

CARLA SOFIA GONÇALVES DA COSTA

**A IMPORTÂNCIA DA MICROBIOTA INTESTINAL NA SAÚDE E EM  
ESTADOS DE DISBIOSE – REVISÃO NARRATIVA**

Universidade Fernando Pessoa

Faculdade Ciências da Saúde

Porto, 2021

CARLA SOFIA GONÇALVES DA COSTA

**A IMPORTÂNCIA DA MICROBIOTA INTESTINAL NA SAÚDE E EM  
ESTADOS DE DISBIOSE – REVISÃO NARRATIVA**

Universidade Fernando Pessoa

Faculdade Ciências da Saúde

Porto, 2021

CARLA SOFIA GONÇALVES DA COSTA

**A IMPORTÂNCIA DA MICROBRIOTA INTESTINAL NA SAÚDE E EM  
ESTADOS DE DISBIOSE – REVISÃO NARRATIVA**

Orientador: Professora Doutora Cristina Pina

---

Carla Sofia Gonçalves da Costa

Trabalho apresentado à Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade Fernando Pessoa, como parte dos requisitos para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas sob orientação da Professora Doutora Cristina Pina.

## **RESUMO**

O homem é colonizado por imensos microrganismos em diferentes partes do corpo. Esses microrganismos operam em sintonia com a fisiologia do seu hospedeiro contribuindo para a preservação da homeostase intestinal.

Cada indivíduo possui uma microbiota específica e a genética, estilo de vida, dieta, idade e a antibioterapia são alguns dos fatores que podem afetar o estabelecimento e a evolução da mesma. Cada vez mais são reconhecidas determinadas comunidades de bactérias que estão associadas a um estado de saúde e o seu desequilíbrio também está associado a determinadas patologias. A relação que existe entre o corpo humano e a microbiota intestinal influencia, portanto, aspectos da saúde e doença humanas.

O estudo e conhecimento da microbiota intestinal pode ser utilizado como uma fonte terapêutica benéfica de forma a diagnosticar e tratar determinadas doenças fortalecendo o sistema imunológico e inibindo a proliferação de microrganismos patogênicos.

O objetivo principal deste trabalho baseia-se numa revisão bibliográfica sobre a importância da microbiota intestinal na saúde e em estados de disbiose. O microbioma, a microbiota intestinal, o estado de disbiose, as suas consequências na saúde e algumas patologias associadas ao estado de disbiose são também revistos. Por último, diferentes formas de modulação da microbiota para atingir o estado de saúde também serão abordados.

## **ABSTRACT**

Man is colonized by many microorganisms in different parts of the body. These microorganisms operate in harmony with their host's physiology, contributing to the preservation of intestinal homeostasis.

Each individual has a specific microbiota and genetics, lifestyle, diet, age and antibiotic therapy are some of the factors that can affect its establishment and evolution. Increasingly, certain communities of bacteria that are associated with a state of health are recognized and their imbalance is also associated with certain pathologies. The relationship that exists between the human body and the intestinal microbiota therefore influences aspects of human health and disease.

The study and knowledge of the intestinal microbiota can be used as a beneficial therapeutic source in order to diagnose and treat certain diseases, strengthening the immune system and inhibiting the proliferation of pathogenic microorganisms.

The main objective of this work is based on a literature review on the importance of the intestinal microbiota in health and in dysbiosis states. The microbiome, the intestinal microbiota, the state of dysbiosis, its consequences on health and some pathologies associated with the state of dysbiosis are also reviewed. Finally, different ways of modulating the microbiota to achieve health status will also be addressed.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a todos aqueles, que de várias formas, me ajudaram e me apoiaram na concretização desta dissertação.

Aos meus pais, quero expressar o meu mais sincero agradecimento por todo o apoio e compreensão ao longo de toda a minha vida, pois é a eles que fico a dever tudo aquilo que hoje sou e todos os meus valores.

Ao meu marido, António Costa, pelo permanente incentivo, paciência, preocupação e amor demonstrados nos meus momentos bons e menos bons e por estar sempre presente.

Agradeço também à minha orientadora, Professora Doutora Cristina Pina, por todo o apoio, disponibilidade e dedicação demonstrada.

À Dra. Sara, agradeço ter confiado e acreditado sempre em mim, e a toda a equipa da Farmácia Bessa: Dra. Salomé, Dra. Anabela, Dra. Sandra, Dra. Filipa, Dr. João, Paulo, Teresa e Margarida agradeço por todas as horas e folgas trocadas e por toda a motivação que sempre me deram.

A todas estas pessoas, e a todas aquelas que não referi, mas que contribuíram para o êxito desta etapa da minha vida, um **MUITO OBRIGADO!**

## I. Índice

I.INTRODUÇÃO .....	1
II.MICROBIOMA HUMANO .....	5
III.MICROBIOTA INTESTINAL .....	7
3.1. Composição e diversidade da microbiota intestinal .....	8
3.2. Função da microbiota intestinal.....	12
3.3. Mucosa Intestinal.....	15
3.4. Manutenção da homeostase imunológica .....	18
3.5. Fatores que influenciam o estabelecimento da microbiota intestinal .....	20
i.Fatores genéticos .....	20
ii.Estilo de vida.....	21
iii.Dieta .....	22
iv.Idade .....	24
v.Antibioterapia .....	25
IV.DISBIOSE INTESTINAL.....	27
4.1.Doenças do sistema gastrointestinal associadas ao estado de disbiose .....	31
4.1.1.Doenças do Sistema Metabólico.....	31
4.1.2.Síndrome do Intestino Irritável.....	36
4.1.3. Doença Inflamatória Intestinal.....	37
4.2.Outras patologias associadas ao estado de disbiose .....	40
4.2.1.Alergias.....	41
4.2.2.Câncer colorretal .....	41
4.2.3.Doenças cardiovasculares.....	42

4.2.4. Autismo .....	43
4.2.5. Doença de Alzheimer e doença de Parkinson .....	43
4.2.6. Stress e depressão .....	44
V. MODULAÇÃO DA MICROBIOTA INTESTINAL PARA A SAÚDE .....	45
5.1. Probióticos .....	46
5.2. Prebióticos .....	51
5.3. Simbióticos .....	54
5.4. Pós-bióticos .....	54
5.5. Dieta .....	55
5.6. Transplante de microbiota fecal .....	56
VI. CONCLUSÃO .....	58
VII. BIBLIOGRAFIA .....	60

## Índice de Figuras

Figura 1 – Composição e diversidade da microbiota intestinal.....	8
Figura 2 – Exemplos da composição taxonômica da microbiota intestinal.....	12
Figura 3 - Células caliciformes a produzir mucina para manutenção do muco intestinal.....	14
Figura 4 – Visão geral da proteção do muco no intestino delgado e no intestino grosso .	15
Figura 5 –.Camada de muco no colon.....	17
Figura 6 – GALT.....	19
Figura 7 -Possíveis rotas de colonização do microbioma materno para o bebê.....	21
Figura 8 - Influência do estilo de vida na microbiota intestinal.....	22
Figura 9 - Influência da dieta na microbiota intestinal.....	23
Figura 10 -Relação idade e microbiota intestinal.....	24
Figura 11 – Influência dos antibióticos na microbiota intestinal.....	25
Figura 12 - Tipos de disbiose intestinal.....	27
Figura 13 – Homeostase intestinal e disbiose.....	30
Figura 14 – Permeabilidade intestinal.....	32
Figura 15 – Estado de disbiose na obesidade.....	33
Figura 16 – Resistência à insulina.....	34
Figura 17 – Diferença entre colite infecciosa e doença de Crohn.....	38

## Abreviaturas

DII	Doença inflamatória intestinal
DNA	Ácido desoxirribonucleico
FOODMAPs	Oligossacarídeos, dissacarídeos, monossacarídeos e polióis fermentáveis
GALT	Gut-associated lymphoid tissue
HMOs	Oligossacarídeos do leite humano
IgA	Imunoglobulina A
IgG	Imunoglobulina G
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
SCFAs	Short-chain fatty acid
SII	Síndrome do Intestino Irritável
SNC	Sistema Nervoso Central
TMF	Transplante Microbiota fecal

## II. Introdução

O ser humano coevoluiu com os trilhões de microrganismos que habitam o corpo humano e que criam ecossistemas complexos adaptativos, tornando-se específicos do nosso corpo e encontram-se em perfeita sintonia e mudança com a fisiologia do hospedeiro (Lloyd-Price *et al.*, 2016).

Os microrganismos colonizam grande parte do corpo humano, inclusive ambientes mucosos e cutâneos onde são tão abundantes quanto as células. Estima-se que existam entre 500 a 1000 espécies de bactérias no corpo humano embora o número de subespécies seja bastante superior o que confere uma diversidade genética substancial. No entanto não fazem parte dessa estimativa os vírus, fungos, protozoários e archaea que também estão presentes em vários ambientes do corpo humano (Gilbert *et al.*, 2018).

Essas centenas de espécies presentes no microbioma representam cerca de 5 milhões de genes conhecidos coletivamente pela microbiota. A microbiota representa todo o material genético de uma comunidade bacteriana (Wang, 2015).

Os seres humanos são idênticos na sua composição genética, no entanto pequenas diferenças no DNA originam uma enorme diversidade fenotípica. Em contraste, o genoma do microbioma humano é bastante diferenciado, o que se traduz num desafio enorme a sua pesquisa (Lloyd-Price *et al.*, 2016).

A metagenômica, análise dos genomas combinados dos organismos, neste caso da microbiota intestinal desempenha um papel importante na compreensão do microbioma intestinal humano, incluindo a diversidade do microbioma intestinal, identificação de novos genes e ajuda a determinar a etiologia da disbiose funcional (Ghurye *et al.*, 2016).

O intestino dos mamíferos contém comunidades microbianas que constituem um microbioma muito específico. Essa microbiota tem-se tornado num ponto de interesse para pesquisas e estudos havendo o reconhecimento da sua importância no estado de saúde. Nunca antes a discussão sobre hábitos intestinais e os sintomas gastrointestinais foi tão comum (Shi, N. *et al.*, 2017).

O microbioma intestinal é um órgão microbiano moldado em combinação com o genótipo do hospedeiro e responde ao processo de crescimento e exposição ambiental. As interações coordenadas entre as populações microbianas intestinais contribuem para a manutenção da homeostase intestinal e desempenham um papel importante no processo imunológico (Shi, N. *et al.*, 2017).

No início dos anos 1900, Eli Metchnikoff, cientista russo do Instituto Pasteur em Paris, associou a longevidade dos búlgaros rurais ao consumo de produtos lácteos fermentados. Ele acreditava que as bactérias do ácido láctico presentes nos produtos lácteos ingeridos por esses camponeses lhes proporcionava um efeito antienvhecimento, o que contribuía para que sobrevivessem ao clima adverso e à pobreza. Prémio Nobel em 1908, chamou as bactérias de “*Lactobacillus bulgaricus*” e colocou a hipótese de que era possível semear o intestino com bactérias saudáveis de forma a combater as bactérias nocivas e prolongar a vida. Surge assim, pela primeira vez, a teoria de que era possível modificar o microbioma intestinal substituindo bactérias ruins por bactérias boas (Cresci *et al.*, 2015).

Em 1877, Lois Pasteur deu início a estudos científicos onde foi reconhecida a importância do microbioma para a vida humana, afirmando que “os microrganismos são necessários para uma vida humana normal”. Mais tarde, em 1886, Theodor Escherich reconheceu que “a interação entre o hospedeiro e as bactérias é muito importante, sendo a composição do microbioma intestinal essencial para a saúde e bem-estar do ser humano” (Cresci *et al.*, 2015).

O facto de duas pessoas saudáveis poderem ter microbiomas diferentes, torna a análise do microbioma com uma dificuldade significativa, uma vez que há uma considerável variação intra e interpessoal. Atualmente o Projeto Microbioma Humano estuda comunidades bacterianas de forma a entender melhor os fatores que afetam a estrutura do microbioma e que contribuem para a saúde humana. Existem tipos de comunidades que representam determinados grupos. Fortes associações entre indivíduos que foram amamentados, os tipos de comunidades presentes na cavidade oral e estabilidade dos tipos de comunidades são fatores que permitem concluir que apesar da variação do microbioma intestinal, os tipos de comunidades são resultado da história de vida de cada indivíduo (Cresci *et al.*, 2015).

Embora o microbioma de cada pessoa seja único, existem determinadas tendências quando analisados microbiomas de populações ao redor do globo. Os microbiomas

ocidentais apresentam menos espécies de bactérias do que os microbiomas não ocidentais e a abundância de determinadas subespécies mudam entre microbiomas ocidentais e não ocidentais. Isto pode ser explicado pelas mudanças tecnológicas e culturais que acompanham a industrialização e pela dieta não ocidental ser menos rica em açúcar, gordura e carne e mais rica em fibras. Para além disso, nas populações ocidentais existem diferenças na higiene, uso de antibióticos e exposição a determinados ambientes sépticos (Davenport *et al.*, 2017).

Perturbações que afastem uma ecologia equilibrada do microbioma pode induzir, agravar ou prologar efeitos prejudiciais à saúde. Assim, encontrar características que distinguem os microbiomas saudáveis dos não saudáveis ajudará no diagnóstico de doenças relacionadas com o microbioma de forma a fornecer novos meios para prevenir a doença ou melhorar o prognóstico. Os microbiomas apresentam um elevado grau de diversidade interpessoal mesmo em estados de doença o que complica a identificação dos constituintes microbianos que refletem um estado de doença (Lloyd-Price *et al.*, 2016).

As interações entre o corpo humano e a microbiota intestinal são, atualmente, reconhecidas como influenciadoras de vários aspetos da saúde humana. Um microbioma funcional é essencial para o organismo hospedeiro pois contribui para o bom funcionamento de processos fisiológicos importantes. Embora a estrutura, função, dinâmica e interações desses microrganismos desempenhem um papel essencial no metabolismo humano, a sua identificação e caracterização revela-se difícil. Para além disso a interação entre eles e a forma como formam redes intrínsecas de conexão torna-se ainda mais problemático prever o seu comportamento (Malla, *et al.*, 2018).

Os microrganismos que coexistem no corpo humano oferecem uma variedade de benefícios pois modelam processos metabólicos fundamentais, fortalecem o sistema imunológico, participam na transdução de sinais e inibem ou evitam que microrganismos patogénicos invadam o hospedeiro (Malla, *et al.*, 2018).

O estado de disbiose ou desequilíbrio microbiano está associado a diferentes doenças e alterações drásticas no microbioma materno pode influenciar a maturação e a imunidade dos recém-nascidos. O estudo do microbioma oferece métodos novos e potenciais de diagnóstico, prognóstico e tratamento de doenças.

Portanto, há várias evidências de que manter um microbioma intestinal benéfico, em termos de composição e função, é importante para a saúde humana e que a compreensão desse microbioma pode servir como agente terapêutico (Malla, *et al.*, 2018).

Elaborada na base de uma revisão bibliográfica, esta dissertação tem como objetivo a análise da microbiota intestinal. A sua evolução, composição, diversidade e a sua função bem como os fatores que a influenciam são um dos objetivos deste trabalho.

No entanto, e como o tema desta dissertação é a importância da microbiota intestinal na saúde e em estados de disbiose, o principal propósito é avaliar as implicações do estado de disbiose na saúde e como se desencadeia todo o processo inflamatório que causa a disbiose.

A presente dissertação não tem componente prática experimental e para a sua realização procedeu-se à pesquisa bibliográfica de artigos científicos em bases de dados bibliográficas como o Pubmed, Medline Plus e o Google Académico entre outubro de 2020 e Julho de 2021, incluindo apenas textos de acesso gratuito.

Foram utilizadas na pesquisa palavras-chave como “microbioma humano”, “microbiota intestinal”, “Gut microbiome”, “diseases”, “dysbiosis”, “Prebióticos” e “Probióticos”.

Foi feita uma seleção dos artigos científicos resultantes da pesquisa acima referida em inglês e português dos últimos 10 anos. Nesta seleção foram, também, incluídos artigos com evidências experimentais, dos quais se retirou conteúdo para a elaboração escrita desta dissertação.

Para que a informação recolhida fosse completada, foram usados para pesquisa livros como “Qué sabemos de? La Microbiota Intestinal”, “Intestinal Microbiota in Health and Disease: Modern Concepts” e “Intestinal Homeostasis and Disease: A Complex Partnership Immune Cells, Non-Immune Cells, and the Microbiome”

### III. Microbioma Humano

Os seres humanos são constituídos por células que contêm o património genético e por triliões de microrganismos como bactérias, fungos, vírus, protozoários e archaea que habitam nas diferentes partes do corpo humano desempenhando um papel importante na saúde e na doença do hospedeiro. A todo este conjunto denomina-se microbioma humano (Vemuri *et al.*, 2018; McDonal *et al.*, 2015; Dominguez-Bello *et al.*, 2016; Peláez e Requena, 2017).

Durante milhões de anos, o microbioma, por meio de um processo de seleção natural, sofreu mutações que o levou a adaptações evolutivas, influenciando fenotipicamente o hospedeiro. O sistema imunológico juntamente com o microbioma desenvolveram mecanismos de identificação e defesa de microrganismos invasores (Dominguez-Bello *et al.*, 2016).

O microbioma humano é único para cada ser humano, e tem um papel fundamental em processos como a digestão, metabolismo de energia, desenvolvimento imunológico, função neurológica e suscetibilidade a determinadas doenças. É essencial no desenvolvimento e regulação do sistema imunológico, bem como na proteção face a agentes patogénicos, sendo uma chave fundamental para a compreensão da relação saúde/doença humanas uma vez que a biose entre todos os microrganismos determina a saúde do organismo onde habitam. A composição do microbioma humano sofre transformações ao longo da vida, uma vez que depende de fatores genéticos, ambientais, alimentação e estilo de vida saudável (Katoaka, 2016; Kährström *et al.*, 2016; Schnorr *et al.*, 2016).

