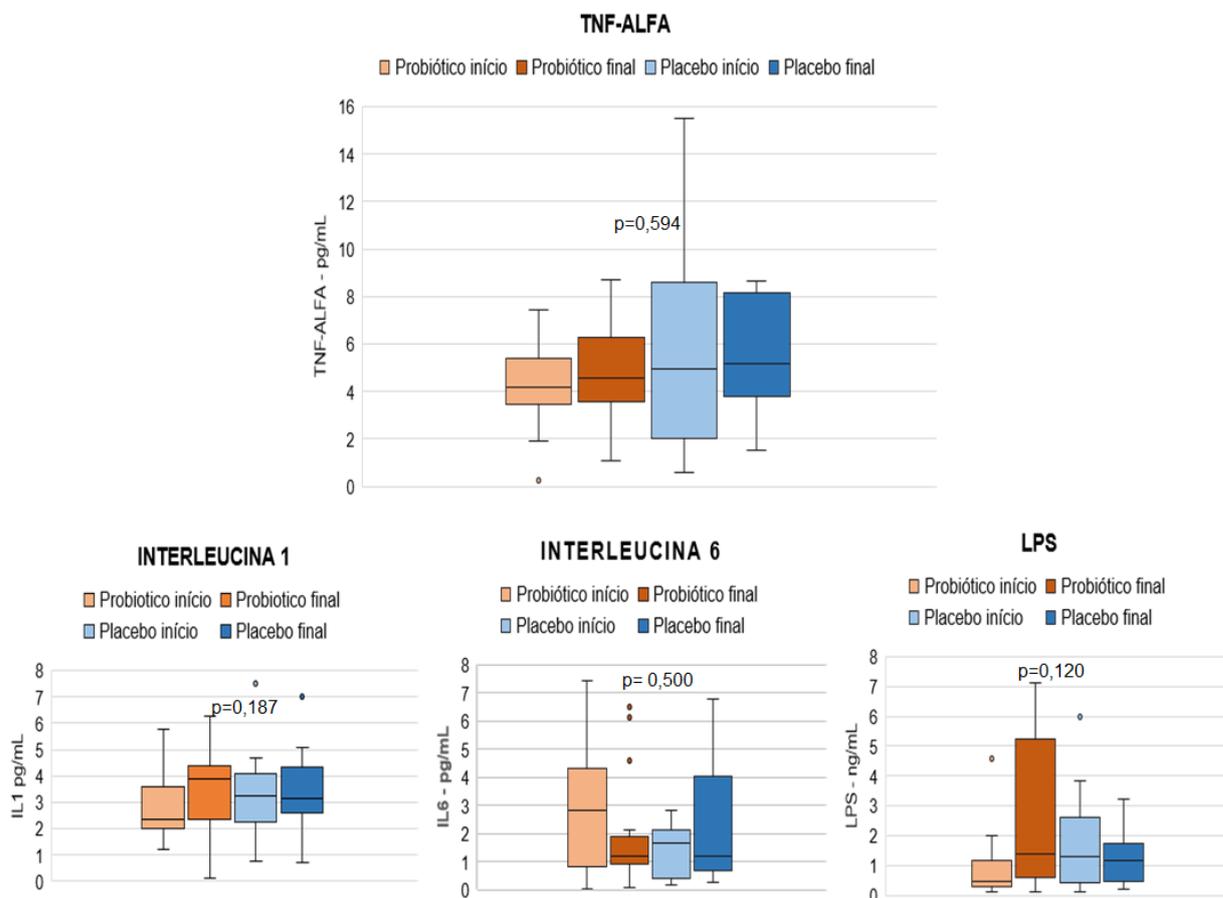
A IL10, ao ser comparada intragrupos, apresentou aumento significativo nos pacientes que foram alocados no grupo probiótico (0,69 \rightarrow 1,13 ng/mL, $p=0,032$). Ainda nos pacientes do grupo probiótico, ao comparar os níveis nos dois momentos, a LPS apresentou aumento significativo (0,46 \rightarrow 1,39 pg/mL, $p=0,017$).

A IL6 nos pacientes do grupo placebo, quando comparada aos níveis basais com os níveis após seis meses, apresentou redução significativa (1,67 \rightarrow 1,19 pg/mL, $p=0,045$), embora no grupo probiótico houve também redução, mas não foi uma diferença estatisticamente significativa (2,84 \rightarrow 1,21 pg/mL, $p=0,119$).

Ao comparar os demais parâmetros, não foram encontradas diferenças significativas entre os grupos. Entretanto, um dado numérico importante a ser observado foi o BNP que no grupo probiótico, apresentou redução em seus níveis apesar de não ter sido significativa (772 \rightarrow 448 pg/mL, $p=0,216$).

A figura 2 a seguir mostra a comparação das IL1,6, TNF- α e LPS entre todos os grupos (probiótico inicial, probiótico final, placebo inicial, placebo final), na qual, podemos observar que não houve diferença entre eles.

Figura 2 – Comparação IL1, IL6, TNF- α e LPS entre grupos nos dois momentos da pesquisa.



Ao comparar os dados antropométricos entre e intragrupos, presente na tabela 7, nos dois momentos da pesquisa, é possível perceber que entre os grupos, nos dois momentos, não houve diferença. Mas observando intragrupos, os pacientes que estavam alocados no grupo placebo, apresentaram uma redução significativa nos parâmetros de CMB ($p=0,018$) e AMBc ($p=0,017$).

Tabela 7 – Comparação dados antropométricos entre e intragrupos, nos momentos basais e após seis meses.

		Probiótico (n=21)	Placebo (n=19)	p*
Peso (kg)	Inicial	62 [59,2 – 80]	72,2 [68 – 83,5]	0,371
	Final	66 [60- 81]	72 [65,2- 83,5]	0,490
	p**	0,728	0,802	
IMC (kg/m²)	Inicial	23,6 [21,9- 26,1]	25,1 [23,5- 28,7]	0,176
	Final	23,5 [22,6- 26,5]	24,1 [22,8- 28,8]	0,481
	p**	0,305	>0,999	
CB (cm)	Inicial	28 [25- 31,5]	29 [27,3- 33]	0,272
	Final	28 [25,5- 30,5]	29,5 [27- 31,8]	0,481
	p**	0,808	0,073	
PCT (mm)	Inicial	10 [9- 19]	18 [13- 23]	0,139
	Final	14 [9- 17]	15 [14- 24]	0,073
	p**	0,630	0,198	
CMB (cm²)	Inicial	23,4 [22,2- 26,8]	24,9 [22,4- 27]	0,645
	Final	24,2 [22,3- 26,4]	24,2 [20,8- 26,4]	
	p**	0,779	0,018	
AMBc (cm²)	Inicial	35,9 [29,2- 47,2]	39,4 [31,7- 47,9]	0,569
	Final	36,6 [31- 48,8]	38,2 [27,8- 45,3]	0,946
	p**	0,852	0,017	
AGB (cm²)	Inicial	15,5 [10,6- 25,2]	23,4 [11,7- 31,8]	0,198
	Final	15,5 [13,2- 21,6]	22,2 [17- 32,2]	0,093
	p**	0,240	0,811	

Variáveis numéricas expressos em mediana (percentis 25 e 75)

* Teste Mann Whitney

** Teste Wilcoxon

IMC= índice de massa corporal; CB= circunferência do braço; PCT= prega cutânea tricipital; CMB= circunferência muscular do braço; AMBc= área muscular do braço corrigida; AGB= área gordurosa do braço

Na nossa amostra, também foi feita a comparação dos parâmetros levando em conta a etiologia da IC, sendo separada em chagas e não chagas (nesse foram agrupadas demais etiologias). Na tabela 8 está a comparação dos parâmetros no começo do seguimento.

Observando o momento basal da pesquisa, dividindo os grupos conforme etiologia, a FEVE nos pacientes do grupo probiótico, independente da etiologia, se mostrou significativamente menor do que nos pacientes alocados no grupo placebo.

Os níveis do TNF- α e demais marcadores não apresentou diferença significativa de acordo com as etiologias.

