

Olívia Daniela Pinho Mouro

O efeito da microbiota na metabolização dos fármacos

Universidade Fernando Pessoa - Faculdade de Ciências da Saúde

Porto, 2020

Olívia Daniela Pinho Mouro

O efeito da microbiota na metabolização dos fármacos

Universidade Fernando Pessoa - Faculdade de Ciências da Saúde

Porto, 2020

Olívia Mouro

Olívia Daniela Pinho Mouro

O efeito da microbiota na metabolização dos fármacos

Atesto a originalidade deste trabalho

Olívia Daniela Pinho Mouro

Trabalho apresentado à Universidade Fernando Pessoa como parte dos requisitos para obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Resumo

Atualmente a curiosidade e interesse pela microbiota intestinal tem crescido imenso devido às novas descobertas associadas à descoberta de novas funções e doenças.

O conceito de microbiota humano foi sugerido pela primeira vez por Joshua Lederberg, que definiu microbiota como “comunidade ecológica de comensais, simbióticos e microrganismos que residem no corpo humano”.

O desenvolvimento de técnicas analíticas inovadoras permitiu a identificação e compreensão das funções do microbioma humano.

O microbioma humano é complexo e altamente dinâmico, sendo que varia drasticamente entre os indivíduos.

A microbiota intestinal desempenha um papel crítico no metabolismo de certos fármacos, sendo que a sua variação contribui para as diferenças interindividuais em relação a terapias medicamentosas.

O progresso contínuo nesta área permite conhecer mais ferramentas para prever as possíveis respostas dos pacientes a tratamentos, levando ao desenvolvimento de uma nova geração de terapêuticas baseadas ou direcionadas ao microbioma intestinal.

Esta revisão bibliográfica foi realizada no sentido de apresentar uma visão global das descobertas recentes associados ao impacto da microbiota intestinal na saúde e doença humana, bem como expor potenciais alterações nos fármacos decorrentes da sua manipulação para potenciar melhorias num futuro recente.

Palavras-Chave: microbiota, microbiota intestinal, metabolização de fármacos, disbiose, farmacocinética.

Abstract

Currently, curiosity and interest in the intestinal microbiota has grown immensely due to new discoveries associated with the discovery of new functions and diseases.

The concept of human microbiota was first suggested by Joshua Lederberg, who defined microbiota as "ecological community of diners, symbiotics and microorganisms that reside in the human body".

The development of innovative analytical techniques allowed the identification and understanding of the functions of the human microbiome.

The human microbiome is complex and highly dynamic, and it varies dramatically between individuals.

The intestinal microbiota plays a critical role in the metabolism of certain drugs, and its variation contributes to the inter-individual differences in relation to drug therapies.

Continued progress in this area could enable more precise tools for predicting patient responses and for the development of a new generation of therapeutics based on, or targeted at, the gut microbiome.

This work was developed in order to present an overview of the recent discoveries 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 to enhance improvements in the recent future.

Keywords: microbiota, gut microbiota, drug metabolization, dysbiosis, pharmacokinetics;

Agradecimentos

Agradeço ao Professor Doutor Pedro Barata pela sua orientação ao longo deste trabalho.

Agradeço também à minha família e ao João, por todo o apoio dado ao longo desta etapa.

Muito obrigada a todos.

Índice

Resumo	V
Abstract	VI
Agradecimentos	VII
Índice de figuras	X
Índice de tabelas	XI
I. Introdução	1
II. Microbiota.....	3
1. Human Microbiome Project (HMP).....	4
1.1- Metodologias de estudo	5
1.2- Gnotobióticos e sistemas modelo	6
2. Organização e diversidade.....	7
3. Desenvolvimento e funcionamento da microbiota.....	9
4. Fatores que afetam a microbiota	11
III. A microbiota e a influência na metabolização dos fármacos.....	13
1. Influência da microbiota intestinal na variação interindividual na eficácia do medicamento	13
2. A influência da microbiota na farmacocinética.....	13
3. Paracetamol	16
4. Digoxina	18
5. L-DOPA	20
6. Olanzapina	21

7. Quimioterápicos	22
i. Ciclofosfamida	22
ii. Irinotecano	22
8. Anti-inflamatórios não esteroides	24
9. Estatinas	26
III- Disbiose	28
IV- Abordagens terapêuticas	28
1. Probióticos	28
2. Prebióticos	29
Conclusão	31
Bibliografia	33

Índice de figuras

Figura 1. Visão geral dos métodos bioinformáticos para metagenômica funcional.

Figura 2. Localização do microbioma humano.

Figura 3. Representação da alteração da microbiota intestinal ao longo do tempo.

Figura 4. Representação de fatores que afetam a variação da microbiota.

Figura 5. Esboço altamente simplificado de alguns dos fatores que podem influenciar a interação entre hospedeiro, microbioma e dieta.

Figura 6. Resumos dos mecanismos pelos quais a microbiota influencia a farmacocinética dos medicamentos.

Figura 7. Metabolismo do Acetaminofeno.

Figura 8. Metabolismo da Digoxina.

Figura 9. Metabolismo L-DOPA.

Figura 10. Metabolismo do Irinotecano.

Figura 11. Metabolismo Diclofenac.

Figura 12. Metabolismo da Lovastatina.

Índice de tabelas

Tabela 1- Principais diferenças entre probióticos e prebióticos.

Abreviaturas

AINEs - Anti-inflamatórios não esteroides

COXs - Ciclooxygenases

CTX - Ciclofosfamida

FD- Flora Definida

GF- Germfree

HMP - Human Microbiome Project

MetaHIT- Metagenomics of the Human Intestinal Tract

NIH- Natinal Institute of Health

OTUs - Unidades taxonómicas operacionais

FAO- Food and Agriculture Organization

I. Introdução

Com o passar do tempo, têm-se observado principalmente nos países desenvolvidos, um número crescente de doenças autoimunes, patologias alérgicas, e doenças crônicas não transmissíveis fazendo face às doenças infecciosas outrora imensamente faladas (Maial, 2018).

Esta prevalência deve-se às mudanças de hábitos das sociedades ocidentais, mas também a fatores ambientais, dieta, e terapêutica com antibióticos que afetam o microbioma humano (Sommer e Bäckhed, 2013).

Algumas publicações referem que microbiota e microbioma são termos com o mesmo significado (Ursell *et al.*, 2012). Todavia, outros autores consideram como microbiota o grupo de microrganismos que habitam num determinado local do organismo, enquanto o microbioma diz respeito aos genes que formam o genoma desse mesmo grupo de microrganismos (Ley *et al.*, 2008).

Durante muitos anos, o efeito da microbiota foi esquecido embora fosse conhecido. Porém, atualmente estuda-se o metabolismo e a toxicidade de fármacos para que se entendam os fatores que influenciam a ineficácia terapêutica ou a causa de toxicidade em pacientes, assegurando assim uma melhor terapêutica para o doente (Wilson e Nicholson, 2016).

Nos últimos anos foi iniciado um programa de pesquisa internacional designado Projeto Microbioma Humano (*HMP*, do Inglês *Human Microbiome Project*) cujo objetivo é adquirir conhecimento sobre a composição do microbioma comensal que habita o organismo humano saudável e de que forma ele se encontra modificado em situações de doença (Turnbaug *et al.*, 2007).

Assim sendo, a microbiota, e em particular, as enzimas codificadas por microbiomas, representam agora alvos intermediários plausíveis para alterar a farmacocinética (absorção, distribuição, metabolização e eliminação) para consequente melhoria da resposta clínica (The scientist, 2019).

Todos os estudos e descobertas recentes demonstraram a importância do microbioma, sendo que, a investigação desta área estará sempre em crescimento e andamento para

novas abordagens e novas descobertas que serão benéficas para o futuro do desenvolvimento de novos medicamentos (News Medical Life Sciences, 2019).

1.1- Objetivos

Esta dissertação tem como principal objetivo perceber de que maneira a microbiota influencia a metabolização dos fármacos. A investigação destes fenómenos de inter-relação pode abrir portas à melhor compreensão de certas patologias, sendo que pode-se conseguir desenvolver fármacos mais eficientes com vista a uma melhor terapia, melhor recuperação e melhoria da qualidade de vida do doente.

1.2- Metodologia

Para a concretização desta dissertação utilizaram-se vários motores de busca para a pesquisa de artigos como o Pubmed (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>), o Science Direct (<http://www.sciencedirect.com/>) e também, o Google Académico (<http://scholar.google.pt/>).

As palavras-chaves como “Gut Microbiome”, “Metagenomic”, “Drug metabolism”, “Metabolism”, “Prebiotics” e “Probiotics” foram utilizadas para procura de informação nos motores de busca. Também foram incluídas informações contidas páginas WEB.

II. Microbiota

Há muito que são sabidos os microrganismos intestinais nos seres humanos. Em 1885, Pasteur expressou a sua visão sobre a importância das bactérias, acreditando que a vida na ausência de micróbios seria inexecutável (Tannock, 2005).

O conceito de microbiota humano foi sugerido pela primeira vez por Joshua Lederberg, que definiu microbiota como “comunidade ecológica de comensais, simbióticos e microrganismos que residem no corpo humano” (Thursby & Juge, 2017).

Porém, existem várias definições para o termo microbiota, sendo que atualmente é definida como o conjunto dos microrganismos presentes num local, sendo estes microrganismos caracterizados pela análise qualitativa dos genes e/ou genomas aí existentes (Tannock, 2005).

O microbioma humano inclui todos os microrganismos comensais do ser humano (bactérias, vírus, fungos e protozoários) incluindo aqueles que são isoláveis em cultura e aqueles que não o são. Este termo difere de microbiota, que se refere aos microrganismos pertencentes ao organismo humano que são isoláveis em cultura e não inclui a sua análise genética (Khanna & Tosh, 2014).

A microbiota intestinal é particularmente interessante devido ao facto de que maior parte da microbiota humana total reside no intestino onde a sua composição pode ser alterada por dieta, doenças, presença de agentes patogénicos e exposição a fármacos, em particular antibióticos (Swanson, 2015).

Apesar da microbiota humana ser conhecida há muito tempo como um fator que influencia a saúde e potencia o aparecimento ou o retardamento de doenças humanas, o alto custo do sequenciamento atrasou várias pesquisas e só recentemente nos deu ferramentas experimentais para investigar a amplitude do seu envolvimento em diversas áreas. Isso resultou numa explosão de trabalho valorizando o papel da microbiota como variante em doenças como, doença do intestino inflamatório, doença de Crohn e em condições de obesidade (Relman, 2012).