Durante a gestação, o feto começa por estar em contacto com as bactérias presentes no líquido amniótico, mas é principalmente no parto que existe a primeira grande exposição ao microbioma materno. O tipo de parto influencia o microbioma infantil, uma vez que em partos vaginais o microbioma do bebé tem uma maior taxa de microbiotas vaginais e intestinais, enquanto que cesarianas apresentam maior número de microbiotas cutâneas e ambientais (Vemuri *et al.*, 2018; Dominguez-Bello *et al.*, 2016).

Uma vez estabelecido o microbioma infantil, a composição da comunidade do microbioma humano é o resultado de um processo multifatorial que envolve a sucessão ao longo do tempo e é afetada por fatores como localização geográfica, fatores ambientais, genética, higiene, comportamentos sociais e uso de antibióticos se traduzem numa diferenciação do microbioma de cada indivíduo. No entanto a dieta é, sem dúvida, o grande impulsionador da diversidade do microbioma, nomeadamente da microbiota intestinal (Vemuri *et al.*, 2018; Schnorr *et al.*, 2016).

#### **IV. Microbiota intestinal**

Uma microbiota é constituída por uma comunidade de microrganismos que vivem num ambiente específico. A microbiota com maior densidade celular microbiana é a microbiota intestinal (D'Argenio e Salvatore, 2015).

O ser humano alberga, no interior do seu tubo digestivo, uma comunidade imensa de microrganismos comensais que vivem numa relação mutualista e simbiótica importante para uma vida saudável (Chong-Neto *et al.*, 2019).

Esta simbiose entre os microrganismos e o intestino humano resultam de milhões de anos de coevolução originando uma comunidade microbiana diversa mais complexa e mais equilibrada. Toda esta comunidade de microrganismos que habitam o sistema gastrointestinal constituem a microbiota intestinal (Gareau *et al.*, 2010).

O trato intestinal é o local do corpo humano com maior colonização com cerca de 5 milhões de genes diferentes e 1000 espécies de bactérias diferentes (Lupp *et al.*, 2007; D'Argenio e Salvatore, 2015).

A microbiota intestinal encontra-se essencialmente no cólon e contém uma diversidade de genes superior à do genoma humano que interagem com a nossa fisiologia ajudando e participando em funções vitais (Capuco *et al.*, 2020).

O ecossistema intestinal desempenha também importantes funções a nível da função neurológica como o humor e o comportamento, digestão e metabolismo energético e a suscetibilidade a determinadas doenças e é altamente responsivo a qualquer mudança do estilo de vida do seu hospedeiro, sendo essencial compreender a sua evolução e alterações ao longo da vida (Schnorr *et al.*, 2016).

Uma microbiota saudável e benéfica requer um equilíbrio homeostático entre todas as comunidades microbianas, os seus microrganismos e o seu hospedeiro (Reddel *et al.*, 2019). A microbiota deve contribuir para que haja resistência à colonização patogénica através da competição por espaço, nutrientes e recetores do hospedeiro (Pickard *et al.*, 2017).

Embora não haja uma definição de microbiota intestinal saudável, existem características essenciais que têm de existir como ser altamente diversificada, possuir grande estabilidade e ser resistente aos fatores que a desregulam (Sidhu e Poorten, 2017).

### 3.1. Composição e diversidade da microbiota intestinal

A noção de que o ambiente uterino é estéril foi aceite até há pouco tempo. No entanto, existem estudos recentes que relatam que a colonização do intestino pelas comunidades bacterianas começa ainda no período uterino. A presença de bactérias no tecido endometrial, como se verifica na figura 1, revela que o transporte de algumas bactérias possa acontecer ainda no período de fertilização, aquando da entrada do espermatozoide no óvulo, no processo de implantação ou numa fase inicial do desenvolvimento do embrião (Rodríguez *et al.*, 2015).

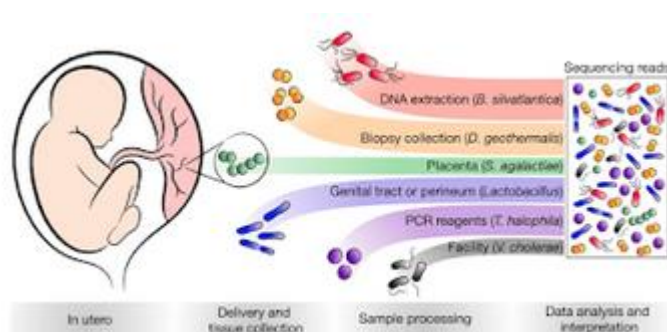


Figura 1. Composição e diversidade da microbiota intestinal. (Adaptado de: Goffau, et al., 2019).

Apesar do útero, placenta e o feto estarem envolvidos num ambiente estéril não significa que não possam conter DNA bacteriano. A noção de esterilidade não fica comprometida com a entrada esporádica de uma ou outra bactéria viva. Pelo contrário, em indivíduos saudáveis essa bactéria é facilmente eliminada por células fagocíticas. Alguns estudos revelam, também, a presença de bactérias no líquido amniótico. No entanto são numa quantidade e diversidade tão pequena que o seu poder de colonização intestinal é baixo (Dominguez-Bello *et al.*, 2016).

Durante a gravidez o líquido amniótico envolve o feto e vai sendo continuamente engolido. A avaliação da composição da microbiota do primeiro mecónio de vários bebés revelou a presença de espécies pertencentes aos géneros *Bifidobacterium*, *Bacteroides*, *Enterobacteriales* (família Enterobacteriaceae) e *Enterococcus* (família Enterococcaceae) em pequenas quantidades permitindo concluir-se que o mecónio possui uma microbiota semelhante à da placenta (Milani *et al.*, 2017; Perez-Muñoz *et al.*, 2017).

Existe uma baixa quantidade de *Lactobacillus* em bebés nascidos por cesariana o que comprova que a principal fonte de transmissão de *Lactobacillus* é a microbiota materna quer vaginal quer intestinal durante o parto natural (Milani *et al.*, (2017).

Devido a questões técnica e éticas torna-se difícil obter amostras representativas de placentas em gravidezes saudáveis, no entanto existem cada vez mais investigações sobre a presença de bactérias em placentas (Milani *et al.*, (2017).

O parto e o nascimento são o principal meio de transferência da microbiota materna e constituem a primeira grande exposição a uma vasta comunidade de microrganismos (Vemuri *et al.*, 2018).

O tipo de parto, natural ou cesariana, influenciam a natureza e a extensão da colonização no recém-nascido. Em partos por cesariana, os recém-nascidos não são expostos diretamente à microbiota vaginal e intestinal da mãe, pelo que a sua microbiota é principalmente colonizada por microrganismos presentes na pele. No caso de partos normais, o facto da vagina estar adjacente ao ânus faz com que a transmissão da microbiota materna seja mais eficiente. Neste tipo de parto o bebé nasce com a pele e a boca cobertas por microrganismos maternos, alguns dos quais são engolidos e dá-se ainda o contacto com a microbiota da pele materna (Arrieta *et al.*, 2014; Rodríguez *et al.*, 2015).

Durante o parto, com a saída do rolhão mucoso e com a rutura das membranas, o bebé fica exposto a microrganismos vaginais e intestinais, motivo pelo qual o trabalho de parto longo constitui um risco de infeção (Cresci e Bawden, 2015).

O intestino do recém-nascido é um ambiente aeróbio onde só bactérias da família Enterobacteriaceae crescem. À medida que o lúmen se vai tornando anaeróbio dá-se a colonização por géneros como *Bifidobacterium*, *Clostridium* e *Bacteroides* em maior quantidade do que aquela presente no primeiro mecónico (Arrieta *et al.*, 2014).

Embora haja uma grande diferença no tipo de microbiota e nas quantidades de microrganismos transmitidos nos dois tipos de parto, as implicações a longo prazo são ainda desconhecidas (Schnorr *et al.*, 2016).

Durante as primeiras semanas de vida do recém-nascido, a microbiota é muito semelhante à microbiota da pele e vaginal da mãe, sendo as *Bifidobacterium* as mais predominantes. Ao longo dos primeiros meses o bebê é alimentado exclusivamente de leite o que favorece o crescimento das *Bifidobacterium*. Cada mãe alberga no seu leite materno um microbioma único permitindo concluir que há uma transmissão microbiana de mãe para filho individualizada com oligossacarídeos presentes (HMOs) que promovem a proliferação da microbiota do bebê e tendem a uniformizar a população de microrganismos intestinais, estando em maior quantidade as *Bifidobacterium* e os *Lactobacillus* (Arrieta *et al.*, 2014;). Em contraste com os leites de fórmula que podem alterar consideravelmente a microbiota intestinal do bebê. O impacto que esse tipo de alimentação tem na fisiologia e em futuras doenças ainda não está bem claro (Kundu *et al.* 2017).

Toda a microbiota intestinal que o bebê já possui, vai amadurecendo e evoluindo gradualmente, adquirindo uma maior complexidade com a retirada do leite materno e introdução de alimentos sólidos, à medida que se dá o desenvolvimento do sistema imunológico podendo influenciar vários órgãos e sistemas. (Kundu *et al.*, 2017; Rodríguez *et al.*, 2015).

Ao ser introduzido uma maior variedade de nutrientes, entre os quais polissacarídeos não digeríveis há uma diminuição significativa das *Bifidobacterium* desencadeando um aumento de *Bacteroides*, *Clostridium* e *Ruminococcus*. Até aos 5 anos de idade a microbiota evolui e diversifica-se tornando-se semelhante à de um adulto, abundante em *Ruminococcaceae*, *Lachnospiraceae*, *Bacteroidaceae* e *Prevotellaceae* embora em menor quantidade (Arrieta *et al.*, 2014; Toor *et al.*, 2019).

Entre os dois e os cinco anos de vida, os bebês possuem uma microbiota intestinal perfeitamente distinta, assemelhando-se à de um adulto no que diz respeito à composição, diversidade e complexidade (Rodríguez *et al.*, 2015).

Como foi referido anteriormente existem outros fatores que podem influenciar o desenvolvimento da microbiota. O uso de antibióticos em bebês revela uma menor quantidade de Enterococos na sua microbiota (Rinniella *et al.*, 2019; Arrieta *et al.*, 2014).

Na pré-adolescência, até por volta dos 12 anos a microbiota intestinal é enriquecida em várias espécies pertencentes aos gêneros *Anaerovorax*, *Bifidobacterium* e *Faecalibacterium*. Nos adultos, e em indivíduos saudáveis, a microbiota é predominantemente composta pelos filos Bacteroidetes e Firmicutes. (Rinniella *et al.*, 2019).

O filo das Bacteroidetes caracteriza-se pela presença de bactérias Gram-negativas, anaeróbias e possuem uma fina parede de peptidoglicano entre a membrana interna e externa. A presença dessa camada externa confere-lhe alguma resistência a uma variedade de antibióticos. O filo dos Firmicutes define-se como sendo bactérias Gram-positivas mais suscetíveis a vários antibióticos relativamente ao filo das Bacteroidetes (Lakes, 2020).

Com o avançar da idade e consequente regressão nas funções biológicas, as alterações na composição da microbiota intestinal estão associadas a condições crónicas e/ou doenças inflamatórias. A redução da capacidade de mastigação associada à perda da dentição e a uma menor função salivar faz com que ocorra uma disbiose significativa na microbiota intestinal. Por sua vez, com o envelhecimento, a motilidade da orofaringe e do esófago vai diminuindo o que leva a uma diminuição de pressão no esfíncter esofágico resultando em refluxo gastroesofágico. O excesso de ácido leva a uma alteração na microbiota intestinal havendo uma diminuição dos filos de Bacteroidetes e Firmicutes e dos géneros de *Lactobacillus*, *Streptococcus* e *Staphylococcus* nos idosos aumentando os géneros *Ruminococcus*, *Enterococcus* e *Atopobium* como é possível verificar na figura 2. (Rinniella *et al.*, 2019; Toor *et al.*, 2019).



Figura 2- Exemplos da composição taxonômica da microbiota intestinal (Adaptado de: Rinniella *et al.*, 2019).

### 3.2. Função da microbiota intestinal

A microbiota intestinal desempenha várias funções essenciais como proteção, estrutural e metabólicas na saúde do hospedeiro. A principal função da microbiota é inibir a colonização e o crescimento de agentes patogênicos através da capacidade que possuem em competir pelos mesmos nutrientes privando-os de nutrientes essenciais à sua proliferação e sobrevivência. Para além disso produzem peptídeos antimicrobianos que têm a capacidade de atingir os agentes patogênicos sem colocar em risco as bactérias benéficas ao organismo. Esses peptídeos antimicrobianos limitam a inflamação e mantêm a homeostase intestinal (Toor, D. *et al.*, 2019; Reddel *et al.*, 2019).

A homeostase intestinal resulta da simbiose da microbiota intestinal com o tecido linfoide. Os macrófagos e as células M das placas de Peyer estão envolvidas no patrulhamento de agentes invasores no intestino evitando que este se torne permeável e desencadeie uma resposta inflamatória. Também as bactérias Gram-negativas presentes na microbiota libertam lipopolissacarídeos presentes na sua camada de peptidoglicano para a manutenção da homeostase intestinal (Toor, D. *et al.*, 2019).

O desenvolvimento do sistema imunitário da mucosa e o desenvolvimento dos tecidos linfoides do intestino também são uma das funções da microbiota intestinal. Na presença de agentes estranhos ou invasores no intestino, os microrganismos presentes na microbiota produzem anticorpos IgA que são reconhecidas por células hematopoiéticas e não hematopoiéticas do sistema imunitário desencadeando respostas fisiológicas. Uma elevada resposta de IgA pode desempenhar um papel importante no aumento da resposta do hospedeiro a organismos invasores. (Toor, D. *et al.*, 2019).

A manutenção da barreira das células epiteliais intestinais é outra função da microbiota intestinal. Entre o epitélio intestinal e a microbiota existe uma camada de muco.

A figura 3 ilustra que os colonócitos são a principal barreira física e que estão ligados entre si por junções de oclusão. As células caliciformes produzem mucinas que formam uma camada de muco. O muco consiste num gel hidratado altamente glicosilado formado que serve como barreira química entre a microbiota e o epitélio intestinal. A microbiota modula ainda o número e a função das células caliciformes, portanto torna-se importante que haja uma simbiose entre o epitélio intestinal e a microbiota para a manutenção da homeostase intestinal (Kim e Khan, 2013).

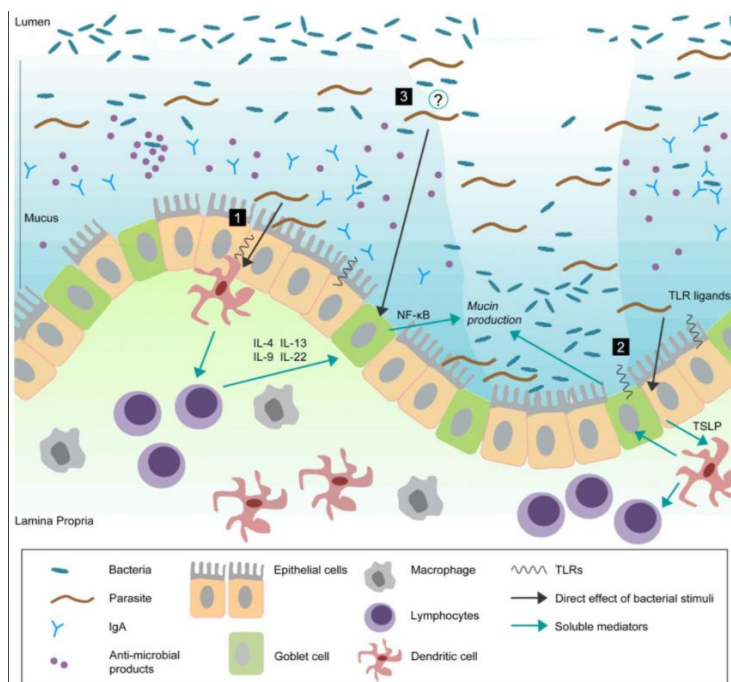


Figura 3. Células caliciformes a produzir mucina para manutenção do muco intestinal (Adaptado de: Kim e Khan, 2013).

A microbiota intestinal participa também na fermentação de macronutrientes não digeríveis. As Bacteroidetes são essenciais neste processo porque produzem SCFAs (Short-chain fatty acids) que ajudam nessa fermentação. Os SCFAs mais abundantes no intestino são o butirato, propionato e o acetato. O butirato é o ácido gordo de cadeia curta mais abundante no intestino e é a principal fonte de energia das células do colón, regula a proliferação e diferenciação celular funcionando como anticancerígeno e participa na homeostase celular tendo um papel importante como anti-inflamatório inibindo a as citocinas; antioxidante porque mantém o equilíbrio de oxigénio no intestino e aumenta a função de barreira do epitélio intestinal uma vez que regula a passagem de proteínas pelas junções de oclusão. O propionato é transferido para o fígado onde participa no processo de glicogénese regulando a saciedade por interação com os ácidos gordos presentes no intestino. O acetato controla o crescimento de bactérias não essenciais ao nosso intestino (Pizzorno *et al.*, 2016; Valdes *et al.*, 2018; Knudsen *et al.*, 2018).

A microbiota humana é capaz de produzir vitaminas essenciais ao seu hospedeiro. As *Bacteroides* e *Prevotella* presentes no lúmen intestinal sintetizam vitamina K, vitamina B12, biotina, folato, tiamina, riboflavina e piridoxina (Sánchez-Tapia *et al.*, 2019).

Mais recentemente a microbiota intestinal foi considerada como um órgão, uma vez que tem capacidade metabólica para regular vários compostos que atingem a circulação sanguínea, influenciando a função de outros órgãos. Essa capacidade metabólica é benéfica ao hospedeiro porque envolve o metabolismo dos hidratos de carbono e a biossíntese de vitaminas (Reddel *et al.*, 2019).

### 3.3. Mucosa Intestinal

O intestino é protegido por muco. A camada de muco que reveste o epitélio constitui uma linha de defesa do hospedeiro estabelecendo uma barreira física contra alimentos ingeridos ou potenciais invasores no lúmen intestinal e protegendo o epitélio do contacto direto com a microbiota (Zeng *et al.*, 2017).

