

Universidade de Lisboa

Faculdade de Farmácia



**A microbiota intestinal e os
desenvolvimentos recentes sobre o seu
impacto na saúde e na doença**

Ana Patrícia Pereira Gomes

Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

2017

**Universidade de Lisboa
Faculdade de Farmácia**



**A microbiota intestinal e os
desenvolvimentos recentes sobre o seu
impacto na saúde e na doença**

Ana Patrícia Pereira Gomes

**Monografia de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas
apresentada à Universidade de Lisboa através da Faculdade de Farmácia**

Orientador: Professor Doutor Carlos São-José

2017

Resumo

Nos últimos anos, o interesse pela microbiota intestinal, as suas funções e patologias associadas tem crescido exponencialmente. A microbiota intestinal é a população de micróbios que habitam o trato gastrointestinal. Este pode apresentar até cerca de 10^{14} células bacterianas responsáveis por funções vitais para o hospedeiro. Embora a composição da microbiota seja relativamente estável ao longo da vida do indivíduo, esta pode ser alterada por diversos fatores, como a microbiota materna, idade, fatores genéticos, tratamento antibiótico, estilo de vida e dieta.

A microbiota intestinal está envolvida em funções cruciais para a homeostasia do hospedeiro, como digestão e síntese de nutrientes, desenvolvimento do sistema imunitário e trato digestivo do hospedeiro, e produção de moléculas ativas farmacologicamente. Para além disso, pode atuar como barreira contra patógenos e parece ter influência no desenvolvimento do sistema nervoso e funções cognitivas. Deste modo, uma alteração do equilíbrio da microbiota intestinal pode causar situações patológicas. Na verdade, distúrbios da microbiota intestinal parecem estar associados a determinadas doenças, tais como: diarreia associada a antibioterapia, doença inflamatória intestinal, síndrome do intestino irritável, cancro colorretal, obesidade e síndrome metabólico, doença do fígado gordo não alcoólico e doenças respiratórias.

Com um melhor conhecimento das patologias associadas à microbiota intestinal, é possível considerar a manipulação da mesma como uma potencial opção terapêutica. Assim, a seleção e administração de estirpes bacterianas específicas pode representar uma abordagem terapêutica promissora para determinadas patologias. De igual modo, o uso de probióticos, prebióticos e transplante da microbiota fecal é visto como uma potencial opção de tratamento.

Este trabalho foi realizado no sentido de apresentar uma visão global dos desenvolvimentos recentes associados ao impacto da microbiota intestinal na saúde e doença humana, bem como expor potenciais abordagens terapêuticas decorrentes da sua manipulação.

Palavras-chave: microbiota intestinal, metabolismo, disbiose, doenças gastrointestinais, manipulação da microbiota intestinal.

Abstract

In recent years, the understanding of the functions and pathologies associated with the gut microbiota has grown exponentially. The gut microbiota is a population of microbes at the gastrointestinal tract. In here, there can be up to 10^{14} bacterial cells responsible for vital functions to the host. Although the composition of gut microbiota is relatively stable throughout the life of the host, it can be altered by several factors, such as: maternal microbiota, age, genetic factors, antibiotic treatment, lifestyle and diet.

The gut microbiota is involved in crucial functions for the host homeostasis, such as digestion and synthesis of nutrients, development of the immune system and digestive tract of the host and production of pharmacologically active molecules. It can also act as a barrier against pathogens and can influence the development of the nervous system and cognitive function. Therefore, a change in the balance of the gut microbiota can cause pathological conditions. Actually, gut microbiota imbalances appear to be associated with diseases, such as: antibiotic-associated diarrhea, inflammatory bowel disease, irritable bowel syndrome, colorectal cancer, obesity and metabolic syndrome, non-alcoholic fatty liver disease and respiratory diseases.

With a better knowledge of the pathologies associated with the gut microbiota, it is possible to consider the manipulation of the microbiota as a potential therapeutic option. Therefore, the selection and administration of specific bacterial strains represents a promising therapeutic approach for certain diseases. Likewise, the use of probiotics, prebiotics or fecal microbiota transplantation is seen as potential treatment options.

This work was developed in order to present an overview of the recent developments associated with the impact of the gut microbiota in human health and disease, as well as to expose the potential therapeutic approaches deriving from its manipulation.

Key words: gut microbiota, metabolism, dysbiosis, gastrointestinal diseases, gut microbiota manipulation.

Agradecimentos

A elaboração deste trabalho não teria sido possível sem o estímulo e colaboração de várias pessoas. Assim, gostaria de expressar a minha gratidão a todos aqueles que contribuíram para que este trabalho se tornasse realidade.

Ao Professor Carlos São-José pela sua constante disponibilidade e pela fundamental sabedoria que me permitiram uma brilhante orientação metodológica, no sentido de concluir este trabalho.

Aos meus pais, Adelino Gomes e Filomena Pereira, por todo o apoio e presença nos momentos mais complicados.

Aos meus amigos, André Marques, Gabriela Silva, Leonor Pereira, Inês Pedrosa, Inês Raposo, Raquel Oliveira, Rita Santos, Sofia Custódio, Sandra Guerra e Tiago Silva pelo companheirismo, boa disposição e pela amizade.

Ao Rodrigo, pela presença incansável, carinho e motivação que me deu ao longo do período de elaboração deste trabalho.

Um sincero obrigado a todos.

Abreviaturas

CCR	Cancro colorretal
CU	Colite ulcerosa
DAA	Diarreia associada a antibioterapia
DC	Doença de Crohn
DCV	Doenças cardiovasculares
DFGNA	Doença do fígado gordo não alcoólico
DII	Doença inflamatória intestinal
DM	Desprovidos de microbiota
DMT2	Diabetes <i>mellitus</i> do tipo 2
EHEC	<i>Enterohemorrhagic E.coli</i>
FC	Fibrose cística
FOS	Frutose-oligossacáridos
<i>GALT</i>	<i>Gut-associated lymphoid tissue</i>
GOS	Galacto-oligossacáridos
IgA	Imunoglobulina A
LPS	Lipopolissacárido
NF-KB	Fator nuclear kappa B
<i>PRRs</i>	<i>Pattern recognition receptors</i>
SCFA	<i>Short-chain fatty acid</i>
<i>SFB</i>	<i>Segmented filamentous bacteria</i>
SI	Sistema imunitário
SII	Síndrome do intestino irritável
SM	Síndrome metabólico
SNC	Sistema nervoso central
T3SS	<i>Type III secretion system</i>
TGI	Trato gastrointestinal
<i>Th1</i>	<i>T_{helper 1}</i>
<i>Th2</i>	<i>T_{helper 2}</i>
TMF	Transplante da microbiota fecal
UFC/mL	Unidades formadoras de colónias por mililitro
VLDL	<i>Very low density lipoprotein</i>

Índice:

1. Introdução	11
2. Objetivo	11
3. Métodos	11
4. A microbiota intestinal no ser humano: composição e fatores que a influenciam.....	12
4.1. Estrutura e organização funcional	13
4.2. Fatores que influenciam a microbiota intestinal	16
4.2.1. Microbiota materna.....	16
4.2.2. Alterações da microbiota ao longo da vida	17
4.2.3. Estilo de vida e ambiente envolvente.....	17
4.2.4. Fatores genéticos do hospedeiro.....	18
4.2.5. Exposição a antibióticos	19
4.2.6. Dieta.....	20
5. Funções da microbiota na fisiologia do indivíduo saudável.....	20
5.1. Metabolismo e nutrição do hospedeiro	21
5.2. Estrutura e funcionamento do TGI.....	23
5.3. Imunidade do hospedeiro	24
5.3.1. Desenvolvimento e maturação do SI a nível sistémico e das mucosas	24
5.4. Interações entre a microbiota intestinal e microrganismos patogénicos.....	25
5.5. Ações exteriores ao TGI.....	27
6. Perturbações da microbiota intestinal e patologias associadas	28
6.1. Diarreia associada a antibioterapia.....	28
6.2. Síndrome do intestino irritável	29
6.3. Doença inflamatória intestinal - doença de Crohn e colite ulcerosa	30
6.4. Cancro colorretal	31
6.5. Obesidade e doenças metabólicas: síndrome metabólico	32
6.6. Doença hepática: fígado gordo não-alcoólico	34
6.7. Doenças respiratórias.....	35
7. Potencial terapêutico da manipulação da microbiota intestinal	36
7.1. Probióticos	37
7.2. Prebióticos	38
7.3. Transplante da microbiota fecal.....	39
8. Conclusões e perspectivas futuras.....	42
Referências Bibliográficas	44
Anexos	50

Índice de Figuras:

Figura 4.1 Perfil típico de distribuição bacteriana ao longo do TGI. Adaptado de (1).....	14
Figura 5.1 Modulação da virulência da EHEC através dos nutrientes fornecidos pela microbiota intestinal. Adaptado de (2)	27
Figura 7.1 Mecanismos pelos quais os probióticos podem influenciar a microbiota intestinal e/ou induzir respostas benéficas no hospedeiro. Adaptado de (3).....	38

1. Introdução

Nos últimos tempos, o conhecimento e o interesse pela função da microbiota intestinal na saúde e na doença humana tem crescido exponencialmente, sobretudo devido aos enormes avanços que tem havido nos métodos moleculares. (1) As novas tecnologias “*omic*” definidas como um conjunto de métodos, como a genómica, a metabolómica e a metagenómica, facilitaram a análise em grande escala dos perfis metabólico e genético da comunidade microbiana, sendo possível considerar a mesma como um novo órgão no organismo humano e oferecer a possibilidade de novas abordagens terapêuticas. Deste modo, a microbiota intestinal tem sido associada à promoção da saúde e ao início ou manutenção de determinadas doenças gastrointestinais e não gastrointestinais. Esta era pós-metagenómica começa a fornecer novos alvos terapêuticos baseados num conhecimento mais consolidado do modo como a microbiota interage com a fisiologia do hospedeiro. Tudo isto poderá permitir cuidados de saúde mais personalizados e tratar uma determinada doença de modo mais eficiente e dirigido. Com um melhor entendimento do processo patológico, será possível estratificar com maior precisão diferentes estados da doença e determinar se a microbiota intestinal é um potencial alvo terapêutico que possamos modular para tratar uma doença em específico. (4)

Esta revisão da literatura torna-se, assim, bastante relevante para compreender quão cruciais são os micróbios para um funcionamento apropriado do sistema imunitário (SI) e saúde ao longo da vida ou, inversamente, para a suscetibilidade a doenças inflamatórias e infecciosas, realçando também as potenciais abordagens terapêuticas baseadas na manipulação da microbiota intestinal.

2. Objetivo

Este trabalho pretende apresentar uma visão geral do conhecimento atual e desenvolvimentos recentes relativos ao impacto da microbiota intestinal na saúde humana, bem como expor as potenciais abordagens terapêuticas que resultam da sua manipulação.

3. Métodos

A pesquisa para a realização da revisão da literatura foi baseada integralmente em recursos eletrónicos, recorrendo à base de dados *Pubmed* e a um *website* <http://www.gutmicrobiotaforhealth.com/en/home/> que auxiliou no primeiro contacto com o tema. A pesquisa teve início a 19 de fevereiro de 2017 e fim a 15 de abril de 2017.

Pontualmente, foram realizadas pesquisas fora destas datas. A partir da análise dos artigos da pesquisa inicial de literatura, foram identificados mais alguns artigos relevantes. As palavras-chave utilizadas foram as seguintes: microbiota intestinal, metabolismo, disbiose, doenças gastrointestinais e manipulação da microbiota intestinal.

Foram obtidos 124 artigos e documentos que não publicações. Não houve restrição de idiomas, mas os artigos que foram utilizados, contendo informação relevante, tinham apenas a língua inglesa. Foram considerados documentos que abrangessem os seguintes temas relacionados com a microbiota: composição e fatores que a afetam, funções da microbiota no indivíduo saudável, perturbações e patologias associadas e potenciais terapêuticos da manipulação da mesma.

Primariamente foram excluídos de leitura todos os artigos cujo carregamento completo não era permitido, mesmo após tentativa em os obter. Após leitura dos documentos foram excluídos os menos recentes e cuja informação estivesse contemplada nos mais atuais. Durante toda a pesquisa e seleção de informação existiu sempre o objetivo de utilizar informação o mais fidedigna possível, publicada em revistas e jornais científicos. Deste modo, no final do trabalho, foram incluídas 95 referências bibliográficas.

4. A microbiota intestinal no ser humano: composição e fatores que a influenciam

O organismo humano é colonizado por uma grande quantidade de micróbios (bactérias, fungos, arqueobactérias, vírus e protozoários), sendo que a sua maioria se localiza no trato gastrointestinal (TGI). Coletivamente, estes micróbios formam a microbiota intestinal. Atualmente, o termo microbiota é preferível ao termo antigo flora, uma vez que este último não engloba os muitos elementos não bacterianos que são agora conhecidos como sendo habitantes do TGI. (5) Deste modo, microbiota é definida como a população de micróbios que habitam o TGI. (6) Por outro lado, o termo microbioma compreende todo o habitat, isto é, o conjunto dos diferentes micróbios que habitam no TGI com o seu material genético e as condições ambientais envolventes. (7) As bactérias presentes no TGI revestem-se de particular relevância dado o seu número elevado e cada vez mais reconhecido impacto na fisiologia e metabolismo do hospedeiro.