Pesquisas em grande escala como consórcio de *Metagenomics of the Human Intestinal Tract (MetaHIT)* e o recente *Human Microbiome Project (HMP)* mostraram que estas

pesquisas são apenas o começo de uma compreensão mais rica do funcionamento da microbioma humano. (Morgan *et al.*, 2013)

A microbiota desempenha funções fulcrais no organismo humano uma vez que influencia a absorção de nutrientes, o desenvolvimento e funcionamento do sistema imunitário e impede a proliferação de bactérias patogénicas. O envolvimento da microbiota humano em diversas funções torna-o essencial na manutenção do equilíbrio do organismo e o seu comprometimento pode trazer problemas ao hospedeiro (Wilson e Nicholson, 2016)

1. Human Microbiome Project (HMP)

O HMP é um projeto fundamentado pelo Natinal Institute of Health (NIH), e é uma extensão do Human Genome Project. O reconhecimento de que o genoma dos microrganismos tem um papel relevante no correto funcionamento do organismo fez este projeto surgir como aditivo natural ao anterior (Peterson *et al*, 2009).

O HMP surge com três objetivos essenciais:

- Caracterização da população em vários locais anatómicos;
- Averiguar a existência de um núcleo de microrganismos partilhado por todos os seres humanos;
- Perceber a conexão entre o microbioma e doenças (Peterson *et al*, 2009).

O projeto fornece os dados recolhidos de 242 indivíduos em vários pontos temporais com processamento em dois centros clínicos (Baylor College of Medicine e Washington University School of Medicine) (Dave *et al.*, 2012).

Foram recolhidas amostras em 15 (sexo masculino) ou 18 (sexo feminino) locais anatómicos (onde se inclui, por exemplo, a cavidade oral, o trato genital ou o trato gastrointestinal). Os dados obtidos descrevem a variedade e abundância do microbioma humano, sendo que representam a maior base de dados tornando assim possível caracterizar um microbioma estável que serve como referência quando comparado com um microbioma associado a doenças (Dave *et al.*, 2012).

O tamanho da amostra e a consistência na obtenção de dados possibilitou pela primeira vez uma percepção em larga escala não só da diversidade, mas também da ligação entre os microrganismos (Consortium, 2013).

1.1- Metodologias de estudo

O estudo da comunidade microbológica no ser humano avançou com a chegada de técnicas moleculares de alto rendimento. (Dave *et al.*, 2012).

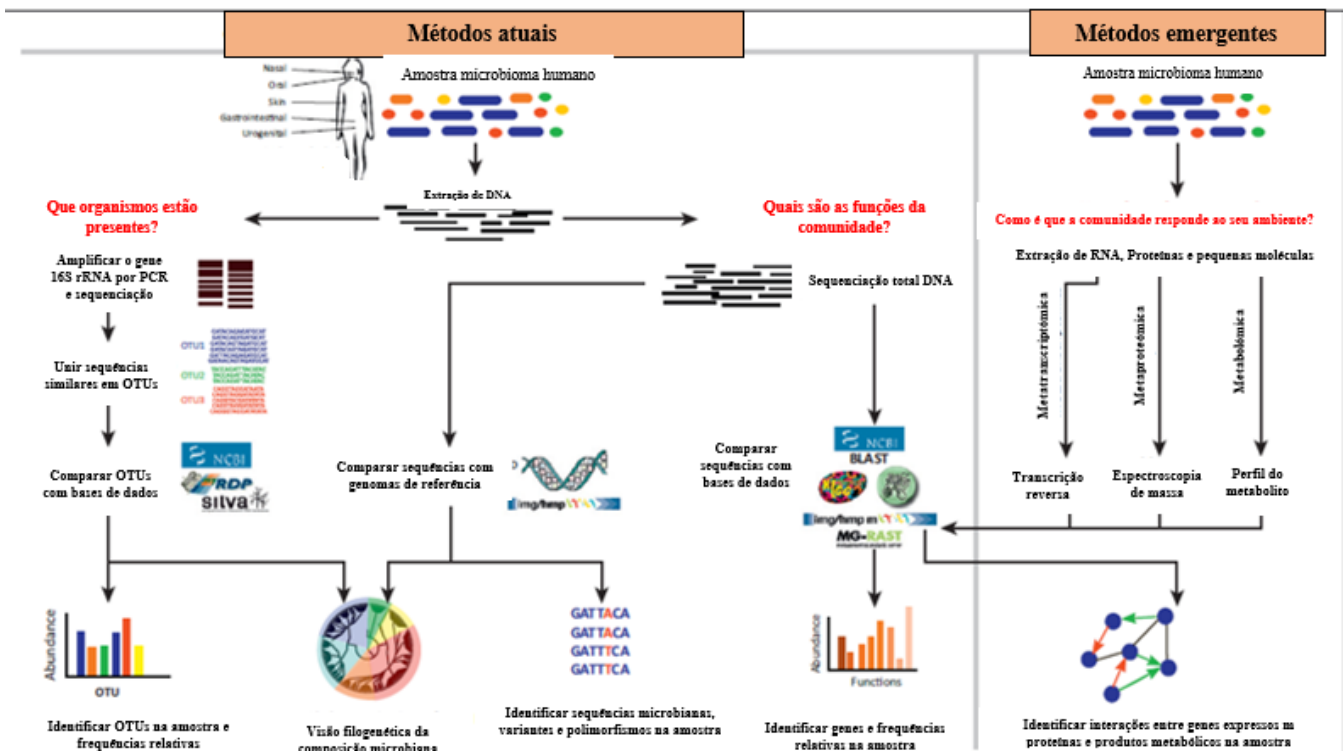


Figura 1-Visão geral dos métodos bioinformáticos para metagenômica funcional. Adaptado de Morgan *et al.*, 2012.

Um dos grandes impulsos ao melhoramento das técnicas moleculares foi a utilização da técnica de sequenciação dos genes que codificam o rRNA 16S, uma molécula presente em todas as bactérias, mas diferente entre as espécies e estirpes, o que permite identificar todas as bactérias presentes com um grau de diferenciação satisfatório. Este marcador tem utilidade tanto taxonômica como filogenética (Dave *et al.*, 2012).

Tendo em conta a imagem 1, as amostras de comunidades normalmente contêm muitas espécies de bactérias e outros microrganismos, aqui indicados com cores diferentes. Após o DNA ser extraído, a composição da comunidade é determinada pela amplificação e sequenciamento do gene rRNA 16s. Sequências altamente semelhantes são agrupadas em unidades taxonómicas operacionais (OTUs) e essas OTUs são rotuladas por comparação com bancos dados de organismos. OTUs podem então ser analisados em termos de presença / ausência, abundância ou diversidade filogenética. Para determinar as funções biomoleculares e metabólicas presentes numa comunidade, o DNA metagenómico total pode ser sequenciado e comparado com bancos de dados orientados a função. Alternativamente, o DNA da comunidade sequenciado pode ser comparado com genomas de referência. Isso permite a identificação de variantes e polimorfismos da sequência microbiana, além de fornecer um meio alternativo para detectar a presença e abundância de organismos específicos. No futuro, os campos emergentes da metatranscriptómica, metaproteómica e metametabolómica ajudarão a construir uma imagem integrada da expressão gênica e interações em comunidades microbianas (Morgan *et al.*, 2012)

Para complementar a metagenómica, existem outros estudos como a metatranscriptómica, a metaproteómica e a metametabolómica. A metatranscriptómica reconhece quais são os genes que estão ou não a ser expressos num ambiente e consegue monitorizar as alterações que ocorrem na sua transcrição (Lim *et al.*, 2013).

A metaproteómica possibilita uma caracterização melhorada do funcionamento de proteínas ou péptidos para melhor compreensão da comunidade microbiana. Por fim, a metametabolómica permite analisar os metabolitos que são produtos finais de processos químicos ou celulares e, assim, proporcionar uma explicação próxima da fisiologia do organismo (Morgan *et al.*, 2012).

1.2- Gnotobióticos e sistemas modelo

Grande parte do conhecimento sobre a influência e a composição da microbiota vem de sistemas gnotobióticos. A palavra de origem grega gnotobióta (gnoto = conhecer + biota = vida) define animais que possuem microbiota associada definida e devem ser criados em ambientes dotados de barreiras sanitárias absolutas (Cerf-Bensussan & Gaboriau-Routhiau, 2010).

São animais (ratinhos ou peixe-zebra) em que a microbiota hospedeira normal foi substituída por um conjunto definido de micróbios, permitindo estudos de como a colonização microbiana influencia a saúde e o desenvolvimento do hospedeiro em processos de interesse (Andrade *et al*, 2002).

Assim, em virtude da quantidade de microbiotas que estejam associados ao animal, este pode ser classificado como germfree (GF) ou Flora Definida (FD). Animais GF são animais totalmente livres de microbiota, isto é, isentos de quaisquer parasitas internos e externos, bactérias, fungos, protozoários, algas e vírus. Um termo similar usado neste contexto é animais axênicos (animais livres de vida associada). Animais FD são animais GF que foram intencionalmente contaminados com microrganismos ou parasitos específicos. São continuamente monitorados para constatar a presença dos organismos selecionados e a ausência de outros. (Andrade *et al*, 2002)

Estudos gnotobióticos mostraram então que a microbiota intestinal afeta o hospedeiro de muitas maneiras, incluindo fertilidade, o desenvolvimento do coração, pulmões e fígado, metabolização de fármacos e até mesmo expressão e comportamento dos genes cerebrais (Cerf-Bensussan & Gaboriau-Routhiau, 2010).

2. Organização e diversidade

Estimar a quantidade de espécies diferentes numa comunidade é bio-informaticamente desafiador. Contudo, segundo a análise do HMP a microbiota humana tem entre 3.500 e 35.000 OTUs. O trato gastrointestinal, incluindo a cavidade oral e as fezes, foi o microbioma que apresentou mais diversidade comparativamente com os outros habitat corporais estudados (Morgan *et al* 2012) .

Os pesquisadores do HMP estudaram os habitantes microbianos do corpo humano, usando amostras extraídas de 242 adultos saudáveis em 15 (para homens) ou 18 (para mulheres) locais do corpo - da pele (quatro locais), boca e garganta (nove locais), vagina (três locais), narinas e fezes (para representar o trato gastrointestinal distal) (Dave *et al.*, 2012).