A figura 4 evidencia que no intestino delgado existe uma única camada de muco que é penetrável, no entanto as bactérias são afastadas do epitélio por mediadores antibacterianos. No intestino grosso, o muco forma uma dupla camada podendo-se distinguir a camada interna e a camada externa. A camada interna está firmemente ligada ao epitélio e é impenetrável às bactérias enquanto que a camada externa do muco é expandida e é onde ocorre a colonização das bactérias benéficas (Johansson e Hansson, 2016).

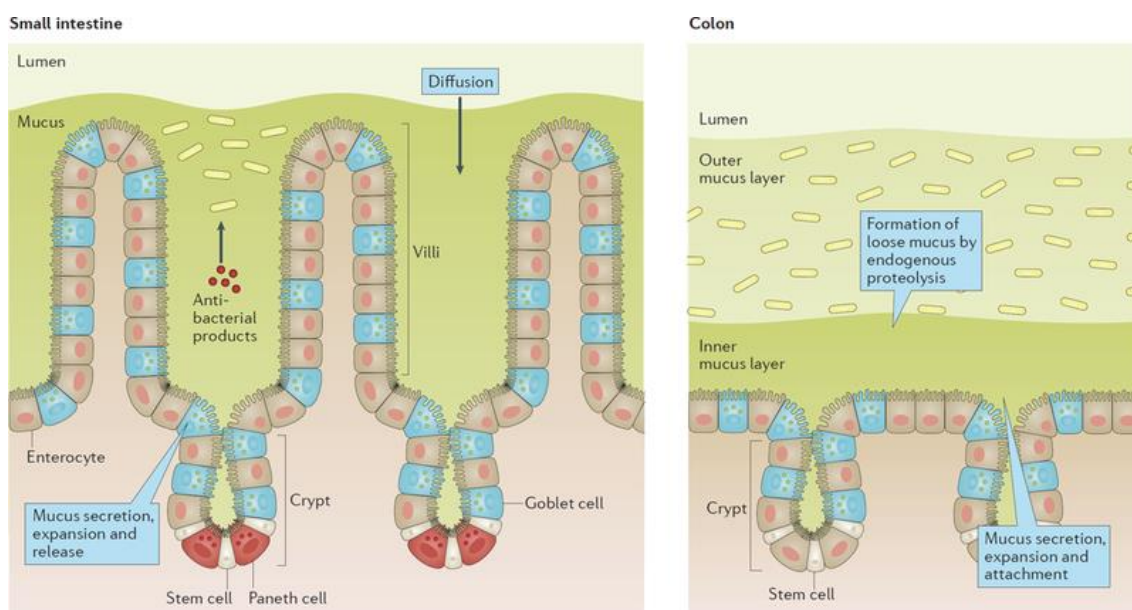


Figura 4. Visão geral da proteção do muco no intestino delgado e no intestino grosso (Adaptado de: Johansson e Hansson, 2016).

Os principais constituintes do muco intestinal são as mucinas. As mucinas são glicoproteínas que podem ser distinguidas em dois tipos principais segundo a sua função: mucinas transmembrana que são produzidas nos enterócitos e as mucinas formadoras de gel produzidas nas células caliciformes (Johansson *et al.*, 2013).

Os enterócitos são o principal tipo de célula do epitélio intestinal e produzem as mucinas transmembrana que ficam ancoradas na membrana celular no lado apical das células epiteliais e atuam como uma barreira de difusão no trato gastrointestinal garantindo estabilidade à membrana celular e impedindo a passagem de moléculas de grande tamanho. Para além disso as mucinas transmembrana estão envolvidas na deteção e sinalização da superfície apical da célula (Johansson *et al.*, 2013).

As células caliciformes são abundantes no cólon principalmente nas criptas superiores, onde têm grandes grânulos cheios de mucinas, embora também estejam presentes em menor número na superfície plana do cólon. As mucinas formadoras de gel são segregadas pelas células caliciformes e constituem o esqueleto da camada de muco. Este grupo de mucinas formam grandes polímeros tendo um papel fundamental na proteção do trato gastrointestinal. A principal mucina formadora de gel é a MUC2 e é resistente às proteases endógenas e às enzimas digestivas. A MUC2 resulta da junção de moléculas grandes, multiméricas, semelhantes a uma rede e insolúvel. A principal função deste tipo de mucinas é contruir o muco que, juntamente com outros componentes protegem e lubrificam o trato gastrointestinal (Johansson e Hansson, 2016; Zeng *et al.*, 2017).

Na figura 5 está representada uma camada de muco do intestino grosso em que as células caliciformes são as produtoras da camada de muco externo, sendo a MUC 2 a principal mucina constituinte dessa camada e as mucinas transmembrana segregadas pelas células epiteliais (Grondin *et al.*, 2020).

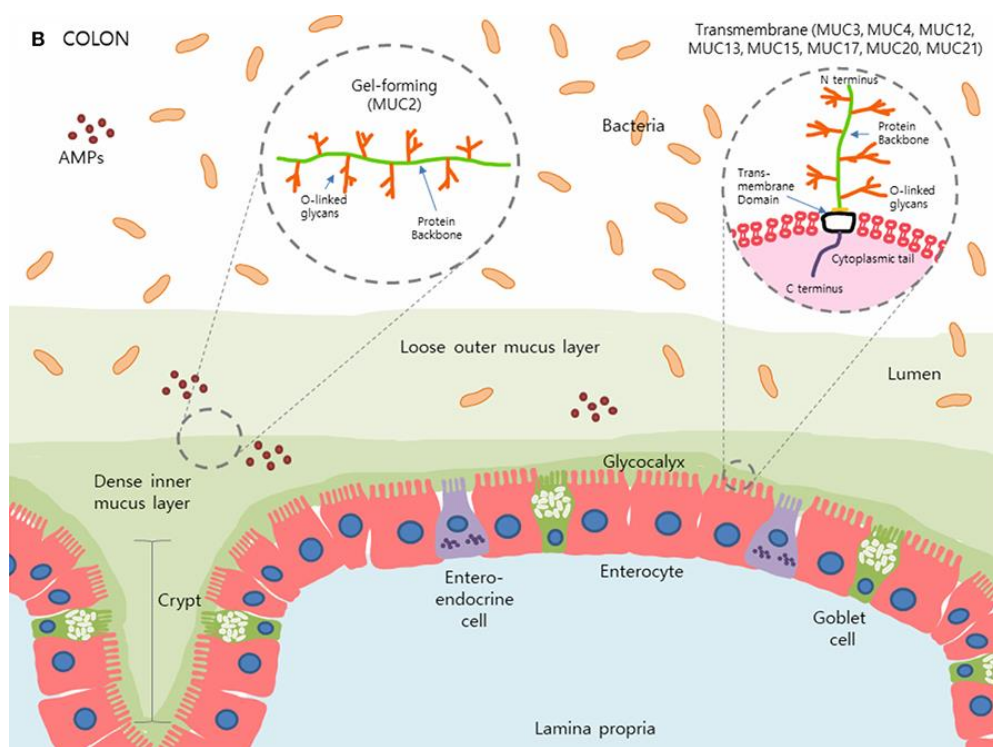


Figura 5. Camada de muco no cólon (Adaptado de: Grondin *et al.*, 2020).

Após a produção das mucinas estas ficam agarradas ao epitélio ao invés de serem libertadas no lúmen. Embora o muco seja uma estrutura densa e bem compactada, no intestino delgado, as mucinas sofrem clivagem tornando-o relativamente poroso. Este processo torna-se fundamental para que haja uma absorção nutricional eficiente. No entanto esses poros podem permitir a passagem de bactérias patogênicas. Para que as bactérias não cheguem às células epiteliais, as células de Paneth produzem agentes antibacterianos que são lançados no muco. No intestino grosso o muco, denso e compactado, está perfeitamente ligado ao epitélio impedindo a penetração bacteriana. No entanto o material fecal permanece no lúmen por longos períodos podendo expor o epitélio. Para que se mantenha a homeostase seja mantida é necessário que o muco seja constantemente renovado (Johansson e Hansson, 2016).

O muco, para além das mucinas, contém Imunoglobulina A (IgA) que estão presentes em maior quantidade no muco do duodeno e íleo e em menor quantidade no cólon. A agregação da IgA com os agentes patogênicos leva a uma difusão mais lenta e a uma redução bacteriana no muco. A menor quantidade de IgA no cólon é justificada pela presença de uma camada de muco perfeitamente capaz de separar o epitélio dos agentes patogênicos (Johansson e Hansson, 2016).

Como já foi referido anteriormente a microbiota no intestino delgado é menos diversa e estável que no intestino grosso e no primeiro caso as bactérias encontram-se misturadas com o muco, uma vez que esse muco é poroso e penetrável. Este tipo de muco é importante para a homeostase no intestino delgado, uma vez que, a qualidade do muco está diretamente relacionada com a composição da microbiota já que as bactérias se alimentam dos polissacarídeos alimentares não digeridos presentes no muco (Johansson e Hansson, 2016).

### **3.4. Manutenção da homeostase imunológica**

A homeostase imunológica implica que haja uma interação entre a microbiota intestinal e o hospedeiro bastante equilibrada, simbiótica e benéfica para os dois. Para que tal aconteça, é necessário que a microbiota intestinal seja resistente e resiliente a microrganismos patogénicos e forme uma barreira funcional com uma resposta imune algo tolerante (Wang e Roy, 2017).

O epitélio está constantemente exposto a microrganismos e para que consiga distinguir quais os patogénicos e os benéficos para o hospedeiro está munido com um sistema linfóide periférico (Gut-associated lymphoid tissue - GALT). O GALT é composto por um local efetor e um local indutor (Ohno, 2016).

Na figura 6 é perceptível os dois locais do GALT acima referidos. O local efetor é composto por células imunes inatas como os linfócitos T e B e macrófagos que são células imunológicas que já estiveram em contacto com os antígenos anteriormente. No local indutor podem ser encontradas as células M e as placas de Peyer. As células M como não possuem microvilosidades têm maior capacidade de identificar os antígenos produzidos pelos agentes patogénicos e encaminham-nos para as placas de Peyer onde são capturados pelas células dendríticas. Estas apresentam o antígeno patogénico aos linfócitos T e B induzindo a produção de IgA resultando numa resposta do sistema imunitário (Solé *et al.*, 2018).

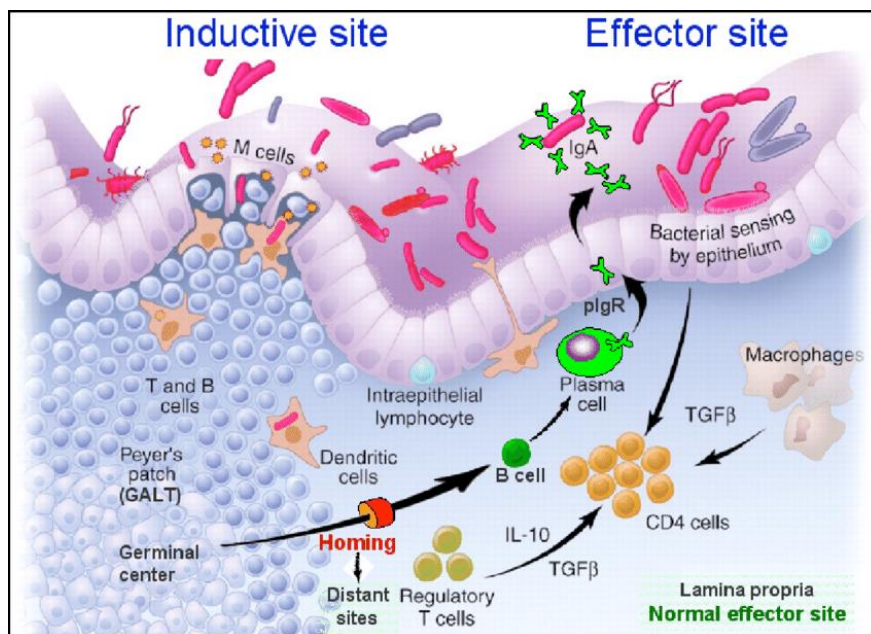


Figura 6. GALT (Adaptado de: Brandtzaeg, 2006).

A microbiota também participa no processo de homeostase quer imunológico quer energético. As bactérias benéficas para o hospedeiro possuem proteínas na sua superfície semelhantes às do hospedeiro o que lhes confere uma vantagem para a sua sobrevivência perto dos enterócitos. Essas mesmas bactérias ajudam e participam na digestão de alimentos que não foram digeridos resultando em SCFAs. Os SCFAs além de terem a capacidade de inibir o crescimento de bactérias patogênicas são uma fonte de energia para o epitélio intestinal (O'Hara e Shanahan, 2006; Toor *et al.*, 2019).

Outra forma de manutenção da homeostase imunológica está relacionada com a capacidade que a microbiota intestinal tem para modular as respostas imunes intestinais. As bactérias benéficas ao hospedeiro conseguem atuar nas células epiteliais, células dendríticas e nos linfócitos T limitando a inflamação e a doença. Recentemente foi demonstrado que pacientes com doença de Chron apresentam uma redução de uma bactéria intestinal quando comparados a indivíduos saudáveis. Essa bactéria, quando administrada por via oral em animais experimentais conseguir apresentar uma redução das respostas inflamatórias, o que sugere que a própria microbiota comunica com o sistema imunológico regulando as respostas imunológicas (Round e Mazmanian, 2014).

As bactérias benéficas são alvo dos bacteriófagos. Ao invadir a bactéria benéfica, o DNA (ácido desoxirribonucleico) do bacteriófago vai ser incorporado no DNA da bactéria o

que lhes confere vantagens relativamente às bactérias patogênicas. Para além disso, as bactérias benéficas produzem peptídeos antimicrobianos chamados de bacteriocinas que têm potencial para atingir agentes patogênicos sem afetar as outras bacterianas simbióticas (Toor *et al.*, 2019).

Outra forma de manutenção da homeostase intestinal é a capacidade que as bactérias benéficas têm de competir com os agentes patogênicos por nutrientes. Essa competição faz com que os agentes patogênicos fiquem privados de nutrientes essenciais para a sua sobrevivência (Round e Mazmanian, 2014).

### **3.5. Fatores que influenciam o estabelecimento da microbiota intestinal**

A microbiota intestinal é influenciada por vários fatores como o tipo de parto, alimentação, envelhecimento, dieta, fatores ambientais, geografia, uso de antibióticos e stress (Cresci e Bawden, 2015; Capuco *et al.*, 2020).

#### **i. Fatores genéticos**

Os sistemas reprodutivos e todos os locais do corpo humano que estão relacionados com a reprodução possuem microbiota fisiológica. O ovário, o oócito, as trompas de Falópio, colo do útero, vagina, testículos, sêmen, placenta e cordão umbilical formam todos o seu próprio biofilme fornecendo "insights" nos embriões ou fetos. Infecções intrauterinas ou procedimentos invasivos como a amniocentese são opções de colonização da cavidade uterina durante a gravidez. Nos casos de gravidezes saudáveis essa colonização pode acontecer por ascensão vertical da vagina ou do trato urinário (Milani *et al.*, 2017).

Muitas são as mudanças, anatômicas e fisiológicas, que acontecem durante a gravidez para que o desenvolvimento do feto e o nascimento ocorram da melhor forma. Essas mudanças não ocorrem apenas no sistema reprodutivo, mas também no sistema cardiovascular, respiratório, urinário e digestivo. Acredita-se que todas estas mudanças favoreçam a deslocação de algumas bactérias podendo modular a microbiota fetal (Milani *et al.*, 2017). A figura 7 realça as localizações do microbioma materno e as rotas possíveis que estão

relacionadas com a transmissão vertical da microbiota materna para o bebê (Milani *et al.*, 2017).

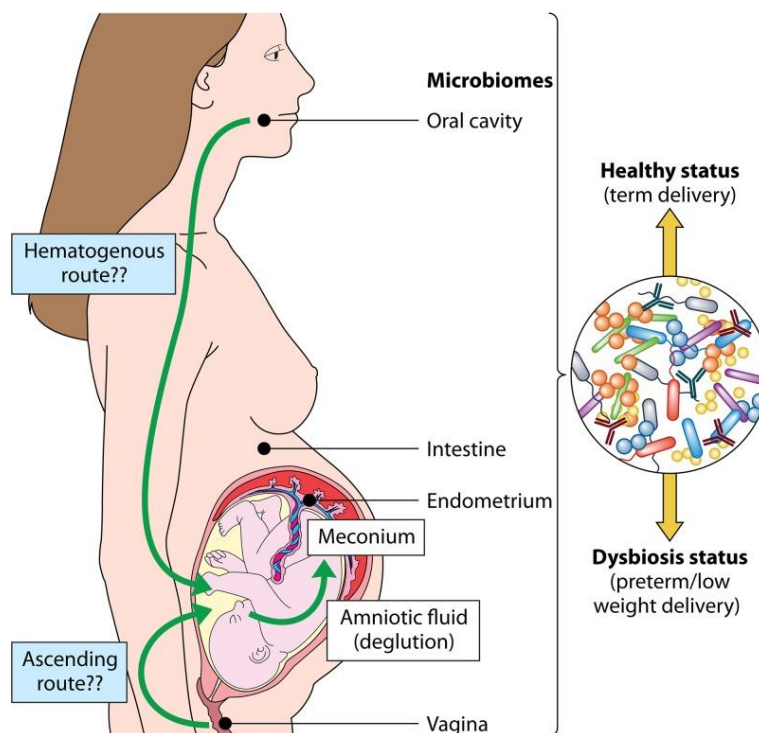


Figura 7. Possíveis rotas de colonização do microbioma materno para o bebê (Adaptado de: Milani *et al.*, 2017).

## ii. Estilo de vida

O estilo de vida é outro grande fator que influencia a microbiota intestinal, como mostra a figura 5. O estilo de vida pode estar relacionado com o stress ou com a prática de exercício físico (Cresci e Bawden, 2015).