Tabela 8 – Comparação parâmetros basais entre grupos de acordo com etiologia da IC

	Probiótico (n=29)		Placebo (n=28)		p*
	Chagas (n=8)	Não Chagas (n= 21)	Chagas (n=8)	Não Chagas (n=20)	
IL1 (pg/mL)	2,37 [2,22- 3,43]	2,27 [1,96- 3,47]	3,63 [2,47- 4,10]	3,02 [1,09- 3,95]	0,744
IL6(pg/mL)	1,04 [0,69- 2,86]	1,63 [0,91- 4,70]	0,98 [0,38- 2,08]	1,72 [1,20- 2,95]	0,333
IL10(pg/mL)	1,32 [0,37- 1,73]	1,11 [0,27- 1,5]	1,06 [0,71- 2,09]	1,83 [0,83- 2,34]	0,412
TNF- α (pg/mL)	4,33 [3,76- 5,49]	4,1 [3,19- 7]	5,53 [2,94- 7,85]	4,48 [1,96- 6,26]	0,902
LPS (pg/mL)	0,46 [0,36- 1,5]	0,77 [0,33- 1,51]	1,11 [0,80- 2,56]	0,8 [0,37- 2,25]	0,628
BNP (pg/mL)	949 [688- 1427]	697 [284- 1093]	375 [211- 910]	507 [153- 912]	0,431
PCR (pg/mL)	3,38 [2,85- 4,37]	2,51 [1,42- 6,5]	1,8 [0,46- 3,57]	5,24 [3,39- 7,06]	0,124
FEVE (%)	23 [22- 25] ^a	25 [21- 28] ^{ac}	27 [24- 29] ^{acd}	34 [25- 38] ^{bd}	0,021
CT (mg/dL)	172 [141- 211]	163 [135- 198]	174 [153- 229]	169 [122- 213]	0,826
HDL (mg/dL)	53 [40- 61]	40 [33- 45]	46 [39- 53]	42 [39- 48]	0,249
LDL (mg/dL)	111 [90- 129]	99 [76- 133]	114 [96- 152]	101 [66- 143]	0,903
TG (mg/dL)	70 [65- 118]	88 [71- 131]	71 [58- 126]	104 [64- 141]	0,671
Ácido úrico(mg/dL)	7,4 [6- 8,5]	7,6 [6,2- 9,5]	6,2 [6- 9]	8 [5,7- 9,6]	0,961
Hb (g/dL)	13,6 [12,8- 15,2]	13,9 [13,1- 14,8]	13,2 [13- 13,6]	13,6 [12,5- 14,6]	0,604
Uréia (mg/dL)	50 [39- 59]	52 [41- 69]	56 [48- 82]	53 [39- 74]	0,860
Creatinina (mg/dL)	1,25 [1,12- 1,51]	1,34 [1,1- 1,72]	1,41 [1,15- 1,66]	1,09 [0,96- 1,33]	0,206
TFG (mL/min/1,73mL)	54,5 [44- 64,8]	52,4 [39,8- 61,3]	51 [36,8- 74,8]	68,6 [47,5-100,8]	0,223
Peso (kg)	61,3 [59,2- 64,8]	70 [57- 84]	67 [58,8- 69,7]	74 [64- 84,3]	0,518
IMC (kg/m ²)	24,1 [22,8- 25,4]	23,9 [20,5- 29,1]	23,4 [22,9- 23,8]	25,9 [21,9- 29]	0,431
CB (cm)	28,3 [26,9- 28,9]	29 [25- 31,5]	27,3 [26,8- 29]	29,8 [25,3- 33]	0,723
PCT (mm)	10 [9- 18]	12 [8- 16]	14 [9- 18]	15 [14- 20]	0,306
CMB (cm ²)	22,8 [22,4- 25,2]	24 [21,2- 26,8]	23,8 [21,2- 24,6]	25,3 [20,4- 27]	0,873
AMBc (cm ²)	34,8 [32,7- 40,6]	37,1 [29,2- 47,2]	35 [29,3- 38,3]	40,9 [25,3- 48,2]	0,883
AGB (cm ²)	13,6 [11,4- 22,3]	16,5 [10,6- 24,9]	18,8 [10,9- 24]	22,8 [12,3- 29,6]	0,543

Variáveis numéricas expressas em mediana (percentis 25-75)

* Teste Kruskal-Wallis

Os grupos que não compartilham a mesma letra são diferentes entre si.

IL1= interleucina 1; IL6= interleucina 6; IL10= interleucina 10; TNF- α = fator necrose tumoral alfa; LPS= lipopolissacarídeo; BNP= peptídeo natriurético tipo B; PCR= proteína C reativa; FEVE= fração ejeção ventrículo esquerdo; CT= colesterol total; HDL= *High density lipoprotein* (lipoproteína de alta densidade); LDL= *low density lipoprotein* (lipoproteína de baixa densidade); TG= triglicérides; Hb= hemoglobina; TFG= taxa de filtração glomerular; IMC= índice de massa corporal; CB= circunferência do braço; PCT= prega cutânea tricípital; CMB= circunferência muscular do braço; AMBc= área muscular do braço corrigida; AGB= área gordurosa do braço

Ao comparar os dados após os seis meses de seguimento, de acordo com etiologia, não foram encontradas diferenças significativas do ponto de vista estatístico.

A tabela 9 traz a comparação dos dados, de acordo com etiologia e grupo de intervenção após o período de seis meses de seguimento. Podemos observar que não foram encontradas diferenças entre os grupos e etiologias.

Tabela 9 – Comparação dados bioquímicos e antropométricos de acordo com intervenção e etiologia após seis meses.

	Probiótico (n=21)		Placebo (n=19)		p*
	Chagas (n=6)	Não Chagas (n= 15)	Chagas (n=7)	Não Chagas (n=17)	
IL1 (pg/mL)	4,14 [3,04-4,43]	3,90 [2,36-4,17]	3,90 [2,69-4,42]	3,06 [2,61-3,76]	0,724
IL6(pg/mL)	1,04 [0,55-1,85]	1,21 [1,08-1,61]	2,17 [0,38-4,42]	1,07 [0,76-3,11]	0,878
IL10(pg/mL)	1,50 [1,36-1,85]	1,01 [0,55-1,20]	1,55 [1,26-1,78]	1,42 [0,83-2,42]	0,122
TNF- α (pg/mL)	5,31 [4,35-6,20]	3,83 [3,04-5,88]	5,33 [4,29-6,29]	5,18 [3,94-8,13]	0,555
LPS (pg/mL)	1,27 [1,01- 2,22]	1,43 [0,58-1,67]	0,73 [0,44-1,29]	1,65 [1,01-1,91]	0,619
BNP (pg/mL)	675 [396-1248]	401 [310-556]	909 [434-1206]	207 [93-338]	0,055
PCR (pg/mL)	4,17 [3,66-11,68]	3,02 [1,68-6,00]	0,92 [0,60-12,5]	3,85 [2,32-13,7]	0,251
FEVE(%)	23 [21-27]	23 [21-25]	29 [23-30]	34 [24-44]	0,207
CT (mg/dL)	153 [144-182]	171 [111-191]	150 [140-173]	171 [137-190]	0,913
HDL(mg/dL)	49 [41-50]	38 [31-45]	44 [37-46]	43 [41-49]	0,215
LDL (mg/dL)	95 [94- 114]	94 [61-116]	90 [77-113]	95 [68-123]	0,922
TG (mg/dL)	82 [49-102]	96 [61-123]	102 [86-109]	118 [90-161]	0,348
Ácido úrico(mg/dL)	5,7 [5,6-8,1]	7,8 [4,8-9,0]	9,3 [6,4-11,1]	7,9 [5,5-9,6]	0,328
Hb (g/dL)	12,2 [11,8-12,6]	14,1 [12,7-14,9]	12,6 [12,2-13,2]	14,6 [12,9-15,3]	0,006
Uréia (mg/dL)	34 [30-40]	54 [41-72]	72 [48-86]	47 [40-70]	0,205
Creatinina (mg/dL)	1,08 [0,94-1,49]	1,25 [1,13-1,45]	1,48 [1,13-1,53]	1,17 [0,98-1,35]	0,768
TFG(mL/min/1,73mL)	67,4 [48,7-73,7]	65,9 [49,0-70,9]	48,0 [41,0-72,6]	71,2 [50,8-103,7]	0,684
Peso (kg)	62,3 [60,0-65,6]	72 [59,5-85,7]	68,0 [56,0-70,5]	80,0 [71,0-87,5]	0,079
IMC (kg/m ²)	23,9 [22,8-26,1]	23,5 [22,1-26,5]	22,7 [22,7-23,1]	26,9 [24,1-30,5]	0,077
CB (cm)	27,3 [26,3-29,0]	24,9 [25,5-31,8]	26,0 [25,3-28,3]	31,0 [29,5-32,9]	0,064
PCT (mm)	14 [11-17]	14 [9-17]	15 [11-21]	18 [15-28]	0,195
CMB(cm ²)	22,6 [21,7-23,6]	24,4 [22,8-26,8]	20,3 [19,2-24,1]	25,6 [24,0-26,9]	0,122
AMBc (cm ²)	32,3 [30,6-34,6]	37,4 [31,4-48,9]	26,3 [22,7-36,1]	42,2 [37,7-49,3]	0,096
AGB (cm ²)	172 [15,4-21,2]	14,6 [13,1-21,6]	17,0 [13,9-23,6]	25,3 [18,1-39,3]	0,169

Variáveis numéricas expressas em mediana (percentis 25-75)

* Teste Kruskal-Wallis

Os grupos que não compartilham a mesma letra são diferentes entre si.