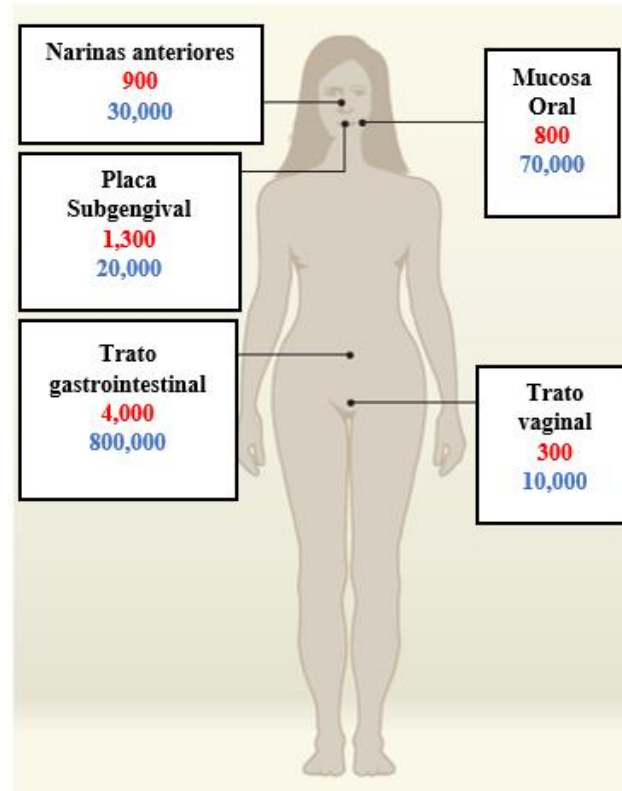


Figura 2-Localização do microbioma humano. Adaptado de Relman, 2012.

Estimaram o número de espécies microbianas e seus genes nessas amostras, e encontraram uma variação substancial na composição da comunidade microbiana em diferentes habitats corporais (Relman, 2012).

As estimativas brutas do número de espécies microbianas (vermelho) e do número de genes microbianos (azul) são mostradas para exemplos de:

- Locais contendo alta diversidade de espécies, como o trato gastrointestinal e dentes (placa supragengival);
- Locais com diversidade intermediária, como o interior da bochecha (mucosa bucal) e narinas (narinas anteriores);
- Locais com menor diversidade, como o fórnice posterior da vagina (Relman, 2012).

Os autores também encontraram variação substancial na diversidade e na composição das comunidades microbianas em diferentes locais dentro da mesma região geral do corpo (Relman, 2012).

A composição da microbiota varia consoante o local do trato gastrointestinal em que se encontra, particularmente no cólon habitam cerca de 10¹² bactérias compostas por Bifidobacterium, Lactobacillus, Propionibacterium, Bacteroides (90-95%), Escherichia e Enterococcus (5-10%) (Thursby e Juge, 2017).

Estas bactérias estão divididas em quatro phylos dominantes:

- Firmicutes;
- Bacteroidetes;
- Actinobacteria;
- Proteobacteria.

Os phylos mais abundantes em humanos, são as bactérias Gram-positivas Firmicutes, representam 60-80% (incluem Ruminococcus, Clostridium, Lactobacillus, Eubacterium, Faecalibacterium e Roseburia); bactérias Gram-negativas Bacteroidetes, representando 20-30% (incluem os Bacteroides, Prevotella e Xylanibacter), e as bactérias Gram-positivas Actinobacteria, representam uma minoria de cerca de 10% (inclui Bifidobacterium e Collinsella) (Lozupone *et al.*,2012)

Em menor percentagem, encontram-se as bactérias Gram-negativas Proteobacteria como Escherichia e Enterobacteriaceae. A abundância destes phylos na microbiota intestinal pode ser afetada por diversos fatores, tais como a idade, a alimentação, o stress, a utilização de antibióticos e a localização geográfica e pode ser modulada por prebióticos e probióticos que mais à frente iremos retratar (Morgan *et al.*,2013).

O microbioma oral é essencialmente tão diverso como o microbioma do intestino. Em contrapartida o vaginal apresenta uma diversidade menor, sendo dominado por uma das quatro espécies, Lactobacillus e este torna-se ainda menos diverso durante a gravidez (Morgan *et al.*,2013).

3. Desenvolvimento e funcionamento da microbiota

A microbiota intestinal humana é conhecida por desempenhar um papel fundamental em vários processos metabólicos, nutricionais, fisiológicos e imunológicos, e nos últimos anos temos visto um rápido desenvolvimento nas técnicas para estudar este órgão (Ottman *et al.*, 2012).

A microbiota humana é estabelecida após o nascimento e começa como um ecossistema dinâmico, dominado por bifidobactérias, que se estabiliza durante os primeiros 2-3 anos. Durante a vida a composição microbiana aumenta em diversidade e riqueza e atinge a maior complexidade no adulto, com várias centenas de espécies, sendo dominados pelos filos Bacteroidetes e Firmicutes (Ottman *et al.*, 2012).

Cada indivíduo humano atinge um clímax na composição da microbiota, que provavelmente permanece relativamente estável durante a maior parte da vida de um adulto saudável. Nos estágios finais da vida, a composição da microbiota torna-se novamente menos diversa, caracterizada por uma maior proporção de Bacteroides e Firmicutes (Ottman *et al.*, 2012).

Sugere-se que o estabelecimento do ecossistema bacteriano no início da vida desempenhe um papel na composição microbiana e na suscetibilidade a doenças ao longo da vida.

A composição dos microrganismos difere de acordo com o tipo de nascimento. A microflora da criança nascida por parto vaginal é composta, inicialmente, da flora materna que contamina o canal de parto. Na criança que nasce de cesariana, não há participação da flora materna e o meio ambiente torna-se a fonte inicial de contaminação. Nestas crianças o estabelecimento de uma flora estável ocorre mais tardiamente, a frequência de colonização por lactobacilos e bifidobactérias é menor do que nas nascidas de parto vaginal, sendo mais comum a presença de bactérias anaeróbias (Bacteroides e Clostridium) (Mackie *et al.*, 1999)

Além do início da vida, a microbiota também sofre mudanças significativas em direção à outra extremidade da vida. No entanto, essas alterações não são claras em parte devido às diversas mudanças fisiológicas pelas quais passam os idosos. As mudanças incluem fatores como modificações no estilo de vida, comportamento nutricional, aumento nas taxas de infecção e processos inflamatórios, doenças e, portanto, a necessidade de mais medicamentos. Todos estas questões certamente também afetarão a composição e a atividade da microbiota, mas os mecanismos por trás dessas mudanças ainda não são completamente compreendidos (Ottman *et al.*, 2012).

O processo de envelhecimento demonstrou ter um efeito negativo sobre a diversidade da microbiota fazendo com que as mudanças acima referidas possam aumentar a suscetibilidade de adquirirem doenças infecciosas (Salazar *et al.*, 2014)

A microbiota é multifuncional. É de salientar que a microbiota intestinal está envolvida numa variedade de funções metabólicas, tais como o metabolismo de hidratos de carbono complexos, a síntese de vitaminas, a síntese de aminoácidos e a absorção de gorduras alimentares e vitaminas lipossolúveis. Os desequilíbrios na sua composição (ou seja, a disbiose) foram associados a distúrbios imunológicos, suscetibilidade a infeções e mais recentemente, a várias patologias não intestinais incluindo obesidade, diabetes, doenças cardiovasculares e doenças hepáticas (Thursby & Juge, 2017).

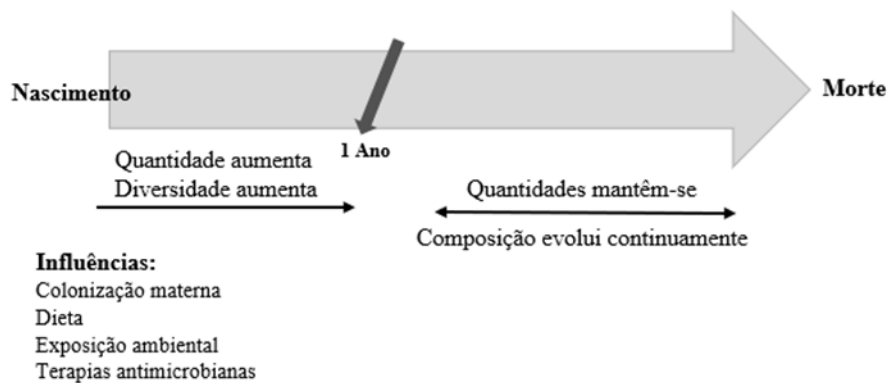


Figura 3-Representação da alteração da microbiota intestinal ao longo do tempo. Adaptado de Serikov,2010.

4. Fatores que afetam a microbiota

A microbiota tem tendência a sofrer alterações na sua constituição, alterações essas que se devem a fatores como variações na idade, dieta, estilo de vida do hospedeiro, higiene e terapêutica com antibióticos (FIG.4) (Thursby & Juge, 2017).

A idade é um fator interessante que modifica a microbiota humana, uma vez que, esta alteração na microbiota pode ser devida, por exemplo, ao aumento da necessidade de digerir a alimentação, com o objetivo de compensar a diminuição da funcionalidade do sistema digestivo (Mariat *et al.*, 2009).

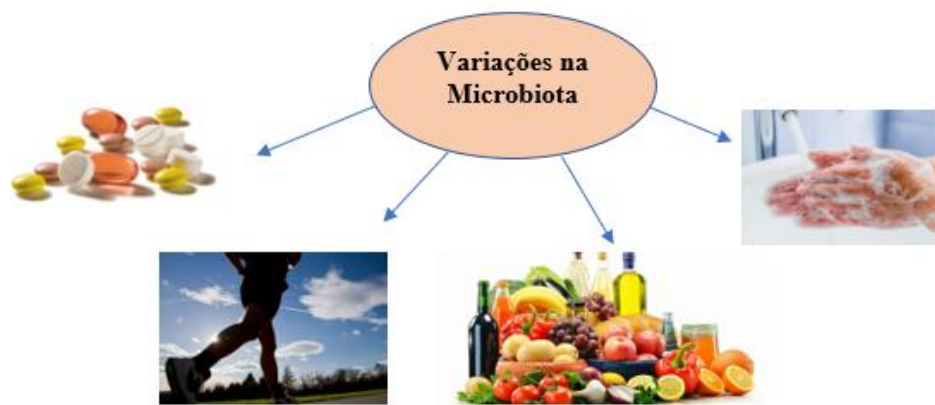


Figura 4-Representação de fatores que afetam a variação da microbiota. Adaptado de Sommer e Bäckhed, 2013

Existem vários fatores que modificam o microbioma do TGI mas o fator com maior peso na plasticidade intrapessoal e na variação interpessoal do microbioma intestinal é a dieta (Voreades *et al.*, 2014).