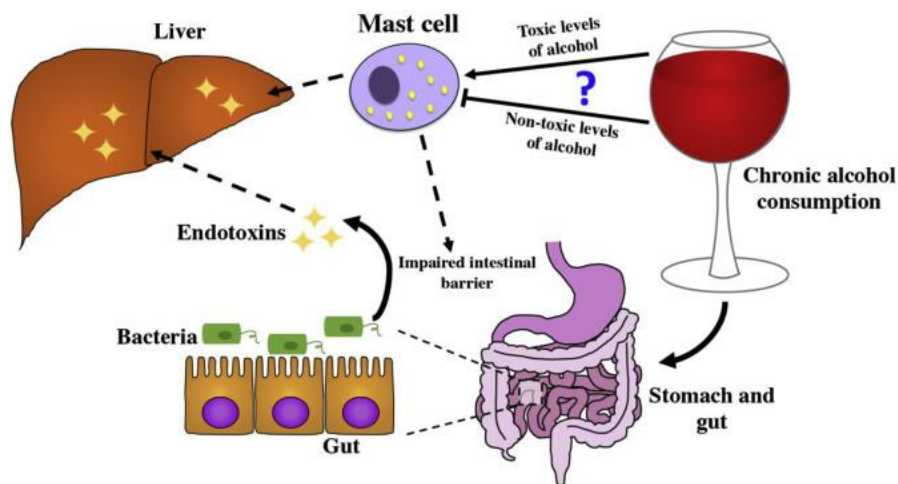


Figura 8. Influência do estilo de vida na microbiota intestinal (Adaptado de: Tolefree *et al.*, 2019).

O stress é a resposta do nosso organismo às pressões ambientais. Pode ser agudo, crônico, leve ou grave e as consequências que causam variam de pessoa para pessoa. A microbiota intestinal é sensível ao stress. As bactérias presentes no intestino respondem à libertação de mediadores neuroquímicos, influenciando numa resposta a um agente invasor (Cresci e Bawden, 2015).

A interação entre fatores psicológicos e a fisiologia intestinal, onde as alterações psicológicas e do intestino influenciam a resposta um do outro, sugere que os fatores que desencadeiam o stress sejam responsáveis por alguns estados de disbiose. Por outro lado, esse estado de disbiose pode causar ansiedade e depressão comprovando que as respostas produzidas pela microbiota intestinal podem modular o comportamento cerebral.

Outra consequência que o stress pode provocar na microbiota são alterações morfológicas como o aumento das células caliciformes e consequente aumento de produção de muco levando a uma camada mucosa mais fina (Cresci e Bawden, 2015).

O exercício físico tem um efeito anti-inflamatório diminuindo a quantidade de citocinas.

### iii. Dieta

A dieta é um dos grandes influenciadores da diversidade da microbiota intestinal e a localização geográfica, assim como os hábitos culturais estão intimamente relacionados

como revela a imagem 9. A localização geográfica influencia a microbiota intestinal e pode resultar numa alteração quer da variedade como da quantidade de espécies que a constituem. As diferentes etnias têm origens genéticas, dietas e culturas diferentes e são notórias as diferenças na comunidade microbiana intestinal das populações que vivem em regiões em desenvolvimentos daquelas que vivem repletas de recursos e com acesso a melhor saneamento (Arrieta *et al.*, 2014).

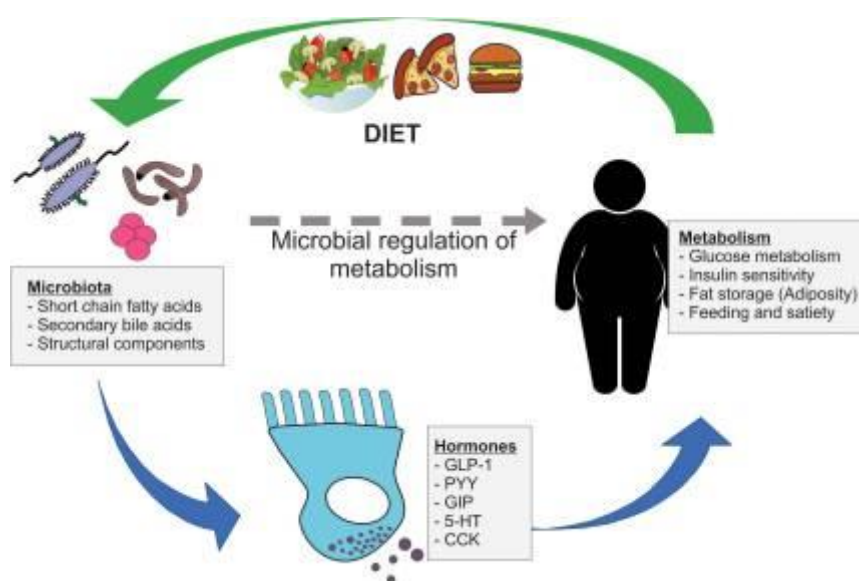


Figura 9. Influência da dieta na microbiota intestinal (adaptado de: Martin, A. M. *et al.* (2019).

Num estudo comparativo de microbiotas intestinais de crianças africanas com crianças europeias percebeu-se que as africanas possuem maior quantidade de Bacteroidetes e menor quantidade de Firmicutes e no caso das crianças europeias a quantidade de Firmicutes era maior, permitindo concluir-se que a prevalência de Firmicutes pode estar associado a climas mais frios por haver necessidade de um aumento da percentagem da gordura corporal. Acredita-se que a geografia tenha impacto sobre a microbiota principalmente pelo estilo de vida e pela dieta regional (Schnorr *et al.*, 2016).

Notavelmente, as crianças africanas tinham níveis mais elevados de SCFAs do que as crianças europeias permitindo concluir que a microbiota das crianças africanas evoluiu no sentido de ajudar na produção de energia aumentando os níveis de SCFAs.

Uma microbiota diversificada está relacionada com uma dieta variada e complexa. Indivíduos cuja dieta é caracterizada por um estilo de vida tradicional, proveniente da agricultura e com um maior consumo de fibras, frutas e vegetais têm uma maior quantidade e diversidade de espécies bacterianas. Ao contrário da dieta ocidental associada ao consumo de açúcares, gorduras e alimentos processados é caracterizada por uma quantidade e diversidade reduzidas (Schnorr *et al.*, 2016; Cresci *et al.*, 2015).

#### iv. Idade

O envelhecimento humano está associado a diminuições graduais nas funções de quase todos os órgãos. A figura 10 exhibe que com o avançar da idade existem mudanças e alterações da microbiota intestinal quanto à composição e diversidade das comunidades que lá vivem. Essas mudanças e alterações podem ser explicadas pela forma como ingerimos os nutrientes. A idade mais avançada está muitas vezes associada à deterioração da dentição, função salivar, digestão e tempo de trânsito intestinal. Mudanças sensoriais como cheiro, sabor podem alterar o apetite levando a alteração de hábitos alimentares (Buford, 2017).

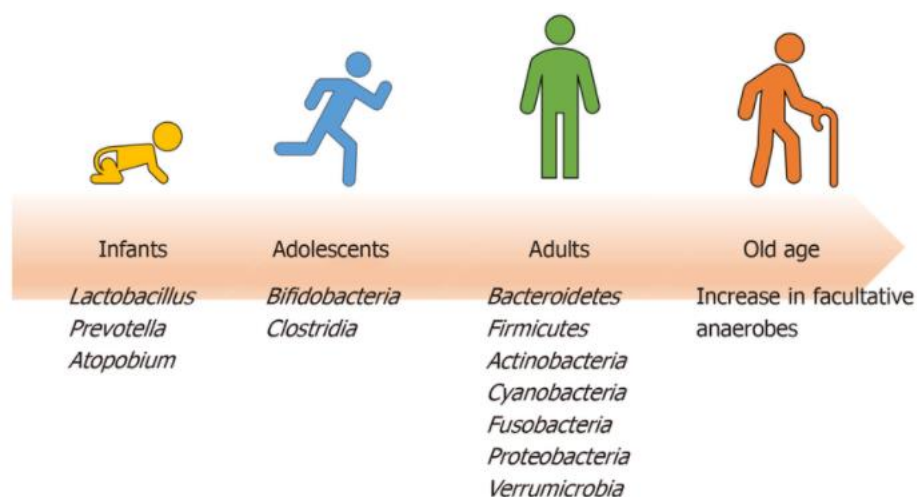


Figura 10. Relação idade e microbiota intestinal (Adaptado de: Novakovic *et al.*, 2020).

Ao longo dos anos existem também mudanças físicas na barreira epitelial intestinal fazendo com que esta se torne mais permeável. À medida que a idade aumenta, a

abastança da microbiota diminui e surgem microrganismos não saudáveis. Os Firmicutes, que são benéficos e estão em grande quantidade durante a vida diminuem, e aumenta a quantidade de Proteobacteria que é um filo que contem bactérias oportunistas como a *Escherichia coli*, *Legionella* e a *Salmonella*. A barreira intestinal permeável não impede que as substâncias nocivas cheguem à corrente sanguínea contribuindo para uma condição inflamatória (Kim e Jazwinski, 2018).

#### v. Antibioterapia

Os antibióticos têm como alvo as bactérias. Como grande parte das terapias habituais com antibióticos são de largo espectro o alvo podem ser tanto as bactérias patogênicas como também todas as comunidades de bactérias benéficas ao hospedeiro. Assim, como demonstra a imagem 8, embora os antibióticos sejam administrados para o combate de infecções por bactérias invasoras, a microbiota intestinal também é afetada deixando sequelas durante bastante tempo (Cresci et al., 2015).

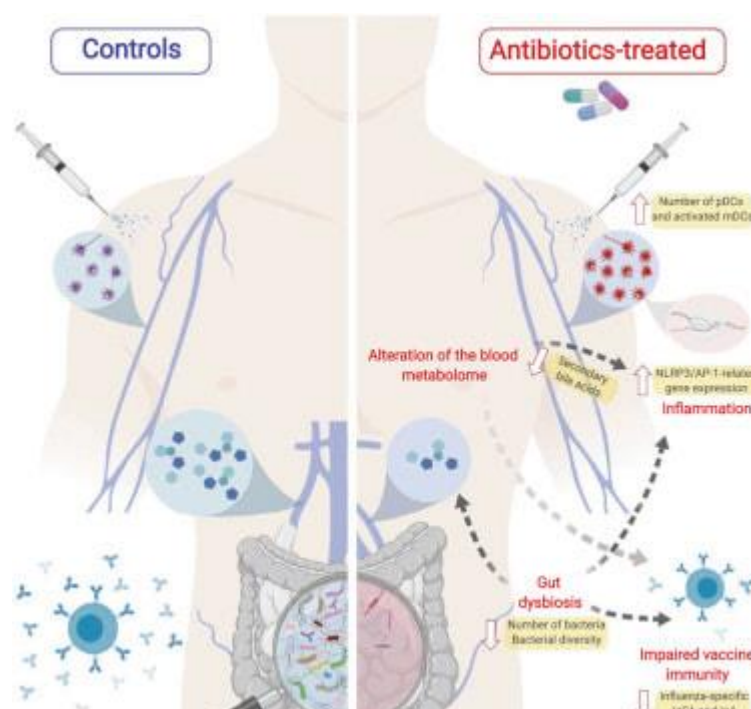


Figura 11. Influência dos antibióticos na microbiota intestinal (Adaptado de: Dudek et al., 2018).

Outra consequência da toma de antibióticos é a resistência das bactérias. Depois da toma do antibiótico a maior parte da microbiota recupera para níveis normais antes do tratamento, mas há estirpes que poderão ser perdidas. Como há uma dependência de uns microrganismos para a colonização de outros pode levar a uma alteração na microbiota intestinal. O espectro de ação e a dosagem administrada podem ser influência na alteração da microbiota (Cresci *et al.*, 2015).

O uso de antibióticos no início da vida pode ter um impacto significativo no desenvolvimento e crescimento das bactérias necessárias para uma microbiota saudável. Frequentemente são prescritos antibióticos para proteger a criança de determinadas patologias, no entanto, estes podem ser um dos grandes causadores de disbiose microbiana podendo resultar na suscetibilidade a determinadas doenças na vida adulta. Embora a microbiota intestinal seja bastante resistente a fatores que a perturbem, a exposição prematura aos antibióticos ou por um longo período de tempo pode destabilizá-la e tornar-se numa oportunidade para que organismos patogénicos invadam o hospedeiro (Arrieta *et al.*, 2014).

## V. Disbiose intestinal

São diversas as funções da microbiota intestinal e é fundamental a manutenção da mesma para a homeostase intestinal e a saúde humana (Zeng *et al.*, 2017; Petersen e Round, 2014).

A disbiose intestinal resulta da alteração da composição das comunidades bacterianas da microbiota intestinal relativamente às comunidades bacterianas encontradas em indivíduos saudáveis. Essas alterações ou mudanças nessas comunidades bacterianas são fatores contributivos para o início ou persistência de novas doenças (Zeng *et al.*, 2017).

Como foi referido no capítulo anterior, são vários os fatores influenciadores do desequilíbrio da comunidade bacteriana intestinal nomeadamente a genética, o estilo de vida, a idade, a dieta e o uso de antibióticos. Todos estes fatores desencadeiam estados de disbiose intestinal em que há perda permanente de algumas bactérias, enquanto outras crescem e vão persistindo. O estado de disbiose pode ser classificado em três tipos diferentes: perda de microrganismos benéficos, expansão de microrganismos patogénicos prejudiciais e perda da diversidade microbiana em geral (Zeng *et al.*, 2017).

A figura 12 representa a diferença entre o estado de homeostase e os diferentes tipos de estado de disbiose. Estes tipos de disbiose intestinal podem ocorrer individualmente ou simultaneamente. A prevalência de microrganismos patogénicos pode levar à inflamação e ao aparecimento de patologias (Petersen e Round, 2014).

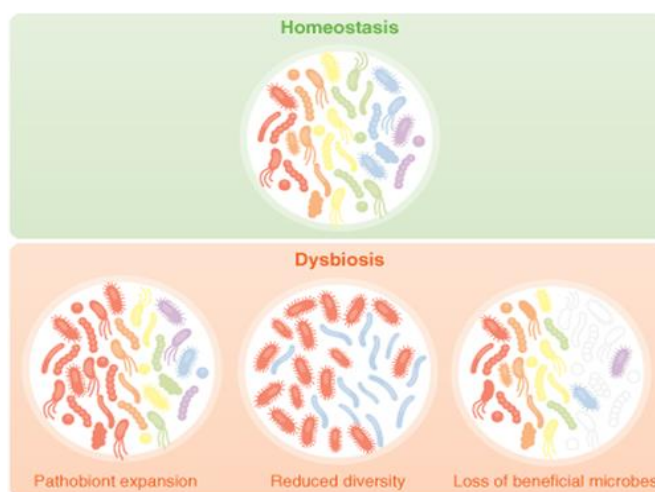


Figura 12. Tipos de disbiose intestinal (Adaptado de: Petersen e Round, 2014).

As respostas inatas à microbiota intestinal educam o sistema imunitário, influenciando nas respostas aos agentes invasores e a exposição desde o nascimento a uma determinada variedade de bactérias fornece ao sistema imunológico uma capacidade de reconhecer bactérias benéficas de forma a que as respostas inflamatórias ocorram apenas aos microrganismos patogênicos (O'Hara e Shanahan, 2006; Sidhu e Poorten, 2017).

A resposta do sistema imunitário deve ser equilibrada para que haja a inflamação necessária para erradicar o agente patogênico, mas que não danifique quer o tecido intestinal, quer as bactérias benéficas. Uma resposta bem tolerada pelo hospedeiro pode acontecer de várias formas. A produção de muco e peptídeos antimicrobianos que criam uma barreira entre o tecido do hospedeiro e os microrganismos patogênicos ou a modificação dos produtos resultantes dos agentes patogênicos diminuindo a sua capacidade de produzir respostas inflamatórias no hospedeiro podem ser uma das respostas do sistema imunitário. Outro tipo de mecanismos de resposta podem ser a produção de anticorpos que se ligam diretamente aos agentes patogênicos influenciando a função da microbiota intestinal e a produção de linfócitos T citotóxicos que induzem a apoptose na célula alvo impedindo a proliferação da infecção (Petersen e Round, 2014).

No entanto, recentemente percebeu-se que a própria microbiota intestinal desenvolveu formas de antagonizar os efeitos da resposta inflamatória, uma vez que algumas bactérias benéficas codificam as citocinas inflamatórias degradando-as. Este processo auxilia diretamente na manutenção da homeostase intestinal (Petersen e Round, 2014).

A tolerância imunológica é desenvolvida pelo sistema imunológico para que a microflora intestinal não patogênica não desencadeie uma resposta imunológica evitando e protegendo a mucosa de uma inflamação desnecessária (Toor *et al.*, 2019).

O muco é uma barreira física bastante eficiente quer para bactérias benéficas como para agentes patogênicos. Por isso torna-se importante e necessária a sua contínua renovação, uma vez que as bactérias patogênicas ao atingirem a superfície epitelial podem fixar-se e permanecer (Johansson e Hansson, 2016).

O processo inflamatório compreende a resposta fisiopatológica à infecção ou dano tecidual e é caracterizado por uma série coordenada de eventos. São vários os fatores que contribuem para o desencadeamento do processo inflamatório como agentes patogênicos, lesão, trauma resultantes de uma má alimentação, uso de antibióticos, excesso de SCFAs e redução da quantidade e diversidade da microbiota intestinal (Zeng *et al.*, 2017).

O início do processo inflamatório acontece quando as células do tecido imunológico detetam a agressão e acionam os neutrófilos e os monócitos potencializando um ambiente inflamatório para conseguirem lidar com o agente agressor. Assim, a resposta inflamatória aguda é demarcada por um aumento do fluxo sanguíneo, dilatação capilar, acúmulo de neutrófilos e produção localizada de mediadores químicos para que o agente agressor seja eliminado ou haja reparação do tecido lesado (Onali *et al.*, 2019).