4.1. Estrutura e organização funcional

O TGI pode apresentar até cerca de 100 triliões (10^{14}) de células bacterianas, as quais funcionam como um órgão adicional com funções vitais para o hospedeiro. (1) Durante algum tempo considerou-se que existiam cerca de 10 vezes mais células bacterianas que células eucariotas no corpo humano, contudo estudos recentes propõem uma proporção de 1,3:1 de bactérias para células humanas. (8) Estima-se ainda que o conjunto dos genomas bacterianos contem mais de 3 milhões de genes, o que representa um número 150 vezes superior aos genes do hospedeiro. (9)

A composição e a função das bactérias que são parte da microbiota do TGI tem sido altamente estudada nos últimos anos, contudo o papel dos vírus, arqueobactérias e eucariontes unicelulares que habitam o corpo humano é menos conhecido. (10) Assim, apesar da microbiota intestinal ser constituída por diversos microrganismos, este trabalho irá focar-se nas bactérias. O TGI é dominado sobretudo por bactérias de 2 filios: Bacteroidetes e Firmicutes. O primeiro contempla bactérias Gram-negativas que inclui os géneros *Bacteroides* e *Prevotella*. As bactérias Firmicutes predominantes no TGI são divididas em duas classes principais de bactérias Gram-positivas, Bacilli e Clostridia, incluindo géneros como *Clostridium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus* e *Ruminococcus*. (3) (6) Estas bactérias representam mais de 90% da população microbiana nos ratinhos e humanos, sendo que Proteobacteria, Tenericutes, Verrucomicrobia, Actinobacteria, Fusobacteria e Cyanobacteria são os filios mais representados nas restantes bactérias. (10) (11) As estimativas do número de espécies bacterianas existentes no intestino do homem variam entre estudos, mas é aceite que contem mais de 1000 espécies bacterianas conhecidas. (6)

O conteúdo microbiano do TGI altera-se ao longo do seu comprimento, variando desde a baixa diversidade e baixo número de micróbios no estômago até uma diversidade elevada e elevado número de células microbianas no intestino. (3) Deste modo, o número de células bacterianas presente no intestino dos mamíferos mostra um contínuo que vai desde as 10^2 a 10^3 bactérias por grama de estômago e duodeno até 10^4 a 10^7 de bactérias por grama de jejuno e íleo e culmina com 10^9 a 10^{12} de células por grama de cólon. **Figura 4.1** (1)

Devido à motilidade normal do intestino e ao efeito antimicrobiano do ácido gástrico, biliar, suco pancreático e intestinal, o estômago e o intestino delgado proximal, apesar de não serem estéreis, contêm um número relativamente baixo de bactérias. (5) A microbiologia do íleo terminal representa uma zona de transição entre o jejuno, onde predominam espécies aeróbias, e a população de elevada densidade de anaeróbios que se encontra no cólon. As contagens de colónias de bactérias poderão ser tão altas como 10^9 unidades formadoras de

colônias por mililitro (UFC/mL) no íleo terminal, com predominância de microrganismos gram-negativos e anaeróbios. Ao passar para o cólon, a concentração e diversidade da microbiota altera-se drasticamente, onde podem ser encontradas concentrações de 10^{12} UFC/mL. Estas são constituídas maioritariamente por anaeróbios como os pertencentes aos géneros *Bacteroides*, *Porphyromonas*, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* e *Clostridium* com as bactérias anaeróbias numa relação para as aeróbias de 100 a 1000:1. (5)

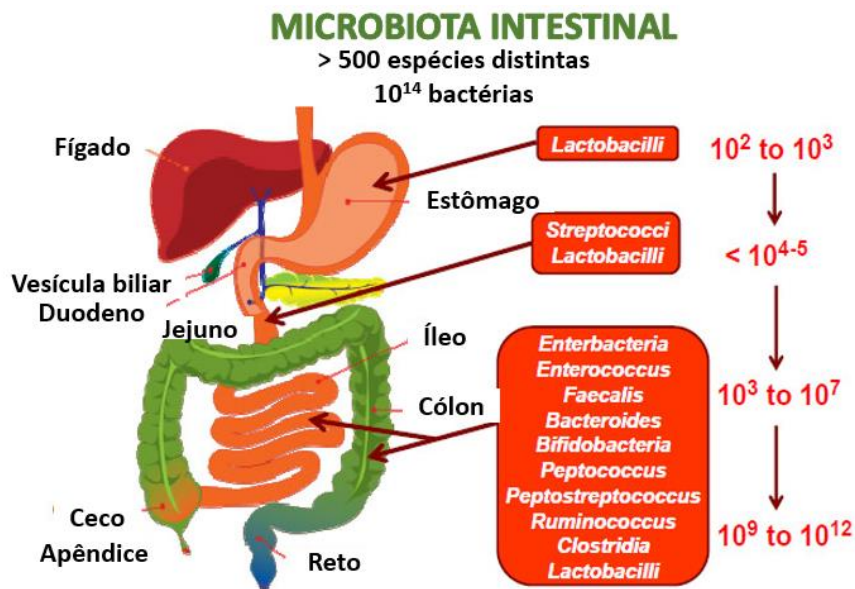


Figura 4.1 Perfil típico de distribuição bacteriana ao longo do TGI. Adaptado de (1)

A composição da microbiota demonstra também variação ao longo do diâmetro do TGI. O epitélio intestinal é separado do lúmen por uma camada mucosa complexa espessa, sendo que a microbiota do lúmen intestinal difere significativamente da microbiota associada e ancorada à camada mucosa. (10) Deste modo, parece lógico que as espécies bacterianas da superfície da mucosa, estando mais perto fisicamente do epitélio intestinal, participem em interações com o SI do hospedeiro, enquanto a população do lúmen deverá ser mais relevante para interações metabólicas com a alimentação, produtos da digestão e obtenção de energia. Isto é bastante relevante, uma vez que muitos estudos da microbiota intestinal utilizam apenas material fecal para conhecimento do perfil microbiano. Portanto, estes estudos poderão não refletir adequadamente a totalidade de micróbios viáveis que estão no intestino, devido à relativa inacessibilidade das populações bacterianas junto das mucosas no cólon e, especialmente, no intestino delgado. (5) (6)

Nos últimos tempos, tem havido numerosas tentativas para a identificação de um “core” na microbiota intestinal, normalmente definido como um taxa bacteriano partilhado entre 95% dos indivíduos testados. O conceito de “core” na microbiota é importante para definir um estado de saúde normal. Variações significativas deste “core” poderão indicar uma

disbiose, isto é, um desequilíbrio da microbiota intestinal, a qual pode por sua vez resultar de uma doença ou contribuir para o seu desenvolvimento. (12)

Um estudo de metagenômica com dados de um coorte internacional de 39 indivíduos propôs que três “*clusters*” distintos, ou enterotipos, compunham em grande medida o microbioma do TGI humano. (13) Verificou-se que cada enterotipo era dominado por um gênero bacteriano particular (*Bacteroides*, *Prevotella* e *Ruminococcus*) com associações positivas ou negativas com outros gêneros na comunidade. (13) Dois dos três enterotipos, *Bacteroides* e *Prevotella*, foram mais tarde confirmados e padrões de dieta a longo termo foram identificados como o primeiro preditor de um enterotipo individual. (14) O enterotipo *Bacteroides* estava associado com uma dieta *Western-type* rica em proteínas e gordura, enquanto o gênero *Prevotella* estaria associado a um consumo elevado de fibras. (12) Estes enterotipos eram, assim, baseados nas suas funções, isto é, no metabolismo dos compostos da dieta e na capacidade para tolerar e metabolizar fármacos o que ajuda a entender o papel da microbiota entérica na saúde e doença. (1)

A existência de enterotipos fornece uma via bastante conveniente para a classificação dos indivíduos baseada na sua microbiota fecal e, deste modo, uma especulação começou a ser feita no sentido de usar os enterotipos como preditor de riscos na saúde a longo termo. Contudo, um estudo conduzido em mais de 200 indivíduos e utilizando várias amostras humanas de sítios distintos, mostrou apenas uma separação mínima entre os enterotipos *Prevotella* e *Bacteroides* em vez de “*clusters*” bem separados e distintos entre si, como reportado anteriormente. (15) Estas discrepâncias podem ser explicadas pelo facto dos métodos para atribuição de enterotipos não serem consistentes entre si. (12)

Outros estudos propuseram um “*core*” funcional no microbioma, em vez de um “*core*” ao nível da linhagem do organismo. (16) (17) Estes estudos sugerem assim que os indivíduos partilham um “*core*” de genes funcionais do microbioma e, portanto, exibem fenótipos particulares como obeso vs. não obeso que poderão traduzir não diferentes padrões de micróbios, mas sim um “*core*” de funções partilhadas. (17) Mudanças neste “*core*” de genes poderão representar diferentes estados de saúde/doença. Deste modo, investigação futura nesta área irá demonstrar se a metagenômica vai conseguir fornecer novos marcadores que permitam diagnosticar ou prever o risco para determinadas doenças humanas. (3)

4.2. Fatores que influenciam a microbiota intestinal

4.2.1. Microbiota materna

A colonização microbiana do intestino dos recém-nascidos tem um impacto enorme no desenvolvimento das vias metabólicas e imunológicas. A exposição inicial pós-natal ocorre durante o nascimento e pouco tempo depois do mesmo, (18) sendo a microbiota habitada por uma população caracterizada por instabilidade. (3) Alterações durante este processo complexo de colonização demonstraram aumentar a suscetibilidade à doença durante a vida humana. (18)

A função da microbiota do trato reprodutivo da mãe na fase pré e pós-concepção está ainda sob investigação. A placenta é um órgão que foi anteriormente considerado como estéril na ausência de estados patológicos, contudo, há mais de três décadas que foi confirmada a presença de bactérias no tecido placentário por técnicas cultura-dependentes (19) e cultura-independentes. (20) A microbiota da placenta de bebês que sofreram um parto saudável apresenta uma elevada abundância de *Lactobacillus* spp., *Propionibacterium* spp. e membros da família Enterobacteriaceae. Contudo, a quantidade de *Lactobacillus* spp. nos tecidos placentários em bebês que sofreram partos prematuros era inferior, suportando um possível papel positivo deste gênero para a gravidez. (19)

Os recém-nascidos que sofrem um nascimento de parto normal são colonizados pela microbiota vaginal materna e pelas bactérias fecais, incluindo o *Lactobacillus* spp. e *Bifidobacterium* spp.. Para além disso, o contacto com a pele materna é também importante, uma vez que as bactérias associadas à pele, pertencentes ao gênero *Staphylococcus*, são dos primeiros colonizadores da microbiota intestinal das crianças. Contudo, estes são rapidamente superados por outras bactérias com o passar dos anos. (18) Os recém-nascidos que sofrem um parto por cesariana não são expostos diretamente à microbiota materna e, portanto, a sua microbiota é colonizada por micróbios associados à pele e ao ambiente hospitalar, o qual inclui os profissionais de saúde. (18) Assim, a sua microbiota apresenta muito menor diversidade durante as primeiras semanas de vida e menor quantidade de células bacterianas intestinais. (21)

Ainda se sabe pouco sobre a identidade e o número de micróbios que atravessam a placenta, se persistem ou se a sua presença tem consequências na saúde a curto ou longo prazo. O uso de abordagens "high-throughput" da biologia de sistemas irá permitir uma caracterização do microbioma fetal no útero e as suas consequências na saúde, incluindo os seus efeitos na impressão imunológica. (18)

4.2.2. Alterações da microbiota ao longo da vida

A colonização microbiana inicia-se logo após o nascimento, sendo as primeiras espécies a aparecer anaeróbios facultativos, como as Enterobacteriaceae e espécies dos gêneros *Enterococcus* e *Lactobacillus*. Deste modo, a microbiota intestinal dos recém-nascidos considera-se com baixa diversidade e dominância relativa dos filos Proteobacteria e Actinobacteria. (22) Posteriormente, a microbiota ganha diversidade e os filos Firmicutes e Bacteroidetes tornam-se dominantes, o que caracteriza a microbiota adulta. (5) Os microrganismos anaeróbios, como os pertencentes aos gêneros *Bifidobacterium*, *Bacteroides* e *Clostridium* vão-se então desenvolvendo gradualmente e contribuem para uma redução ao longo do tempo da razão anaeróbios facultativos/anaeróbios estritos. (22) No fim do primeiro ano de vida, o perfil microbiano é distinto para cada criança e pela idade dos 2 anos e meio é atingido em termos de composição a microbiota de adulto. Posteriormente, a microbiota intestinal permanece relativamente constante até à terceira idade, a partir da qual começa a sofrer alterações possivelmente relacionadas com o estado fisiológico e a dieta. (5)

À medida que um indivíduo envelhece, a estabilidade e a diversidade da sua microbiota decrescem com o estado de saúde da pessoa. Os fatores mais prevalentes relacionados com a idade a influenciar a população microbiana são: mudanças fisiológicas, malnutrição e más escolhas de dieta, situações de vida (hospitalização, cuidados continuados e vivência em lares) e uso de antibióticos e outros fármacos prescritos. (12)

Nos idosos tende a verificar-se um aumento do número de Firmicutes (3) e uma redução significativa das bactérias produtoras de ácidos gordos de cadeia curta (SCFAs - *Short-chain fatty acid*), do filo Bacteroidetes (1), bem como da diversidade e número das bifidobactérias. (1) (10) O uso muito elevado de antibióticos nos idosos, sobretudo a nível hospitalar e dos cuidados de saúde continuados, (12) frequentemente leva a uma redução da diversidade da microbiota e a uma propensão aumentada para a infeção causada por *Clostridium difficile* (1)

4.2.3. Estilo de vida e ambiente envolvente

O perfil do microbioma intestinal pode diferir de acordo com a geografia e estilo de vida associado. Contudo, poucos testes têm sido desenvolvidos para o estudo da relação entre os fatores ambientais e o perfil do microbioma, sobretudo nos mais idosos. (23)

Um estudo estrutural da microbiota fecal de jovens adultos saudáveis de 9 províncias da China constatou que os indivíduos estariam agrupados maioritariamente de acordo com a

geografia e etnia. (24) Em semelhança, um estudo coorte feito nas áreas rurais da Venezuela, Malawi e nas áreas metropolitanas dos Estados Unidos da América indicou que o padrão da dieta do hospedeiro afetava o tipo de micróbios fecais. (25) Para além dos referidos, existem outros fatores do estilo de vida como o stress, hábito tabágico (26) e ritmo circadiano (27) que poderão influenciar o microbioma intestinal.

O tabagismo está relacionado com um aumento da incidência da doença de Crohn (DC). Contudo, ainda não existe uma explicação concreta para o impacto do tabagismo, provavelmente porque existe uma vasta gama de substâncias nocivas do fumo do tabaco. (26) Alterações na permeabilidade gastrointestinal e na função do SI têm sido descritas em doentes com DC, sendo que ambas alterações poderão estar associadas a mecanismos em interação com a microbiota. (26) Especificamente, um estudo demonstrou que doentes fumadores com DC ativa apresentavam uma maior quantidade de *Bacteroides* spp. -*Prevotella* spp. que os não fumadores. Os fumadores desenvolvem mais facilmente DC, apresentam maior probabilidade de recaída, maiores taxas de recorrência e maior probabilidade de necessitarem de cirurgia. Assim, um aumento de certos grupos de bactérias específicas que estimulam as vias pró-inflamatórias poderá ser a explicação para os efeitos nocivos do tabaco. Contudo, o mecanismo através do qual o tabaco está associado a uma maior quantidade de *Bacteroides* spp. é desconhecido. (26)

Num estudo recente, o exercício físico foi igualmente visto como um fator importante modulador da composição da microbiota intestinal, sendo que os atletas apresentavam uma maior diversidade da microbiota que os indivíduos controlo. (28) Contudo, mais estudos têm de ser desenvolvidos para investigar a ação do estilo de vida na microbiota intestinal, e por sua vez, nas patologias associadas.