O tipo de alimentação molda os microrganismos presentes no trato gastrointestinal. Uma alteração na alimentação de um indivíduo vai discernir o tipo de bactérias dominante no intestino (Voreades *et al.*, 2014).

A higiene, que está também relacionada com a melhoria do saneamento básico, é um fator ambiental que pode colaborar na alteração da microbiota intestinal. (Boerner e Sarvetnick, 2011).

Embora seja essencial em casos de infecção, o tratamento com antibióticos pode culminar num conjunto de efeitos nefastos na microbiota (especialmente na microbiota intestinal), como a eliminação da diversidade de microrganismos e a desregulação do sistema imunológico do hospedeiro, aumentando a susceptibilidade à doença. O espectro de ação do antibiótico, a dosagem e a duração do tratamento, a via pela qual é administrado e também as particularidades relativas ao fármaco e ao organismo (farmacocinéticas e farmacodinâmicas), afetam a forma como os antibióticos alteram a microbiota intestinal (Jerneberg, 2010).

III. A microbiota e a influência na metabolização dos fármacos

1. Influência da microbiota intestinal na variação interindividual na eficácia do medicamento

A variação interindividual na eficácia do medicamento é muito importante nos tratamentos, uma vez que garante o potencial do tratamento personalizado para maximizar os benefícios terapêuticos e minimizar a toxicidade induzida por doses exageradas. As razões para a variação interindividual em direção à terapia idêntica são multifacetadas, incluindo o polimorfismo genético do hospedeiro, fatores fisiológicos e ambientais. Embora a farmacogenômica tenha ajudado na descoberta de muita informação, ajudou também a prosseguir o entendimento sobre os impactos genéticos na variação interindividual em resposta à terapia medicamentosa sendo que evidências crescentes indicam que a variação interindividual na eficácia do medicamento está associada à diferença na microbiota intestinal entre indivíduos (Klaassen e Cui, 2015).

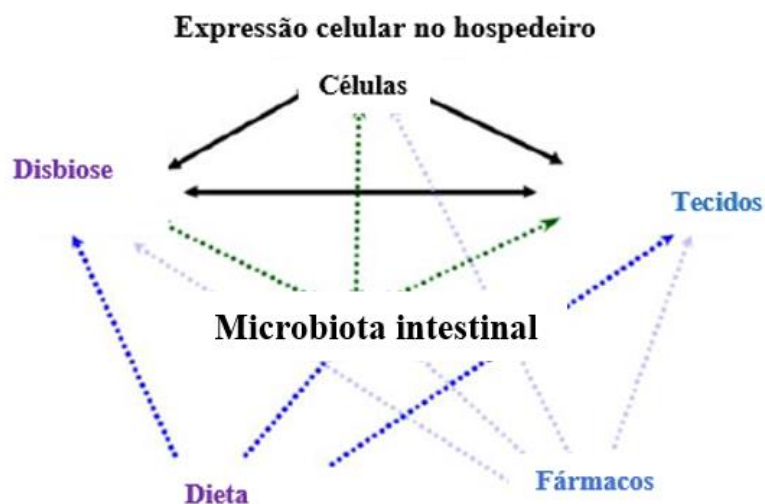


Figura 5- Esboço altamente simplificado de alguns dos fatores que podem influenciar a interação entre hospedeiro, microbioma e dieta. Adaptado de Wilson e Nicholson, 2016.

2. A influência da microbiota na farmacocinética

Os seres humanos estão habituados a conviver com microrganismos indispensáveis durante toda a vida que têm a capacidade de moldar e de desintoxicar xenobióticos

(incluindo fármacos e compostos dietéticos) através do co-metabolismo microbiota-metabolismo (Li *et al.*, 2016).

A fase I, incluindo reações de oxidação, redução, hidroxilação e é mediada maioritariamente pelo citocromo P450, enzimas do fígado, intestino e outros tecidos para facilitar a excreção de xenobióticos na urina, aumentando a polaridade de compostos estranhos. O metabolismo de fase II são reações de conjugação, incluindo glucuronidação e sulfonação (Li *et al.*, 2016).

Mais de 70% dos 200 principais medicamentos prescritos são metabolizados no fígado, enquanto cerca de 25% são eliminados no rim, e cerca de 50% dos medicamentos são metabolizados através do sistema enzimático P450 destacando a importância do mesmo no metabolismo dos fármacos (Li *et al.*, 2016).

Os microrganismos intestinais podem afetar a terapia medicamentosa através de vários mecanismos diferentes que geralmente podem ser agrupados em efeitos diretos ou indiretos efeitos (FIG. 6).

- Mecanismos diretos incluem a biotransformação de fármacos ou os seus metabólitos em produtos com bioatividades alteradas;
- Mecanismos indiretos envolvem interações hospedeiro-microbiana mais complexas que modulam as vias do hospedeiro para o metabolismo ou transporte xenobiótico (Spanogiannopoulos *et al.*, 2016).

A microbiota intestinal pode diretamente metabolizar xenobióticos em metabólitos ativos, inativos ou tóxicos. Os xenobióticos também podem moldar uma composição do intestino microbiota por atividade antimicrobiana ou crescimento seletivo. A microbiota intestinal pode direcionar indiretamente os xenobióticos por meio da modulação das vias do hospedeiro responsáveis pelo metabolismo e transporte. Isso pode ser mediado por metabólitos microbianos ou através da modificação microbiana de metabólitos do hospedeiro (FIG. 6) (Spanogiannopoulos *et al.*, 2016).

A microbiota intestinal é um importante componente do metabolismo de primeira passagem. Antes de entrar na circulação sistêmica e atingir o tecido alvo, ingerido por via oral, os compostos estão sujeitos ao metabolismo no intestino e no fígado, o que está relacionado a uma eventual diminuição da concentração sistêmica do fármaco.

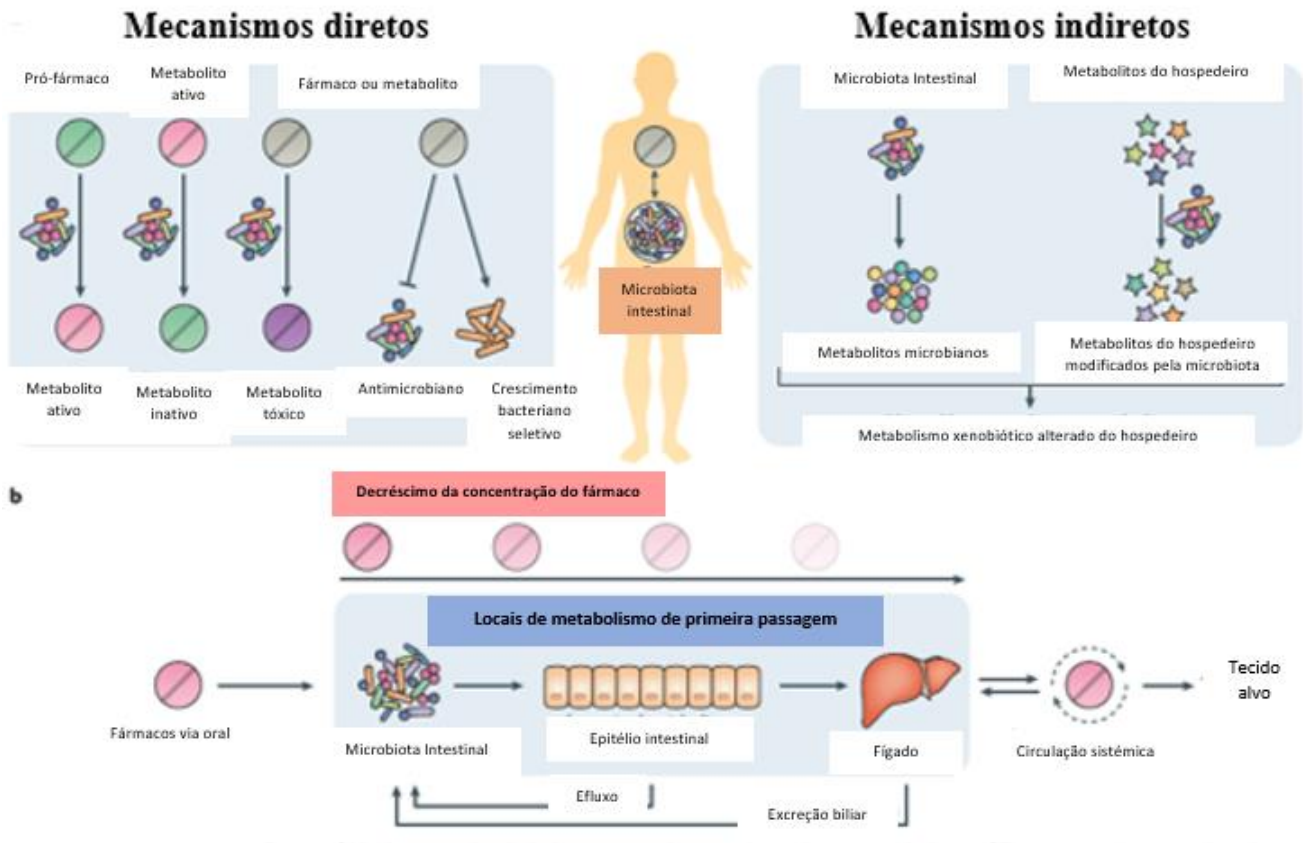


Figura 6- Resumos dos mecanismos pelos quais a microbiota influencia a farmacocinética dos medicamentos. Adaptado de Spanogiannopoulos et al.,2016)

A microbiota intestinal pode metabolizar compostos antes da absorção, após efluxo do intestino epitélio ou após excreção biliar do fígado (FIG. 6) (Spanogiannopoulos *et al.*, 2016).

Para elucidar estas alterações causadas pela interindividualidade originada pela microbiota, farei referência a alguns fármacos e terapêuticas que são mais comumente usados nomeadamente paracetamol, digoxina, levodopa, olanzapina, quimioterápicos, anti-inflamatórios não esteroides e estatinas.