Inflamações graves podem resultar em danos nos tecidos, ou seja, o sistema imunológico da mucosa é responsável pela indução do processo inflamatório, enquanto que o dano tecidual resulta da continua ativação e acúmulo de células que emitem mediadores químicos, alguns nocivos para o epitélio intestinal. Portanto, é necessário que a inflamação seja rigidamente regulada uma vez que, os processos inflamatórios crônicos podem levar ao aparecimento de novas patologias (Curciarello *et al.*, 2019).

O ambiente inflamatório em volta do tecido é propício a perturbações da microbiota intestinal. A colonização por um agente patogénico pode causar distúrbios na comunidade microbiana. No entanto, estudos mostram que a colonização de um agente patogénico é que causa distúrbios na microbiota intestinal uma vez que ratinhos que foram infetados com agentes patogénicos não desencadearam uma resposta inflamatória acentuada nem causaram alterações na composição da microbiota intestinal (Zeng *et al.*, 2017).

Na figura 13 é perceptível a diferença na microbiota intestinal no processo de homeostase intestinal e no estado de disbiose. A homeostase é mantida pelas bactérias benéficas, barreira funcional e uma resposta imune pouco acentuada. Ao contrário da imagem que representa o estado de disbiose, em que a alteração da microbiota intestinal contribuiu para uma resposta imune desregulada (Wang e Roy, 2017).0

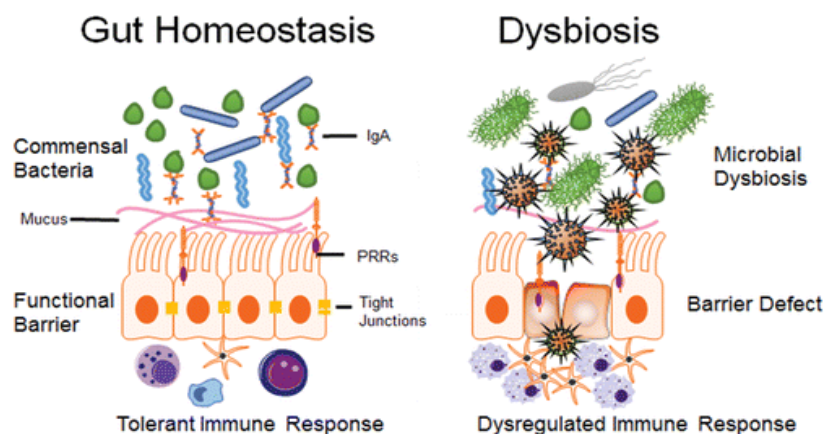


Figura 13. Homeostase intestinal e disbiose (Adaptado de: Wang e Roy, 2017).

Ao existir inflamação persistente nas células do epitélio, estas morrem por hipoxia, resultando num aumento de fosfolípidos das membranas das células epiteliais que podem ser usados pelas bactérias patogênicas para o seu crescimento e colonização por respiração anaeróbia (Zeng *et al.*, 2017).

Embora a maior parte da microbiota seja constituída por bactérias, as leveduras (fungos) podem também piorar o estado inflamatório pelo que o nosso sistema imunológico desenvolveu mecanismos para que as populações de leveduras no intestino estejam devidamente reguladas. O uso de antibióticos atinge as bactérias benéficas e proporciona o crescimento das leveduras, o que leva a um agravamento do estado inflamatório e consequente aparecimento de patologias associadas (Petersen e Round, 2014).

A microbiota contém, também membros capazes de causar danos ao hospedeiro, os patobiontes. Os patobiontes são bactérias que habitualmente não causam danos à saúde, no entanto, em casos de desequilíbrio da microbiota intestinal, têm potencial para induzir processos inflamatórios. Normalmente, em intestinos saudáveis, representam uma pequena percentagem, mas o seu crescimento contribui para o aparecimento de algumas patologias (Petersen e Round, 2014).

Outro motivo pelo qual se desencadeia o processo inflamatório é pela diminuição ou perda da diversidade da microbiota intestinal levando ao aparecimento de doenças. Cada tipo de bactéria presente na microbiota está relacionada com uma contribuição em específico. Enquanto umas induzem respostas inflamatórias, outras interagem com os agentes patogênicos. Assim sendo, torna-se fundamental uma microbiota vasta e diversificada (Petersen e Round, 2014).

#### **4.1. Doenças do sistema gastrointestinal associadas ao estado de disbiose**

A microbiota, o epitélio intestinal e o sistema imunológico da mucosa formam uma barreira bastante eficaz. Uma microbiota intestinal vasta e complexa, como já foi referido, é vital e de grande importância para que haja resistência à colonização. A disbiose torna os mecanismos de defesa desequilibrados agravando as infeções gastrointestinais, favorecendo as deslocções das bactérias ao longo do trato gastrointestinal e desequilibra a defesa imunológica. Portanto, qualquer alteração ou desequilíbrio na microbiota alteram a relação simbiótica que existe levando a um aumento o risco de infeções e aparecimento de novas doenças (Rinniella *et al.*, 2019; Lacob e Lacob, 2019).

##### **4.1.1. Doenças do Sistema Metabólico**

As doenças do sistema metabólico foram, durante vários, associadas à má alimentação e à falta de exercício físico. No entanto, os distúrbios metabólicos podem ser uma consequência da alteração da composição e funcionalidade da microbiota intestinal levando a um aumento da captação de energia dos alimentos e a um aumento da permeabilidade intestinal (Moszak *et al.*, 2020).

Os SCFAs são o resultado da fermentação microbiana e por isso podem influenciar o desenvolvimento de obesidade, resistência à insulina, diabetes tipo II e outros distúrbios lipídicos. Os SCFAs são a fonte de energia dos enterócitos, no entanto, a sua elevada concentração plasmática resulta num aumento dos triglicédeos e consequentemente no armazenamento de gordura (Moszak *et al.*, 2020).

A permeabilidade intestinal, refletida na figura 14, é outro mecanismo que relaciona a microbiota intestinal com os distúrbios metabólicos. Nos indivíduos com em condições fisiológicas normais os enterócitos são mantidos entre si por junções de oclusão e junções comunicantes. No estado de disbiose as junções são destabilizadas permitindo a passagem de agentes patogénicos e substâncias tóxicas para a corrente sanguínea, como mostra a figura 8 (Moszak *et al.*, 2020).

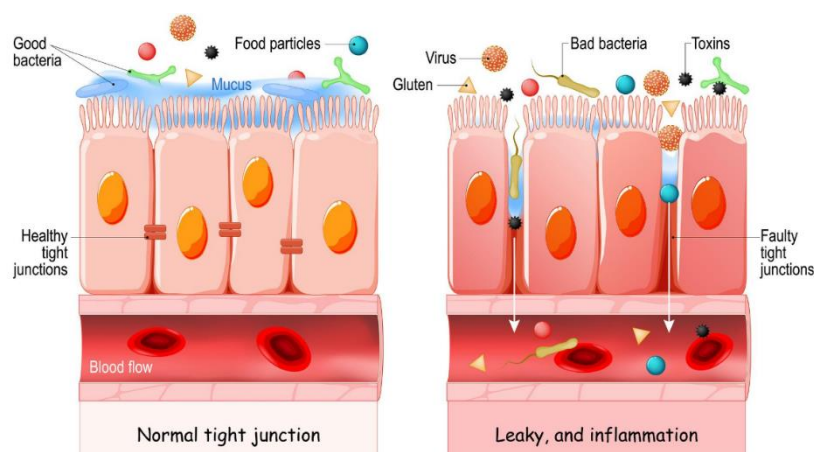


Figura 14. Permeabilidade intestinal (adaptado de <https://www.treatlyme.net/guide/leaky-gut-syndrome-a-video-treatment-guide>)

#### i. Obesidade

A microbiota intestinal constitui um fator relevante na obesidade. A obesidade está relacionada a um estado de inflamação crônica de baixo grau que pode ter origem numa dieta rica em gordura. Com o estado de inflamação crônico instalado há um aumento de citocinas inflamatórias em circulação aumentando a permeabilidade intestinal (Clercq *et al.*, 2016).

Em indivíduos obesos, figura 15, foram observadas comunidades de bactérias aderidas às células epiteliais ao longo de todo o trato gastrointestinal. Em termos quantitativos, o esôfago e o estômago possuem uma menor quantidade de bactérias comparativamente com indivíduos magros e verifica-se, que com o avançar do trato gastrointestinal e com menores concentrações de oxigênio, a prevalência de maiores quantidades de bactérias anaeróbicas. Isto pode ser justificado por uma motilidade intestinal mais lenta que retém o conteúdo fecal por longos períodos de tempo no seu interior (Abenavoli *et al.*, 2019).

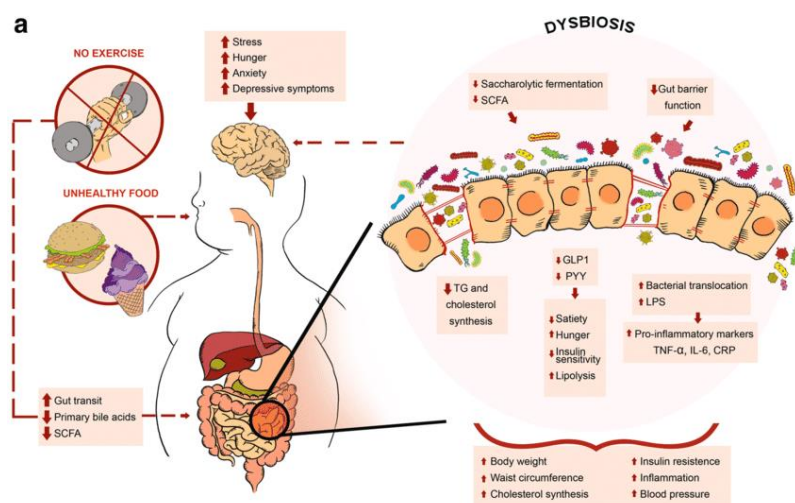


Figura 15. Estado de disbiose na obesidade (Adaptado de: Bianchi *et al.*, 2018).

A pesquisa das comunidades presentes na microbiota intestinal de pessoas obesas, tornou-se noutra evidência para estabelecer uma relação entre obesidade e a microbiota intestinal. Em pessoas obesas, o filo Firmicutes está presente em maior quantidade enquanto que há uma diminuição da concentração de Bacteroidetes comparativamente com indivíduos magros. Em indivíduos obesos e após perda de peso foi perceptível a diminuição da quantidade de Firmicutes e aumento de Bacteroidetes (Abenavoli *et al.*, 2019).

Outra evidência que relaciona também a obesidade com a microbiota intestinal prende-se com a pesquisa realizada em indivíduos obesos que foram submetidos ao bypass gástrico e que comprovou que a microbiota desses indivíduos mudou consideravelmente resultando num aumento da abundância da microbiota intestinal. Isto sugere que o aumento de peso e as alterações metabólicas podem ser causadas por alterações na microbiota intestinal (Clercq *et al.*, 2016).

## ii. Diabetes tipo II

A diabetes tipo II é um distúrbio metabólico que se caracteriza por uma hiperglicemia crónica devido a uma deficiência na secreção de insulina e/ou na ação da insulina. A sua prevalência está a aumentar devido ao aumento de casos de obesidade e à redução da prática de exercício físico (Woldeamlak *et al.*, 2019).

A microbiota intestinal desempenha um papel fundamental em patologias do sistema metabólico nomeadamente a diabetes tipo II. Tal como no caso da obesidade, a diabetes tipo II resulta de uma inflamação crónica leve resultando na passagem de bactérias para a circulação sanguínea (Gomes *et al.*, 2014).

Os produtos resultantes da fermentação da relação entre Firmicutes e Bacteroidetes é importante pois constitui um fator pelo qual as nossas células obtêm energia. Indivíduos com Diabetes tipo II apresentam uma microbiota com baixa quantidade de Firmicutes e Bacteroidetes e aumento de vários agentes patogénicos que produzem toxinas e alteram o metabolismo energético do hospedeiro. Para além disso o acúmulo dessas toxinas ainda acelera mais o estado inflamatório intestinal (Woldeamlak *et al.*, 2019).

A ativação da resposta inflamatória, refletida na figura 16, leva à produção de citocinas que vão inibir a insulina de transmitir de forma adequada o sinal à célula da entrada da glicose, aumentando a glicose do sangue. A insulina produzida torna-se incapaz de regular os níveis de glicose no sangue levando a uma resistência da insulina (Gurung *et al.*, 2020).

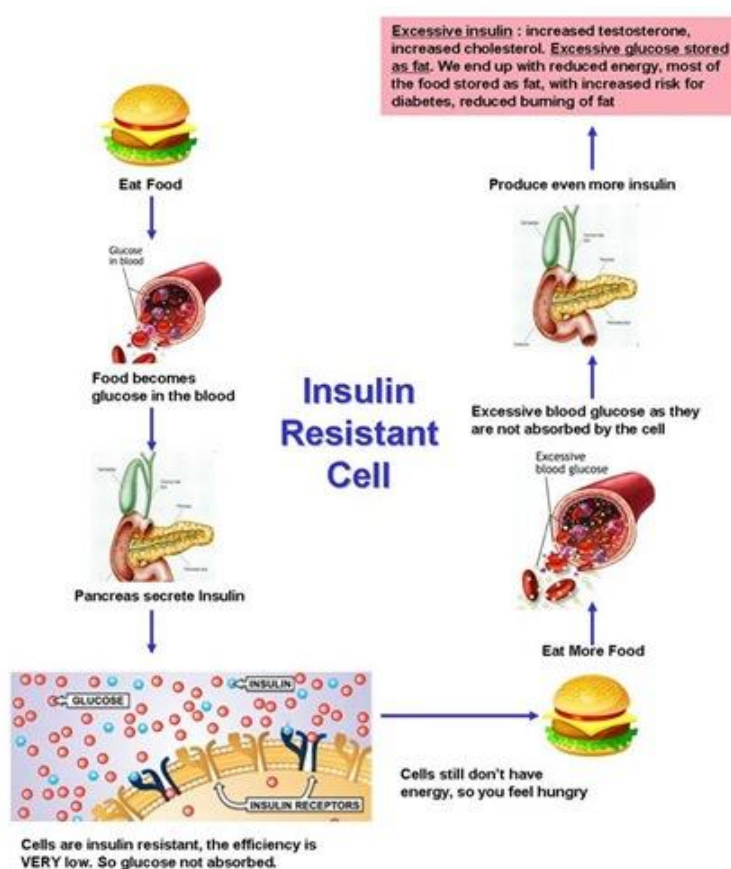


Figura 16. Resistência à insulina (Adaptado de: Carvalho e Saad, 2013).

Indivíduos diabéticos apresentam populações de bactérias Gram + mais baixas. Essas bactérias têm propriedades anti-inflamatórias mais baixas, podendo levar a estados de inflamação agudos e conseqüentemente a uma maior resistência à insulina (Gomes *et al.*, 2014).

### iii. Esteatose hepática

O fígado está ligado ao intestino pela veia porta e como consequência disso o fígado é continuamente exposto a metabolitos produzidos pelas bactérias do trato gastrointestinal e em casos de permeabilidade intestinal pode ainda ser exposto a algumas bactérias. Os SCFAs libertados pela microbiota intestinal são absorvidos pelas células do intestino e filtrados posteriormente no fígado (Lacob e Lacob, 2019).

A disbiose está, portanto, diretamente relacionada com a patologia hepática. As doenças hepáticas crônicas são induzidas e agravadas por alterações na microbiota, com o crescimento excessivo de bactérias patogênicas e com o decréscimo da quantidade de bactérias benéficas. Por outro lado, as doenças hepáticas crônicas levam a uma modificação da composição da microbiota intestinal aumentando as bactérias patogênicas (Lacob e Lacob, 2019).

A esteatose hepática é, também, uma consequência das doenças metabólicas por resistência à insulina. A lesão hepática resulta, por isso, da disbiose intestinal e desencadeia, por sua vez, uma cascata de citocinas inflamatórias levando a inflamação hepática. A resistência à insulina acelera o armazenamento de gordura e a inflamação dos hepatócitos, tornando-se um ciclo e levando o indivíduo a desenvolver esteatose hepática. (Ma *et al.*, 2017).

A colina é uma vitamina que participa no transporte de lípidos nos hepatócitos e evita o armazenamento anormal de lípidos no fígado. Nos indivíduos com microbiotas pobres a colina é metabolizada dando origem a compostos tóxicos causando inflamação hepática. O resultado da metabolização da colina por microbiotas vastas e complexas é benéfico para o hospedeiro tendo influência na perda de peso em indivíduos obesos. (Ma *et al.*, 2017).

Os ácidos biliares participam não só na digestão e absorção de alimentos como também ajudam a preservar a barreira intestinal e a prevenir a deslocação bacteriana. Normalmente os ácidos biliares têm propriedades antimicrobianas ajudando a manter a homeostase no trato intestinal (Ma *et al.*, 2017).

#### 4.1.2. Síndrome do Intestino Irritável

A síndrome do intestino irritável (SII) é um distúrbio gastrointestinal resultante de fatores genéticos, respostas fisiológicas, psicológicas, stress, dieta, idade, geografia e uso de antibióticos. A sua fisiopatologia prende-se com fatores como a motilidade e processamento alterados dos alimentos, hipersensibilidade de alguns órgãos do trato gastrointestinal e alterações na microbiota intestinal (Sidhu, 2017).

A SII caracteriza-se por dor abdominal recorrente, inchaço, náuseas e alterações na consistência das fezes como diarreia ou obstipação, existindo episódios com as duas situações (Raskov *et al.*, 2016).

A disbiose favorece a invasão e o crescimento de bactérias patogénicas levando à presença de citocinas inflamatórias aumentando a permeabilidade intestinal. As alterações da motilidade e secreção intestinal contribuem para uma hipersensibilidade de alguns órgãos, bem como, alterações celulares do sistema imunológico (Raskov *et al.*, 2016).

Para determinar melhor o papel que a microbiota desempenha na SII foram estabelecidas evidências das alterações na microbiota em indivíduos com esta patologia revelando uma microbiota instável e com uma diversidade reduzida. Foi observada a presença de *Enterobacteriales*, que são bactérias que induzem respostas inflamatórias, e diminuição de *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* que são bactérias benéficas contra agentes patogénicos e que participam na homeostase imunológica. As bactérias produtoras de SCFAs também estão presentes em proporções baixas em indivíduos com SII (Rodiño-Janeiro *et al.*, 2018).