4.2.4. Fatores genéticos do hospedeiro

O impacto da genética do hospedeiro na composição e função da microbiota intestinal ainda não é totalmente conhecido e permanece como um tema em debate contínuo. Algum conhecimento sobre a importância da genética do hospedeiro deriva de estudos em humanos, animais e análises comparativas de espécie. (18) Apesar de vários estudos genéticos encontrarem evidências que os microbiomas humano e de ratinho estão associados à variação da genética do hospedeiro, outros estudos não observam uma evidência muito forte para um efeito da genética do hospedeiro. (29) Em humanos, a informação mais valiosa deriva de estudos em gémeos e indivíduos relacionados. Certos estudos da microbiota de humanos adultos com um grau de parentesco que varia desde pais e filhos, irmãos não gémeos, gémeos monozigóticos e indivíduos não relacionados indicaram que o genótipo do hospedeiro

tem um efeito significativo na composição das bactérias dominantes, com os gémeos monozigóticos a demonstrarem alta similaridade na sua microbiota. (18)

Novos estudos de seguimento de gémeos dizigóticos e monozigóticos desde o nascimento até à vida adulta poderiam fornecer informação vital para compreender a contribuição do genótipo do hospedeiro para a composição da microbiota intestinal. Estes estudos teriam sucesso se adquirissem dados adicionais, como hábitos de dieta, consumo de nutrientes e preferencialmente incluir análises intergeracionais dos indivíduos da família. Esta análise multivariável seria essencial para compreender a influência da dieta, ambiente e fatores genéticos. Para além disso, poderia possibilitar a definição de regimes dietéticos como possibilidades profiláticas e terapêuticas numa grande variedade de doenças. (30)

4.2.5. Exposição a antibióticos

O tratamento com antibióticos tem salvo milhões de vidas em todo o mundo. Contudo, os antibióticos não são seletivos para os microrganismos patogénicos e a sua administração apresenta efeitos secundários com destruição de populações da microbiota comensal do homem. (31) O efeito dos antibióticos na microbiota intestinal é particularmente relevante nas crianças recém-nascidas, pois pode afetar o padrão normal de colonização bacteriana e o seu papel no desenvolvimento do SI. Um estudo verificou a existência de uma associação entre o uso de antibióticos no primeiro ano de vida e sintomas de asma, rinoconjutivite e eczema quando com seis e sete anos de idade. (32). O impacto do uso de antibióticos nas bactérias intestinais nos idosos é também alvo de interesse uma vez que se trata de uma subpopulação com um consumo frequentemente elevado deste tipo de medicamentos. (3)

O efeito dos antibióticos de largo espectro nos habitantes comensais das superfícies das mucosas, sobretudo no TGI, tem sido alvo de investigação laboratorial. Um dos efeitos secundários do tratamento com antibióticos é uma suscetibilidade aumentada a determinado espectro de infeções bacterianas, uma vez que uma microbiota intacta é capaz de excluir bactérias por mecanismos diretos e indiretos que permitem uma resistência à colonização. (31) Em geral, o tratamento antibiótico provoca um decréscimo na diversidade da microbiota, podendo também afetar a atividade metabólica da comunidade bacteriana no intestino. Verificou-se em ratinhos que o tratamento antibiótico altera drasticamente o metaboloma intestinal por afetar as vias metabólicas do hospedeiro. (33)

A diarreia associada a antibioterapia (DAA), abordada na secção 6.1, é um exemplo perfeito da sensibilidade das interações micróbio-hospedeiro na saúde e as consequências da sua interrupção. (7) A inflamação intestinal causada por *Clostridium difficile* é a manifestação

mais temida da DAA. Os antibióticos alteram de modo transitório a composição da microbiota, permitindo o desenvolvimento de um nicho onde o microrganismo se consegue expandir. (22)

4.2.6. Dieta

Muitos são os fatores, referidos acima, que contribuem para a colonização inicial da microbiota nas crianças e as alterações que ocorrem nos adultos. Contudo, nenhum desses fatores é tao importante como a dieta para o desenvolvimento do microbioma. Parece lógico que, com a interação constante e prolongada entre o microbioma e os componentes da alimentação, a dieta se torne um dos primeiros motores das mudanças que ocorrem durante a infância e na estrutura do microbioma humano, que eventualmente estabiliza. (12) A dieta fornece nutrientes tanto ao hospedeiro como às bactérias do TGI, sendo que a maioria das enzimas necessárias para a quebra dos polissacáridos estruturais não são codificadas pelo genoma dos mamíferos. (3) Assim, estudos revelam que a microbiota ileal é conduzida pela capacidade dos membros microbianos em metabolizarem açúcares simples. Isto reflete a adaptação da microbiota à disponibilidade de nutrientes no intestino delgado, sendo que a microbiota colônica é modulada pela disponibilidade de carboidratos que são encontrados na fibra da dieta. (34)

A observação que a dieta pode modular a interação hospedeiro-micróbio apresenta uma abordagem terapêutica futura promissora com a nutrição personalizada a ser um conceito emergente. Utilizando um algoritmo para prever respostas metabólicas a refeições, esta ferramenta poderia ter implicações a nível dos cuidados de saúde individualizados através da modificação da dieta. (35)

5. Funções da microbiota na fisiologia do indivíduo saudável

Embora uma grande diversidade de espécies bacterianas seja encontrada nos indivíduos saudáveis, o metagenoma intestinal está envolvido em funções “core”. Algumas dessas funções são a digestão e síntese de nutrientes, o desenvolvimento e estimulação do SI e trato digestivo do hospedeiro e a produção de moléculas de sinalização ativas farmacologicamente. (36) Para além disso, a microbiota intestinal atua como barreira contra microrganismos patogénicos provenientes da alimentação. A possível influência da microbiota no desenvolvimento do sistema nervoso e função cognitiva constitui atualmente um dos principais pontos de investigação. (22)

5.1. Metabolismo e nutrição do hospedeiro

A microbiota intestinal afeta a homeostase de energia. Um estudo verificou que ratinhos desprovidos de microbiota (DM) têm menos 40% de massa gorda total do que os ratinhos convencionais, apesar de ingerirem mais 29% de calorias do que os da mesma ninhada. Os ratinhos DM ganham também menos peso que os convencionais e estão protegidos contra a intolerância à glucose induzida pela dieta e desenvolvimento de resistência à insulina. A expressão de genes do hospedeiro envolvidos na homeostase da energia, metabolismo lipídico e mitocondrial revelou-se bastante distinta nos ratinhos DM e ratinhos convencionais. (36)

Muitos polissacáridos encontrados nas fibras da dieta são estruturalmente complexos e as enzimas necessárias para modificar, transportar e metabolizar os monossacáridos não são codificadas pelo genoma humano. Assim, os carboidratos complexos sofrem um processo de fermentação pela comunidade microbiana no intestino distal. (37) As bactérias do cólon expressam enzimas capazes de metabolizar os carboidratos, gerando metabolitos como os SCFAs. Existem três SCFAs predominantes encontrados numa proporção de 1:1:3 no TGI: proprionato, butirato e acetato, respectivamente. Estes SCFAs estão envolvidos em processos de expressão gênica, quimiotaxia, diferenciação, proliferação e apoptose. O acetato é produzido sobretudo pelos microrganismos anaeróbios, enquanto o butirato e proprionato são produzidos por diferentes bactérias do TGI, por vias distintas. O proprionato é produzido majoritariamente por Bacteroidetes e a produção de butirato é dominada pelos Firmicutes. (34)

Os SCFA têm um papel muito importante a vários níveis, sendo que os recetores do hospedeiro melhor caracterizados para os SCFAs são os recetores acoplados à proteína G 41 e 43. (38) O butirato é conhecido pelas suas características anti-inflamatórias e anticancerígenas, sendo particularmente importante como fonte de energia para as células do cólon. É também capaz de atenuar a translocação bacteriana e aumentar a função de barreira epitelial, por afetar a produção de mucina e as junções célula-célula (*tight junctions*). Os SCFAs regulam também os lípidos hepáticos e a homeostase de glucose. O proprionato ativa a gluconeogénese hepática enquanto o butirato e o acetato têm uma ação lipogénica. (34)

A microbiota exerce também um papel importante na desconjugação dos ácidos biliares. Estes metabolitos derivados do colesterol facilitam a absorção de lípidos e vitaminas lipossolúveis da dieta. Os ácidos biliares primários são produzidos no fígado, sendo conjugados posteriormente com glicina ou taurina de modo a poderem exercer a sua função. Após serem libertados para o intestino, mais de 95% dos ácidos biliares são reabsorvidos

realizando a circulação enterohepática. O restante segue para o cécum e cólon, onde é transformado pelas bactérias da microbiota em ácidos biliares secundários. (38) Assim, *Bacteroides intestinalis*, mas também *Bacteroides fragilis* e *Escherichia coli*, têm a capacidade de desconjugar e desidratar os ácidos biliares primários não reabsorvidos no intestino para biotransformação e convertê-los em ácidos biliares secundários no cólon do hospedeiro. (39) (34)

A colina é um nutriente essencial para a biossíntese de fosfolípidos, como é o caso da fosfatidilcolina. (36) (38) A fosfatidilcolina é um componente *major* das células e membranas mitocondriais, sendo também um componente importante das VLDL (*very low density lipoproteins*), responsáveis por exportar os triglicéridos do fígado para os restantes órgãos. A microbiota intestinal apresenta a capacidade de converter a colina em trimetilamina, regulando, portanto, a biodisponibilidade da colina e afetando o armazenamento de triglicéridos no fígado. Deste modo, um transporte defeituoso dos triglicéridos pelas VLDL pode provocar a sua acumulação nos hepatócitos, levando a problemas no fígado como esteatose hepática. (36) (38) Para além disso, a trimetilamina aumentada em circulação, devido a disbiose, foi identificada como sendo um fator de doença cardiovascular (DCV) e cancro do cólon. (38)

A microbiota tem também um papel muito importante no metabolismo de xenobióticos, o qual pode ter um profundo impacto na terapêutica de várias patologias no futuro. (39) Deste modo, a microbiota é capaz de converter fármacos inativos (pró-fármacos) em formas ativas, como é o caso da sulfazalassina, utilizada no tratamento da colite ulcerosa (CU). (40) (41) Para além disso, pode também codificar para enzimas que destoxificam os xenobióticos, resultando em alterações eficácia/toxicidade, como é o caso da digoxina (glicósido cardíaco). A digoxina é inativa pelo microrganismo *Eggerthella lenta* do filo Actinobacteria. (39) (41) Assim, tudo isto indica que poderá existir uma variabilidade interindividual significativa na resposta ao fármaco ou efeitos adversos. (40)

A microbiota intestinal é crucial para a síntese de vitaminas. As bactérias produtoras de ácido láctico são microrganismos capazes de sintetizar vitamina B12, que não é sintetizada naturalmente por animais, plantas ou fungos. (34) As bifidobactérias são os principais produtores de folato, essencial para os processos metabólicos do hospedeiro, como síntese e reparação do ácido desoxirribonucleico. Outras vitaminas que são produzidas pela microbiota são vitamina K (5) (34), riboflavina, biotina, ácido nicotínico, entre outras. (34)

5.2. Estrutura e funcionamento do TGI

A microbiota intestinal parece ter um papel fundamental no desenvolvimento do epitélio intestinal pelo aumento da densidade dos capilares das vilosidades do intestino delgado e por influenciar a fisiologia e motilidade intestinal. (36)

Um estudo com ratinhos DM revelou a presença de vilosidades capilares em menor número, o que origina uma redução da área de superfície intestinal. Uma severa redução nos capilares das vilosidades causa muitas implicações na absorção de nutrientes, ocorrendo também uma atividade peristáltica anormal. (10) (39) Para além disso, é proposto que as bactérias podem modular as propriedades e o *turnover* do muco. Ratinhos DM apresentam uma camada de muco aderente à parede do cólon extremamente fina. Contudo, quando expostos a produtos bacterianos, como o peptidoglicano, a espessura da camada de muco volta aos valores dos ratinhos convencionais. Microrganismos como *Bacteroides thetaiotaomicron* e *Faecalibacterium prausnitzii* estão envolvidos nesta produção de muco. (34)

A microbiota intestinal consegue também modular os padrões de glicosilação na mucosa intestinal, sendo que estes funcionam como locais de ligação microbianos a nível celular e subcelular. Por exemplo, uma molécula de sinalização secretada por *B. thetaiotaomicron* é capaz de estimular a adição de fucose a carboidratos da superfície celular do hospedeiro (39). Assim, estes estudos demonstram que a microbiota intestinal é capaz de gerar nichos fisiológicos por modular a estrutura do glicocálice intestinal. (10)

Vários membros da microbiota contribuem para a manutenção da integridade do epitélio intestinal através da manutenção das *tight junctions* e promoção da reparação epitelial após agressão. *B. thetaiotaomicron* induz a expressão de uma proteína *spr2a* (*small proline-rich protein 2A*), importante na manutenção do desmossoma nas vilosidades epiteliais. (39) Para além disso, a sinalização via *toll-like receptor 2*, estimulada pelo peptidoglicano da parede celular bacteriana, promove a integridade do epitélio através da manutenção das *tight junctions* e apoptose reduzida. (10) (39) A microbiota intestinal induz também o fator de transcrição angiogenina-3 implicado no desenvolvimento da microvasculatura intestinal. (39) Outros estudos demonstram também que certas bactérias, como *E. coli*, *Bifidobacterium* spp. e *Lactobacillus* spp. aumentam a sobrevivência das células epiteliais intestinais por inibirem a ativação das vias pró-apoptóticas nas células associadas com bactérias patogénicas. (42)

5.3. Imunidade do hospedeiro

A microbiota intestinal é também importante para o desenvolvimento do SI tanto a nível sistémico como a nível das mucosas. Estudos em ratinhos DM demonstram deficiência em diversos tipos de células imunitárias e estruturas linfoides. (34) Assim, o balanço entre os mecanismos pró e anti-inflamatórios é crítico para a homeostase imunitária e é diretamente afetado pela comunidade microbiana intestinal. (6)

5.3.1. Desenvolvimento e maturação do SI a nível sistémico e das mucosas

Como já foi referido, os SCFAs sintetizados a partir das fibras da dieta têm um papel crítico na homeostasia do hospedeiro. Assim, exercem funções também ao nível SI e resposta inflamatória. (34) O butirato e propionato funcionam como inibidores das desacetilases das histonas regulando a expressão génica. (34) (11) Os SCFAs demonstraram também inibir a transcrição do fator nuclear kappa B (NF-KB) conduzindo a uma redução da produção de citocinas inflamatórias. Para além disso, estes compostos demonstram promover a produção de muco pelas células *goblet* intestinais, induzir a Imunoglobulina A (IgA) secretória e ativar o inflamassoma, resultando na secreção de IL-18. (11)