3. Paracetamol

A microbiota intestinal afeta indiretamente a metabolização do paracetamol (também conhecido como acetaminofeno) no organismo.

O paracetamol é um medicamento não sujeito a receita médica mais usados no mundo. É um analgésico e antipirético, mas doses excessivas causam lesão hepática e, se forem muito graves, poderá ser necessário recorrer a transplante de fígado. O seu uso excessivo leva a um estado crítico, uma vez que resulta em hepatotoxicidade, sendo esta uma das causas mais frequentes de morte (suicídio) em países como Reino Unido e Estados Unidos da América (Li *et al.*, 2016).

O paracetamol pode ser metabolizado por intermeio de duas vias bioquímicas principais: reação de conjugação com ácido glucorónico e sulfato. Ambas as vias produzem compostos não tóxicos. Existe ainda uma terceira via, menos usada, que produz subprodutos tóxicos (Klaassen e Cui, 2015).

Certas bactérias localizadas no intestino produzem um composto chamado p-cresol que pode ser metabolizado pela mesma enzima que catalisa a reação de conjugação com o sulfato do paracetamol. Como o p-cresol interfere na sulfatação do paracetamol, isto significa que o paracetamol fica retido no fígado por um período de tempo mais extenso do que o normal. Esta situação faz com que o fígado fique mais vulnerável à toxicidade do paracetamol, pois o excesso de paracetamol é metabolizado pela terceira via acima mencionada, que produz subprodutos tóxicos que danificam o fígado (Wilson e Nicholson, 2016).

O paracetamol sofre sulfatação e glucuronidação, que são mediadas por enzimas de Fase II que conjugam o grupo hidroxilo do fármaco com um sulfato ou ácido glucorónico, que desintoxica o acetaminofeno e aumenta a sua excreção. Estas reações de Fase II ou reações de conjugação requerem não só uma enzima para a reação, como também um co-substrato. A sulfatação e glucuronidação do acetaminofeno ocorre tanto na mucosa intestinal como no fígado, e ambas as vias são limitadas, aparentemente por causa do esgotamento dos co-substratos (Klaassen e Cui, 2015).

Uma pequena porção de acetaminofeno (menos de 10%) é então ativada pelas enzimas do citocromo P-450 para um intermediário altamente

reativo *N*- acetil- *p*- benzoquinoneimina (NAPQI), que é desintoxicado por conjugação com glutathiona. No entanto, quando os níveis de glutathiona são esgotados, os metabolitos reativos ligam-se a macromoléculas nos hepatócitos, resultando em necrose hepática (Enright *et al.*, 2016).

Na tentativa de encontrar biomarcadores que possam ser usados em cuidados de saúde, uma análise endócrina de produtos químicos na urina foi quantificada antes e depois de administrar uma dose de acetaminofeno. Como previsto, os principais metabolitos do acetaminofeno detectados na urina foram o sulfato e os conjugados de glucurónico. Conclui-se que as pessoas que excretaram menos sulfato de acetaminofeno na urina tinham mais sulfato de cresol na urina antes da administração de acetaminofeno (Klaassen e Cui, 2015).

O sulfato de cresol na urina origina-se através da tirosina, um dos aminoácidos das proteínas obtidas na dieta. (FIG.7)

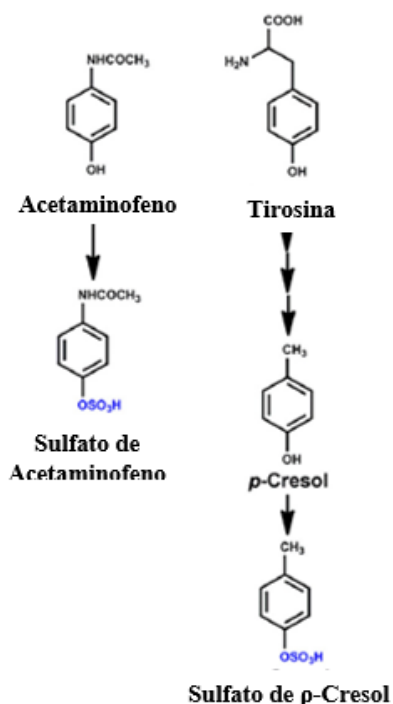


Figura 7-Metabolismo do Acetaminofeno. Adaptado de Klaassen e Cui, 2015.

A Tirosina é metabolizada pela microbiota intestinal em cresol (*p*- hidroxitolueno), que é então sulfatado pelo intestino e fígado antes da excreção na urina. Portanto, conclui-se

que o cresol e o acetaminofeno competem para sulfatação por enterócitos e, portanto, quanto mais cresol for formado pela microbiota, menos o acetaminofeno é desintoxicado (Clayton *et al.*, 2009).

Pacientes que têm grande abundância de p-Cresol, apresentam grande risco de hepatotoxicidade (Klaassen e Cui, 2015).

4. Digoxina

A digoxina é um glicosídeo cardíaco usado no tratamento da insuficiência cardíaca crônica, que tem origem na planta dedaleira. Apresenta um estreito índice terapêutico, o que significa que mudanças na biodisponibilidade pode induzir a toxicidade. Estudos demonstraram que a atividade da digoxina é influenciada pela microbiota intestinal. As três moléculas de açúcar da digoxina não são necessárias para as suas ações farmacológicas, sendo que apenas a lactona insaturada (uma furanona) é cerca de dez vezes mais ativa do que o anel (butirolactona ou diidrolactona) (FIG. 8) (Klaassen e Cui, 2015).

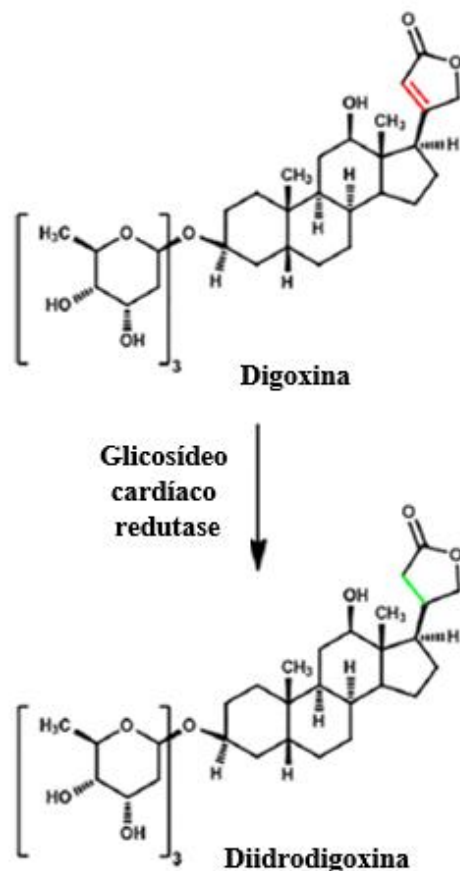


Figura 8-Metabolismo da Digoxina. Adaptado de Klaassen e Cui, 2015.

A microbiota intestinal transforma então o composto original em inativo, diidrodigoxina, por redução do anel lactona da digoxina. Além disso, o metabolismo microbiano intestinal da digoxina é ainda demonstrado pela observação de que o pré-tratamento com antibióticos reduz a secreção de diidrodigoxina na urina e aumenta o nível de digoxina no sangue, bem como a identificação de Bactéria intestinal que metaboliza digoxina, *Eggertherlla lenta* (Enright *et al.*, 2016).

Então, cerca de 20% das pessoas que tomam digoxina, uma quantidade substancial é excretada com a lactona na forma reduzida (diidrolactona), e as culturas de fezes dessas pessoas apresentam este mesmo metabolito inativo da digoxina. Antibióticos, como eritromicina e tetraciclina, diminuíram a formação do metabolito de lactona e aumentou a concentração sérica da digoxina (Enright *et al.*, 2016).

Centenas de isolados do cólon humano foram examinados, e concluiu-se que *Eggerthella lenta* converteu digoxina no metabolito reduzido. Surpreendentemente, os indivíduos que fizeram e não fizeram produzir o metabolito de digoxina reduzida, ambos tinham quantidades semelhantes de *E. lenta* na microbiota intestinal e, portanto, a diferença não deve ser devido ao número de bactérias, mas a sim a atividade enzimática. Quando estas as bactérias foram estimuladas a crescer com arginina, a formação da lactona reduzida da digoxina foi diminuída (Klaassen e Cui, 2015).

Trinta anos depois, usando perfis de transcrição, genômica comparativa, e ensaios baseados em culturas, pesquisas adicionais foram conduzidas para compreender o metabolismo da digoxina por *E. lenta*. Um citocromo de codificação foi identificado em *E. lenta*, que é conhecido como o operão “glicosídeo cardíaco redutase” (*cgr*) e é um suposto preditor da inativação da digoxina causada pela correlação significativa entre a “razão *cgr*” (abundância normalizada pelo nível de rDNA de *E. lenta* 16S) e inativação de digoxina *ex vivo* em voluntários saudáveis. A transcrição do operão *cgr* é induzido pela digoxina, e sua abundância antediz redução da digoxina pela microbiota intestinal (Enright *et al.*, 2016).

Os ratinhos livres de germes não formam diidrodigoxina, mas quando foram colonizados com *E. lenta*, eles formaram a lactona reduzida da digoxina. Os ratinhos que foram alimentados com uma dieta rica em proteínas diminuiu a formação de diidrodigoxina e aumentou as concentrações da forma ativa da digoxina (Haiser *et al.*, 2013).

5. L-DOPA

Levodopa ou L-DOPA (L-3,4-dihidroxi-fenilalanina) é usado para o tratamento da doença de Parkinson, que é uma doença neurodegenerativa caracterizada por quatro características clínicas principais: tremor, bradicinesia, rigidez e perturbação da postura. A doença de Parkinson é o resultado de degeneração dos neurônios da dopamina nos gânglios da base. Portanto um importante passo no tratamento da doença de Parkinson é aumentar os níveis de dopamina nos gânglios da base. Devido ao facto da dopamina não passar a barreira hemato-encefálica, a L-DOPA é descarboxilada por um aminoácido descarboxilase no cérebro para produzir dopamina (Klaassen e Cui, 2015).

No final da década de 1960, foi demonstrado que os níveis do ácido *m*-hidroxifenilacético em pacientes sendo tratados com L-DOPA diminuiu acentuadamente quando eles receberam tratamento com o antibiótico neomicina (FIG. 9) (Klaassen e Cui, 2015).