IL1= interleucina 1; IL6= interleucina 6; IL10= interleucina 10; TNF- α = fator necrose tumoral alfa; LPS= lipopolissacarídeo; BNP= peptídeo natriurético tipo B; PCR= proteína C reativa; FEVE= fração ejeção ventrículo esquerdo; CT= colesterol total; HDL= *High density lipoprotein* (lipoproteína de alta densidade); LDL= *low density lipoprotein* (lipoproteína de baixa densidade); TG= triglicérides; Hb= hemoglobina; TFG= taxa de filtração glomerular; IMC= índice de massa corporal; CB= circunferência do braço; PCT= prega cutânea tricipital; CMB= circunferência muscular do braço; AMBc= área muscular do braço corrigida; AGB= área gordurosa do braço

Ao comparar as doses dos principais fármacos no tratamento da IC, sendo eles betabloqueadores ($p=0,962$), inibidores da enzima conversora de angiotensina (IECA) ($p=0,314$), diuréticos ($p= 0,213$) e bloqueador do receptor de angiotensina (BRA) ($p= 0,169$), entre o período basal e após o seguimento, entre os grupos, não foram observadas diferenças significativas, entretanto, ao observar o percentual de pacientes que tiveram aumento da dose de diuréticos, houve aumento da dose em 52,4% dos pacientes no grupo probiótico e 36,8% no placebo.

Com relação ao apetite, mensurado em nossa pesquisa pela ferramenta QNSA, no período basal, os pacientes que estavam no grupo probiótico, apresentaram menor pontuação do questionário quando comparados aos do grupo placebo (16 vs 17 pontos, $p=0,028$). Apesar da pontuação ter sido menor no probiótico, ao compararmos a classificação do apetite (reduzido ou preservado) nos dois grupos, não houve diferença entre eles no momento inicial do estudo ($p= 0,154$). Ao ser reaplicado no final do período de seguimento, ao comparar a pontuação dos pacientes entre os dois grupos, não foi encontrada diferença significativa ($p=0,288$).

Ainda com relação ao QNSA, quando feita a comparação do apetite intragrupos, no grupo probiótico, a quantidade de pacientes com apetite classificado como preservado apresentou um aumento significativo do início para o final do seguimento. (71,4% para 90,5%, $p=0,006$).

No período basal do estudo, as queixas a respeito do TGI (náuseas, vômitos, plenitude gástrica, obstipação, diarreia e azia) tiveram suas prevalências semelhantes entre os grupos. E após seis meses, essa prevalência permaneceu sem diferenças, embora, no grupo que recebeu probiótico, a prevalência de grande parte das queixas, exceto obstipação, era menor ao ser comparada com o placebo.

Tabela 10 - Queixas TGI nos períodos da pesquisa.

	Período basal		P
	Probiótico (n=29)	Placebo (n=28)	
Náusea, n (%)	11 (37,9)	9 (32,1)	0,647
Vômitos, n (%)	2 (6,9)	1 (3,6)	0,574
Plenitude gástrica, n (%)	19 (67,9)	17 (60,7)	0,707
Obstipação, n (%)	10 (34,5)	8 (28,6)	0,631
Diarreia, n (%)	0	2 (7,1)	0,143
Azia, n (%)	4 (13,8)	6 (21,4)	0,449
	Período final		
	Probiótico (n=21)	Placebo (n=19)	P
Náusea, n (%)	3 (14,3)	6 (31,6)	0,191
Vômitos, n (%)	0	2 (10,5)	0,127
Plenitude gástrica, n (%)	3 (14,3)	7 (36,8)	0,100
Obstipação, n (%)	5 (23,8)	2 (10,5)	0,270
Diarreia, n (%)	0	0	-----
Azia, n (%)	1 (4,8)	5 (26,3)	0,057

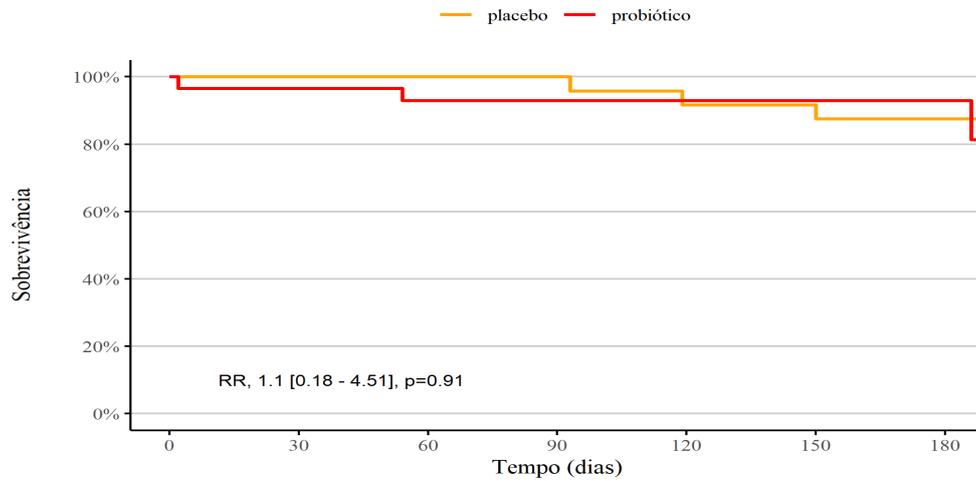
Variáveis numéricas expressas em número absoluto (frequência relativa)

* Teste exato de Fisher

As figuras 3,4 e 5 trazem as curvas referentes à sobrevivência, tempo livre de transplante e internação por piora da IC na população estudada.

Ao observar as curvas, nota-se que não houve diferença nos desfechos clínicos ao comparar os grupos, mostrando que a suplementação do probiótico não exerceu influência nos desfechos clínicos

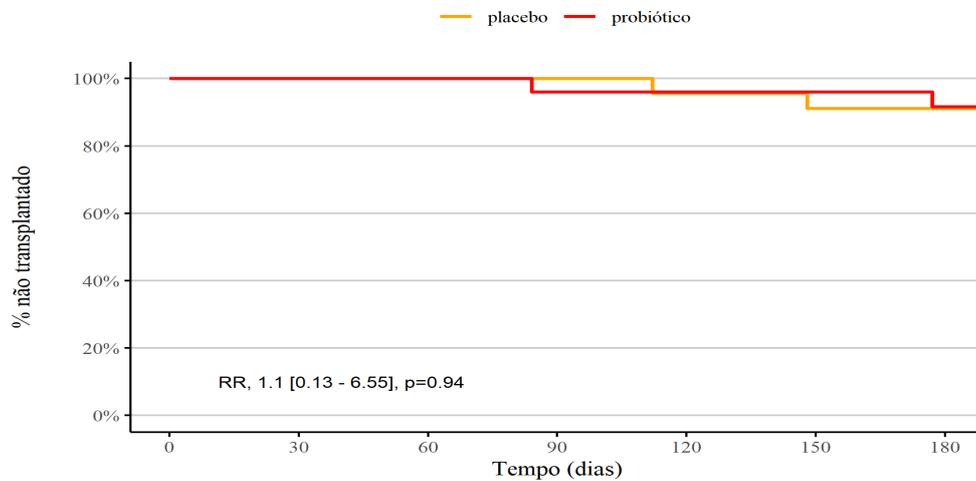
Figura 3 - Curva de sobrevivência da população estudada.



Pacientes em risco

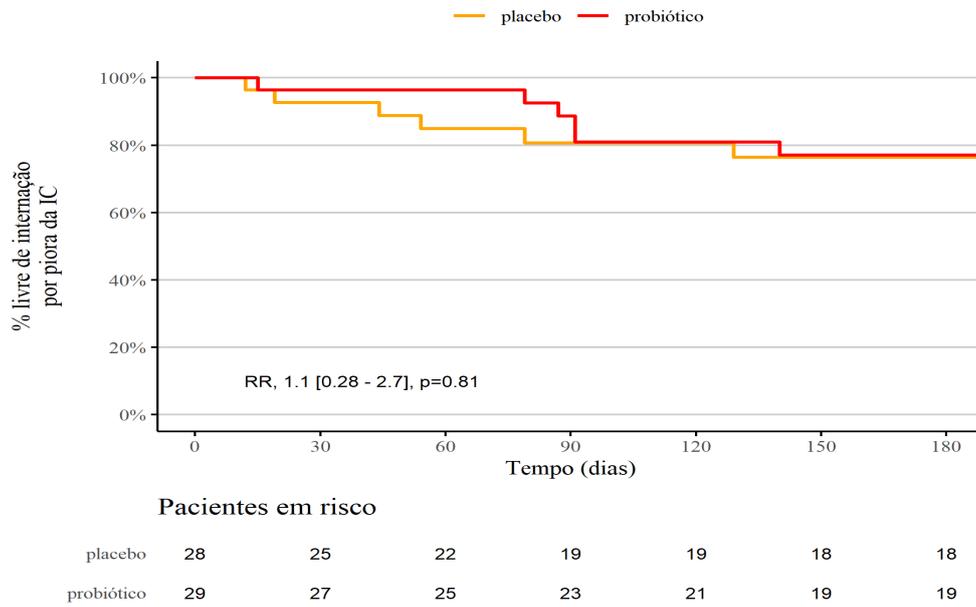
placebo	28	27	26	24	22	22	20
probiótico	29	27	25	25	25	24	23

Figura 4 –Curva de tempo livre de transplante da população.