Uma alteração *major* no SI em ratinhos DM é a falta de expansão das populações de células T CD4+ que pode ser completamente revertida pelo tratamento destes ratinhos com o polissacárido A da cápsula do *B. fragilis*. (34) Assim, *B. fragilis* tem a capacidade de corrigir deficiências em células *T_{helper}*, desequilíbrios nas células Th1 (*T_{helper} 1*) e Th2 (*T_{helper} 2*) e atua diretamente no desenvolvimento de órgãos linfoides. (5) Este processo é conseguido via PRRs (*pattern recognition receptors*) das células epiteliais como os *toll-like receptors* e *nod-like receptors*, que são capazes de reconhecer moléculas efetoras produzidas pelos micróbios intestinais. Estas moléculas medeiam processos que podem melhorar certas doenças inflamatórias do intestino, discriminando entre bactérias patogénicas e benéficas ou aumentar o número de células imunitárias ou PRRs. (34)

As bactérias filamentosas segmentadas (SFBs - *segmented filamentous bacteria*) são uma classe de bactérias comensais anaeróbicas relacionadas com os Clostridia, com capacidade de formação de esporos, e que interagem ativamente com o SI. Ao contrário das outras bactérias comensais, os SFBs estão altamente associados com o revestimento epitelial da membrana do TGI que estimula as células epiteliais a libertar o amiloide sérico A1, um mediador inflamatório. (34) São igualmente capazes de direcionar a maturação pós-natal do tecido linfático intestinal e desencadear uma potente e ampla resposta de IgA, que se liga aos

micróbios na superfície das mucosas e neutraliza toxinas. (11) Para além disso, estimulam as células T e regulam os mediadores de defesa inata intestinais, sugerindo a presença de capacidades de estimulação imunitária dos SFBs. (34)

Akkermansia muciniphila tem sido relacionada com a proteção contra diversas doenças inflamatórias, sugerindo que esta estirpe tem propriedades anti-inflamatórias apesar dos mecanismos não estarem completamente elucidados. (43) Recentemente, uma proteína anti-inflamatória de *F. prausnitzii* demonstrou inibir a via do NF-KB nas células epiteliais intestinais e prevenir a colite em modelos animais. (44)

Outros estudos realizados em ratinhos DM relevaram que a microbiota intestinal é também muito importante para o desenvolvimento do GALT (*Gut-associated lymphoid tissue*). O GALT previne a entrada de antígenos potencialmente perigosos através de um complexo e bem regulado mecanismo de tolerância. Este mecanismo denomina-se tolerância oral e baseia-se na interação entre o conteúdo do lúmen, epitélio intestinal e células dendríticas dos nódulos linfáticos do GALT. É relevante para evitar respostas inflamatórias contra a proteína da dieta ou agressão ao próprio hospedeiro contra bactérias comensais do intestino. (42) Diferentes bactérias produtoras de ácido láctico como *Bifidobacterium* spp. e *Lactobacillus* spp. demonstraram determinar a resposta das células T_{helper}, não permitindo um desequilíbrio entre as células Th1 e Th2 que poderia conduzir a uma situação patológica. (45) Tudo isto, demonstra a importância da microbiota para o SI e como as suas diferenças em composição podem afetar a homeostase imunológica. (42)

5.4. Interações entre a microbiota intestinal e microrganismos patogénicos

A microbiota pode promover a resistência à colonização de espécies patogénicas. Diversos estudos têm confirmado que ratinhos tratados com antibióticos ou que se desenvolvem em ambientes estéreis (DM) são mais suscetíveis à infeção por bactérias patogénicas entéricas. (2) Apesar das bactérias comensais interferirem com as infeções patogénicas através dos seus efeitos na estrutura da mucosa intestinal, a prevenção da colonização dos microrganismos patogénicos é alcançada em grande parte por outros mecanismos. Entre eles, pode referir-se a competição por nutrientes e recetores, a produção de compostos antimicrobianos e o aumento da expressão de múltiplos processos de sinalização celular que limitam a libertação de fatores de virulência. (42) No entanto, em certos contextos a atividade da microbiota pode também promover o crescimento de certos patogenos entéricos (58).

Vibrio cholerae é agente de diarreias agudas, com uma alteração extensiva das populações de micróbios intestinais. Estudos metagenômicos da microbiota fecal de indivíduos com cólera demonstraram que a recuperação é caracterizada por um conjunto de bactérias específicas. Assim, a reconstituição da microbiota em ratinhos DM restringe a infecciosidade de *V. cholerae*. (2) A presença de *Ruminococcus obeum* parece dificultar a colonização intestinal por *V. cholerae* através da produção de uma molécula sinalizadora de *quorum-sensing*, o autoindutor-2, que causa a repressão de diversos fatores de colonização de *V. cholerae*. (46)

O ácido siálico é um açúcar terminal de alguns glicanos das mucosas. *B. thetaiotaomicron* tem atividade sialidase mas não apresenta a via catabólica de utilização do ácido siálico. Assim, a bactéria liberta o ácido siálico de modo a poder utilizar o glicano como fonte de carbono. (2) O ácido siálico libertado pode ser catabolizado por *C. difficile* e *Salmonella typhimurium*, permitindo o crescimento destas espécies. Deste modo, a capacidade da microbiota para usar o ácido siálico depende da ação do *B. thetaiotaomicron* e as formas mutantes que não apresentam atividade sialidase não permitem o crescimento destas duas bactérias patogénicas. (47) Para além disso, *B. thetaiotaomicron* liberta fucose do muco através das múltiplas enzimas que possui. Esta fucose pode ser usada como fonte de carbono para expansão de *S. typhimurium*, por exemplo após tratamento com antibióticos. (47)

Os principais competidores de *E. coli* spp. enterohemorrágica (EHEC - *enterohemorrhagic E. coli*) são as *E. coli* spp. comensais, que utilizam preferencialmente a fucose como fonte de carbono. Deste modo, para ultrapassar esta competição, a EHEC utiliza outras fontes de carbono como a galactose, hexuranatos, manose e ribose, os quais a *E. coli* comensal não consegue metabolizar eficazmente. (2) A EHEC utiliza a fucose como uma molécula de sinalização para ajustar o seu metabolismo e regular a expressão de fatores de virulência. Assim, quando a EHEC deteta a fucose no lúmen, esta reprime o uso deste açúcar bem como a expressão de genes que codificam para um sistema de secreção do tipo III (T3SS - *Type III secretion system*), um sistema de translocação proteica que permite a adesão da bactéria aos enterócitos. Esta repressão previne a EHEC de competir para a fucose com a *E. coli* comensal e o gasto de energia desnecessário na expressão do fator de virulência T3SS. (48) Para alcançar o epitélio, a EHEC produz mucinases que quebram o esqueleto proteico das glicoproteínas, sendo que a expressão destas enzimas é aumentada pelos metabolitos produzidos pelo *B. thetaiotaomicron*, como o succinato. Assim, a EHEC é capaz de alcançar o epitélio intestinal. De seguida, o *B. thetaiotaomicron* sintetiza mais succinato e outros metabolitos necessários para a gluconeogénese neste ambiente pobre em nutrientes. Estes

compostos são detetados pela EHEC que aumenta a expressão de T3SS, de modo a ligar-se às células epiteliais do intestino do hospedeiro e formar lesões, levando a diarreia. **Figura 5.1** (49)

Existem outras bactérias patogênicas que são também capazes de alterar a sua expressão gênica na presença de succinato. *C. difficile* induz uma via que converte o succinato em buritato, conferindo-lhe uma enorme vantagem de crescimento *in vivo*. Assim, populações mutantes de *C. difficile* incapazes de converter o succinato não se conseguem expandir no intestino na presença de *B. thetaiotaomicron*. (50)

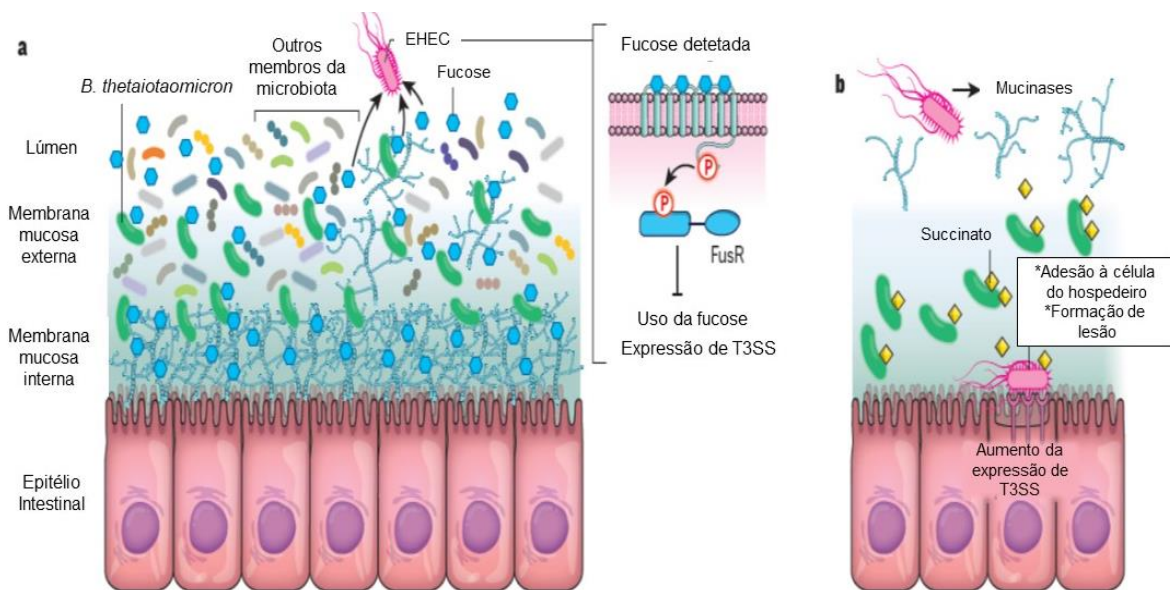


Figura 5.1 Modulação da virulência da EHEC através dos nutrientes fornecidos pela microbiota intestinal. Adaptado de (2)

5.5. Ações exteriores ao TGI

Nos últimos anos, tem havido um interesse crescente sobre a importância da microbiota na maturação e modulação das funções sensoriomotoras do intestino. (42) Para além disso, existe também a evidência que a microbiota influencia o comportamento emocional humano. Deste modo, alterações na microbiota ou a exposição intestinal a dadas bactérias podem modular o sistema nervoso central (SNC) e periférico, resultando numa função cerebral alterada e sugerindo, assim, a existência de um eixo microbiota-cérebro. (51) Este eixo funciona como um sistema de comunicação bidirecional complexo que existe entre o SNC e o TGI, podendo a microbiota intestinal interagir com este, emitindo e recebendo uma multiplicidade de sinais para ou do cérebro, respetivamente. O cérebro pode influenciar a composição da microbiota indiretamente, através de modificações na motilidade, secreção ou permeabilidade intestinal, ou diretamente, através de citocinas libertadas no lúmen intestinal pelas células enterocromafins, células neuronais ou do SI da lâmina própria. (42)

Vários estudos estão em desenvolvimento de modo a investigar-se o grau de influência da microbiota intestinal no SNC e no comportamento humano. Especificamente, um estudo com ratinhos que utilizou como probiótico a estirpe JB-1 de *Lactobacillus rhamnosus*, com capacidade neuroativa, demonstrou alterações nos recetores *gamma amino butyric acid* (GABA) em diferentes regiões do cérebro e aumento do comportamento ansiolítico. (52) Foi também demonstrado que os efeitos do *L. rhamnosus* não são só a nível local, mas também sistémico. (53)

Assim, existe também uma boa evidência de estudos em animais que as bactérias intestinais influenciam a química e desenvolvimento do cérebro e que o sistema nervoso entérico, incluindo o nervo vago, parece ser capaz de diferenciar entre bactérias potencialmente patogénicas e não patogénicas. Tudo isto tem um papel crítico ao mediar os efeitos dos microrganismos no comportamento humano. (51)

6. Perturbações da microbiota intestinal e patologias associadas

Nas condições fisiológicas normais, a microbiota intestinal é um ecossistema homeostático com várias funções vitais e inter-relações importantes para a saúde do hospedeiro. A disrupção desse equilíbrio pode resultar em disbiose e aumento do risco de doença. Uma composição alterada da comunidade microbiota foi estabelecida em determinadas doenças gastrointestinais, tais como: doença inflamatória intestinal (DII), síndrome do intestino irritável (SII), DAA, entre outras. Contudo, evidências mais recentes indicam que a disbiose não é limitada apenas a doenças gastrointestinais, podendo estar relacionada com a obesidade, diabetes, doenças atópicas, entre outras patologias. (6)

É importante referir que, enquanto a quebra do equilíbrio do meio intestinal pode ser amplamente reconhecida, existem perturbações em torno dos mecanismos biológicos que levam a disbiose. Portanto, nalguns casos não é claro se a disbiose se manifesta como causa ou consequência de uma determinada doença. (6)

6.1. Diarreia associada a antibioterapia

A DAA reflete bastante bem a sensibilidade das interações micróbio-hospedeiro na saúde e as consequências da sua disrupção, quando o fenótipo patológico emerge. (7)

A inflamação intestinal causada por *C. difficile* é uma manifestação da DAA. (7) Esta é caracterizada por diarreia, colite pseudomembranosa e por vezes torna-se complicada pela colite fulminante. (1) A colite por *C. difficile* é uma complicação séria do uso de antibióticos, uma vez estes alteram de modo transitório a composição da microbiota, permitindo o desenvolvimento de um nicho onde o patógeno se consegue expandir. (1) (22) Baseado num elevado número de estudos, o dano da microbiota e a diminuição da diversidade parecem ser os fatores principais para a patogenicidade do *C. difficile*. Para além do uso de antibióticos, outros fatores de risco como idade elevada (>65 anos), comorbilidades e o uso de outros fármacos (especialmente inibidores de bomba de prótons) são responsáveis por diminuir a diversidade da microbiota e aumentar a predisposição para o desenvolvimento desta doença. (1)

Alguns indivíduos parecem ser especialmente suscetíveis ao desenvolvimento de diarreia por *C. difficile* quando são administrados antibióticos de largo espectro de ação, tendo sido demonstrado que alguma desta suscetibilidade pode residir na composição da microbiota pré-exposta. (54) Evidências sugerem que a suscetibilidade a esta doença é sobretudo função da resiliência da microbiota indígena, com algumas comunidades bacterianas a terem uma maior capacidade de recuperação do que outras. O papel do microbioma residente na infeção por *C. difficile* é considerado um exemplo paradigmático da emergência de um estado de doença resultante de perturbação da microbiota comensal normal e das suas relações simbióticas. (7) Utilizando métodos de não sequenciação, foi demonstrado que os indivíduos que desenvolviam infeção por *C. difficile* tinham um decréscimo no número de *Bacteroides* spp., *Prevotella* spp. e Clostridia, bem como um aumento do número de Enterobacteriaceae quando o comparado com indivíduos saudáveis. (55) (56)