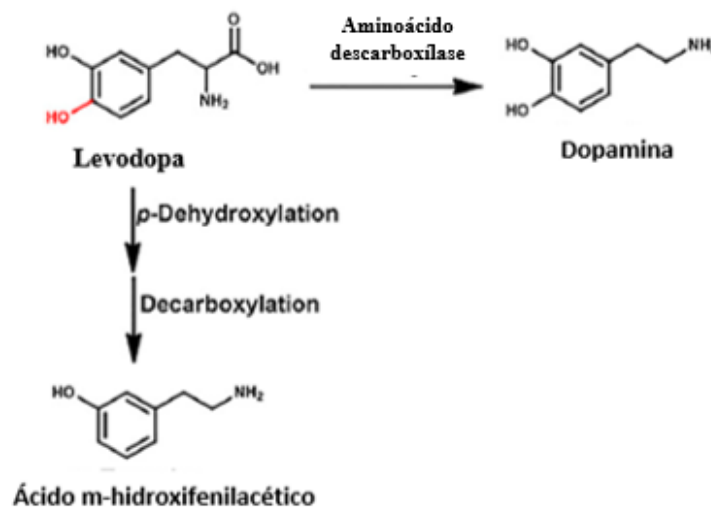


Figura 9- Metabolismo L-DOPA. Adaptado de Klaassen e Cui, 2015.

Na verdade, concluiu-se que a *p*-desidroxilação da L-DOPA para o ácido *m*-hidroxifenilacético foi catalisado inteiramente pela microbiota. Da mesma forma em testes com os ratinhos livre de germes, a neomicina diminui a *p*-desidroxilação de L-dopa para ácido *m*-hidroxifenilacético, e ratinhos tratados com L-dopa não formam ácido *m*-hidroxifenilacético (Wilson e Nicholson, 2016).

Em 2005, os investigadores Marshall e Warren receberam o Prêmio Nobel pela descoberta de que a inflamação no estômago (gastrite), bem como ulceração do estômago ou duodeno (úlceras pépticas) é o resultado de infecção do estômago pela bactéria *Helicobacter pylori*. Vários médicos também notaram uma associação de doença de Parkinson e infecção por *H. pylori*. (Klaassen e Cui, 2015).

Um estudo de farmacocinética clínica foi realizado em pacientes com doença de Parkinson e quando os pacientes foram pré-tratados com antibióticos para tratar o *H. pylori* (amoxicilina, claritromicina e protetor gástrico omeprazol), níveis sanguíneos mais elevados de L-DOPA foi observada em pacientes não tratados com antibióticos. Posteriormente, um estudo in vitro demonstrou que L-DOPA pode ligar-se a *H. pylori*, e os autores sugeriram que esta pode ser a razão para a menor absorção de L-dopa em pacientes de Parkinson que estão infetados com *H. pylori* (Klaassen e Cui, 2015).

Conclui-se, portanto, que, rastreio de *H. pylori* e regimes de erradicação (antibióticos e inibidores da bomba de prótons) representam uma estratégia com grande potencial para otimizar doses de L-DOPA para resultar num positivo efeito clínico (Enright *et al.*, 2016).

6. Olanzapina

Olanzapina, é um antipsicótico usado no tratamento da esquizofrenia, que está associada a um conjunto de efeitos metabólicos adversos, incluindo aumento de peso e tolerância à insulina. Clinicamente, os aumentos significativos na massa corporal são observados em aproximadamente um terço dos pacientes tratados com olanzapina, um fator importante para o desenvolvimento de síndrome metabólica, levando a doenças como diabetes mellitus tipo 2 (Enright *et al.*, 2016).

Considerando a ligação estabelecida entre a microbiota intestinal e a obesidade, estudos pré-clínicos sugestivos da alteração da microbiota fecal induzida pela olanzapina, suscitou a hipótese de que a microbiota intestinal pode ser responsável por alguns dos efeitos metabólicos das proteínas da olanzapina. Foi determinado que a dizimação da microbiota do ratinho com antibióticos de amplo espectro diminuiu a disfunção metabólica induzida pela olanzapina (Enright *et al.*, 2016).

Utilizar probióticos ou prebióticos para prevenir mudanças na microbiota pode assim, constituir uma nova abordagem para sucessivamente diminuir os efeitos colaterais da olanzapina e assim aumentar a adesão à medicação e respetiva taxa de sucesso e resposta terapêutica (Enright *et al.*, 2016).

7. Quimioterápicos

i. Ciclofosfamida

Os quimioterápicos geralmente causam disbiose levando a efeitos colaterais nos intestinos do hospedeiro, bem como na modulação das respostas imunes (Li *et al.*, 2016).

A ciclofosfamida (CTX) é um fármaco anticancerígeno que induz a morte de células cancerígenas subvertendo células T imunossupressoras e a promoção de células TH 1 e TH 17 que controlam o crescimento de células tumorais (Li *et al.*, 2016).

Recentemente, observou-se que a CTX pode alterar a composição da microbiota intestinal e induzir a translocação de várias espécies de bactérias Gram-positivas em órgãos linfóides secundários. Então, estas bactérias estimulam a geração de um subconjunto específico de Células T helper17 “patogénicas” (pTH 17) e respostas imunes de memória TH1 (Enright *et al.*, 2016).

Além disso, ratinhos livres de germes com tumor ou ratinhos tratados com antibióticos para esgotar Bactérias Gram-positivas, mostram uma redução nas respostas de pTH 17 e resistência ao efeito antitumoral de CTX . Enquanto isso, ratinhos livres de germes ou tratados com antibióticos mostram respostas fracas à terapia (Enright *et al.*, 2016).

Estes estudos pré-clínicos destacam as implicações potencialmente sérias do distúrbio microbiano, infligido por prescrição de antibióticos em certas terapias contra o cancro. Além disso, estes dados reforçam o benefício das intervenções moduladoras do microbioma para melhorar a eficácia quimioterapêutica (Enright *et al.*, 2016).

ii. Irinotecano

O cancro é um estado patológico que causa uma grande mudança na fisiologia. Sendo o microbioma um componente do organismo humano, também sofre alterações quando confrontado com esta patologia. Não é só o microbioma que é alterado pela doença, mas

também a atividade dos microrganismos que pode ser um fator importante na etiologia do cancro. Um problema no equilíbrio da comunidade de microrganismos com a presença de bactérias patogênicas pode contribuir para certos cânceres gastrointestinais, como o cancro colorectal (Weir *et al.*, 2013).

O irinotecano é um medicamento quimioterápico comumente usado para o cancro colorretal. As toxicidades limitantes da dose são neutropenia e diarreia de início tardio. A diarreia é frequentemente grave para exigir hospitalizações e redução da dose, o que pode levar a um tratamento ineficaz (Klaassen e Cui, 2015).

O Irinotecano é biotransformado pela carboxilesterase do hospedeiro para produzir SN-38, a forma ativa do fármaco. SN-38 é desintoxicado no hospedeiro por glucuronidação. (FIG. 10) (Klaassen e Cui, 2015).

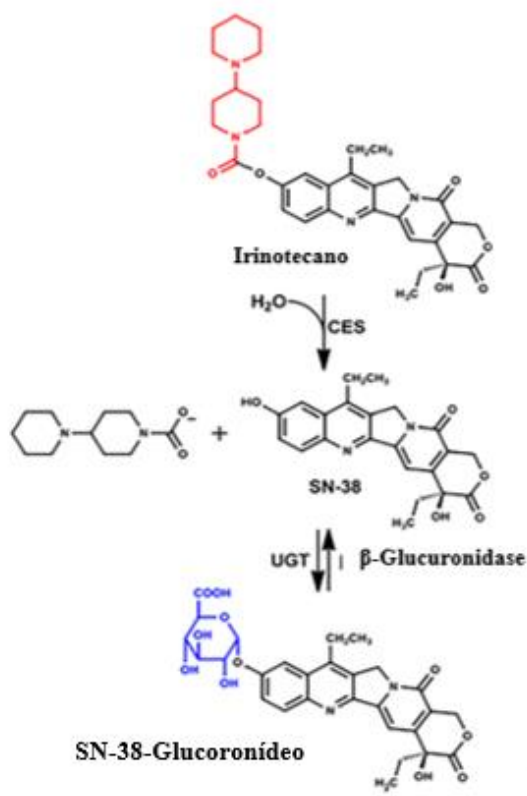


Figura 10- Metabolismo do Irinotecano. Adaptado de Klaassen e Cui, 2015.

Num estudo com ratinhos, observou-se que a toxicidade do irinotecano para vários segmentos do intestino não foram correlacionados com atividade da carboxilase no tecido intestinal, mas sim com a atividade da β-glucuronidase do conteúdo no lúmen dos vários

segmentos. Quando os antibióticos eram administrados por via oral além de diminuir a microbiota intestinal, os antibióticos, inibiam também completamente a conversão do glucuronídeo SN-38 de volta ao SN-38 havendo uma acentuada melhora da diarreia, bem como redução da lesão intestinal (Klaassen e Cui, 2015).

Além disso, o irinotecano aumenta Bactérias contendo b-glucuronidase no intestino de ratos, além disso aumentando o potencial de conversão do glucuronídeo SN-38 de volta para o metabólito ativo e tóxico SN-38 (Stringer *et al.*, 2008). Inibidores da b-glucuronidase bacteriana também protegeu ratinhos contra toxicidade do irinotecano no intestino (Wallace *et al.*, 2010).

Assim, a toxicidade intestinal de irinotecano é devido à libertação de SN-38 no cólon após desconjugação de SN-38-glucurona pela microbiota intestinal. Portanto um inibidor da β -glucuronidase intestinal ou um antibiótico tem o potencial clínico para diminuir a toxicidade intestinal induzida pelo Irinotecano (Klaassen e Cui, 2015).

8. Anti-inflamatórios não esteroides

Os Anti-inflamatórios não esteroides (AINEs) são usados para tratar inflamação, dor e febre. A inflamação é um processo normal na resposta a infecções, bem como lesões físicas ou químicas. A capacidade de resposta inflamatória é essencial para lidar com agentes patogênicos lesões, todavia a resposta inflamatória pode ser exagerada e prolongada, aparentemente sem benefício e com consequências adversas graves (Klaassen e Cui, 2015).