Indivíduos com predominância de SII com episódios de obstipação têm um aumento de bactérias responsáveis pela produção de lactato o que comprova uma falta de oxigenação nos tecidos. Também nesses indivíduos a produção de metano é superior o que revela um

transito intestinal mais lento com aumento da presença de bactérias patogênicas (Sidhu, 2017; Rodiño-Janeiro *et al.*, 2018).

A SII pode, também, estar relacionada com a parte hormonal, uma vez que, tem bastante mais prevalência do sexo feminino do que no sexo masculino, estando ainda relacionada com maior predomínio de casos de obstipação, face ao sexo masculino em que predominam os episódios de diarreia (Raskov *et al.*, 2016).

#### **4.1.3. Doença Inflamatória Intestinal**

A doença inflamatória intestinal (DII) refere-se a condições inflamatórias crônicas no trato gastrointestinal em que os indivíduos com DII têm respostas do sistema imunológico exageradas contra bactérias intestinais que são benéficas para a regulação da inflamação na parede intestinal (Ihekweazu e Versalovic, 2018).

A DII caracteriza-se por uma microbiota menos estável e com microrganismos patogênicos aderidos á superfície epitelial. Indivíduos com DII têm uma diversidade reduzida da microbiota quando comparados com indivíduos com microbiotas saudáveis e essa diferença torna-se ainda mais perceptível quando o tecido está num estado de inflamação. Além disso, uma diminuição de *Bacteroides*, *Bifidobacterium* e *Lactobacillus* e um aumento de *Fusobacterium* e *Escherichia*, caracterizam a microbiota de um indivíduo com DII. A relação entre a disbiose e a fisiopatologia da DII sugere que os desequilíbrios da microbiota intestinal contribuem para a gravidade da doença (Ihekweazu e Versalovic, 2018; Gorkiewicz e Moschen, 2017; Rinniella, E. *et al.*, 2019).

As duas principais formas de DII clinicamente definidas são a doença de Crohn e a colite infecciosa e estão refletidas na figura 17. A colite infecciosa caracteriza-se por um estado de inflamação na superfície intestinal perto do reto enquanto que a doença de Crohn caracteriza-se por zonas de tecido intestinal profundamente inflamado alternando com zonas não inflamadas podendo-se estender por todo o trato gastrointestinal (Grondin *et al.*, 2020).

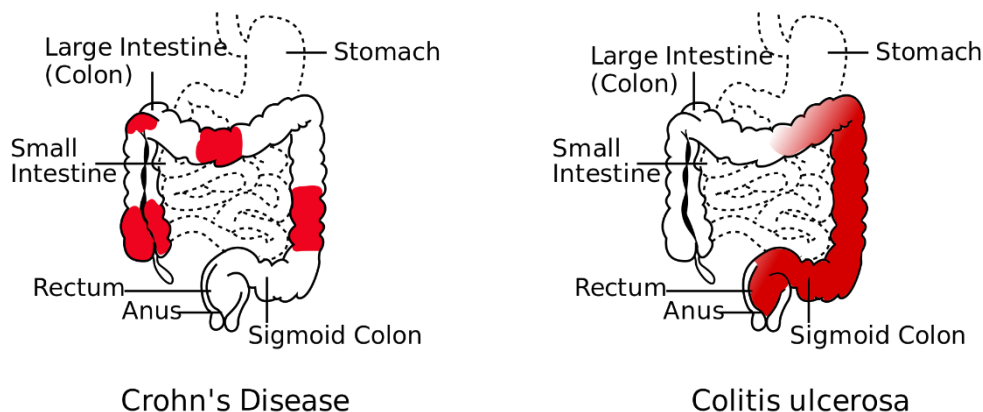


Figura 17. Diferença entre Colite infecciosa e doença de Crohn (Adaptado de: [https://en.wikipedia.org/wiki/Crohn%27s\\_disease#/media/File:Crohn's\\_Disease\\_vs\\_Colitis\\_ulcerosa.svg](https://en.wikipedia.org/wiki/Crohn%27s_disease#/media/File:Crohn's_Disease_vs_Colitis_ulcerosa.svg))

Funcionalmente, os indivíduos com DII sofrem uma desregulação na síntese das mucinas presentes no intestino, uma vez que há uma diminuição do número de células caliciformes. Assim, a espessura do muco fica comprometida impedindo-o de desempenhar a sua função barreira (Grondin *et al.*, 2020).

#### i. Doença de Crohn

A doença de Crohn é uma doença inflamatória crônica que afeta todo o trato gastro intestinal podendo causar lesões desde a boca até ao ânus. Tem manifestações extraintestinais e distúrbios imunológicos associados (Veauthier e Hornecker, 2018).

Os principais fatores de risco são genéticos, fatores ambientais, podendo o tabagismo, o uso de antibióticos, anti-inflamatórios não esteroides e anticoncepcionais poderem contribuir para um risco aumentado ao desenvolvimento da doença. As suas manifestações clínicas mais comuns são diarreia, dor abdominal, febre, perda de peso e sangramento retal. Indivíduos com doença de Crohn apresentam lesões perianais, hemorroidas, anemia, intolerância alimentar e medicamentosa (Veauthier e Hornecker, 2018).

Na doença de Crohn a camada de muco não é tão fina, quando comparada à colite infecciosa, no entanto há uma redução significativa na quantidade de mucinas. Também o comprimento dessas mucinas está alterado o que torna evidente a importância das

mucinas no muco e no intestino, resultando num aumento de permeabilidade intestinal (Grondin *et al.*, 2020).

As células de Paneth defendem a barreira do muco através da produção de grânulos que contêm peptídeos antimicrobianos que controlam e regulam a microbiota intestinal benéfica. As células de Paneth em indivíduos com doença de Crohn possuem menos grânulos o que compromete a homeostase imunológica normal induzindo o estado de inflamação (Baumgart e Sandborn, 2012).

Em pacientes com doença de Crohn foi observada o aumento de espécies das famílias *Enterobacteriaceae*, *Pasteurellaceae*, *Veillonellaceae* e *Fusobacteraceae* que são agentes patogénicos e uma redução de *Faecalibacterium prausnitzii*, uma espécie do filo Firmicute benéfico à flora intestinal com efeitos anti-inflamatórios (Gorkiewicz e Moschen, 2017; Baumgart e Sandborn, 2012).

## ii. Colite infecciosa

A colite infecciosa é uma doença crónica, recidivante e inflamatória do cólon e do reto. Alguns indivíduos apresentam uma inflamação limitada ao reto, enquanto outros apresentam apenas no cólon (Adams e Bornemann, 2013).

A sua incidência é semelhante em homens e mulheres tendo como principais fatores de risco a genética e a dieta. As principais manifestações da doença traduzem-se em episódios de diarreia, dor abdominal e presença de sangue nas fezes (Adams e Bornemann, 2013).

Caracteriza-se pela presença de uma microbiota intestinal anormal aumentando a probabilidade de desenvolver outras patologias. A colite infecciosa caracteriza-se, também, por uma camada de muco relativamente fina e descontínua por haver uma diminuição de células caliciformes no epitélio intestinal, levando a uma síntese reduzida de MUC2. Essa fina camada de muco leva a um aumento do contacto de agentes patogénicos com o tecido epitelial. Em casos de doença ativa, os indivíduos com colite infecciosa, têm presentes outro tipo de mucinas que um indivíduo saudável não apresenta no cólon. No entanto, várias proteínas presentes no muco de indivíduos saudáveis estão

em quantidades reduzidas em indivíduos com colite infecciosa independentemente se estão numa fase ativa ou não da doença. (Grondin *et al.*, 2020; Adams e Bornemann, 2013).

Em casos ativos da doença verifica-se uma insuficiente reposição de células caliciformes o que leva à inflamação local que está associada a um aumento de penetração dos agentes patogénicos levando a nova inflamação local e/ou ativação da doença (Grondin *et al.*, 2020).

É, portanto, possível depreender que, em alguns indivíduos com colite infecciosa, o principal problema é uma camada de muco anormal em vez de um sistema imunológico hiperativo. A camada de muco, normalmente separa as bactérias das células epiteliais. Se essa camada estiver ausente ou for penetrável, as bactérias vão atingir o epitélio causando inflamação (Johansson *et al.*, 2013).

Existe uma redução da diversidade e alterações na composição da microbiota intestinal nos indivíduos com colite infecciosa quando comparados a indivíduos saudáveis. Foram observadas reduções da família *Lachnospiraceae* e do género *Faecalibacterium*. Estas bactérias são responsáveis pela produção de SCFAs importantes, como o butirato o que justifica as quantidades baixas de SCFAs nos indivíduos com colite infecciosa. Além disso observou-se quantidades reduzidas de *Akkermansia muciniphila*, uma bactéria que contribui para o equilíbrio homeostático da camada de muco (Carlicci, 2016)

#### **4.2. Outras patologias associadas ao estado de disbiose**

O envolvimento da microbiota intestinal em várias patologias constitui um novo paradigma dos dias atuais. O papel fundamental que a microbiota desempenha no processo inflamatório e na homeostase imunológica podem influenciar o contribuir para o aparecimento de novas doenças (Khan *et al.*, 2019).

Como já foi referido anteriormente, são vários os mecanismos que destabilizam a microbiota intestinal. Na mesma forma, são várias as doenças cuja disbiose intestinal influencia o seu desenvolvimento e a sua gravidade (Weis e Hennet, 2017).

São exemplos disso algumas das patologias e distúrbios abordados a seguir que afetam indivíduos em diferentes fases da vida humana: crianças, adultos e idosos.

#### 4.2.1. Alergias

As doenças alérgicas são uma das consequências de uma microbiota intestinal alterada. Fatores como o tipo de parto, amamentação, presença de animais de estimação, a exposição a microrganismos e ausência ou exposição a tratamentos com antibióticos estão associados a uma diminuição do risco de desenvolver alergias. Os fatores de risco associados à sensibilização alérgica característica das fases iniciais da vida influenciam a composição da microbiota intestinal (Nance *et al.*, 2020).

A colonização dos intestinos por bactérias e o desenvolvimento da microbiota intestinal na infância estão diretamente relacionadas com o desenvolvimento do sistema imunológico. Por isso alterações na microbiota estão associados a doenças alérgicas (Tanaka e Nakayama, 2017).

Condições alérgicas como rinite alérgica e asma melhoraram após a administração oral de *Bifidobacterium* desativando os mecanismos antialérgicos e traduzindo-se numa melhoria da qualidade de vida (Cukrowska *et al.*, 2020).

Após análise a crianças com doenças alérgicas foi demonstrado que estas têm uma menor diversidade da microbiota, menor diversidade e quantidade do filo *Bacteroidetes* e aumento de Firmicutes quando comparadas a microbiotas de crianças saudáveis. A produção de SCFAs destas crianças não só desregula as respostas inflamatórias ao alérgeno como também influencia a apresentação dos antígenos modulando o sistema imunológico (Nance *et al.*, 2020; Lynch, 2016).

O aumento da diversidade bacteriana intestinal tem uma relação importante na proteção de doenças alérgicas. No entanto outros fatores de risco estão associados ao desenvolvimento de sensibilização alérgica (Nance *et al.*, 2020).

#### 4.2.2. Cancro colorretal

O cancro colorretal caracteriza-se pela transformação maligna das células epiteliais intestinais. Ocorre em três etapas: a indução de mutações oncogénicas nas células

epiteliais, uma sinalização deficiente dos nossos genes supressores de tumor e desenvolvimento de cascatas inflamatórias (Gorkiewicz e Moschen, 2017).

Está associado a mudanças específicas na composição da microbiota intestinal como o aumento das Proteobacteria que estão associados ao estado inflamatório crônico e à presença de cancro. Também há diminuição dos Firmicutes e das Bacteroidetes que contribuem para a regulação do estado de inflamação (Rinniella *et al.*, 2019).

A microbiota intestinal pode também contribuir para a eficácia nos tratamentos do cancro colorretal. Algumas bactérias promovem a resistência do cancro à quimioterapia e os mecanismos imunológicos intestinais ficam comprometidos. Ao contrário de indivíduos com cancro colorretal que, tratados com quimioterapia e ao mesmo tempo administraram oralmente *Bifidobacterium* tiveram maior eficácia na sua terapia (Gorkiewicz e Moschen, 2017).

#### 4.2.3. Doenças cardiovasculares

As doenças cardiovasculares são a principal causa de morte e o aumento constante dos fatores de risco como a obesidade, diabetes tipo II, doenças do sistema metabólico contribuem para isso. Como já foi referido anteriormente com as alterações da microbiota intestinal e a permeabilidade intestinal dá-se a passagem de toxinas na corrente sanguínea afetando órgãos distais (Tang *et al.*, 2017).

Alimentos ricos em gorduras resultam, por ação da microbiota intestinal, em metabolitos alterados, como os SCFAs, ácidos biliares e toxinas que podem contribuir para a inflamação e hipertensão. Essas toxinas podem também influenciar fluídos corporais como o sangue e a urina levando ao comprometimento de funções fisiológicas como o metabolismo do colesterol e a absorção de gorduras (Sanchez- Rodriguez *et al.*, 2020).

Também foi detetado que pacientes com doenças cardiovasculares tinham microbiotas intestinais alteradas e indivíduos com insuficiência cardíaca apresentam concentrações de toxinas inflamatórias mais elevadas e a flora bacteriana apresenta aumento de bactérias e fungos o que promove a permeabilidade intestinal e o estado de inflamação (Tang *et al.*, 2017).

As placas ateroscleróticas contêm DNA bacteriano comum às bactérias presentes no intestino o que sugere que possam estar relacionadas com a estabilidade da placa e o desenvolvimento de doenças cardiovasculares, uma vez que a administração de *Lactobacillus* resultou num aumento da diversidade bacteriana e numa redução significativa da pressão arterial. Também foi verificado que a administração de *Lactobacillus* em combinação com a medicação convencional atenuaram a hipertrofia cardíaca em indivíduos após enfarte agudo do miocárdio (Sanchez- Rodriguez *et al.*, 2020).

#### 4.2.4. Autismo

As interações do intestino-cérebro revelam que a composição da microbiota intestinal também pode alterar o cérebro. O estado de disbiose e a consequente alteração da permeabilidade intestinal permitem a passagem de toxinas para a corrente sanguínea que influenciam o Sistema Nervoso Central (SNC). No entanto, essa influência não é unilateral fazendo com que o SNC module a motilidade intestinal, alterando a permeabilidade intestinal e a composição da microbiota intestinal. A alteração da microbiota leva à colonização de bactérias que produzem neurotoxinas e que contribuem para parte da sintomatologia do autismo (Mangiola *et al.*, 2016).

Crianças autistas apresentam menores quantidades do filo Firmicutes e do género *Bifidobacterium* que têm propriedades anti-inflamatórias. Um estudo recente comparou amostras fecais de crianças autistas com crianças saudáveis. Foi perceptível uma abundância de *Clostridium* nas crianças autistas. Noutro estudo crianças com autismo regressivo e com episódios de diarreia e alterações neurocomportamentais foram tratadas com vancomicina, um antibiótico ao qual o *Clostridium* é sensível, o que revelou uma melhora significativa dos sintomas neurocomportamentais e gastrointestinais. No entanto, os sintomas surgiram novamente de forma gradual após a interrupção do tratamento (Fattorusso *et al.*, (2019).

#### 4.2.5. Doença de Alzheimer e doença de Parkinson

O eixo intestino-cérebro tem interação bidirecionais e permite que o cérebro influencie as funções gastrointestinais e as funções imunológicas.

A doença de Alzheimer é uma doença neurodegenerativa crônica que progride rapidamente que compromete as funções cognitivas. Foram analisadas amostras fecais de pacientes com Alzheimer e verificou-se um aumento de bactérias patogênicas que estão associadas a um estado inflamatório em comparação com indivíduos sem a patologia.

A doença de Parkinson também está associada a alterações na microbiota intestinal. A permeabilidade intestinal e a circulação de toxinas pelo sangue até ao cérebro leva o paciente a desenvolver neuro-inflamação que pode levar ao desenvolvimento de doença de Parkinson. Pacientes com esta patologia têm maior número de *Lactobacillus* quando comparados a indivíduos saudáveis (Rinniella *et al.*, 2019).

#### 4.2.6. Stress e depressão

A exposição ao stress resulta em mudanças substanciais da microbiota intestinal como a motilidade intestinal, secreção de mucinas aumento bactérias patogênicas. Essas variações da microbiota intestinal estão diretamente associadas ao início de distúrbios neurológicos (Rinniella *et al.*, 2019).

A depressão é a principal forma de transtorno mental e resulta de fatores genéticos, influências ambientais, distúrbios neuropsiquiátricos, desregulação imunológica existindo também uma relação com a microbiota. O estado depressivo está associado ao aumento de citocinas inflamatórias em circulação influenciando a neuro-transmissão (Mangiola *et al.*, 2016).

Indivíduos com depressão foram avaliados, e comparados a indivíduos saudáveis, quanto à composição da microbiota intestinal, neuro-comportamento, ativação imunológica, tempo de trânsito intestinal e consequências funcionais devido à permeabilidade intestinal. Os indivíduos deprimidos revelam uma diminuição da diversidade e variedade microbianas. Também os níveis de SCFAs em pacientes depressivos são mais baixos o que compromete a integridade da barreira intestinal e impede a manutenção da permeabilidade intestinal (Capuco *et al.*, 2020).

## **VI. Modulação da microbiota intestinal para a saúde**

O intestino humano constitui um ecossistema de grande complexidade que resulta da interação da microbiota com as células presentes no intestino e os nutrientes ingeridos. Essas interações, durante vários anos, foram analisadas do ponto de vista patogénico, isto é, a forma como as toxinas penetram na mucosa intestinal, entram na corrente sanguínea e causam estados de inflamação ou determinadas patologias. No entanto, atualmente começa-se a dar atenção aos microrganismos intestinais sob o ponto de vista da sua relação com a saúde do hospedeiro (Azad *et al.*, 2018).