A doença é associada a elevados custos de terapêutica e aumento do tempo de hospitalização. A infeção mostra também um carácter recorrente e o desenvolvimento de recaídas aumenta a resistência à terapêutica antibiótica após novo episódio de infeção. (1)

6.2. Síndrome do intestino irritável

A SII é uma das doenças intestinais funcionais mais comuns. Os sintomas podem variar entre indivíduos, incluindo dor abdominal, cólicas, obstipação e/ou diarreia, flatulência, inchaço e sensação de evacuação incompleta após defecação. (3) (57) A SII é uma doença multifatorial, sendo que a etiologia e fisiopatologia permanecem parcialmente conhecidas. (57) Contudo, várias alterações fisiopatológicas têm vindo a ser descritas, como motilidade intestinal alterada, hipersensibilidade visceral, ativação imunitária e desregulação do eixo cérebro-intestino. (57) (58) Nos anos mais recentes, foi demonstrado que doentes com SII

apresentam alterações importantes na microbiota e na mucosa intestinal. (58) Esta ideia é suportada pelo facto de subgrupos de doentes apresentarem uma história de infeção entérica prévia à SII. Frequentemente, observam-se também alterações qualitativas e quantitativas da microbiota intestinal, como uma elevada prevalência de sobrecrescimento de bactérias intestinais em indivíduos com SII comparativamente com controlos saudáveis. Para além disso, observa-se uma possível modulação da microbiota intestinal com antibióticos, probióticos e prebióticos. (7) (58) É também sugerido que certos produtos da fermentação bacteriana podem estar implicados na fisiopatologia da SII e, portanto, uma restrição dietética pode atenuar os sintomas intestinais. (58)

Na generalidade, os estudos desenvolvidos no âmbito da SII demonstram a redução da diversidade microbiana bem como alterações ao nível do filo, espécies e estirpes. Contudo, os resultados são inconsistentes entre estudos, devido a deficiências no desenho do estudo, heterogeneidades intrínsecas à população do estudo e aplicação de diferentes técnicas nos estudos e diferentes subgrupos da SII. (7) (57) Deste modo, segundo a maioria dos estudos verifica-se uma diminuição da proporção dos géneros *Bifidobacterium* e *Lactobacillus* (57) (58) e um aumento dos Firmicutes, (59) verificando-se um aumento em duas vezes da razão Firmicutes/Bacteroidetes. (58)

6.3. Doença inflamatória intestinal - doença de Crohn e colite ulcerosa

A DII representa um grupo heterogéneo de doenças inflamatórias crónicas que afetam o TGI, existindo dois fenótipos principais primários de doença, a DC e a CU. (60) A DC pode afetar qualquer parte do TGI, embora o íleo e o cólon estejam mais frequentemente envolvidos. A inflamação da DC é descontínua, transmural e com úlceras profundas. Em contraste, a CU afeta apenas o cólon e reto e é caracterizada por uma inflamação da mucosa contínua e por úlceras superficiais. (60) (3) Os sintomas clínicos da DII incluem dor abdominal, diarreia, sangramento retal, mal estar geral e perda de peso. (3) Embora a etiologia da doença não seja completamente conhecida, estudos recentes suportam a hipótese que a DII resulta de um complexo de fatores, como genética, desregulação imunitária e o ambiente envolvente. Estes fatores podem exercer o seu efeito através de alterações na microbiota intestinal. (60)

A primazia dos fatores de risco ambientais é demonstrada pelo rápido aumento da incidência e prevalência da doença a nível mundial quando ocorre a transição de uma sociedade em desenvolvimento para uma sociedade desenvolvida. (61) Estas rápidas alterações são demasiado bruscas para serem explicados por alterações genéticas,

apontando para um possível papel dos fatores ambientais. Esta hipótese é também suportada por estudos em grupos emigrantes. (62)

Apesar da possível relação microbiota intestinal – DII, ainda não fora isolado um agente único que cause a DII. (60) (63) Estudos mais recentes têm proposto que alterações patológicas na microbiota intestinal podem predispor para uma resposta imunitária alterada em indivíduos com predisposição, levando ao desenvolvimento de uma inflamação crónica intestinal. (60) Assim, os estudos defendem que as perturbações da microbiota são um fator essencial para exacerbar a inflamação, em vez de serem uma consequência da inflamação crónica. (64) São vários os pressupostos que suportam a ideia apresentada acima, podendo salientar-se o facto de uma disbiose ser frequentemente observada em indivíduos com DC e CU. (60) Para além disso, verifica-se que a remoção do conteúdo fecal melhora a atividade patológica da DC, contudo a reinfusão do material fecal resulta em inflamação recorrente. (65) A administração de antibióticos e probióticos demonstrou ser efetiva para a indução ou manutenção da remissão da DII. (60) Ratinhos DM não desenvolveram colite sem que houvesse introdução de bactérias fecais capazes de induzir inflamação. (66)

A disbiose intestinal pode contribuir para a patologia da DII pela perda de microbiota intestinal ou ganho potencial de patobiontes, isto é, microrganismos que só se tornam patogénicos em condições específicas em indivíduos suscetíveis. (60) Embora existam diferenças entre estudos, pode referir-se que em todos se verifica uma redução generalizada da biodiversidade, bem como a redução de taxa específicas, como os Firmicutes e Bacteroidetes. Para além disso, verificam-se trocas taxonómicas com um aumento relativo de Enterobacteriaceae, incluindo *E. coli* e *Fusobacterium* spp.. (60) Num estudo coorte em crianças com DC diagnosticada, demonstrou-se em biopsias retais e ileais, um aumento da quantidade de Enterobacteriaceae, Pasteurellaceae, Veillonellaceae e Fusobacteriaceae, bem como um decréscimo de Bacteroidales e Clostridia. (67)

6.4. Cancro colorretal

Atualmente, existe evidência que o desenvolvimento do cancro colorretal (CCR) está altamente associado a fatores genéticos. (22) (58) A neoplasia é iniciada por mutações em certos genes. Contudo, a causa destas mutações e modificações epigenéticas não é conhecida. Estudos recentes têm identificado a microbiota intestinal e alguns fatores ambientais, como a dieta e estilo de vida, como potenciais promotores do desenvolvimento do CCR. (58)

Contudo, ainda não é claro se são microrganismos específicos que participam diretamente na carcinogênese ou se o processo requer interações específicas entre os tecidos do hospedeiro e a microbiota intestinal. (58) Atualmente, o modelo aceito para indução do CCR pela microbiota intestinal baseia-se num aumento da liberação das toxinas produzidas pelas bactérias, diminuição dos metabolitos benéficos, ruptura da barreira epitelial, produção de compostos pró-carcinogênicos e alterações da própria microbiota intestinal. Todos estes mecanismos podem causar uma ativação descontrolada do SI com inflamação crônica, aumento da proliferação celular e desenvolvimento do tumor. (68) Vários estudos têm indicado que o aporte de fibras elevado pode fornecer benefícios à saúde intestinal e diminuir a incidência do CCR, uma vez que as fibras são fermentadas por bactérias do cólon. Assim, formam-se SCFAs, como o butirato, que ao ser capturado pelos enterócitos é usado como fonte de energia. Segundo certos estudos, parece que o butirato consegue induzir a apoptose e inibir a proliferação de células neoplásicas do cólon. (58) Verificou-se em análises fecais de doentes com CCR, um aumento de *Bacteroides* spp., diminuição das bactérias produtoras de butirato (58) e aumento das bactérias potencialmente patogênicas, como *Fusobacterium* spp.. (59) (58) Outros estudos têm indicado um papel relevante de certas bactérias no desenvolvimento do tumor, como *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus bovis*, *Clostridium septicum* e *E. coli*. (68)

É provável que alterações na microbiota posteriores à neoplasia estejam associadas com disponibilidade de nutrientes e outras condições criadas pelas células neoplásicas. Contudo, mais estudos são necessários para avaliar se o estado de disbiose precede ou não o desenvolvimento do CCR. (58)

6.5. Obesidade e doenças metabólicas: síndrome metabólica

A obesidade caracteriza-se por um excesso de tecido adiposo e ocorre quando existe um desequilíbrio entre o aporte e gasto de energia. Este é um processo que envolve fatores genéticos e ambientais, estando associado ao desenvolvimento de outras complicações crônicas, como hiperglicemia, dislipidemias, hipertensão e esteatose hepática. (11) (36) Os indivíduos que apresentem pelo menos três destes critérios são diagnosticados clinicamente como tendo síndrome metabólica (SM). Esta condição aumenta o risco de desenvolver doenças metabólicas como diabetes *mellitus* do tipo 2 (DMT2) e DCV. (36)

A resistência à insulina é uma condição que leva ao aumento da glicemia, aumento da síntese de lípidos hepáticos, dislipidemia e acumulação de gordura nos adipócitos. Deste modo, a resistência à insulina é um importante fator que pode contribuir para o desenvolvimento do SM. Estas alterações metabólicas estão também associadas à ativação

do SI, com a produção de citocinas inflamatórias. Esta produção leva a um estado de inflamação de baixo grau, induzindo o recrutamento de células imunitárias para os tecidos metabólicos, particularmente os tecidos adiposos. Assim, o desenvolvimento da inflamação crónica em indivíduos com obesidade tem sido sugerido como o promotor da progressão clínica do SM e das patologias associadas (DMT2 e a doença do fígado gordo não alcoólico (DFGNA), que será abordada na secção 6.6). Deste modo, atualmente é defendido que a microbiota intestinal contribui para o desenvolvimento das doenças metabólicas via estimulação do processo de inflamação crónica. (36)

O lipopolissacárido (LPS) é uma endotoxina derivada da membrana externa das bactérias Gram-negativas, sendo apontado como um fator relevante para o início do processo de inflamação associado à obesidade e resistência à insulina. (3) (36) O LPS é capaz de atravessar a mucosa gastrointestinal através das *tight junctions* ou infiltrando-se nas quilomicras, as partículas lipoproteicas responsáveis pela absorção de gordura (triglicéridos e colesterol) proveniente da dieta. Assim que o LPS atinge a circulação sistémica, infiltra-se nos tecidos como o fígado e tecido adiposo, aumentando a resposta imunitária. (36) O LPS é encontrado na circulação em baixas concentrações em indivíduos saudáveis, mas em indivíduos obesos atinge concentrações elevadas, sendo este fenómeno denominado endotoxémia metabólica. (36) (69)

Existem vários mecanismos que têm sido propostos para explicar a ligação entre a endotoxémia metabólica e a obesidade. Durante o consumo de uma dieta rica em gordura, ocorrem alterações da microbiota intestinal que podem causar um aumento da permeabilidade intestinal, permitindo a passagem para a circulação de produtos bacterianos, como o LPS. Para além disso, um maior aporte em gordura leva a um aumento das quilomicras no intestino durante a fase pós-prandial, favorecendo a infiltração do LPS na circulação. O metabolismo alterado das lipoproteínas em doentes com DMT2 demonstrou também reduzir o catabolismo do LPS, podendo aumentar a inflamação associada à endotoxémia. (36) (69)

Um estudo demonstrou que uma infusão de LPS em ratinhos machos durante 4 semanas induziu um aumento de peso comparável ao observado nos ratinhos a consumir uma dieta rica em gorduras. (70) Em humanos, os níveis de endotoxina circulante aumentaram 20% em indivíduos com obesidade ou intolerância a glucose e 125% em indivíduos com DMT2 quando comparados com indivíduos com fenótipo magro. (71)

Tendo em conta estes resultados, verifica-se que a microbiota intestinal pode contribuir para a obesidade e patologias associadas, como a DMT2 e DFGNA, através da indução de um estado de inflamação crónica. (36) (69)

Vários estudos em ratinhos com fenótipo *wild-type*, magro e obeso têm mostrado diferenças entre os filos Bacteroidetes e Firmicutes. (36) Um aumento na razão Firmicutes:Bacteroidetes, bem como uma redução na diversidade da microbiota têm sido associadas à obesidade de modelos animais. Para além disso, dietas que limitem o ganho de peso levam a uma relação inversa, isto é, um aumento dos Bacteroidetes e diminuição dos Firmicutes, tanto em ratinhos como humanos. Contudo, outras investigações não demonstram esta associação entre a obesidade e o rácio Bacteroidetes:Firmicutes em humanos, sugerindo que a relação seja mais complexa e difícil de interpretar. (11) (36)

A acumulação de gordura em ratinhos DM comparada com ratinhos convencionais é inferior, e a colonização dos primeiros com a microbiota intestinal resulta num aumento de 60% de gordura em 2 semanas. Este aumento de gordura corporal é acompanhado por uma diminuição da sensibilidade à insulina e aumento dos triglicéridos no fígado. (11)

A colonização de ratinhos DM com a microbiota de ratinhos obesos aumentou mais a deposição de gordura quando comparado com a colonização de microbiota de ratinhos magros. (72) (73) Ratinhos humanizados com dador obeso também mostraram maior ganho de peso e deposição de gordura que ratinhos humanizados com dador magro. A coabitação de ratinhos humanizados magros e obesos pareceu ajudar a prevenir o fenótipo obeso, alterando a microbiota para um perfil mais do tipo “magro”. (74). Assim, estes dados parecem indicar que poderão existir nichos disponíveis no dador obeso que podem ser preenchidos com micróbios associados ao fenótipo magro. Como abordagem terapêutica do futuro, poderia determinar-se espécies específicas para o transplante e seria possível o tratamento de anormalidades metabólicas. Alguns estudos pré-clínicos já demonstraram efeitos benéficos dos prebióticos e probióticos, embora os ensaios em humanos sejam ainda inconsistentes, sendo necessária mais investigação. (11)

6.6. Doença hepática: fígado gordo não-alcoólico

A DFGNA caracteriza-se por uma acumulação excessiva de triglicéridos nos hepatócitos na ausência de consumo de álcool paralelamente (<20 e 30g por dia na mulher e no homem, respetivamente). (75) A fisiopatologia da DFGNA é multifatorial com uma elevada contribuição genética e dos fatores ambientais. (4) Estes fatores são divididos em dois grupos, o primeiro engloba fatores com relação bem estabelecida e o segundo considera fatores com uma potencial associação com a patologia. Dentro do segundo grupo engloba-se a disbiose da microbiota intestinal. Atualmente, é defendido que a DFGNA está relacionada com uma doença multi-sistema com uma componente hepática e extra-hepática. Assim, a DFGNA

relaciona-se com morbidades extra-hepáticas como complicações do SM: DMT2, disfunção da tiróide, doença renal crónica e DCV, etc. (75)