Pacientes em risco

placebo	28	27	26	24	21	20	19
probiótico	29	27	25	24	24	23	21

Figura 5 – Curva de internação por piora da IC.

Com relação às infecções, não foi observada ocorrência de infecção com necessidade de antibioticoterapia nos pacientes incluídos na pesquisa. E, no que diz respeito à adesão ao consumo das cápsulas, essa foi acima de 90% em ambos os grupos.

5. DISCUSSÃO

5. Discussão

Em nossa amostra composta por pacientes com IC avançada, ao final do seguimento de seis meses, a suplementação do probiótico não apresentou efeitos na concentração plasmática das citocinas TNF- α e interleucinas 1,6 e 10 e demais parâmetros bioquímicos comparada com o placebo. Além disso, não foram observados efeitos nos desfechos clínicos (transplante, internação e óbito) e variáveis antropométricas. Quando foram realizadas comparações intragrupos, os pacientes que receberam probiótico apresentaram um aumento significativo da IL10 e LPS após os seis meses. No grupo probiótico ainda, houve aumento significativo na quantidade de pacientes que relatavam apetite preservado.

Diferente dos ensaios clínicos já publicados com probiótico em pacientes com IC avançada, conforme descrito na tabela 2 anteriormente, o nosso estudo foi o primeiro, até o momento, que teve como objetivos verificar efeitos da suplementação de probiótico nos níveis plasmáticos de TNF- α , IL1, IL6 e IL10.

Ao final do período de seguimento, nossa hipótese de que a suplementação com o probiótico iria reduzir os níveis plasmáticos do TNF- α não pôde ser confirmada, pois, ao contrário do esperado, os pacientes com probióticos não apresentaram diferença quando comparados ao placebo.

O TNF- α tem sido objeto de estudo em pacientes com IC e sua inibição sugerida como potencial alvo de terapias, tendo em vista seus efeitos na progressão da IC e impacto no prognóstico.⁸ Essa citocina é produzida por várias células, dentre elas as células cardíacas e seus níveis se correlacionam com a gravidade da IC, aumentando à medida que a doença progride, especialmente em pacientes com FEVE reduzida.^{7,8,13,15} O primeiro estímulo, na IC, para aumento da produção dessa citocina é o estresse mecânico ao qual o coração está submetido, além do aumento do volume relacionado à congestão.¹¹

Os pacientes que fizeram parte desse estudo, apresentavam IC avançada, CF III e IV ou em fila para transplante cardíaco, FEVE reduzida ($\leq 30\%$) e alta demanda de diuréticos em ambos os grupos, demonstrando a gravidade da população estudada, podendo essa ser uma das causas da ausência de diferença entre os grupos, já que a concentração plasmática do TNF- α se correlaciona com a gravidade

da IC.¹⁵ Além disso, o grupo probiótico apresentava pacientes com idade mais avançada e FEVE menor quando comparados ao placebo.

Além da FEVE, um outro fator que serve de estímulo para o aumento da produção do TNF- α é a congestão¹¹. E em ambos os grupos, foi observado o aumento da dose de diuréticos ao final do estudo, mostrando que estavam com piora da volemia, podendo também impactar nos níveis de TNF- α e nos efeitos do probiótico nessa citocina.

Em estudos *in vivo*, entretanto, usando esse mesmo probiótico, em outras doenças inflamatórias, houve redução dos níveis plasmáticos do TNF- α .^{49,50,52} Entretanto, em nossa casuística, composta por pacientes com IC avançada, o probiótico suplementado não exerceu diferença nos níveis do TNF- α quando comparado ao placebo.

No ensaio clínico realizado por Bajaj e colaboradores⁴⁵, utilizando probióticos em indivíduos com cirrose, a suplementação com uma outra cepa de probiótico, mostrou efeito no TNF- α , reduzindo seus níveis quando comparado com placebo.

Outro dado interessante que encontramos, e que também pode ajudar a compreender o achado com relação ao TNF- α , foi o comportamento da LPS no grupo que recebeu probiótico, apresentando, diferente do esperado também, aumento significativo após o período de seis meses, quando realizada a comparação intragrupos.

A LPS faz parte da estrutura de bactérias potencialmente patogênicas e, em momentos que a mucosa intestinal está mais permeável, pode ultrapassá-la e cair na circulação, estimulando a cascata de inflamação. Dentre esses momentos de maior permeabilidade, temos a congestão e edema de alças intestinais. A LPS responde a oscilações volêmicas, apresentando aumento em momentos de maior congestão e descompensação da IC, reduzindo após ajustes de diuréticos e compensação da doença.^{14,24,26,27} E, ambos os grupos apresentaram um aumento da dose de diuréticos, o que pode provavelmente ter exercido impacto nos níveis de LPS, podendo talvez ser uma justificativa para nosso achado.

A LPS é um dos principais indutores da produção do TNF- α e outras citocinas. Alguns estudos mostram que, mesmo pequenas concentrações de LPS circulante são

suficientes para induzir a secreção do TNF- α .¹⁴ Em nossa amostra, os pacientes que receberam probiótico apresentaram aumento significativo da LPS circulante e, em menor proporção, dos níveis de TNF- α , sugerindo haver uma relação entre os dois, e que, possivelmente, os pacientes que receberam probiótico, estavam mais congestionados. Esse aumento da LPS possivelmente possa ser uma das hipóteses para explicar nosso achado com relação ao TNF- α .

Os probióticos, dentre seus benefícios propostos por estudos, apresentam ação na manutenção de mucosa intestinal menos permeável, reduzindo assim, a translocação da LPS para a circulação, reduzindo parcialmente o estímulo à inflamação³⁹. Em nossa população estudada, os resultados foram diferentes do esperado levando em conta as evidências encontradas na literatura. Além da alteração volêmica que pode impactar nos níveis plasmáticos do LPS, aqui demonstrada pelo aumento da dose de diurético em ambos grupos ao final da pesquisa, existem fatores importantes a serem considerados com relação ao probiótico e sua ação.

A IL6 ao ser comparada entre os grupos não apresentou diferença. Ao comparar os indivíduos intragrupos, observamos que no grupo placebo, a IL6 apresentou redução significativa. Assim como ocorre com o TNF- α , a concentração da IL6 apresenta correlação com gravidade em pacientes com IC¹⁵, e, considerando que, em nossa casuística os pacientes alocados no grupo probiótico apresentavam maior gravidade de IC, essa pode ser considerada uma das possíveis hipóteses para nosso achado com relação à IL6.

Ao comparar a IL1 entre os grupos, não foi encontrada diferença significativa ao final do seguimento. Diferente do nosso achado, estudos experimentais, utilizando probiótico em outras doenças de caráter inflamatório (colite e artrose) mostraram que a suplementação dessa cepa de probiótico colaborou com a redução da IL6 e da IL1 após o tempo de seguimento.^{49,50,51,52,53}

Já está bem descrito na literatura que a IL1 sofre influência do TNF- α ¹¹. Seguindo essa relação, essa pode ser uma hipótese para o aumento da IL1 nos pacientes com probióticos.

A IL10, ao final do tempo de seguimento, ao ser comparada entre os grupos, não apresentou diferença significativa entre eles. Entretanto, ao analisar os resultados intragrupos, observamos que, nos pacientes que foram suplementados com probiótico apresentaram uma melhora significativa em seus níveis, aumentando após seis meses de intervenção (0,69 para 1,13 ng/mL, $p=0,032$). Essa citocina é essencial para a regulação das atividades imunológicas, especialmente na resposta inflamatória, auxiliando a reduzir diversas citocinas inflamatórias, como IL1, IL6 e TNF- α . Sua resposta à intervenção com probióticos depende de alguns aspectos como a cepa usada e resposta da microbiota comensal do indivíduo.^{10,12,13,66}

Nosso achado referente à IL10 vai de encontro com os resultados publicados por Milajerdi e cols⁴⁴, em 2020, que mostraram um aumento na concentração plasmática da IL10 com a suplementação de probióticos em diversas patologias. Em estudos experimentais usando o LA, assim como nossa casuística, a IL10 apresentou aumento em sua concentração com a suplementação.^{49,50,51,52,53}

O BNP é produzido como resposta ao estresse mecânico ao qual o miocárdio está submetido na IC, sendo um método não invasivo de avaliação de congestão e gravidade.⁶⁷ Ao comparar os níveis plasmáticos de BNP entre os grupos, não foram encontradas diferenças entre eles, apesar de, ambos os terem apresentado redução em seus níveis, provavelmente devido ao aumento da dosagem dos diuréticos ao longo do seguimento.