A identificação das diferenças na composição da microbiota intestinal de indivíduos saudáveis e de indivíduos com patologias torna-se uma ferramenta valiosa a ser explorada para o diagnóstico e tratamento da disbiose. A forma como a microbiota intestinal afeta a saúde do hospedeiro e conhecer os seus mecanismos podem constituir uma estratégia para a prevenção de inúmeras patologias. A alteração da microbiota num estado de disbiose por espécies bacterianas benéficas podem proteger e até mesmo curar determinadas patologias (Milani *et al.*, 2017; Petersen e Round, 2014).

A disbiose não assenta numa definição quantitativa pelo que requer uma modulação da microbiota intestinal direcionada. É necessário perceber e avaliar o estado de disbiose de cada hospedeiro, a diversidade e a composição da microbiota, a função da barreira intestinal, e a doença associada (Fong *et al.*, 2020).

O facto de os microrganismos intestinais estarem relativamente acessíveis por via oral e uma vez que a microbiota é passível de alterações por essa via, os tratamentos direcionados à microbiota intestinal tornam-se bastante atrativos e com elevado valor terapêutico (Kundu *et al.*, 2017).

Atualmente estão disponíveis diferentes estratégias que influenciam e direcionam o desenvolvimento de uma microbiota intestinal saudável como o uso de prebióticos e probióticos. Outra forma de restabelecimento da microbiota intestinal bastante promissora é o transplante de microbiota fecal de um dador saudável (Kundu *et al.*, 2017).

## 5.1. Probióticos

A palavra “probiótico” foi usada pela primeira vez por Kollath em 1953 para descrever suplementos orgânicos e inorgânicos necessários para restaurar a saúde de pacientes que sofrem uma forma de desnutrição resultante do consumo exagerado de alimentos altamente refinados. Em 1954, Vergin sugeriu que os antibióticos perturbam o equilíbrio microbiano do intestino podendo ser restaurado com o uso de probióticos (Bron, P. *et al.*, 2017). Atualmente, os probióticos são definidos pela Organização Mundial de saúde como “microrganismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefício à saúde do consumidor” (Sidhu *et al.*, 2017; Fong *et al.*, 2020).

A suplementação com probióticos ajuda na mediação e manutenção da microbiota, uma vez que ajudam na colonização do intestino e exercem mudanças fisiológicas e metabólicas no hospedeiro. Os probióticos devem sobreviver ao ácido gástrico e à bile, para que possam exercer o seu efeito no intestino delgado e grosso (Gallo *et al.*, 2016).

As bactérias patogênicas, como foi referido no capítulo anterior, influenciam a permeabilidade da barreira através da produção de toxinas provocando aumento ou diminuição da absorção de fluidos e eletrólitos (Bron, P. *et al.*, 2017).

Os probióticos melhoram a homeostase da microbiota intestinal desempenhando um papel importante quer pela sua ação direta ou indireta. Como é possível verificar na figura 18a, o seu papel protetor deve-se ao facto de participarem no aumento da camada de muco por induzirem maior produção de mucina pelas células caliciformes e assim mantêm a integridade das junções intercelulares o que se traduz num aumento da função barreira natural. Os mecanismos indiretos (figura 18b) mostram que a redução da produção de citocinas inflamatórias também confere aos probióticos uma importante função modeladora da microbiota intestinal, uma vez que, conferem maior resistência à colonização por bactérias patogênicas e têm uma ação preventiva na apoptose celular. A produção de metabolitos com atividade microbiana ajuda a manter a homeostase intestinal pois estes metabolitos ajudam a regular a resposta imune. A inibição do crescimento de bactérias patogênicas e a competição pelos mesmos locais de adesão das bactérias patogênicas à camada mucosa são outros mecanismos de ação das bactérias probióticas que se refletem em efeitos benéficos para o seu hospedeiro (Reddel *et al.*, 2019; Milani *et al.*, 2017).

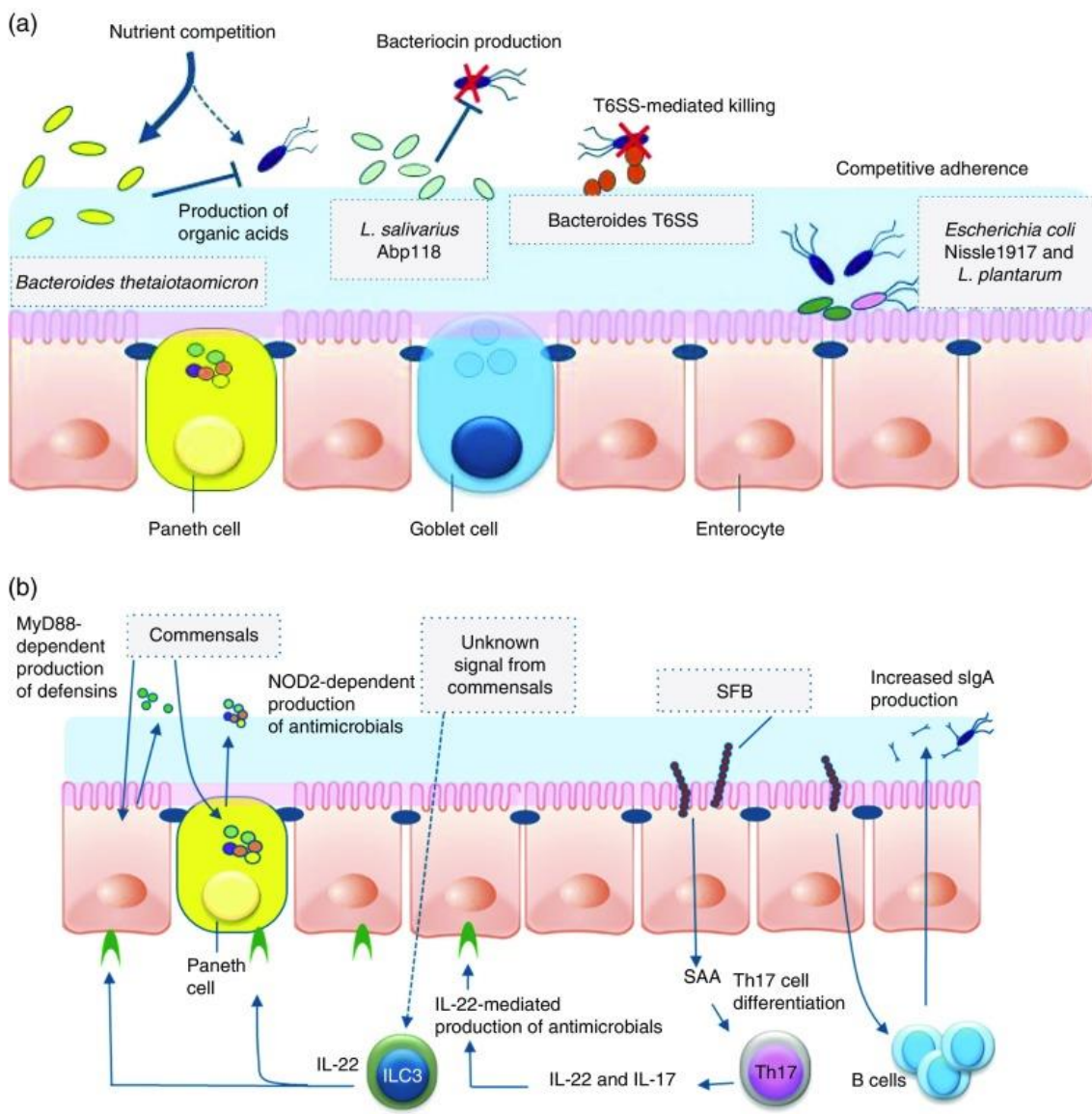


Figura 18: Mecanismos diretos e indiretos da ação dos probióticos. (Adaptado de: Bron *et al.*, 2017).

As espécies de bactérias probióticas mais comuns pertencem aos gêneros de *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* e *Lactococcus* e a levedura mais comum é *Saccharomyces boulardii* (Sidhu *et al.*, 2017).

Os *Lactobacillus* constituem um dos gêneros mais importantes de bactérias benéficas para a saúde humana. As espécies mais abundantes no intestino humano são *Lactobacillus acidophilus*, *L. salivarius*, *L. casei*, *L. plantarum*, *L. fermentum*, *L. reuteri*, *L. rhamnosus*, *L. gasseri*, *L. reuteri* e *L. brevis*. São bactérias de Gram positivo, anaeróbias

facultativas, fermentadoras da glicose e produzem como principal produto o ácido lático (Schepper *et al.*, 2017; Zotta *et al.*, 2017).

Os principais mecanismos da ação probiótica dos *Lactobacillus* são a manutenção do equilíbrio microbiano através da inibição de bactérias patogênicas e restauração da homeostase intestinal, a proteção do epitélio intestinal aumentando a função barreira epitelial e a modulação das respostas imunes. Para que a sua ação probiótica seja devidamente desempenhada é necessário que os *Lactobacillus* sejam resistentes ao ambiente (Lebeer *et al.*, 2008).

Caracterizam-se pela sua capacidade de melhorar a função barreira, uma vez que participam na regulação da quantidade de ocludinas e a sua distribuição ao longo das junções comunicantes. Também participam na modulação das respostas imunológicas, uma vez que regulam a liberação de citocinas inflamatórias na corrente sanguínea (Azad *et al.*, 2018; Sidhu *et al.*, 2017).

Possuem atividade bactericida já que reduzem substancialmente o número de microrganismos patogênicos. O ácido lático possui propriedades antibacterianas, pelo que participa na regulação da expressão dos fatores de virulência das bactérias patogênicas e modulam os efeitos patogênicos desses fatores de virulência (Kuratsu *et al.*, 2010).

Os *Lactobacillus* participam na manutenção da integridade epitelial pelo que antagonizam os rearranjos do citoesqueleto causados por bactérias patogênicas. Participam também na estimulação da produção de mucina pelas células epiteliais inibindo a adesão de bactérias não benéficas (Bron *et al.*, 2017).

A suplementação com *Lactobacillus* afetam positivamente alguns parâmetros que são característicos de distúrbios metabólicos. Ajudam a reduzir o tamanho médio dos adipócitos e conseqüentemente há diminuição do peso corporal e do desenvolvimento de massa gorda. A resistência à insulina, aspecto característico dos distúrbios metabólicos, é também diminuído, uma vez que o impacto dos *Lactobacillus* na função barreira intestinal ajuda na regulação da glicose circulante. A melhoria da função barreira reflete-se também numa redução de endotoxemia visto que não há uma diminuição da passagem de toxinas para a corrente sanguínea (Bron *et al.*, 2017).

*Bifidobacterium* são um género de bactérias anaeróbias, de Gram-positivo, que desde cedo exercem um papel importante contribuindo para o desenvolvimento e maturação do sistema imunológico no hospedeiro. Atuam inibindo o crescimento de bactérias

patogênicas intestinais, melhoram a função barreira do intestino e suprimem citocinas inflamatórias. Estas bactérias diminuem a liberação de zonulina que é uma proteína que funciona como um importante modulador da permeabilidade intestinal (Azad *et al.*, 2018 e Turroni *et al.*, 2014).

Um dos mecanismos que sugerem o efeito probiótico das *Bifidobacterium* é o facto de estas produzirem bacteriocinas. As bacteriocinas são compostos que regulam a atividade microbiana contra alguns agentes patogênicos promovendo a permeabilização de poros levando à lise celular e/ou impedindo a biossíntese da parede celular (Sarkar e Mandal, 2016).

*Bifidobacterium* operam igualmente através do aumento da barreira epitelial intestinal e estimulam a produção de muco para que a camada mucosa possa ser constantemente substituída, evitando a adesão de bactérias não comensais (Sarkar e Mandal, 2016).

De forma análoga aos *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* também possuem a capacidade de melhorar os distúrbios metabólicos. Têm um papel importante na redução do peso corporal e da adiposidade e reduzem os níveis de colesterol, glicose, leptina e enzimas hepáticas como a aspartato aminotransferase, alanina aminotransferase e a lipase no sangue. Deste modo produzem efeitos benéficos na redução do ganho de peso corporal, massa gorda, resistência à insulina e endotoxemia (Bron *et al.*, 2017).

Numa dieta rica em gordura as Enterobacteriaceae migram para o tecido adiposo e para o sangue, estando associadas a um elevado estado de inflamação. A suplementação com *Bifidobacterium* ajuda, não só a normalizar esse estado inflamatório bem como a corrigir a sensibilidade à insulina e a hiperinsulinemia (Bron *et al.*, 2017).

A chave para a existência de espécies bacterianas é determinada pelo espaço para o seu crescimento, locais de recetores de ligação e o acesso a recursos nutricionais no trato gastrointestinal. Nesse sentido a competição entre as espécies de bactérias determina a composição da microbiota intestinal. Outro mecanismo de ação das *Bifidobacterium* é a competição pelos mesmos locais de ligação das bactérias patogênicas, pelo que justifica o seu papel fundamental na melhoria da função barreira do intestino (Bron *et al.*, 2017).

*Lactococcus* são bactérias de Gram-positivo e anaeróbias facultativas usadas na fermentação de alimentos e como probióticos. Têm impacto na composição e metabolismo da microbiota intestinal e conseqüentemente na saúde do hospedeiro. Após a sua ingestão, esta bactéria tem capacidade de adesão ao muco, uma vez que as suas

proteínas de superfície têm afinidade para se ligar às mucinas presentes na camada mucosa. O seu potencial anti-inflamatório torna-as ferramentas terapêuticas úteis em doenças intestinais. Ao produzirem enzimas antioxidantes e anti-inflamatórias reduzem os sintomas de inflamação intestinal de forma eficiente restaurando a homeostase intestinal (Mercier-Bonin e Chapot-Chartier, 2017).

*Saccharomyces boulardii* é uma levedura que está intimamente relacionada com o tratamento de doenças intestinais agudas como a diarreia, ou em doenças crônicas como a doença inflamatória intestinal. Atualmente é a única levedura usada como probiótico. Contrariamente aos *Lactobacillus* e às *Bifidobacterium*, o *Sacharomyces boulardii* tem maior resistência a temperaturas altas, sobrevive em ambientes ácidos como o ambiente gástrico e é resistente ao ambiente intestinal com os sais biliares (Pais *et al.*, 2020).

*Saccharomyces boulardii* segrega proteínas bactericidas e bacteriostáticas que matam ou inativam bactérias patogênicas. Também segregam uma protease que degrada algumas toxinas produzidas pelas bactérias não benéficas ou bloqueia os recetores que se ligam a essas toxinas impedindo o desencadeamento do processo inflamatório e a permeabilidade da mucosa (Pais *et al.*, 2020).

A mucina evita a adesão de bactérias patogênicas enquanto os probióticos devem ser capazes de aderir à mucosa intestinal. *Saccharomyces boulardii* contribui para a redução de locais de ligação das bactérias patogênicas. As proteínas da sua parede celular medeiam e limitam a capacidade dos patogênicos se ligarem diretamente aos recetores intestinais (Pais *et al.*, 2020).

Os metabolitos produzidos pela microbiota intestinal desempenham respostas imunomoduladoras e anti-inflamatórias. *Saccharomyces boulardii* modula essas respostas agindo como estimulante ou inibidor. É capaz de modular o processo inflamatório aumentando os níveis de moléculas anti-inflamatórias, mas por outro lado age como inibidor em casos de níveis elevados de IgA e IgG no sangue que surgem em resposta a determinadas toxinas (Pais *et al.*, 2020).

Os SCFA têm um papel importante nas funções fisiológicas e bioquímicas do epitélio intestinal. *Saccharomyces boulardii* ajuda a restabelecer os níveis de SCFA diminuídos em caso de diarreia servindo como substrato para a produção de butirato (Pais *et al.*, 2020).

Outro mecanismo pelo qual *Saccharomyces boulardii* exerce o seu efeito protetor é pela produção de ácido acético em condições aeróbias. Nestas condições a sua produção é feita mais próximo da superfície epitelial o que se traduz numa melhoria da atividade microbiana comensal ao mesmo tempo que exerce um efeito inibitório no crescimento de bactérias patogénicas (Pais *et al.*, 2020).

Outras espécies probióticas são *Escherichia coli nissle* que estimula a produção de enzimas que protegem a barreira mucosa contra a adesão e invasão de bactérias patogénicas como *Salmonella*, *Shigella* e *Candida* contribuindo para a regulação da homeostase intestinal. Os *Enterococcus* modulam o sistema imunológico aumentando a expressão de citocinas anti-inflamatórias desempenhando um papel importante na resposta inflamatória do hospedeiro (Azad *et al.*, 2018).

Os efeitos resultantes do tratamento com probióticos, em alguns casos, podem ser pouco significativos comprovando a resistência à colonização da microbiota e a necessidade do probiótico complementar a composição da microbiota. Em pacientes com cancro o uso de probióticos pode estar associado a um risco aumentado de complicações infecciosas, no entanto, as evidências atuais não sugerem uma contraindicação absoluta (Schmidt *et al.*, 2018; Fong *et al.*, 2020).

## 5.2. Prebióticos

O conceito de prebiótico foi definido pela primeira vez por Gibson e Roberfroid em 1995 como um ingrediente alimentar não digerível capaz de estimular seletivamente o crescimento e/ou a atividade das bactérias específicas do intestino, contribuindo para uma melhoria da saúde do hospedeiro. No entanto, mais tarde verificou-se uma ação muito mais alargada, modificando a sua definição para “substrato que é utilizado seletivamente por microrganismos hospedeiros que conferem um benefício à saúde”. O termo “alimento não digerível” implicava apenas os hidratos de carbono e as fibras, enquanto que na sua definição atual, outras substâncias como ácidos gordos e polifenóis mostraram ter efeito prebiótico. Este efeito obedece a critérios como ser resistente à acidez gástrica, hidrólise por enzimas de mamíferos e absorção gastrointestinal, devem ser fermentados pela microbiota intestinal e devem estimular seletivamente o crescimento e/ou a atividade das

bactérias intestinais associando-se à saúde e bem-estar do hospedeiro (Schmidt *et al.*, 2018; Holscher, 2017).