São vários os mecanismos que podem explicar a relação entre a microbiota intestinal e a DFGNA. A fermentação de polissacáridos provenientes da dieta a monossacáridos e SCFAs parece estar associada com a DFGNA, bem como um aumento da permeabilidade intestinal que permite que endotoxinas e uma maior quantidade de SCFAs atinjam o fígado. A presença na circulação de componentes bacterianos, como o LPS, tem sido sempre reconhecida como um fator causal ou de complicação na DFGNA, já que cerca de 70% do fluxo intestinal passa diretamente no fígado através da circulação portal. (75)

A colina é hidrolisada no cólon em dois compostos, dimetilamina e trimetilamina, ambos precursores de um composto hepatotóxico, sendo esta catálise mediada por enzimas bacterianas. Para além disso, como já referido na secção 5.1, a colina tem um papel crítico na síntese de VLDL, necessárias para o transporte de lípidos do fígado. Assim, uma deficiência em colina devido a uma alteração na microbiota, pode levar à deposição de gordura no fígado. (75) Por último, como já referido na secção 5.1, a microbiota intestinal afeta também a síntese de ácidos biliares, sendo estes cruciais para a absorção de gorduras. (75)

Assim, a combinação de uma microbiota alterada, alterações das funções de barreira do intestino e a resposta do SI pró-inflamatório é proposta como sendo uma das causas para a promoção de deposição lipídica no fígado, levando conseqüentemente à progressão de doença inflamatória no fígado. (7)

6.7. Doenças respiratórias

O trato respiratório inferior é uma das superfícies do organismo humano com menor quantidade de microrganismos, apresentando cerca de 10 a 100 células bacterianas por 1000 células humanas. É constituído por dois filos predominantes: Firmicutes e Bacteroidetes, à semelhança do intestino, com os filos Actinobacteria, Proteobacteria e Fusobacteria em menor quantidade. (76)

A relação entre a microbiota intestinal e as doenças respiratórias crónicas ainda é pouco conhecida. Contudo, alguns trabalhos têm vindo a estabelecer uma relação entre a microbiota alterada e estas patologias. (22)

Esta associação é mais evidente em algumas doenças como a fibrose cística (FC). (22) A FC é uma doença genética autossómica recessiva causada por mutações que levam

a doença do pulmão progressiva, insuficiência pancreática e deficiências de crescimento e nutrição. Existem diferentes mutações genéticas responsáveis por diferentes graus de severidade. (22) Assim, um estudo recente demonstrou que a composição da microbiota intestinal em doentes com FC é significativamente diferente dependendo da variação genética. (77) Um estudo em crianças com FC demonstrou que a microbiota intestinal e respiratória se desenvolvem simultaneamente após o nascimento, existindo um *cross-talk* constante entre os dois compartimentos. Algumas bactérias aparecem no intestino antes de serem detetadas no trato respiratório, podendo significar que existe a contribuição da microaspiração de micróbios intestinais para o desenvolvimento da microbiota respiratória. Para além disso, flutuações na abundância de uma variedade de bactérias parecem acontecer de igual modo em ambos os locais. (78)

Em relação a outras doenças respiratórias, doentes com asma ou doença pulmonar obstrutiva crónica demonstraram um aumento de Proteobacteria e Firmicutes, enquanto a proporção de Bacteroidetes é significativamente menor. A microbiota do pulmão em doentes com FC é caracterizada pelo aumento marcado de microrganismos do filo Proteobacteria com um aumento adicional do filo Actinobacteria. Contudo, não é apenas a microbiota respiratória que se encontra alterada nestas patologias, incluindo também mudanças na composição da microbiota intestinal. (76)

Assim, até agora os mecanismos através dos quais a microbiota intestinal influencia o pulmão não são totalmente conhecidos. Contudo, nos anos recentes, foi ficando mais evidente que o intestino tem um papel crítico nas respostas imunitárias a nível sistémico, incluindo o pulmão. Isto poderá ser alcançado através da disseminação sistemática de metabolitos, como os SCFAs, que apresentam ação anti-inflamatória. Outra possibilidade poderá ser a migração de bactérias diretamente do intestino para as vias respiratórias que atuam nas células imunitárias locais para modular as suas respostas. Assim, uma investigação mais aprofundada sobre as vias e mediadores é necessária, no sentido de estudar a possibilidade de novas abordagens terapêuticas. (76)

7. Potencial terapêutico da manipulação da microbiota intestinal

O estudo do metabolismo, sinalização e interações imunitárias entre a microbiota intestinal e hospedeiro e o modo como essas interações modulam outros órgãos e as funções intestinais, criou o conceito de manipulação terapêutica da microbiota intestinal. A seleção de estirpes bacterianas intestinais específicas representa uma abordagem terapêutica

promissora para controlo de certas patologias. (36) As terapêuticas que têm vindo a ser estudadas incluem a suplementação com probióticos, uso de prebióticos e reconstituição da população bacteriana utilizando transplante da microbiota fecal (TMF).

7.1. Probióticos

Segundo a Organização Mundial de Saúde, os probióticos são microrganismos vivos que, quando consumidos em quantidades adequadas, conferem saúde e benefício ao hospedeiro. (79) Os microrganismos mais estudados e vulgarmente utilizados são *Lactobacillus* spp. e *Bifidobacterium* spp.. Uma utilização profilática em indivíduos saudáveis de modo a manter um bom estado de saúde, bem como uma utilização como tratamento para certas patologias são as principais razões para que, nos últimos anos, tenha ocorrido um incremento no uso de probióticos. (3). O mecanismo de ação dos probióticos permanece ainda desconhecido, (79) porém parece ser mais amplo do que apenas modular a microbiota intestinal. (58) Apesar disso, segundo vários estudos, é possível que os probióticos atuem através da inibição da colonização e adesão de bactérias patogénicas aos enterócitos, aumento da secreção de defensinas, diminuição da síntese de citocinas pró-inflamatórias, entre outros. **Figura 7.1** (58) (3) Assim, parece que o mecanismo de ação dos probióticos poderá ser multifatorial e específico para cada espécie. (3)

Embora os probióticos sejam compostos por bactérias viáveis, estes apresentam um tempo de vida curto, com a microbiota a necessitar de uma dose repetida para manutenção de um nível constante. Assim, vários estudos têm demonstrado que os probióticos são eliminados do material fecal uma semana após a paragem da administração oral. (57)

Em relação à utilização de probióticos como terapêutica de certas patologias, ainda existem muitas questões relativas ao seu uso nas doenças gastrointestinais que permanecem sem resposta, como doses ótimas, duração de tratamento, efeitos imunológicos e fisiológicos concretos e segurança. (58) Vários estudos têm demonstrado que os probióticos são benéficos na prevenção e tratamento da DAA. (3) (57) Para além disso, o reconhecimento da disfunção da microbiota intestinal na DII tem levado a uma maior preocupação no desenvolvimento de probióticos como terapêutica desta doença. (57) Assim, diversos estudos têm avaliado o uso de probióticos na indução e manutenção da remissão da DII. Contudo, os probióticos não demonstraram eficácia no tratamento da DC. (60) Pelo contrário, estirpes específicas de probióticos têm demonstrado que poderão ter um papel importante na CU ativa leve a moderada, como é o caso da VSL#3 (contendo 8 espécies bacterianas distintas). (80)

Diversos estudos sobre a utilização de probióticos no SII têm demonstrado resultados contraditórios. (6) (57) Este tipo de resultados não concordantes pode ser explicado por diversos fatores, como a diferente dimensão da amostra, variabilidade no desenho dos ensaios, heterogeneidade da estirpe, diferentes doses, duração do tratamento e características do doente. (57) Esta falta de homogeneidade entre estudos pode mascarar informações relevantes acerca do potencial terapêutico dos probióticos em certas patologias. Portanto, no futuro, deverá haver uma maior preocupação no desenho, conduta e precisão dos ensaios clínicos em humanos. (22)

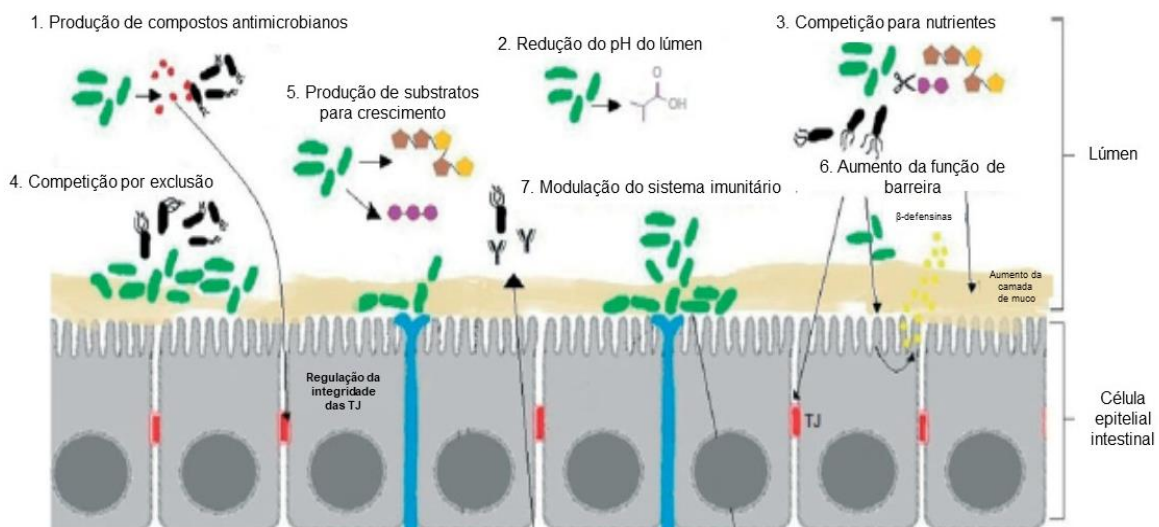


Figura 7.1 Mecanismos pelos quais os probióticos podem influenciar a microbiota intestinal e/ou induzir respostas benéficas no hospedeiro. Adaptado de (3)

7.2. Prebióticos

Os prebióticos são compostos capazes de alterar de modo benéfico a microbiota do hospedeiro, por estimularem seletivamente o crescimento e atividade de certos microrganismos no cólon. (36) (12) São substâncias alimentares não-digeríveis, sendo capazes de escapar à absorção no intestino delgado. (12) (57)

A grande parte dos compostos com efeitos prebióticos pertence ao grupo dos carboidratos não-digeríveis, como os poli- e oligossacáridos, o que inclui os frutose-oligossacáridos (FOS), como a inulina, e os galacto-oligossacáridos (GOS). A lactulose é provavelmente o prebiótico mais conhecido e tem sido utilizado com sucesso no tratamento da obstipação. (36) (57)

A maioria dos prebióticos atua especificamente no crescimento de *Lactobacillus* spp. e *Bifidobacterium* spp. que, como já referido acima, são dos probióticos mais utilizados. (57) Os prebióticos podem ser transformados pela microbiota intestinal em substrato, como os

SCFAs. (36) Como já referido na seção 5.1, os SCFAs têm efeitos benéficos no hospedeiro, ao nível da expressão génica, modulação da proliferação celular, acetilação de histonas e regulação do SI. (60) Estudos realizados em ratinhos e em humanos têm demonstrado que a inulina e outros frutose-oligosacáridos promovem o crescimento de *Bifidobacterium* spp. e *Lactobacillus* spp.. (60) Este crescimento está também associado a um aumento da tolerância à glucose, melhoria da secreção de insulina e normalização do processo de inflamação nos roedores. (81) Os GOS são capazes de modular a assimilação de monossacáridos por modificarem a atividade dos transportadores dos mesmos, existindo assim uma ativação das vias glicolíticas. O consumo de prebióticos está também associado a um decréscimo dos níveis plasmáticos, hepáticos e renais de lípidos nos roedores. Assim, a ingestão de prebióticos poderá diminuir a atividade lipogénica e aumentar a atividade lipolítica. (36)

Um estudo indicou que através do aumento de *Bifidobacterium* spp. causado pelos GOS, poderia haver uma melhoria dos sintomas da DII em doentes com essa patologia. (82) Contudo, outro estudo, utilizando FOS em doentes com DII, não verificou mudanças nos sintomas. (83) Estes resultados contraditórios podem ser explicados por diversas razões, como as próprias desvantagens dos prébióticos. A frutose e o sorbitol são fracamente absorvidos e vão atuar como substratos para as bactérias no cólon, contudo estas moléculas de baixo peso molecular são capazes de adquirir quantidades de água substanciais, podendo causar diarreia indesejada. (57) Assim, embora a inulina e os GOS produzam um aumento do peso do material fecal, são também capazes de provocar um aumento de flatulência e cólicas em indivíduos saudáveis, sendo estas características indesejáveis no tratamento da DII. (57)

7.3. Transplante da microbiota fecal

O TMF é definido como a transferência de material fecal de um dador saudável para um recetor que apresenta uma microbiota alterada. O principal objetivo é restaurar a eubiose. (1) (84)

Como referido na seção 6.1, o principal problema da infeção por *C.difficile* é o seu carácter recorrente, que aumenta após cada episódio. (1) Assim, o risco de recorrência é elevado, com pelo menos 10 a 20% dos doentes a desenvolverem a primeira recorrência dentro de 8 semanas de tratamento e 40 a 65% dos doentes com recorrências subsequentes. (84) Para além disso, estes doentes não respondem muitas vezes às terapêuticas tradicionais com vancomicina e fidaxomicina. (84) Assim, identificar novas terapêuticas tem sido crítico. Deste modo, o TMF é aplicado no tratamento da infeção por *C. difficile* recorrente, isto é, em doentes com pelo menos 3 episódios de infeção confirmada que não responderam ou sejam refratários às terapêuticas convencionais de antibióticos. (84) A hipótese que se coloca é que,

restaurando a população bacteriana normal, haverá uma maior competição para nutrientes e inibição do crescimento de *C. difficile* e poderá também haver uma regulação do SI e alterações nos ácidos biliares que alterem o ciclo de vida do microrganismo. (85)

Vários estudos têm demonstrado taxas de cura >85% e algumas >90%. (84) O primeiro ensaio randomizado controlado do transplante foi realizado pela via nasoduodenal, havendo 81% dos doentes com resolução da recorrência após uma infusão (transplante) em comparação com 31% dos doentes a fazerem vancomicina. (86) Deste modo, baseando-se no sucesso da terapêutica com o TMF para a infecção por *C. difficile* o *American College of Gastroenterology* (87) e a *European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* (88) recomendam esta opção de tratamento. Um estudo mais recente avaliou a utilização de cápsulas orais com amostras fecais congeladas como terapêutica, verificando-se que em 20 doentes onde o tratamento com vancomicina falhou, 14 (70%) tiveram a resolução da sua diarreia após a administração das cápsulas (15 cápsulas durante dois dias consecutivos). Dos 6 que não responderam ao tratamento, 4 tiveram a resolução da sua diarreia após uma segunda administração das cápsulas, não tendo sido verificadas reações adversas graves. (89) (90) Foi realizado um outro estudo de modo a avaliar o custo-efetividade desta estratégia terapêutica, tendo sido verificado, após comparação das várias estratégias de tratamento, que o TMF por colonoscopia é a estratégia mais custo-efetiva para o tratamento da infecção recorrente por *C. difficile*. (91)