Comparando os níveis plasmáticos da PCR no momento basal da pesquisa, não havia diferença entre eles, sendo diferente do encontrado por Constanza e cols⁵⁴, no qual, a suplementação com probiótico colaborou com redução da PCR. Efeitos de redução da PCR em pacientes com probiótico também foram demonstrados por Moludi e cols⁵⁶, em seu estudo publicado em 2021.

Ainda sobre a PCR, similarmente aos nossos resultados, o estudo *GutHeart*⁵⁵ também não encontrou efeitos significativos da suplementação do probiótico. Da mesma forma, Karim e cols⁵⁷, em 2022 também não encontraram efeitos da suplementação de iogurte enriquecido com probiótico nos níveis da PCR.

Com relação aos parâmetros antropométricos, não foram encontradas diferenças expressivas nos pacientes no período basal e, ao comparar os grupos após

o seguimento, também não foram encontradas diferenças. Ao comparar os indivíduos intragrupos, os pacientes do grupo placebo apresentaram redução significativa nas medidas da CMB e AMBc. Evidências na literatura mostram que, a perda de reservas, principalmente muscular em pacientes com IC tende a começar antes mesmo de haver alterações perceptíveis no peso¹⁹ e, além disso, o peso pode estar mascarado pela retenção hídrica, dificultando a análise de composição corporal apenas utilizando peso e as medidas são uma estimativa das reservas⁶⁸.

O aumento das citocinas inflamatórias no paciente com IC tem diversos efeitos deletérios. Afetam a captação de oxigênio pelas células musculares, reduzindo a tolerância ao exercício físico. Além disso, colaboram com anemia, sarcopenia e aumento do volume plasmático devido maior reabsorção de sódio e líquidos. As citocinas estimulam ainda a apoptose das células musculares, colaborando com a redução das reservas e piorando funcionalidade física, afetando a qualidade de vida do paciente.^{8,15}

A redução de tecido muscular se inicia antes da depleção de tecido adiposo e um dos mecanismos propostos é a ação do TNF- α , IL1 e IL6 no estímulo da proteólise¹⁹. Em nossa população estudada, especialmente nos indivíduos alocados no grupo placebo, observamos que houve redução da CMB e AMBc, que são formas de estimar as reservas de tecido muscular, indo de encontro ao relatado na literatura, na redução de tecido muscular prévia ao tecido adiposo.¹⁹

Quando foram comparadas as etiologias dos grupos, não foram encontradas diferenças significativas ao comparar os biomarcadores entre os grupos e etiologias, tanto no início quanto ao final da pesquisa. Somente a FEVE, no início do seguimento, se apresentou menor nos pacientes do grupo probiótico, tanto com miocardiopatia chagásica quanto com as demais etiologias. Demonstrando que no grupo probiótico, independente da etiologia, os pacientes eram um pouco mais graves.

Apesar de uma queixa muito presente, os mecanismos para explicar a perda de apetite (anorexia) nessa população ainda não estão completamente elucidados. O que se sabe é que a inflamação colabora com essa redução, principalmente o TNF- α e IL1. Além de outras queixas como plenitude gástrica e náuseas que também impactam no apetite e conseqüentemente, no consumo alimentar.^{30,32,36,37,69,70}

Em nosso estudo, utilizamos o QNSA^{36,37} para mensurar o apetite e avaliamos de duas formas, tanto pela pontuação quanto pela classificação (apetite reduzido ou preservado). Quando analisamos sob o aspecto da classificação entre reduzido e preservado, no início do seguimento não havia diferença entre os grupos, mas ao analisar a pontuação do questionário, os pacientes do grupo probiótico apresentaram uma menor pontuação. Um achado interessante foi que, ao final do seguimento, no grupo probiótico, o percentual de pacientes referindo apetite preservado teve um aumento significativo. Nosso achado com relação ao apetite foi semelhante a alguns estudos com pacientes com IC, nos quais, os pacientes estudados também apresentaram apetite reduzido.^{69,70} E, ao final do seguimento, no grupo probiótico, a melhora do apetite pode ter relação com melhora da congestão, sugerida pela redução do BNP e aumento de diuréticos.

Essa ferramenta ainda ajuda, de acordo com a pontuação do questionário do paciente a mostrar quais pacientes apresentam maior risco de perda de peso nos últimos seis meses.³⁶ Em nosso estudo, não observamos diferença de peso entre os grupos. Entretanto, um ponto importante a ser levantado com relação ao peso é que, em pacientes com IC, o peso e IMC podem estar influenciados pela congestão, não sendo formas eficazes para determinar composição corporal, se fazendo importante adoção de outros métodos, como antropometria para estimativa de reservas³⁴, e em nossa população estudada, observamos no grupo placebo indícios de redução de reservas musculares. Métodos mais sensíveis para determinação de composição corporal são interessantes, como a bioimpedância elétrica, para avaliar de forma mais precisa as reservas musculares e de tecido adiposo, e dessa forma, realizar intervenção mais precocemente possível, ajudando a prevenir complicações da caquexia, melhorando qualidade de vida.

Durante o seguimento tivemos 5 desistências, 2 no grupo probiótico e 3 no grupo placebo. Os motivos do grupo probiótico foram dificuldade em deglutir as cápsulas (1) e náuseas (1) e no grupo placebo, náuseas (2) e participação não informada no início da pesquisa de outro protocolo (1). Assim como no nosso estudo, no trial *GutHeart*⁵⁵ também pacientes apresentaram desistência por sintomas relacionados ao TGI (5 no grupo probiótico). Nessa população, a náusea é um sintoma muito comum e inespecífico, sendo sua origem multifatorial. Dentre os motivos podemos citar: interferência no hipotálamo exercida pelas citocinas e afetando o

estímulo do apetite¹⁹, saciedade precoce secundária a congestão hepática³⁰, efeitos colaterais dos fármacos³⁰.

A terapia farmacológica para pacientes com IC vem sendo cada vez mais otimizada. Quando iniciamos esse ensaio clínico, alguns fármacos que hoje são utilizados no tratamento, na época ainda não faziam parte da rotina, como o sacubitril associado com valsartana e os inibidores do co-transportador de sódio-glicose 2 (ISGLT-2). O sacubitril associado com valsartana apresenta efeito significativo na redução de óbitos e hospitalizações por IC quando comparado com IECA.⁷¹ O ISGLT-2, originalmente elaborado para controle glicêmico, recentemente tem sido incluído como parte da terapia farmacológica da IC por alguns motivos, dentre eles se destacam redução da atividade do sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA), sistema nervoso simpático, estímulo natriurese e diurese, além de melhora da FEVE⁷².

Os pacientes incluídos em nosso estudo, no momento da randomização, não faziam uso dessas medicações, principalmente o ISGLT2, que começou a ser mais usado como opção terapêutica na IC em meados de 2019⁷¹. As medicações otimizadas impactam no curso clínico da doença e prognóstico e em estudos futuros, essa observação poderá ser melhor estudada.

O probiótico apresenta várias formas de atuação, uma delas é a competição com microrganismos patógenos da microbiota comensal, reduzindo a ação destes no local^{38,40}. Já está bem descrito na literatura que os pacientes com IC apresentam uma variação na composição da microbiota intestinal, com redução na diversidade de microrganismos e aumento de espécies potencialmente patógenas, que tendem aumentar à medida que a CF piora.^{8,21,47} Em nosso estudo, não fizemos análise da composição da microbiota dos pacientes, mas, seguindo o raciocínio de alteração da composição que é característica nessa população, esses aspectos podem ter influenciado na resposta à suplementação do probiótico.

Existem muitos fatores que podem influenciar a composição da microbiota. Dentre esses, fatores ambientais, alimentação, estresse, hábitos de vida (atividade física e sono).²⁴ Esses fatores são facilmente encontrados nos pacientes com IC. Ensaio clínico em humanos muitas vezes apresentam resultados diferentes dos estudos experimentais, principalmente devido ao fato de, em estudos com animais, todos os aspectos que influenciam no estudo são controlados, principalmente

ambiente e alimentação, o que, em estudos com humanos é inviável esse controle. Em nosso estudo, todos os participantes eram orientados a não consumir alimentos com probióticos, mas demais aspectos como fatores ambientais não estavam sob controle, o que pode, em partes, ter influenciado nos resultados.