As ações farmacológicas da classe terapêutica AINEs são derivadas da sua capacidade de inibir a síntese da prostaglandina, comumente conhecidas como ciclooxigenases (COXs). A inibição de COX-2 é responsável por produzir os efeitos terapêuticos dos AINEs, enquanto que a inibição da COX-1 é amplamente responsável por efeitos indesejáveis adversos, como irritação gastrointestinal e úlceras (Klaassen e Cui, 2015).

Muitos AINEs contendo ácido carboxílico são conjugados com ácido glucurônico no fígado antes de ser transportado para a bile e excretado no intestino (FIG. 10) (Klaassen e Cui, 2015).

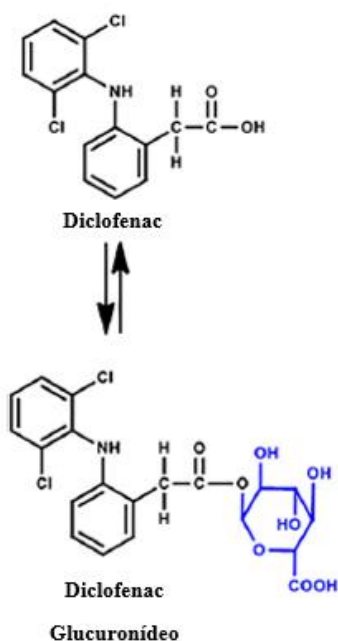


Figura 11-Metabolismo Diclofenac. Adaptado de Klaassen e Cui, 2015.

Num estudo, os ratinhos receberam Diclofenac numa dose excessiva que produziu numerosas úlceras na seção distal do intestino delgado. Num segundo grupo de ratinhos, um inibidor de β -glucuronidase específico para bactérias foi administrado simultaneamente com a mesma dose de diclofenacac, e este segundo grupo de ratinhos teve muito menos lesões na mucosa intestinal. Estudos semelhantes foram feitos com duas AINEs, indometacina e cetoprofeno, e novamente as lesões intestinais foram reduzidas por um inibidor da β -glucuronidase bacteriana (Wilson e Nicholson, 2016).

Estes dados sugerem que as lesões intestinais produzidas pelos AINEs são devidas à β -glucuronidase na microbiota intestinal que liberta a aglicona que fica livre para entrar nos enterócitos para produzir seus efeitos tóxicos. Inibição de β -glucuronidase da microbiota intestinal impede a formação da aglicona e, portanto, oferece proteção contra a toxicidade intestinal induzida por AINEs (Wilson e Nicholson, 2016).

9. Estatinas

As estatinas são medicamentos frequentemente prescritos para reduzir os níveis plasmáticos de LDL colesterol e consequentemente reduzir o risco de doença cardiovascular pela inibição 3-hidroxi-3-metil-glutaril-CoA (HMG-CoA) redutase (Enright *et al.*, 2016).

Apesar da eficácia reconhecida da terapia com estatinas na profilaxia e gestão de doenças cardiovasculares, muitas vezes existe variabilidade inter-individual na resposta (Klaassen e Cui, 2015).

Observou-se, através da metabolômica que existiam níveis elevados de ácidos biliares sintetizados pela microbiota no pré-tratamento, estando estes correlacionados com um aumento da concentração plasmática da sinvastatina. Além disso, esses ácidos biliares secundários derivados de micróbios também se correlacionam com os níveis plasmáticos de sinvastatina, sugerindo prováveis impactos microbianos intestinais sobre a biodisponibilidade da sinvastatina (Enright *et al.*, 2016).

A lovastatina é um medicamento usado para reduzir o colesterol cujo mecanismo de ação é inibir a enzima 3-hidroxi-3-metil-glutaril-CoA redutase, que converte 3-hidroxi-3-metil-glutaril-coa para mevalonato. É um pró-fármaco que, para estar ativo precisa de converter o anel fechado em anel aberto (FIG. 14) (Klaassen e Cui, 2015).

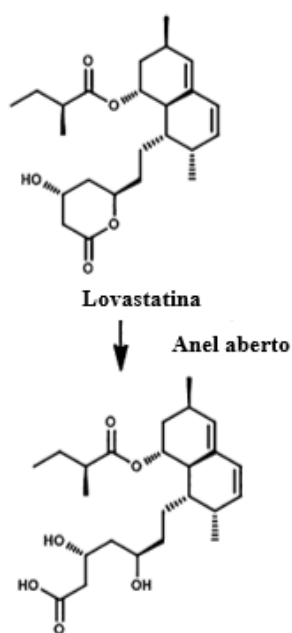


Figura 12- Metabolismo da Lovastatina. Adaptado de Klaassen e Cui, 2015

Da mesma forma, um estudo recente indica que a incubação de lovastatina em ratinhos produz quatro metabólitos difere, metabólito desmetilbutiril, metabólito hidroxilado, metabólito de ácido hidroxil ativo e seu produto hidroxilado (Klaassen e Cui, 2015).

A co-administração de antibióticos reduz significativamente a atividade das enzimas que metabolizam a lovastatina em mais de 50% em comparação com ratos controle. Além disso, a concentração plasmática do ácido hidroxila ativo, um dos quatro metabólitos da Lovastatina, é significativamente menor em ratinhos tratados com antibióticos do que os controlo, sugerindo co-metablismo da Lovastatina pela microbiota intestinal. Conclui-se que, a variação interindividual na resposta à terapia com sinvastatina ou lovastatina pode ser devido às diferenças da microbiota intestinal e que pacientes que recebem a terapia antibiótica a longo prazo podem culminar numa falha adequada às estatinas, representando um risco aumentado de sequelas cardiovasculares graves (Enright *et al.*, 2016).

III- Disbiose

A disbiose é definida como uma transformação anormal na constituição da microbiota, que está relacionada com um desequilíbrio entre bactérias protetoras e bactérias patogênicas, cuja caracterização por métodos de sequenciação genética revelou, consistentemente, uma redução da diversidade taxonômica de espécies (Chan *et al.*, 2003).

A composição da microbiota intestinal está em alteração constante sob a influência de fatores como a dieta, uso de antibióticos, o sistema imunológico e a própria microbiota. Estas variações podem levar para um estado de disbiose, diminuindo assim a diversidade microbiana (Weiss e Hennet, 2017)

Os mecanismos de disbiose intestinal permanecem incógnita obscuros muitas das vezes, uma vez que as combinações de variações naturais e fatores de stress originam cascatas de eventos desestabilizadores (Weiss e Hennet, 2017)

Uma infinidade de doenças, incluindo doenças inflamatórias intestinais, mas também distúrbios metabólicos, como obesidade e diabetes tipo II, estão associados à disbiose intestinal (Mizock, 2015).

É difícil e seria importante destrinçar, nesta associação, se a alteração da composição da microbiota é causa do estabelecimento da doença, ou se essa alteração é consequência de um microambiente patológico (Mizock, 2015).

IV- Abordagens terapêuticas

1. Probióticos

O conceito de probiótico foi introduzido pela primeira vez por Elie Metchnikoff em 1907, mas foi em 2001 que a Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura concomitantemente com a Organização Mundial de Saúde chegaram à definição de probióticos (Kobyliak *et al.*, 2016).

Os probióticos são definidos pela Food and Agriculture Organization (FAO) como "microrganismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem um efeito benéfico para a saúde do hospedeiro", particularmente a nível intestinal (FAO)

De um modo geral, estes agentes interagem com a mucosa intestinal, estimulando mecanismos imunológicos (ex: ativação macrofágica e regulação da produção de citocinas) e não imunológicos (ex: produção de mucina, remoção de espécies reativas de oxigênio). Estes são habitualmente comercializados na forma de preparações farmacêuticas (ex: cápsulas ou saquetas solúveis) ou naturais (ex: iogurte; leite fermentado ou em pó), sendo que no primeiro caso a liofilização do produto mantém a sua viabilidade mesmo em armazenamento à temperatura ambiente (Kobyliak *et al.*, 2016)

Estudos demonstram que estas bactérias probióticas são capazes de modular a microbiota intestinal e produzir efeitos benéficos que podem afetar o peso corporal, influenciar o metabolismo da glicose e dos lípidos, bem como melhorar a sensibilidade à insulina e reduzir a inflamação sistêmica crônica entre outros (Kobyliak *et al.*, 2016)

Grande maioria dos probióticos comercializados contêm os gêneros *Lactobacillus* (phylum Firmicutes) e *Bifidobacterium* (phylum Actinobacteria). (Nova *et al.*, 2016).

Contudo, os efeitos benéficos da maioria dos probióticos não são suficientes para constatar totalmente o benefício do seu uso, sendo que novos estudos e pesquisas são necessários para que abram novos caminhos neste sentido (Nova *et al.*, 2016).

2. Prebióticos

Os prebióticos são substâncias não-digeríveis e não-absorvíveis e são fermentados no trato gastrointestinal, estimulando seletivamente o crescimento e/ou atividade metabólica das bactérias intestinais benéficas para o hospedeiro - *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*, conferindo benefício(s) sobre a sua saúde (Gibson *et al.*, 2010).

Os prebióticos identificados até à atualidade são hidratos de carbono não digeríveis. Entre eles podemos referir a inulina, a lactulose e alguns oligossacarídeos não digeríveis (por exemplo, os frutooligossacarídeos) (Cummings e Macfarlane, 2002).

Na tabela seguinte, resumem-se as principais diferenças entre probióticos e prebióticos.

Prebióticos	Probióticos
Hidratos de carbono	Microorganismos vivos
Ingredientes alimentares	Suplementos alimentares ou fármacos
Atuam essencialmente no cólon	Atuam em vários locais do organismo

Tabela 1- Principais diferenças entre probióticos e prebióticos (adaptado de Karkow *et al.*, 2007).

Atualmente os prébióticos estão sob a alçada de novos estudos para constatar os seus benefícios e o potencial do seu uso no hospedeiro (Candela *et al.*, 2010).

Conclusão

A microbiota humana tem sido uma revelação de grande importância na saúde. As técnicas de análise que existem abriram a possibilidade de realizar uma identificação detalhada e uma maior compreensão dos microrganismos pertencentes à microbiota, surgindo a possibilidade de considerar a microbiota um alvo terapêutico essencial.

Apesar da microbiota ser uma parte importante do nosso organismo, este era uma das grandes incógnitas para a biologia. Até há pouco tempo não tinha sido estudado intensivamente e a sua influência sobre a fisiologia e funções do nosso organismo permanecia desconhecida.