Relativamente à DII, uma revisão sistemática descreveu 18 estudos (122 doentes) que usaram o TMF em doentes com DII, tendo sido verificado uma taxa de remissão total de apenas 36.2%, com uma resposta de 22% quando apenas eram analisados doentes com CU e resposta de 60.5% quando doentes com DC eram avaliados. (92) Estas respostas menos robustas em doentes com DII vs. doentes com infecção por *C. difficile* podem ser explicadas pela existência de outros fatores que contribuem para as exacerbações da DII, para além da microbiota, como a inflamação e função de barreira da mucosa. São múltiplos os fatores que contribuem para a disbiose observada na DII, comprometendo também a integridade da mucosa e inflamação, como a genética e fatores externos (dieta, tabagismo, infeções, stress, cirurgias, etc.). É importante referir que o TMF é um tratamento focado na reconstituição da microbiota intestinal, mas os seus efeitos no SI e integridade da mucosa são menos claros. (84)

Para além destas patologias supracitadas, tem havido um interesse em aplicar o TMF noutras patologias gastrointestinais e não-gastrointestinais, como obesidade e SM ou SII. (84) Relativamente ao SII, um estudo com 13 doentes que não respondiam à terapêutica habitual, demonstrou a resolução ou melhoria de sintomas em 70% dos doentes que receberam o TMF,

com uma melhoria da dor abdominal, dispepsia, inchaço e flatulência. (93) Estudos adicionais em doentes com SII demonstraram melhoria dos sintomas a curto prazo, mas menos de 50% dos doentes apresentaram melhorias a longo prazo. (84) Outra grande área de interesse é a obesidade e o SM devido ao crescente número de doentes com este tipo de patologias. Em estudos com ratinhos verificou-se que, quando o material fecal era transferido de ratinhos obesos para ratinhos DM, ocorria um aumento do número de adipócitos. Estudos posteriores realizados em humanos demonstraram que indivíduos obesos com um dador de material fecal magro apresentavam melhoria da sensibilidade à insulina, aumento da diversidade da microbiota e aumento da *Roseburia intestinalis*, uma bactéria produtora de butirato. (84)

Segundo os vários estudos realizados, não parece existir efeitos adversos a curto prazo significativos, contudo os resultados a longo prazo relacionados com alterações da microbiota são menos claros e requerem uma análise contínua e prospetiva. Para além disso, em teoria existe o potencial de transmissão de infeções, desenvolvimento de doenças ou desregulação do SI. Existem relatos de doenças autoimunes após TMF, apesar da sua causalidade ser pouco clara. Assim, é importante que o material fecal dador seja considerado como um fármaco, existindo a necessidade de uniformização quanto ao escrutínio do material fecal do dador e protocolos de monitorização de efeitos adversos. De modo a reduzir os riscos associados a transmissão de infeções, são desenvolvidos protocolos de rastreio de dadores que incluem a análise de fezes e soro, bem como uma análise de risco clínica e social. **(A1)** A inclusão deste tipo de protocolos é muito relevante para prevenção de transmissão de organismos infecciosos. (84)

Atualmente estão em estudo várias alternativas ao TMF, como por exemplo fórmulas sintéticas do material a transplantar. Existe um ensaio clínico ativo que utiliza uma mistura pura de bactérias para o tratamento da infeção por *C. difficile*. O probiótico poderia permitir um método de administração mais controlado, reproduzível, limpo e esteticamente mais aceitável, sendo uma estratégia mais segura que utilizar material fresco de um dador. (94) Assim, é de esperar nos próximos tempos uma preocupação contínua no desenvolvimento de alternativas ao TMF, contudo estas novas terapias irão precisar de demonstrar taxas de eficácia tao robustas como o TMF, o que será bastante desafiador. (84)

8. Conclusões e perspectivas futuras

Ao longo da última década tem-se assistido a um aumento dramático dos estudos sobre a microbiota intestinal. O fator significativo para este aumento foi o facto de entender-se que os microrganismos comensais que constituem a microbiota não são apenas simples passageiros no intestino, mas podem desenvolver funções relevantes no hospedeiro. Vários estudos desenvolvidos em ratinhos DM permitiram observar o impacto dramático que a remoção da microbiota tem nas funções fisiológicas do hospedeiro. (4)

Assim, entende-se que a comunidade microbiana intestinal desempenha um papel bastante relevante na saúde humana. Disbioses na composição e função da microbiota intestinal têm sido associadas a patologias do foro gastrointestinal e não-gastrointestinal. (22)

Com a compreensão dos mecanismos e modo de ação da microbiota nestas doenças, perspectiva-se o desenvolvimento de novas terapêuticas e estratégias para modular a microbiota, com o fim de tratar e/ou prevenir essas patologias. (4) Para além disso, no futuro, poderá ser possível estratificar as populações de acordo com o risco de desenvolvimento de certas doenças e oferecer novas perspectivas para cuidados de saúde personalizados. (4) (36)

A medicina personalizada está a crescer com o intuito de reduzir o risco de doença, melhorar o diagnóstico, tratamento e prevenção. Futuramente, os métodos baseados na avaliação da microbiota intestinal poderão fornecer a identificação do risco de doença individual em todas as fases da vida. O rastreio da microbiota de neonatos ou crianças poderá fornecer dados significativos para a deteção precoce de doenças alérgicas, obesidade, diabetes *mellitus* do tipo 1 e asma, servindo como um alvo para a intervenção preventiva nestas patologias. No adulto, poderá ser possível o diagnóstico e avaliação de risco de doenças metabólicas, como a obesidade e DMT2. Assim, a descoberta de características específicas da microbiota nas diferentes patologias é bastante relevante, porque poderá facilitar a aplicação de um diagnóstico personalizado, mais preciso e não invasivo. (95) Para além disso, poderá funcionar como uma ferramenta economicamente viável que aumentaria a deteção precoce de diversas patologias na população. (4) (95) A microbiota intestinal é também conhecida como tendo um papel central na terapêutica personalizada. As bactérias comensais do intestino participam ativamente no metabolismo de vários compostos e, portanto, podem afetar a biodisponibilidade, concentrações e toxicidade dos fármacos. (4) (95)

Finalmente, a manipulação da microbiota intestinal adaptada ao doente poderá aumentar o desenvolvimento de tratamentos precisos que têm como alvo o microbioma. Até

agora, a maioria das intervenções foram no âmbito do uso do TMF na colite refratária por *C. difficile*, mas estão em desenvolvimento estudos noutras doenças, como o DII. Outras abordagens poderão ser o uso personalizado de prebióticos, probióticos e dietas. (95)

Contudo, para estes aspetos serem clinicamente implementados, é necessário ultrapassar diversos desafios, sobretudo relacionados com a uniformidade e robustez dos ensaios. Assim, incorporando o diagnóstico e terapêutica baseados na microbiota na prática médica comum, estes poderiam desenvolver-se como uma parte integral dos cuidados de saúde modernos. (95)

Referências Bibliográficas

1. Konturek PC, Haziri D, Brzozowski T, Hess T, Heyman S, Kwiecien S, et al. Emerging role of fecal microbiota therapy in the treatment of gastrointestinal and extra-gastrointestinal diseases. *J Physiol Pharmacol*. 2015;66(4):483–91.
2. Baumler AJ, Sperandio V. Interactions between the microbiota and pathogenic bacteria in the gut. *Nature*. 2016;535(7610):85-93
3. Power SE, Toole PWO, Stanton C, Ross RP, Fitzgerald GF. Intestinal microbiota, diet and health. *Br J Nutr*. 2014; 111(3):387–402.
4. Marchesi JR, Adams DH, Fava F, Hermes GDA, Hirschfield GM, Hold G, et al. The gut microbiota and host health: a new clinical frontier. *Gut*. 2015;0:1–10.
5. Quigley EMM. Gut Bacteria in Health and Disease. *Gastroenterol Hepatol*. 2013;9(9):560–9.
6. Forbes JD, Domselaar G Van, Bernstein CN. The Gut Microbiota in Immune-Mediated Inflammatory Diseases. *Front Microbiol*. 2016;7:1081
7. Iqbal S, Quigley EMM. Progress in our understanding of the gut microbiome: Implications for the Clinician. *Curr Gastroenterol Rep*. 2016;18(9):49
8. Sender R, Fuchs S, Milo R. Revised estimates for the number of human and bacteria cells in the body. *PLoS Biol*. 2016;14(8):e1002533
9. Qin J, Li R, Raes J, Arumugam M, Burgdorf KS, Manichanh C, et al. A human gut microbial gene catalog established by metagenomic sequencing. *Nature*. 2010;464(7285):59–65.
10. Sekirov I, Russell SL, Antunes LCM, Finlay BB. Gut Microbiota in Health and Disease. *Physiol Rev*. 2010;90(3):859–904.
11. van del Elsen LWJ, Poyntz HC, Weyrich LS, Young W, Forbes-Blom EE. Embracing the gut microbiota: the new frontier for inflammatory and infectious diseases. *Clin Transl Immunology*. 2017;6:e125.
12. Voreades N, Kozil A, Weir TL. Diet and the development of the human intestinal microbiome. *Front Microbiol*. 2014;5:494
13. Arumugam M, Raes J, Pelletier E, Paslier DL, Yamada T, Mende DR, et al. Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature*. 2011;473(7346):174-80.
14. Wu GD, Chen J, Hoffmann C, Bittinger K, Chen Y, Keilbaugh SA, et al. Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes. *Science*. 2011;334(6052):105-8.
15. Huse SM, Ye Y, Zhou Y, Fodor AA. A core human microbiome as viewed through 16S rRNA sequence clusters. *PLoS One*. 2012;7(6):e34242
16. Serino M, Fernández-Real JM, Fuentes EG, Queipo-Ortuno M, Moreno-Navarrete JM, Sánchez A, et al. The gut microbiota profile is associated with insulin action in humans. *Acta Diabetol*. 2013;50(5):753-61
17. Turnbaugh PJ, Hamady M, Yatsunencko T, Cantarel BL, Duncan A, Ley RE, et al. A core gut microbiome in obese and lean twins. *Nature*. 2009;457(7228):480–4.
18. Rodríguez JM, Murphy K, Stanton C, Ross RP, Kober OI, Juge N, et al. The composition of the gut microbiota throughout life, with an emphasis on early life. *Microb Ecol Health Dis*. 2015;26:26050
19. Onderdonk AB, Hecht JL, McElrath TF, Delaney ML, Allred EN, Leviton A, et al. Colonization of second-trimester placenta parenchyma. *Am J Obstet Gynecol*. 2008;199(1):52.e1-52.e10

20. Aagaard K, Ma J, Antony KM, Ganu R, Petrosino J, Versalovic J. The placenta harbors a unique microbiome. *Sci Transl Med*. 2014;6(237):237-65
21. Jakobsson HE, Abrahamsson TR, Jenmalm MC, Harris K, Quince C, Jernberg C, et al. Decreased gut microbiota diversity, delayed Bacteroidetes colonisation and reduced Th1 responses in infants delivered by caesarean section. *Gut*. 2014;63(4):559-66
22. Tojo R, Suárez A, Clemente MG, Reyes-Gavilán CG, Margolles A, Gueimonde M, et al. Intestinal microbiota in health and disease: Role of bifidobacteria in gut homeostasis. *World J Gastroenterol*. 2014;20(41):15163–176.
23. Shin JH, Sim M, Lee JY, Shin DM. Lifestyle and geographic insights into the distinct gut microbiota in elderly women from two different geographic locations. *J Physiol Anthropol*. 2016;35:31.
24. Zhang J, Guo Z, Xue Z, Sun Z, Zhang M, Wang L, et al. A phylo-functional core of gut microbiota in healthy young Chinese cohorts across lifestyles, geography and ethnicities. *ISME J*. 2015;9(9):1979-90.
25. Yatsunenkov T, Rey FE, Manary MJ, Trehan I, Dominguez-Bello MG, Contreras M, et al. Human gut microbiome viewed across age and geography. *Nature*. 2012;486(7402):222–7.
26. Benjamin JL, Hedin CRH, Koutsoumpas A, Ng SC, McCarthy NE, Prescott NJ, et al. Smokers with active Crohn ' s disease have a clinically relevant dysbiosis of the gastrointestinal microbiota. *Inflamm Bowel Dis*. 2012;18(6):1092-100
27. Voigt RM, Forsyth CB, Green SJ, Mutlu E, Engen P, Vitaterna MH, et al. Circadian disorganization alters intestinal microbiota. *PLoS One*. 2014;9(5):e97500
28. Clarke SF, Murphy EF, O'Sullivan O, Lucey AJ, Humphreys M, Hogan A, et al. Exercise and associated dietary extremes impact on gut microbial diversity. *Gut*. 2014;63(12):1913–20.
29. Davenport ER. Elucidating the role of the host genome in shaping microbiome composition. *Gut Microbes*. 2016;7(2):178–84.
30. Tims S, Zoetendal EG, Vos WM, Kleerebezem M. Host genotype and the effect on microbial communities. In: Nelson KE. (ed.) *Metagenomics of the Human Body*. New York: Springer;2011. p. 15-41.
31. Pamer EG. Resurrecting the intestinal microbiota to combat antibiotic-resistant pathogens. *Science*. 2016;352(6285):535-8
32. Foliaki S, Pearce N, Björkstén B, Mallol J, Montefor S, Mutius E, et al. Antibiotic use in infancy and symptoms of asthma, rhinoconjunctivitis, and eczema in children 6 and 7 years old: International Study of Asthma and Allergies in Childhood Phase III. *J Allergy Clin Immunol*. 2009;124(5):982–989
33. Antunes LCM, Han J, Ferreira RBR, Lolic P, Borchers CH, Finlay BB. Effect of antibiotic treatment on the intestinal metabolome. *Antimicrob Agents Chemother*. 2011;55(4):1494–503.
34. Thursby E, Juge N. Introduction to the human gut microbiota. *Biochem J*. 2017;474(11):1823-36.
35. Singh RK, Chang HW, Yan D, Lee KM, Ucmak D, Wong K, et al. Influence of diet on the gut microbiome and implications for human health. *J Transl Med*. 2017;15:7
36. Boulangé CL, Neves AL, Chilloux J, Nicholson JK, Dumas ME. Impact of the gut microbiota on inflammation, obesity, and metabolic disease. *Genome Med*. 2016;8:42
37. Sonnenburg JL, Bäckhed F. Diet - microbiota interactions as moderators of human metabolism. *Nature*. 2016;535(7610):56-64