Além da composição da microbiota poder ter impactado no efeito do probiótico em nossa amostra, uma outra hipótese é que, a dose usada possa ter sido insuficiente para encontrarmos impacto em pacientes com IC avançada, apesar de que, evidências na literatura utilizam diversas dosagens de suplementação, indo desde a quantidade mínima (10^7 a 10^9 UFC) até uma quantidade mais elevada e, ambas apresentam efeitos promissores sobre as citocinas inflamatórias^{45,52,53,54,55,56,59}

Ainda sobre o probiótico que foi utilizado, era composto por uma espécie apenas. Alguns estudos sugerem que, muitas vezes, a associação de espécies probióticas possa ter efeitos diferentes do que quando utilizados de forma isolada⁷³, ficando aqui o questionamento que, se fossem associadas duas ou mais espécies, em nossos pacientes com IC avançada, os achados poderiam ser diferentes.

Em nosso estudo, com desenho duplo-cego, os pacientes com IC avançada foram alocados de forma randomizada para receberem placebo ou probiótico. Os indivíduos alocados para receberem probiótico apresentavam uma FEVE menor do que os do grupo placebo demonstrando maior gravidade nesse grupo e já está bem demonstrado na literatura que, pacientes com FEVE reduzida apresentam redução da perfusão de uma forma geral, inclusive do trato gastrointestinal, favorecendo permeabilidade intestinal e consequente aumento da inflamação.^{7,8}

A FEVE em ambos os grupos, após o período de seguimento, não apresentou alterações significativas, mantendo a mesma mediana do início ao final do estudo. Essa manutenção dos valores de FEVE foi diferente do demonstrado por Constanza e cols⁵⁴, que em seu estudo piloto, no qual os pacientes que receberam o probiótico *Saccharomyces boulardii*, apresentaram uma melhora significativa na FEVE ao final do seguimento. Já o estudo *GutHeart*⁶⁵, publicado em 2021, assim como o nosso, não encontrou diferença na FEVE nos pacientes que foram submetidos à suplementação de probióticos, sugerindo que, a suplementação desses microrganismos não tenha impacto sobre a FEVE de uma população com IC avançada.

A suplementação de probióticos aparenta ser promissora no contexto de inflamação, mas ao tratar de pacientes com IC, alguns questionamentos ainda precisam ser elucidados, como por exemplo, qual a espécie de probiótico mais eficiente, se uma cepa ou várias poderia ter outros efeitos, qual a dose e tempo de intervenção, não podendo deixar de levar em consideração que as características de cada paciente (composição de microbiota comensal), estilo de vida e hábitos alimentares também influenciam na resposta à suplementação desses microrganismos.^{21,29}

A suplementação de probiótico parece exercer efeitos na inflamação em diversas situações, entretanto na IC, nosso estudo e nos demais publicados até o momento, ainda não foram encontrados efeitos. Nossos resultados, porém, não podem ser extrapolados para todos os pacientes com IC considerando algumas limitações encontradas em nosso trabalho. Dentre elas se destacam o tamanho reduzido da amostra, seu caráter unicêntrico, não comparação entre diferentes doses de probióticos, utilização de uma única cepa e não inclusão de pacientes com IC menos grave; além disso, não foram realizadas análises bioquímicas intermediárias, com três meses de seguimento e a composição da microbiota intestinal também não foi realizada.

A partir das limitações acima citadas surgem perspectivas de novos estudos, visando esclarecer se a suplementação de probiótico teria impacto na redução de inflamação em pacientes com perfis menos graves de IC ou se os resultados aqui expostos são decorrentes de limitação inerente dos probióticos na IC. Neste contexto, além de considerar a avaliação de pacientes com IC menos graves, podemos estudar doses diferentes de probióticos, combinações de duas ou mais cepas e a análise de composição de microbiota em projetos futuros.

6. CONCLUSÕES

6. CONCLUSÕES

Ao final desse ensaio clínico, ao compararmos os grupos estudados, a suplementação do probiótico não apresentou efeitos na redução dos níveis plasmáticos de TNF- α

Não foram observados também efeitos nos níveis plasmáticos das interleucinas, BNP e PCR, assim como, não houve diferença entre os grupos no contexto parâmetros antropométricos e desfechos clínicos.

Ao realizar comparações intragrupos, a IL10 e LPS apresentaram aumento significativo no grupo suplementado com probiótico. E ainda no grupo probiótico, a percepção de apetite preservado apresentou aumento significativo.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1-Bozkurt B et al. Universal Definition and classification of Heart Failure: A report of the Heart Failure Society of America, Heart Failure Association of the European Society of Cardiology, Japanese Heart Failure Society and Writing Committee of the Universal Definition of Heart Failure. *J Card Fail* 2021; 27 (4): 387-413

2-Mangini S et al. Insuficiência cardíaca descompensada. *Einstein* 2013; 11 (3): 383-91.

3- Oliveira GMM et al. Estatística Cardiovascular – Brasil 2023. *Arq. Bras. Cardiol.* 2024;121(2):e20240079.

4- Bacal F et al. 3ª Diretriz Brasileira de Transplante Cardíaco. *Arq Bras Cardiol* 2018; 111 (2): 230-89.

5- Rohde LEP et al. Diretriz Brasileira de Insuficiência Cardíaca Crônica e Aguda. *Arq. Bras. Cardiol.* 2018;111(3):436-59.

6 – Marcondes-Braga FG et al. Atualização de tópicos emergentes da Diretriz Brasileira de Insuficiência Cardíaca. *Arq Bras Cardiol* 2021; 116 (6): 1174-1212.

7- Ameri P et al. Novel basic Science insights to improve the management of heart failure: Review of the working group on cellular and molecular biology of the heart of the Italian Society of Cardiology. *Int J Mol Sci* 2020; 21 (4): 1192.

8- Murphy SP; Kakkar R; McCarthy CP; Januzzi JL. Inflammation in heart failure – JACC State-of-the-art review. *J Am Coll Cardiol* 2020; 75 (11): 1324-40.

9- Gullestad L et al. Inflammatory cytokines in heart failure: mediators and markers. *Cardiology* 2012; 122 (1): 23-35.

10– Anker SD; von Haehling S. Inflammatory mediators in chronic heart failure: an overview. *Heart* 2004; 90 (4): 464-70.

11- Hedayat M et al. Proinflammatory cytokines in heart failure: a double-edged sword. *Heart Fail Rev* 2010; 15 (6): 543-62.

12- Oliveira CMB et al. Citocinas e dor. *Rev Bras Anesthesiol* 2011; 61 (2): 255-65.

13 -Amir O et al. Circulating interleukin 10: Associated with higher mortality in systolic heart failure with elevated tumor necrosis factor alpha. *Isr Med Assoc J* 2010; 12 (3): 158-62.

14- von Haeling S et al. Inflammatory biomarkers in heart failure revisited: more than innocent bystanders. *Heart Fail Clin* 2009; 5 (4): 549-60.

15- Sack MN. The enigma of anti-inflammatory therapy for the management of heart failure. *Cardiac Res* 2020; 116 (1): 6-8.

16 - LeBlanc AM et al. Importance of IL-10 modulation by probiotic microorganisms in gastrointestinal inflammatory diseases. *ISRN Gastroenterol* 2011; 2011: 892971.

17- Stafford N et al. Signaling via the interleukin-10 receptor attenuates cardiac hypertrophy in mice during pressure overload, but not isoprotenerol insufion. *Front Pharmacol* 2020; 11: 559220.

18 - Sarhene M et al. Biomarkers in heart failure: the past, current and future. *Heart Fail Rev* 2019; 24 (6): 867-6.

19 – Valentova M; Anker SD; von Haehling S. Cardiac Cachexia revisited: The role of wasting in heart failure. *Heart Fail Clin* 2020; 16 (1): 61-69.

20 – Chaikijurai T; Tang WHW; Gut microbiome and precision nutrition in heart failure: Hype or hope? *Curr Heart Fail Rep* 2021; 18 (2): 23-32.

- 21- Gallo A; Macerda N; Favuzzi AM; Nicolazzi MA; Gasbarrini A; Montalto M. The gut in heart failure: current knowledge and novel frontiers. *Med Princ Pract* 2022; 31 (3): 203-14
- 22 – Guan X; Sun Z. The role of intestinal flora and its metabolites in heart failure. *Infect Drug Resist* 2023; 16: 51-64
- 23 – Tang WHW. We are not alone: Understanding the contributions of intestinal microbial communities and the congested gut in heart failure. *JACC Heart Fail* 2016; 4(3): 228-9
- 24 – Paraskevaidis I et al. Human gut microbiota in heart failure: Trying to unmask an emerging organ. *Biomedicines* 2023; 11 (9): 2574
- 25 – Kamo T et al. Novel concept of a heart-gut axis in the pathophysiology of heart failure. *Korean Circ J* 2017; 47 (5): 663-69.
- 26 - Henrina J et al. Gut microbiota as a potential treatment target in patient with chronic heart failure. *SN Compr Clin Med* 2020; 2: 1614-27
- 27 – Mamic P; Chaikijurajai T; Tang WHW. Gut microbiome - A potential mediator of pathogenesis in heart failure and its comorbidities. State-of-the-art review. *J Mol Cell Cardiol* 2021; 152: 105-17.
- 28 - Sandek A et al. Altered intestinal function in patients with chronic heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2007; 50 (16): 1561-9.
- 29 – Petruziello C et al. The role of gut microbiota and the potential effects of probiotics in heart failure. *Medicina*. 2024; 60 (2): 271
- 30- Okoshi MP et al. Cardiac cachexia and muscle wasting: definition, physiopathology and clinical consequences. *Research Reports in Cardiology* 2014; 5: 319-26.