A variação interindividual como resposta à terapia medicamentosa é um fenómeno muito estudado. Contudo, a crescente evidência do envolvimento da microbiota intestinal no tratamento farmacológico tem aberto novos caminhos na determinação de resultados terapêuticos em conjunto com o metabolismo do hospedeiro.

A microbiota intestinal humana pode desempenhar um papel importante no metabolismo de xenobióticos e afetar a estabilidade e a biodisponibilidade oral de diversos fármacos. Nos últimos 50 anos, mais de 30 medicamentos foram identificados como um substrato para bactérias intestinais. Muitas perguntas sobre o impacto da microbiota intestinal no metabolismo farmacológico permanecem sem resposta ou respondidos apenas parcialmente. Responder a essas perguntas deve ser parte integrante da pesquisa farmacêutica e cuidados de saúde personalizados que devem ser tidos em conta futuramente.

Embora os avanços tenham decorrido com celeridade nas últimas décadas, ainda existe um grande caminho a decorrer antes de se poder utilizar o conhecimento como certo.

O que é sabido é que os esforços estão direcionados para o acúmulo de conhecimentos sobre a identificação do papel da microbiota e na evidência de mecanismos que influenciam a farmacocinética dos fármacos, relativamente à biodisponibilidade, eficácia, ou efeitos adversos.

Modulando a microbiota, seja por substituição exógena (probióticos) ou redução de intervenções, como antibióticos ou inibidores específicos, são oportunidades

impressionantes para melhorar os resultados na terapêutica e avançar na personalização do medicamento.

A contribuição da microbiota intestinal para determinação da farmacocinética dos fármacos deve, portanto, ser utilizada no processo de desenvolvimento para terapêuticas mais eficazes e toleráveis.

É possível concluir que num futuro recente, dado o rápido crescimento do conhecimento acerca deste tema, o microbioma humano pode tornar-se um alvo terapêutico para a resolução de diversos problemas de saúde.

Bibliografia

Andrade, A., Pinto, S.C., and Oliveira, R.S., *orgs. Animais de Laboratório: criação e experimentação*. FIOCRUZ, 2002. 388

Boerner, P. B. e Sarvetnick, N. E. (2011). *Type 1 diabetes: role of intestinal microbiome in humans and mice*. Annals of New York Academic Science, 1243, pp. 103-118.

Bourlioux P., *et al.* (2002\2003). *The intestine and its microflora are partners for the protection of the host*. Am J Clin Nutr. 12, pp.675-683

Candela, M. *et al.* (2010). *Functional intestinal microbiome, new frontiers in prebiotic design*. International Journal of Food Microbiology, 140, pp. 93-101.

Cerf-Bensussan, N., Gaboriau-Routhiau, V. (2010) *The immune system and the gut microbiota: friends or foes?* Nature Reviews Immunology, 10(10), pp. 735-744

Chan, Y.K., Estaki M., Gibson D.L. (2013) *Clinical consequences of diet-induced dysbiosis*. Ann Nutr Metab. 63, pp- 28-40.

Clayton T.A. *et al.* (2009) *Pharmacometabonomic identification of a significant host-microbiome metabolic interaction affecting human drug metabolism*. PNAS. 106 (34) pp. 14728-14733.

Collins M.D., Gibson G.R. (1999). *Probiotics, prebiotics, and synbiotics: approaches for modulating the microbial ecology of the gut*. Am J Clin Nutr. 69, pp. 1052s-7s.

Consortium, T. H. M. P. (2013). *Structure, Function and Diversity of the Healthy Human Microbiome*. Nature, 486(7402), pp. 207–214.

Cummings, J. H. e Macfarlane, G. T. (2002). *Gastrointestinal effects of prebiotics*. Br. J. Nutr., 87, pp.145-151

Dave, M., *et al.* (2012). *The human gut microbiome: Current knowledge, challenges, and future directions*. *Translational Research*. 160(4), pp. 246–257.

Enright E. F. (2016) *The Impact of the Gut Microbiota on Drug Metabolism and Clinical Outcome* *Yale J Biol Med*. 89(3), pp. 375–382.

FAO. [em linha]. Disponível em: <http://www.fao.org/food/food-safety-quality/a-z-index/probiotics/en/> [Consultado em Março de 2020]

Gibson G.R., *et al.* (2010). *Dietary prebiotics: current status and new definition*. *Food Sci Technol Bull Funct Foods*. 7, pp.1-19.

Haiser H.J., *et al.* (2013) *Predicting and manipulating cardiac drug inactivation by the human gut bacterium Eggerthella lenta*. *Science*. 341, pp. 295–298.

Jernberg, C. (2010). *Long-term impacts of antibiotic exposure on the human intestinal microbiota*. *Microbiology*, 156, pp. 3216-3223

Karkow, F.J.A., Faintuch, J. e Karkow, A.G. M. (2007). *Probiotics: medical perspectives*. *Rev. AMRIGS*, 51, pp. 38-48.

Khanna, S., & Tosh, P. K. (2014). A clinician's primer on the role of the microbiome in human health and disease. *Mayo Clinic Proceedings*, vol. 89, pp. 107–114.

Klaassen C.D., Cui J.Y. (2015). *Review: Mechanisms of How the Intestinal Microbiota Alters the Effects of Drugs and Bile Acids*, *The American Society for Pharmacology and Experimental Therapeutics*. pp 1505-1520

Kobyliak N., *et al.* (2016) *Probiotics in prevention and treatment of obesity: a critical view*. *Nutr Metab (Lond)*. pp.13-14.

Ley, R.E., Lozupone, C.A., Hamady, M. *et al.* (2008). Worlds within worlds: Evolution of the vertebrate gut microbiota. *Nature Reviews*, vol. 6, pp. 776-788.

Li H., He, J., Jia.W. (2016) *The influence of gut microbiota on drug metabolism and toxicity*, Expert Opin Drug Metab Toxicology. 12, pp.31–40.

Lim, Y. W. *et al.* (2013). *Metagenomics and metatranscriptomics: windows on cf-associated viral and microbial communities*. Journal of CysticFibrosis. 12, pp. 154-164.

Lozupone, C. A. *et al.* (2012). *Diversity, stability and resilience of the human gut microbiota*. Nature, vol. 489, pp. 220-229.

Maial, L.P. (2018). *A influência da microbiota intestinal na prevenção do cancer do colon*. ACM, Arquivos Catarinenses de Medicina, pp.182-197.

Mackie, R.I., Sghir, A., Gaskins, H.R. (1999) *Developmental microbial ecology of the neonatal gastrointestinal tract*. Am J Clin Nutr; .69.

Mariat, D. *et al.* (2009) *The Firmicutes/Bacteroidetes ratio of the human microbiota changes with age*. BMC Microbiol. 9, pp. 123.

Mizock, B.A. (2015) *Probiotics. Disease-a-Month.*; 61, pp. 259–90.

Morgan, X.C., Segata, N., & Huttenhower, C. (2013). *Biodiversity and functional genomics in the human microbiome*. Trends in Genetics : TIG. 29(1), pp. 51–8.

Morgan, X. C., *et al.* (2012). *Dysfunction of the intestinal microbiome in inflammatory bowel disease and treatment*. Genome Biology. 13(9), R79.

News Medical Life Sciences. [Em linha]. Disponível em: <https://www.news-medical.net/health/Drug-Metabolism-and-Microbiome.aspx#3> [Consultado em: dezembro de 2019].

Nova E., *et al.* (2016) *The Role of Probiotics on the Microbiota: Effect on Obesity*. Nutr Clin Pract.; 31(3): 387-400.

Ottman N., *et al.* (2012). *The function of our microbiota: who is out there and what do they do?*. Front Cell Infect Microbiol. 9.

Peterson J., Garges S. *et al.* (2009) *The NIH HMP Working Group*. pp. 2317-2323

Relman, D. (2012) *Learning about who we are*. Nature 486, pp. 194–195.

Spanogiannopoulos, P., *et al.* (2016). *The microbial pharmacists within us: a metagenomic view of xenobiotic metabolism*. Nat Rev Microbiol.14, pp. 273–287

Salazar, N., *et al.* (2014) *The human intestinal microbiome at extreme ages of life. Dietary intervention as a way to counteract alterations*. Frontiers in Genetics. 5, pp. 406.

Sekirov, I. *et al.* (2010). *Gut Microbiota in Health and Disease*. Physiological Reviews Published, 90, pp. 859-904.

Sommer, F. e Bäckhed, F. (2013). *The gut microbiota - masters of host development and physiology*. Nature Reviews Microbiology, 11, pp. 227-238.

Swanson, H. (2015). *Drug Metabolism by the Host and Gut Microbiota: A Partnership or Rivalry?* Drug Metab Dispos. 43(10), pp.1499–1504.

Tannock, G.W. (2005) *New perceptions of the gut microbiota: implications on future research*, Gastroenterol Clin North Am. 34, pp.361-82.

The scientist. [Em linha]. Disponível em: <https://www.the-scientist.com/features/how-the-microbiome-influences-drug-action-66081> [Consultado em: dezembro de 2019].

Thursby, E., Juge, N. (2017) *Introduction to the human gut microbiota*, Biochemical Journal. 474, pp. 1823–1836.

Turnbaugh, P.J., Ley, R.E., Hamady, M. *et al.* (2007). *The Human Microbiome Project*. Nature, vol. 449, pp. 804-810.

Ursell, L.K. *et al.* (2012). *The interpersonal and intrapersonal diversity of human-associated microbiota in key body sites*. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 129(5), pp. 1204–1208.

Voreades, N., Kozil, A., & Weir, T. L. (2014). *Diet and the development of the human intestinal microbiome*. *Frontiers in Microbiology*, 5, pp. 494.

Wallace, B.D., *et al.* (2010) *Alleviating cancer drug toxicity by inhibiting a bacterial enzyme*. *Science* 330, pp. 831–835.

Weir T.L., *et al.* (2013) *Stool microbiome and metabolome differences between colorectal cancer patients and healthy adults*, *PLoS One*.

Weiss GA, Hennet T. (2017). *Mechanisms and consequences of intestinal dysbiosis*. *Cell Mol Life Sci.* 74(16), pp. 2959-2977.

Wilson I.D., Nicholson J.K., (2016) *Gut Microbiome Interactions with Drug Metabolism, Efficacy and Toxicity*, *Translational Research*. 179, pp.204-222.