38. Krishnan S, Alden N, Lee K. Pathways and functions of gut microbiota metabolism impacting host physiology. *Curr Opin Biotechnol.* 2015;36:137-45.
39. Jandhyala SM, Talukdar R, Subramanyam C, Vuyyuru H, Sasikala M, Reddy DN. Role of the normal gut microbiota. *World J Gastroenterol.* 2015;21(29):8787-803
40. Mandal RS, Saha S, Das S. Metagenomic surveys of gut microbiota. *Genomics Proteomics Bioinformatics.* 2015;13(3):148–58
41. Carmody RN, Turnbaugh PJ. Host-microbial interactions in the metabolism of therapeutic and diet-derived xenobiotics. *J Clin Invest.* 2014;124(10):4173–81
42. Mauro A, Neu J, Riezzo G, Raimondi F, Martinelli D, Francavilla R, et al. Gastrointestinal function development and microbiota. *Ital J Pediatr.* 2013;39:15
43. Derrien M, Belzer C, Vos W. *Akkermansia muciniphila* and its role in regulating host functions. *Microb Pathog.* 2017;106:171-81
44. Quévrain E, Maubert MA, Michon C, Chain F, Marquant R, Tailhades J, et al. Identification of an anti-inflammatory protein from *Faecalibacterium prausnitzii*, a commensal bacterium deficient in Crohn's disease. *Gut.* 2015;65:415-25.
45. Tsai YT, Cheng PC, Pan TM. The immunomodulatory effects of lactic acid bacteria for improving immune functions and benefits. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2012;96(4):853–62
46. Hsiao A, Ahmed AMS, Subramanian S, Griffin NW, Drewry LL, Petri WA, et al. Members of the human gut microbiota involved in recovery from *Vibrio cholerae* infection. *Nature.* 2014;515 (7527):423–26
47. Ng KM, Ferreyra JA, Higginbottom SK, Lynch JB, Kashyap PC, Gopinath S, et al. Microbiota-liberated host sugars facilitate post-antibiotic expansion of enteric pathogens. *Nature.* 2013;502(7469):96–9
48. Pacheco AR, Curtis MM, Ritchie JM, Munera D, Waldor MK, Moreira CG, et al. Fucose sensing regulates bacterial intestinal colonization. *Nature.* 2012;492(7427):113–7.
49. Curtis MM, Hu Z, Klimko C, Narayanan S, Deberardinis R, Sperandio V. The gut commensal *Bacteroides thetaiotaomicron* exacerbates enteric infection through modification of the metabolic landscape. *Cell Host Microbe.* 2014;16(6):759–69.
50. Ferreyra JA, Wu KJ, Hryckowian AJ, Bouley DM, Weimer BC, Sonnenburg JL. Gut microbiota-produced succinate promotes *C. Difficile* infection after antibiotic treatment or motility disturbance. *Cell Host Microbe.* 2014;16(6):770–7.
51. Bienenstock J, Kunze W, Forsythe P. Microbiota and the gut-brain axis. *Nutr Rev.* 2015;73(S1):28–31.
52. Bravo JA, Forsythe P, Chew MV, Escaravage E, Savignac HM, Dinan TG, et al. Ingestion of *Lactobacillus* strain regulates emotional behavior and central GABA receptor expression in a mouse via the vagus nerve. *Proc Natl Acad Sci.* 2011;108(38):16050–5.
53. Forsythe P, Wang B, Khambati I, Kunze WA. Systemic effects of ingested *Lactobacillus rhamnosus*: Inhibition of mast cell membrane potassium (IKCA) current and degranulation. *PLoS One.* 2012;7(7):e41234
54. Chang JY, Antonopoulos DA, Kalra A, Tonelli A, Khalife WT, Schmidt TM, et al. Decreased diversity of the fecal microbiome in recurrent *Clostridium difficile*-associated diarrhea. *J Infect Dis.* 2008;197(3):435-8.
55. Hopkins MJ, Sharp R, Macfarlane GT. Age and disease related changes in intestinal bacterial populations assessed by cell culture, 16S rRNA abundance, and community cellular fatty acid profiles. *Gut.* 2001;48(2):198–205.

56. Louie TJ, Byrne B, Emery J, Ward L, Krulicki W, Nguyen D, et al. Differences of the fecal microflora with *Clostridium difficile* therapies. *Clin Infect Dis*. 2015;60(S2):S91–7.
57. Fan W, Ding C, Xu N, Zong S, Ma P, Gu B. Close association between intestinal microbiota and irritable bowel syndrome. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2017.
58. Passos MCF, Moraes-Filho JP. Intestinal microbiota in digestive diseases. *Arq Gastroenterol*. 2017;54(3):255–62.
59. Guinane CM, Cotter PD. Role of the gut microbiota in health and chronic gastrointestinal disease: understanding a hidden metabolic organ. *Ther Adv Gastroenterol*. 2013;6(4):295–308.
60. Lane ER, Zisman TL, Suskind DL. The microbiota in inflammatory bowel disease: current and therapeutic insights. *J Inflamm Res*. 2017;10:63–73.
61. Bernstein CN, Shanahan F. Disorders of a modern lifestyle: reconciling the epidemiology of inflammatory bowel diseases. *Gut*. 2008;57(9):1185–91.
62. Acosta MB, Castro AA, Souto R, Iglesias M, Lorenzo A, Dominguez-Muñoz JE. Emigration to western industrialized countries: A risk factor for developing inflammatory bowel disease. *J Crohn's Colitis*. 2011;5(6):566–9.
63. Miyoshi J, Chang EB. The gut microbiota and inflammatory bowel diseases. *Transl Res*. 2017;179:38–48.
64. Hansen JJ, Sartor RB. Therapeutic manipulation of the microbiome in IBD: Current results and future approaches. *Curr Treat Options Gastroenterol*. 2015;13(1):105–20.
65. Fichera A, McCormack R, Rubin MA, Hurst RD, Michelassi F. Long-term outcome of surgically treated Crohn's colitis: A prospective study. *Dis Colon Rectum*. 2005;48(5):963–9.
66. Kennedy RJ, Hoper M, Deodhar K, Erwin PJ, Kirk SJ, Gardiner KR. Interleukin 10-deficient colitis: new similarities to human inflammatory bowel disease. *Br J Surg*. 2000;87(10):1346–51.
67. Gevers D, Kugathasan S, Denson LA, Vázquez-Baeza Y, Treuten WV, Ren B, et al. The treatment-naïve microbiome in new-onset Crohn's disease. *Cell Host Microbe*. 2014;15(3):382–92.
68. Lucas C, Barnich N, Nguyen HTT. Microbiota, inflammation and colorectal cancer. *Int J Mol Sci*. 2017;18(6):1310
69. Lin CS, Chang CJ, Lu CC, Martel J, Ocjuz DM, Ko YF, et al. Impact of the gut microbiota, prebiotics, and probiotics on human health and disease. *Biomed J*. 2014;37(5):259-268
70. Cani PD, Amar J, Iglesias MA, Poggi M, Knauf C, Bastelica D, et al. Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance. *Diabetes*. 2007; 56(7): 1761-72
71. Harte AL, Varma MC, Tripathi G, Mcgee KC, Al-Daghri NM, Al-Attas OS, et al. High fat intake leads to acute postprandial exposure to circulating endotoxin in type 2 diabetic subjects. *Diabetes Care*. 2012;35(2):375–82
72. Turnbaugh PJ, Backhed F, Fulton L, Gordon JI. Diet-induced obesity is linked to marked but reversible alterations in the mouse distal gut microbiome. *Cell Host Microbe*. 2008;3(4):213-23.
73. Turnbaugh PJ, Ley RE, Mahowald MA, Magrini V, Mardis ER, Gordon JI. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature*. 2006;444(7122):1027-31.

74. Ridaura VK, Faith JJ, Rey FE, Cheng J, Duncan AE, Kau AL, et al. Gut microbiota from twins discordant for obesity modulate metabolism in mice. *Science*. 2013;341(6150):1241214
75. Doulberis M, Kotronis G, Gialamprinou D, Kountouras J, Katsinelos P. Non-alcoholic fatty liver disease: An update with special focus on the role of gut microbiota. *Metabolism*. 2017;71:182–97
76. Marsland BJ, Trompette A, Gollwitzer ES. The gut-lung axis in respiratory disease. *Ann Am Thorac Soc*. 2015;12(S2):S150-6
77. Schippa S, Iebba V, Santangelo F, Gagliardi A, De Biase RV, Stamato A, et al. Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) allelic variants relate to shifts in faecal microbiota of cystic fibrosis patients. *PLoS One*. 2013;8(4):e61176
78. Madan JC, Koestler DC, Stanton BA, Davidson L, Moulton LA, Housman ML, et al. Serial analysis of the gut and respiratory microbiome in cystic fibrosis in infancy: interaction between intestinal and respiratory tracts and impact of nutritional exposures. *mBio*. 2012;3(4):e00251-12
79. Parker EA, Roy T, D'Adamo CR, Wieland LS. Probiotics and gastrointestinal conditions: An overview of evidence from the Cochrane Collaboration. *Nutrition*. 2017;1–10
80. Mack DR. Probiotics in inflammatory bowel diseases and associated conditions. *Nutrients*. 2011;3(2):245–64.
81. Cani PD, Neyrinck AM, Fava F, Knauf C, Burcelin RG, Tuohy KM, et al. Selective increases of bifidobacteria in gut microflora improve high-fat-diet-induced diabetes in mice through a mechanism associated with endotoxaemia. *Diabetologia*. 2007;50(11):2374–83.
82. Silk DBA, Davis A, Vulevic J, Tzortzis G, Gibson GR. Clinical trial: The effects of a trans-galactooligosaccharide prebiotic on faecal microbiota and symptoms in irritable bowel syndrome. *Aliment Pharmacol Ther*. 2009;29(5):508–18.
83. Hunter JO, Tuffnell Q, Lee AJ. Controlled trial of oligofructose in the management of irritable bowel syndrome. *J Nutr*. 1999;129(S7):1451S–3S.
84. Vindigni SM, Surawicz CM. Fecal microbiota Ttansplantation. *Gastroenterol Clin N Am*. 2017;46(1):171-85
85. Choi HH, Cho YS. Fecal microbiota transplantation: Current applications, effectiveness, and future perspectives. *Clin Endosc*. 2016;49(3):257–65
86. van Nood E, Vrieze A, Nieuwdorp M, Fuentes S, Zoetendal EG, de Vos WM, et al. Duodenal infusion of donor feces for recurrent *Clostridium difficile*. *N Engl J Med*. 2013;368(5):407–15
87. Surawicz CM, Brandt LJ, Binion DG, Ananthakrishnan AN, Curry SR, Gilligan PH, et al. Guidelines for diagnosis, treatment, and prevention of *Clostridium difficile* infections. *Am J Gastroenterol*. 2013;108:478–98
88. Debast SB, Bauer MP, Kuijper EJ, Allerberger F, Bouza E, Coia JE, et al. European society of clinical microbiology and infectious diseases: Update of the treatment guidance document for *Clostridium difficile* infection. *Clin Microbiol Infect*. 2014;20(S2):1–26.
89. Youngster I, Russell GH, Pindar C, Ziv-Baran T, Sauk J, Hohmann EL. Oral, capsulized, frozen fecal microbiota transplantation for relapsing *Clostridium difficile* infection. *JAMA*. 2014;312(17):1772-8

90. Youngster I, Sauk J, Pindar C, Wilson RG, Kaplan JL, Smith MB, et al. Fecal microbiota transplant for relapsing *Clostridium difficile* infection using a frozen inoculum from unrelated donors: A randomized, open-label, controlled pilot study. Clin Infect Dis. 2014;58(11):1515–22
91. Konijeti GG, Sauk J, Shrimel MG, Gupta M, Ananthakrishnan AN. Cost-effectiveness of competing strategies for management of recurrent *Clostridium difficile* infection: A decision analysis. Clin Infect Dis. 2014;58(11):1507–14
92. Colman RJ, Rubin DT. Fecal microbiota transplantation as therapy for inflammatory bowel disease: A systematic review and meta-analysis. J Crohns Colitis. 2014;8(12):1569–81
93. Pinn DM, Aroniadis OC, Brandt LJ. Is fecal microbiota transplantation the answer for irritable bowel syndrome? A single-center experience. Am J Gastroenterol. 2014;109(11):1831–2
94. Petrof EO, Gloor GB, Vanner SJ, Weese SJ, Carter D, Daigneault MC, et al. Stool substitute transplant therapy for the eradication of *Clostridium difficile* infection: “RePOOPulating” the gut. Microbiome. 2013;1:3
95. Zmora N, Zeevi D, Korem T, Segal F, Elinav F. Taking it personally: Personalized utilization of the human microbiome in health and disease. Cell Host Microbe. 2016;19(1):12-20

Anexos

A1. Critérios de exclusão – Rastreo de dadores para TMF (Retirado de (84))

Box 1 Screening donors for fecal microbiota transplantation: exclusion criteria
<p><i>History and chart review:</i></p> <ul style="list-style-type: none">• Active infection• Exposure to antibiotics in the prior 3 months• Recent travel with exposure to epidemic diarrheal disease• Significant gastrointestinal history, including inflammatory bowel disease, irritable bowel syndrome, chronic diarrhea/constipation, gastrointestinal malignancy• Autoimmune or significant allergy history• Other considerations: risk factors for Creutzfeldt-Jakob disease, diabetes, metabolic syndrome, chronic pain syndromes, and exposure to medications that may alter the gut microbiome• Social factor considerations: high-risk sexual behaviors, drug use, incarceration or long-term care facility residence, and body piercing or tattoo in prior 6 months <p><i>Stool testing:</i></p> <p>Bacteria</p> <ul style="list-style-type: none">• <i>Clostridium difficile</i>• <i>Campylobacter</i>• <i>Helicobacter pylori</i> (if fecal microbiota transplantation administered via oral route)• <i>Salmonella</i>• Shiga-toxin producing <i>Escherichia coli</i>• <i>Shigella</i>• Other considerations: <i>Aeromonas</i>, <i>Plesiomonas</i>, <i>Listeria monocytogenes</i>, <i>Yersinia</i>, <i>Vibrio cholerae</i>, and <i>Vibrio parahaemolyticus</i> <p>Viruses</p> <ul style="list-style-type: none">• Rotavirus• Norovirus <p>Parasites</p> <ul style="list-style-type: none">• <i>Cryptosporidium</i>• <i>Cyclospora</i>• <i>Giardia</i>• <i>Isospora</i> <p><i>Blood testing:</i></p> <p>Bacteria</p> <ul style="list-style-type: none">• Syphilis <p>Viruses</p> <ul style="list-style-type: none">• Hepatitis A, B, C• Human immunodeficiency virus <p>Data from Refs.⁵⁴⁻⁵⁶</p>