- 31- Kuehneman T et al. Academy of Nutrition and Dietetics Evidence-Based Practice Guideline of Heart Failure in Adults. *J Acad Nutr Diet* 2018; 118 (12): 2331-2345.
- 32 – Sandek A; Anker SD; von Haehling S. The gut and intestinal bacteria in chronic heart failure. *Curr Drug Metab* 2009; 10 (1): 22-8.
- 33 – Kryzstofiak H et al. Cardiac cachexia: A well-known but challenging complication of heart failure. *Clin Interv Aging* 2020;15: 2041-51.
- 34 – Rahman A et al. Malnutrition and cachexia in heart failure. *JPEN J Parenter Enteral Nut* 2016; 40 (4): 475-86.
- 35- Wilson MMG et al. Appetite assessment: simple questionnaire predicts weight loss in community-dwelling adults and nursing home residents. *Am J Clin Nutr* 2005; 82 (5): 1074-81.
- 36 -Sties SW et al. Questionário nutricional simplificado de apetite (QNSA) para uso em programas de reabilitação cardiopulmonar e metabólica. *Rev Bras Med Esporte* 2012; 18 (5): 313-17.
- 37- Andreae C et al. Psychometric evaluation of two appetite questionnaires in patients with heart failure. *J Card Fail* 2015; 21 (12): 954-8.
- 38- Coppola MM; Turnes CG. Probióticos e Sistema immune. *Cienc Rural* 2004; 34 (4): 1297-303.
- 39- La Fata G; Weber P; Mohajeri MH. Probiotics and the gut immune system: Indirect regulation. *Probiotics Antimicro Prot* 2018; 10 (1): 11-21.
- 40- Plaza-Diaz J et al. Mechanisms of action of probiotics. *Adv Nutr* 2019; 10 (Suppl-1): 549-66.

- 41 – Markowiak P; Slizewska K. Effects of probiotics, prebiotics and symbiotics on human health. *Nutrients* 2017; 9 (9): E1021.
- 42– Pandey KR; Naik SR; Vakil BV. Probiotics, prebiotics and symbiotics – A review. *J Food Sci Technol* 2015; 52 (12): 7577-87.
- 43 – Minelli ER; Benini A. Relationship between number of bacteria and their probiotic effects. *Microb Ecol Health Dis* 2008; 20 (4): 180-3.
- 44 – Milajerdi A et al. The effect of probiotics on inflammatory biomarkers: a meta-analysis of randomized clinical trials. *Eur J Nutr* 2020; 59 (2): 633-49.
- 45 - Bajaj JS et al. Randomized clinical trial: lactobacillus gg modulates gut microbiome, metabolome and endotoxemia in patients with cirrhosis. *Aliment Pharmacol Ther* 2014; 39 (10): 1113-1125.
- 46– Bull M et al. The life story of *L.acidophilus* as a probiotic: a take of revisionary taxonomy, misidentification and commercial success. *FEMS Microbiol Lett* 2013; 349 (2): 77-87.
- 47– Stahl B; Barrangou R. Complete genome sequence of probiotic strains *L.acidophilus* LA14. *Genome Announc* 2013; 1 (3): e00376-13.
- 48– Oh S. *Lactobacillus acidophilus* as probiotics. *J Milk Sci Biotechnol* 2019; 37 (3): 155-66.
- 49- Amdekar S et al. *Lactobacillus acidophilus* protected organs in experimental arthritis by regulating the pro-inflammatory cytokines. *Ind J Clin Biochem* 2014; 29 (4): 471-8.
- 50-Wang MX et al. Evodiamine has therapeutic efficacy in ulcerative colitis by increasing *Lactobacillus acidophilus* levels and acetate production. *Pharmacol Res* 2020; 159: 104978.

51 – Lee SH et al. *Lactobacillus acidophilus* ameliorates pain and cartilage degradation in experimental osteoarthritis. *Immunol Lett* 2018; 203: 6-14.

52– Kim DH et al. *Lactobacillus acidophilus* suppresses intestinal inflammation by inhibiting endoplasmatic reticulum stress. *J Gastroenterol Hepatol* 2019; 34 (1): 178-85.

53 – Kim WK et al. Alleviation of DSS-induced colitis via *Lactobacillus acidophilus* treatment in mice. *Food Funct* 2021; 12 (1): 340-50.

54 – Constanza AC et al. Probiotic therapy with *S.boulardii* for heart failure patients: A randomized, double-blind placebo-controlled pilot trial. *Int J Cardiol* 2015; 179: 348-50.

55– Awoyemi A et al. Rifaximin or *Saccharomyces boulardii* in heart failure with reduced ejection fraction: Results from the randomized GutHeart Trial. *EBioMedicine* 2021; 70: 103511

56 – Moludi J et al. Probiotics supplementation on cardiac remodeling following myocardial infarction: a single-center, double-blind clinical study. *J Cardiovasc Transl Res* 2021; 14 (2): 299-307.

57- Karim A; et al. A multistrain probiotic reduces sarcopenia by modulating wnt signaling biomarkers in patients with chronic heart failure. *J Cardiol* 2022; 80: 449-55.

58 – Pourrajab B et al. The impact of probiotic yogurt versus ordinary yogurt on serum sTweak, SCD 163, ADMA, LCAT and BUN in patients with chronic heart failure: a randomized, triple-blind, controlled-trial. *J Sci Food Agric* 2022; 102 (13): 6024-35

59- World Health Organization (WHO). Obesity: Preventing and managing the global epidemic: Report of a WHO Consultation. Geneva: World Health Organization: 2000. (WHO Technical Report Series, 894).

60 – Organización Panamericana de la Salud (OPAS). División de Promoción y Protección de la Salud (HPP). Encuesta multicentrica salud bienestar y envejecimiento (SABE) en América Latina: informe preliminar/Multicenter survey aging, health and wellbeing in Latin America and the Caribbean (SABE): preliminary report. Washington,D.C, Organizati3n Panamericana de la Salud: 19p, 2001.

61 – Frisancho AR. Anthropometric standards for the assessment of growth and nutritional status. Ann Arbor: University of Michigan Press; 1990.

62 - Blackburn GL, Thornton PA. Nutrition assessment of the hospitalized patients. *Med Clin North Am* 1979; 63: 1103-15.

63 - Frisancho AR. New norms of upper limb fat and muscle areas for assessment of nutritional status. *Am J Clin Nutr* 1981; 34: 2540-2545.

64 - Heymsfield SB, Thighe A, Wang ZM. Nutritional assessment of malnutrition by anthropometric methods. In: Shills ME, Olson AJ, Shije M. Modern Nutrition in health and disease. 9th ed. Baltimore: Williams & Wilkins; 1999. p.812-41.

65 – Schulz KF; Altman DG; Moher D; CONSORT group. CONSORT 2010 statement: updated guidelines for reporting parallel group randomized trials. *BMJ* 2010; 23: 340: c332.

66 – Kaji R et al. *Short communication*: Probiotic induction of interleukin-10 and interleukin-12 production by macrophages is modulated by co-stimulation with microbial components. *J Dairy Sci* 2018; 101 (4): 2838-41.

67 – Correale M et al. The role of congestion biomarkers in heart failure with reduced ejection fraction. *J Clin Med* 2023; 12 (11): 3834

68- Cairro A; Panisello JM; Coats AJS. Nutritional status in advanced heart failure and heart transplant patients. *Rev Esp Cardiol* 2017; 70 (8): 626-28.

69- Kaluzna-Olesky M et al. Appetite and nutritional status as potential management target in patients with heart failure with reduced ejection fraction – The relationship between echocardiographic and biochemical parameter and appetite. *J Pers Med* 2021; 11 (7): 639.

70 – Andrae C; Stromberg A; Arestedt K. Prevalence and associated factors for decreased appetite among patients with stable heart failure. *J Clin Nurs* 2016; 25 (11-12): 1703-12.

71- Tsutsui H. Recent advances in the pharmacological therapy of chronic heart failure: Evidence and guidelines. *Pharmacol Ther* 2022; 238: 108185

72- Munteanu MA et al. SGLT2 inhibitor: an emerging pillar in heart failure therapeutics? *Maedica (Bucur)* 2023; 18 (1): 102-110.

73- Vincenzi A; Goettert MI; Souza CFV. An evaluation of the effects of probiotics on tumoral necrosis factor (TNF- α) signaling and gene expression. *Cytokine Growth Factor Rev* 2021; 57: 27-38.

ANEXOS

ANEXO A – Termo consentimento livre e esclarecido (TCLE)

HOSPITAL DAS CLINICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE
DE SAO PAULO- HCFMUSP

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO- TCLE

DADOS DA PESQUISA

TÍTULO PESQUISA: Estudo da importância da microbiota intestinal em pacientes portadores de insuficiência cardíaca crônica – Estudo randomizado, duplo-cego.

PESQUISADOR PRINCIPAL: Prof^o Dr. Fernando Bacal

DEPARTAMENTO/INSTITUTO: Unidade Clínica de Transplante Cardíaco do Instituto do Coração HCFMUSP (InCor-HCFMUSP)

-Convidamos o(a) Sr. (a) para participar dessa pesquisa que, tem como objetivo, avaliar se o consumo de probióticos (*Lactobacillus acidophilus*), que são bactérias benéficas, pode auxiliar na redução da inflamação e, dessa maneira, melhorar a sua qualidade de vida, contribuindo com menores taxas de internação, perda de apetite, perda de peso.

-Estudos têm demonstrado que, pacientes com insuficiência cardíaca, como é o caso do Sr (a), apresentam diversas alterações, dentre elas, alterações intestinais, que, podem contribuir com o aumento da inflamação. Já é bem descrito que, os probióticos apresentam muitos benefícios, especialmente para a flora intestinal, diminuindo inclusive a passagem de bactérias ruins e suas substâncias prejudiciais para a corrente sanguínea.

-Caso o (a) Sr.(a) aceite em participar desse protocolo de pesquisa, será então agendada uma consulta no ambulatório do InCor , e, nessa primeira consulta, será coletada uma amostra de sangue, para análise. Ainda nessa primeira consulta, o (a) Sr.(a) será atendido pela pesquisadora executante, Tatiana Teixeira Gomes, na qual, serão coletados dados como peso, altura, hábito alimentar e um questionário para avaliar seu apetite.

-Ao final da primeira consulta, o (a) Sr.(a) irá receber um pote com 32 cápsulas, onde, poderá ser a cápsula contendo o probiótico ou um placebo (um comprimido contendo óleo vegetal e amido de milho). Essas cápsulas deverão ser tomadas diariamente, de preferência após o café da manhã.

Rubrica Sujeito de pesquisa ou responsável: _____

Rubrica Pesquisador: _____

-O (a) Sr.(a) terá retorno agendado a cada 30 dias para monitoramento do peso e apetite. A cada retorno receberá um novo pote com cápsulas. Importante reforçar que as cápsulas devem ser tomadas diariamente e que, nem o (a) Sr (a) e nem a pesquisadora executante saberão quem está recebendo a cápsula com o probiótico e a cápsula com o placebo.

-Após 6 meses de acompanhamento, na última consulta, o (a) Sr. (a) precisará colher mais uma amostra de sangue para análise final, para verificarmos se houve melhoras.

-Essa é uma pesquisa com risco mínimo para o (a) Sr (a), sendo aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa, e o únicos desconfortos que poderão ocorrer é o desconforto das duas coletas de sangue, que serão realizadas no próprio laboratório do InCor, e, poderá ocorrer, eventualmente, desconforto gástrico como sensação de empachamento, gases, por esse motivo, recomenda-se não consumir as cápsulas em jejum. Caso apareça qualquer um desses sintomas, o (a) Sr (a) deverá entrar em contato nos notificando.

-Espera-se que, os pacientes que receberem o probiótico, apresentem a redução da inflamação e, assim, melhorando o apetite, reduzindo perda de peso, contribuindo para uma melhor qualidade de vida, com menos internações recorrentes.

- Ao final da pesquisa, o (a) Sr (a) irá receber um relatório demonstrando sua evolução ao longo da pesquisa.

- É garantida ao (à) Sr (a) a liberdade de retirada de consentimento a qualquer momento, deixando de participar da pesquisa, sem haver qualquer prejuízo à continuidade do seu tratamento na Instituição.

- As informações concedidas pelo (a) Sr (a) serão analisadas em conjunto com as informações de outros pacientes, com a garantia de sigilo da identidade dos mesmos.

- Caso aceite assinar esse termo de consentimento, será concedida uma cópia para o (a) Sr (a).

- O material biológico, no caso, o sangue, coletado para essa pesquisa, será armazenado de acordo com a resolução 441/2011, que garante que as amostras serão coletadas e armazenadas de acordo com regulamento e normas técnicas, éticas e operacionais pré-definidas, sob responsabilidade institucional e sob o gerenciamento do pesquisador, sem haver nenhum fim comercial. O material biológico será armazenado no Laboratório de Análises Clínicas do InCor HCFMUSP, sob responsabilidade da Diretora Célia Maria C. Strunz, podendo, a qualquer momento, ser solicitado pelo (a) Sr (a) caso venha a deixar de participar da pesquisa.

Rubrica Sujeito de pesquisa ou responsável: _____

Rubrica Pesquisador: _____

Em qualquer etapa do estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de dúvidas. O principal investigador é o Profº Dr Fernando Bacal, que pode ser encontrado no endereço Av. Dr. Eneas de Carvalho Aguiar- nº - setor Núcleo de Transplante, 2º andar, Telefone(s) (11) 2661-5482, e-mail fbacal@uol.com.br. Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) – Rua Ovídio Pires de Campos, 225 – 5º andar – tel: (11) 2661-7585 ou (11) 2661-1548 ou (11) 2661-1549; e-mail: cappesq_adm@hc_fm.usp.br.

Fui suficientemente informado a respeito do estudo "Estudo da importância da microbiota intestinal em pacientes portadores de insuficiência cardíaca crônica – Estudo randomizado, duplo-cego".

Eu discuti as informações acima com o Pesquisador Responsável Profº Dr. Fernando Bacal ou com a Pesquisadora Executante Tatiana Teixeira Gomes sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim os objetivos, os procedimentos, os potenciais desconfortos e riscos e as garantias. Concordo voluntariamente em participar deste estudo, assino este termo de consentimento e recebo um via rubricada pela pesquisadora.

Assinatura do participante /representante legal _____

Data: ____/____/____

Assinatura do responsável pelo estudo _____

Data: ____/____/____

Rubrica Sujeito de pesquisa ou responsável: _____

Rubrica Pesquisador: _____

DADOS DE IDENTIFICAÇÃO (OU ETIQUETA DE IDENTIFICAÇÃO) DO PARTICIPANTE DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL

NOME:.....
DOCUMENTO IDENTIDADE:..... Sexo: M () F ()
DATA NASCIMENTO __/__/__ TELEFONE: ().....
ENDEREÇO:.....

Nº..... COMPLEMENTO.....
BAIRRO:..... CIDADE/UF:.....
CEP:.....

RESPONSÁVEL LEGAL.....
GRAU PARENTESCO:.....
DOCUMENTO IDENTIDADE:..... Sexo: M () F ()
DATA NASCIMENTO __/__/__ TELEFONE: ().....
ENDEREÇO:.....

Nº..... COMPLEMENTO.....
BAIRRO:..... CIDADE/UF:.....
CEP:.....

Rubrica Sujeito de pesquisa ou responsável: _____

Rubrica Pesquisador: _____

ANEXO B – Questionário nutricional simplificado de apetite**Questionário Nutricional Simplificado de Apetite - QNSA**

Data:

Nome:

Idade:

Peso:

Sexo: masculino () feminino ()

Altura:

Instrução de administração. Pedir para o sujeito completar o questionário circulando a resposta correta e depois informar os resultados baseados na seguinte escala numérica: a=1, b=2, c=3, d=4, e=5. A soma dos resultados de cada item constitui o escore QNSA.

Escore QNSA \leq 14 indica risco significativo de pelo menos 5% de perda de peso nos últimos 6 meses.

1) Meu apetite está:

- a) Ruim
- b) Muito ruim
- c) Moderado
- d) Bom
- e) Muito bom

2) Quando eu como:

- a) Sinto-me satisfeito após comer poucas garfadas/colheradas
- b) Sinto-me satisfeito após comer aproximadamente 1/3 da refeição
- c) Sinto-me satisfeito após comer mais da metade da refeição
- d) Sinto-me satisfeito após comer a maior parte da refeição
- e) Dificilmente sinto-me satisfeito

3) O sabor da comida parece:

- a) Muito ruim
- b) Ruim
- c) Mediano
- d) Bom
- e) Muito bom

4) Normalmente eu como:

- a) Menos de uma refeição por dia
- b) Uma refeição por dia
- c) Duas refeições por dia
- d) Três refeições por dia
- e) Mais de três refeições por dia