Os prebióticos são um dos meios direcionados para a modulação do microbioma e podem ser usados como uma alternativa aos probióticos ou como suporte adicional para eles. Contrariamente à administração de probióticos, o tratamento com prebióticos visa conferir uma vantagem seletiva às bactérias benéficas ao nosso organismo (Corzo *et al.*, 2015).

A maioria dos prebióticos identificados são hidratos de carbono de várias estruturas moleculares presentes naturalmente na dieta do Homem. As fibras alimentares são hidratos de carbono com potencial prebiótico. Muitas vezes os termos fibra dietética e prebiótico são usados alternativamente para componentes de alimentos que não são digeridos no trato gastrointestinal. No entanto, um prebiótico pode ser uma fibra dietética, mas uma fibra dietética nem sempre é um prebiótico. Os prebióticos são assim classificados porque possuem propriedades específicas como não devem ser digeridos o que faz com que cheguem ao cólon, onde são fermentados seletivamente por bactérias benéficas. A fermentação pode levar ao aumento da produção ou a uma mudança na abundância dos diferentes SCFAs provocando aumento do volume das fezes e melhoria, redução dos produtos finais nitrosos e melhoria do sistema imunológico. Outros critérios que devem ser considerados é que a estimulação seletiva do crescimento e/ou atividade das bactérias intestinais deve estar associada à proteção da saúde e bem-estar do hospedeiro e que um prebiótico deve ser capaz de resistir às condições de processamento de alimentos e permanecer inalterado, não degradado ou quimicamente inalterado e disponível para o metabolismo bacteriano intestinal (Markowiak e Slizewska, 2017).

Os prebióticos são fermentados seletivamente pelos probióticos do cólon, levando à produção de ácidos gordos de cadeia curta (SCFAs) que são os principais combustíveis energéticos das células intestinais, como mostra a figura 19. O butirato, um dos principais SCFAs, é o substrato preferencial das bactérias intestinais e regula o crescimento e diferenciação das bactérias patogénicas. Para além disso, os SCFAs participam na manutenção do pH intestinal, influenciam a motilidade intestinal e reduzem a produção de citocinas pró-inflamatórias (Tsai *et al.*, 2019).

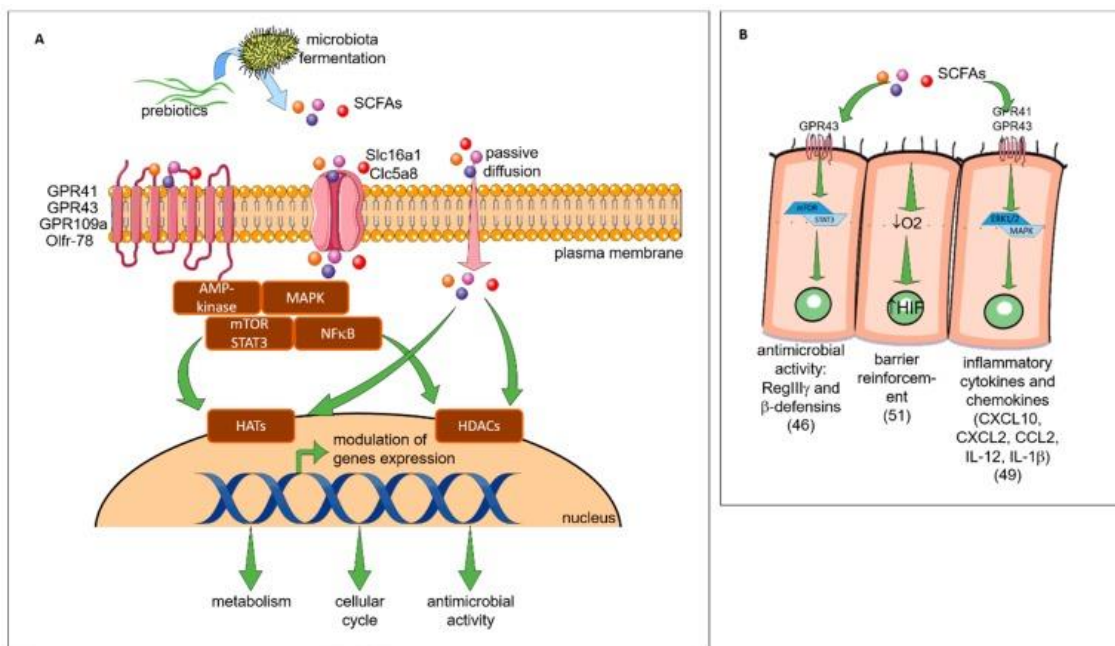


Figura 19. Efeitos diretos dos prebióticos. (Adaptado de: Brosseau *et al.*, 2019).

Para além de estimular o crescimento probiótico, os prebióticos atuam de forma independente e exercem um efeito direto no intestino. Competem por nutrientes e possuem propriedades anti-aderentes contra as bactérias patogênicas, uma vez que mimetizam os oligossacarídeos das vilosidades e interagem com os recetores bacterianos impedindo a sua ligação às células epiteliais intestinais e consequentemente a sua colonização. Outro efeito direto dos prebióticos consiste na absorção direta dos mesmos pelas células epiteliais alterando e modulando a resposta imune intestinal e os genes de expressão (Fong *et al.*, 2020).

São vários os benefícios para a saúde do consumo de prebióticos. Vários estudos mostram aceleração do catabolismo lipídico com redução dos níveis de LDL e triglicéridos no sangue e aumento da absorção de cálcio. Parece, também, existir uma ligação entre o consumo de prebióticos e a diminuição de índices carcinogênicos pela estimulação do sistema imunológico e pela indução da apoptose celular em casos de carcinoma colorretal (Markowiak e Slizewska, 2017).

Não obstante a todos os benefícios, a suplementação com prebióticos pode não necessariamente implicar benefícios para a saúde do hospedeiro, mas a variabilidade individual existe e é altamente dependente da base genética somática (Fong *et al.*, 2020).

### **5.3. Simbióticos**

Os simbióticos podem ser definidos como ingredientes alimentares ou suplementos dietéticos compostos por probióticos e prebióticos em forma de sinergismo. A função do simbiótico pode ser complementar ou sinérgica. Ser complementar significa que cada componente que se encontra no simbiótico é escolhida independentemente do seu efeito potencial de promoção da saúde promovendo a sobrevivência melhorada de microrganismos benéficos ao hospedeiro. Em contrapartida, sinérgica implica que o prebiótico escolhido apoie a atividade do probiótico escolhido para que haja estimulação da proliferação de determinadas espécies de bactérias (Tsai *et al.*, 2019).

Considerando que existe um grande número de combinações possíveis, a aplicação de simbióticos para a modulação da microbiota intestinal é uma técnica bastante promissora. A seleção de um simbiótico deve ter em consideração que o uso do prebiótico e do probiótico, quando usado separadamente, tenham efeito positivo na saúde do hospedeiro.

Os simbióticos podem atuar de dois modos: melhoria da viabilidade dos microrganismos probióticos ou por provisão de efeitos específicos para a saúde. A estimulação de probióticos com prebióticos resulta na modulação da atividade intestinal com manutenção da bioestrutura intestinal, desenvolvimento e proliferação da microbiota benéfica e inibição de bactérias patogênicas (Markowiak e Slizewska, 2017).

Concentrações reduzidas de metabolitos indesejáveis e inativação de substâncias cancerígenas e aumento significativo de SCFAs são alguns dos efeitos resultantes do consumo de simbióticos. Relativamente à sua eficácia terapêutica, os simbióticos possuem efeitos antibacterianos, anticancerígenos e antialérgicos uma vez que neutralizam os processos inflamatórios, induzem a produção de citocinas pró-inflamatórias, diminuem o dano o DNA (Markowiak e Slizewska, 2017).

### **5.4. Pós-bióticos**

Os pós-bióticos são substâncias libertadas pelos probióticos, ou seja, são os produtos do seu metabolismo – enzimas, SCFAs, peptídeos, polissacarídeos. A proteção do epitélio

intestinal e a citotoxicidade seletiva contra tumores mostram ser os seus principais mecanismos para modular a microbiota intestinal para a saúde (Fong *et al.*, 2020).

Vários pós-bióticos têm capacidade de suprimir a inflamação e restaurar a integridade da barreira epitelial. A proteína p40 produzida pelos *Lactobacillus* inibe a apoptose epitelial induzida pelas citocinas e o rompimento da barreira intestinal, promovendo o tratamento da lesão e inflamação intestinal bem como uma resposta imune protetora (Fong *et al.*, 2020).

O ferricromo é uma molécula produzida pelo *Lactobacillus casei* que mostrou ter atividade antitumoral já que induziu a apoptose das células que foram sinalizadas por vias de sinalização tumorais (Fong *et al.*, 2020).

## 5.5. Dieta

O papel da dieta e dos seus componentes são cada vez mais reconhecidos como importantes e essenciais para a melhoria da saúde humana. A microbiota intestinal pode ser positivamente modulada através da alimentação (Yang *et al.*, 2020).

Os hidratos de carbono são a fonte de energia principal para o corpo humano e desempenham um papel importante na modulação e formação da microbiota intestinal. Quando são de origem vegetal, os hidratos de carbono são classificados como fibras alimentares e escapam à digestão do trato digestivo superior. As fibras têm um papel importante na modulação de bactérias benéficas, manutenção da diversidade e abundância da microbiota (Yang *et al.*, 2020).

As gorduras também desempenham um papel importante na modulação e diversidade do microbioma intestinal. O consumo regular de gorduras saturadas também parece estar associado a efeitos adversos no microbioma intestinal. Pobres e pouco diversas são características da microbiota intestinal de pessoas que ingerem grandes quantidades de gordura e de forma regular estando associada a um aumento da abundância de espécies prejudiciais e diminuição das bactérias benéficas. Contrariamente, as gorduras insaturadas parecem estar associadas ao aumento das bactérias comensais, maior diversidade e com capacidade antibacteriana capaz de modular a relação de bactérias patogénicas/bactérias benéficas (Yang *et al.*, 2020).

Também as proteínas têm efeitos substanciais na microbiota intestinal. A proteína de origem animal pode aumentar a sensibilidade à inflamação intestinal enquanto que a proteína de origem vegetal pode perturbar a expressão genética normal da mucosa intestinal. A quantidade de proteína consumida também é um importante fator, uma vez que, grandes quantidades de proteínas estão associadas a efeitos negativos na microbiota (Yang *et al.*, 2020).

Em algumas condições patológicas, como Síndrome do Intestino Irritável e Doença Celíaca, a prática de regimes alimentares específicos como a dieta com baixo teor de FOODMAPs e a dieta sem glúten são consideradas terapêuticas. Estes tipos de dieta caracterizam-se pela redução ou exclusão de um determinado nutriente de toda a alimentação. Apesar de estes regimes alimentares apresentarem efeitos benéficos e melhorias dos sintomas provocados pela doença, podem afetar a composição da microbiota principalmente quando são muito prolongados (Reddel *et al.*, 2019).

A dieta cetogénica caracteriza-se pela redução da ingestão de hidratos de carbono que leva a uma diminuição de polissacarídeos que chega ao intestino e conseqüentemente a uma diminuição de bactérias que produzem energia a partir de polissacarídeos. No entanto, também reduzem os níveis de glicose no sangue e o peso corporal, bem como o aumento de cetonas no sangue. Estes efeitos estão relacionados com o aumento de bactérias benéficas no intestino. Portanto, em pacientes com disbiose demonstrada, pode ser necessário considerar suplementação com prebióticos e/ou probióticos de forma a restaurar o equilíbrio da microbiota intestinal (Reddel *et al.*, 2019).

Tendo em conta que as patologias descritas no capítulo anterior estavam relacionadas com a disbiose intestinal, a alteração da alimentação e a prática de dietas restritivas pode fazer com que surjam alterações tais que predisponha o hospedeiro a sintomas patológicos adicionais. A suplementação com pré e probióticos pode ser útil na recuperação e manutenção da microbiota intestinal (Reddel *et al.*, 2019).

## **5.6. Transplante de microbiota fecal**

Com a crescente compreensão de como uma microbiota intestinal tem um impacto enorme nas doenças do hospedeiro, o transplante de microbiota fecal (TMF) tornou-se

uma bioterapia importante e promissora. O TMF é o principal exemplo de modulação do microbioma intestinal não direcionado. Consiste em transferir as fezes de um doador para o trato gastrointestinal de um recetor com o objetivo de melhorar a sua saúde ou de um estado de disbiose intestinal (Schmidt *et al.*, 2018).

O processo que envolve o TMF consiste em analisar todas as bactérias que são transmitidas pelo sangue e pelas fezes do doador. O doador deve ser saudável deve ser saudável, magros e livres de quaisquer doenças transmissíveis por bactérias intestinais (Sidhu, 2017)

O TMF apresenta uma população microbiana saudável e livre de doenças a uma comunidade que está em disbiose para que ocorra o restauro da homeostase microbiana podendo contribuir para a melhoria de vários distúrbios e patologias gastrointestinais (Fong *et al.*, 2020).

O TMF tem várias vantagens quando comparado a outras estratégias de modulação. Não só aumenta a diversidade microbiana sem que interrompa a ecologia do intestino (como no caso de tratamento com antibióticos) como também é realizado em dose única conferindo vantagens sobre o tratamento com prebióticos e probióticos, cuja colonização intestinal parece transitória. No entanto, ainda são necessários mais estudos relativamente ao uso clínico da TMF, pois apesar de ser considerada uma intervenção segura, existe risco de infeção em pacientes imunodeprimidos, potenciais riscos de transmissão de bactérias multirresistentes e genes causadores de doenças e possibilidade de repassar ao recetor componentes indutivos de doenças crónicas (Fong *et al.*, 2020).

## VII. Conclusão

A microbiota intestinal é uma parte complexa e essencial do corpo humano que fornece um suporte vital para funções metabólicas normais e confere proteção contra algumas doenças. Existem cada vez mais evidências de que uma microbiota alterada pode modular determinadas doenças. No entanto, muitas reações fisiopatológicas, em caso de disbiose, que desencadeiam respostas inflamatórias não estão ainda claras. Por outro lado, uma flora intestinal saudável afeta a saúde do hospedeiro de várias maneiras positivas.

A microbiota intestinal é um exemplo de que como um ambiente pouco colonizado, no nascimento, é rapidamente ocupado por uma infinidade de comunidades microbianas. Neste sentido, microrganismos específicos herdados da mãe impulsionam o estabelecimento da microbiota infantil. O desenvolvimento subsequente desta microbiota é, a partir daqui, modulado por compostos presentes no leite humano que asseguram a colonização. Muitos outros fatores associados à maternidade contribuem para o estabelecimento da microbiota intestinal infantil como o tipo de parto, a genética do hospedeiro, a idade gestacional e a dieta materna. Também o facto do intestino do bebé não ser completamente estéril demonstra que muitas vezes ocorre transferência da microbiota materna para o feto durante a gravidez. A sua composição, diversidade e complexidade vai amadurecendo com as influências ambientais e fisiológicas, dieta e estilo de vida.

Os microrganismos vivem em comunidades formando um biofilme, uma rede de comunicação *in vivo* altamente estruturada e que tem um papel indiscutível na homeostase do hospedeiro e no desenvolvimento de doenças apesar de constituir uma pequena porção do intestino. A interação entre as bactérias comensais, os seus metabolitos e vários outras espécies de fungos, parasitas e vírus que colonizam o intestino de forma equilibrada, garante o equilíbrio da camada mucosa e opera como uma barreira funcional promovendo a homeostase intestinal

A disbiose resulta de uma redução da diversidade microbiana e/ou uma composição alterada da microbiota e está associada a uma série de patologias que se manifestam quer na infância, quer em estágios posteriores da vida. Podem incluir doenças crónicas ou distúrbios metabólicos. A prevalência de microrganismos patogénicos leva a respostas

inflamatórias do sistema imunológico que alteram a permeabilidade da mucosa intestinal desencadeando processos inflamatórios e originando o aparecimento ou evolução de determinadas patologias.

Nesse sentido, torna-se importante definir estratégias que influenciem e direcionem o desenvolvimento e manutenção de uma microbiota intestinal saudável. Os tratamentos disponíveis para a modelação do microbioma são considerados modalidades atraentes uma vez que as bactérias intestinais são relativamente acessíveis pela via oral. Os probióticos conferem grande benefício ao consumidor, pois trata-se da administração de microrganismos vivos nas quantidades certas para colonizar o intestino. Os prebióticos, são ingredientes não digeríveis que estimulam o crescimento e a atividade de certos grupos de bactérias e constituem outro método para manter ou restaurar a microbiota saudável. No entanto intervenções que visam a modulação específica de algumas espécies tornam-se limitadas.

O transplante da microbiota fecal apresenta vantagens sobre os outros métodos de modelação da microbiota intestinal, uma vez que é realizado numa dose única, no entanto, são necessários mais estudos para garantir a segurança do recetor.

A compreensão detalhada da microbiota intestinal, a sua evolução e a sua capacidade de responder e se adaptar continuamente a flutuações intrínsecas e ambientais fornecerá uma oportunidade notável para apoiar a medicina a desenvolver técnicas e métodos para promover a saúde humana em todas as idades.

## VIII. Bibliografia

- Abenavoli, L. *et al.* (2019). Gut Microbiota and Obesity: A Role for Probiotics. *Nutrients*, 11 (11), article number 2690.
- Adams, S. M. e Bornemann, P. H. (2013). Ulcerative Colitis. *American Family Physician*, 87 (10), pp. 699-705.
- Arrieta, M. *et al.* (2014). The Intestinal Microbiome in Early Life: Health and Disease. *Frontiers in Immunology*, 5, article number 4155789.
- Azad, A. *et al.* (2018). Probiotic Species in the Modulation of Gut Microbiota: An Overview. *BioMed Research Internacional*, article number 29854813.
- Baumgart, D. e Sandborn, W. (2012). Crohn's disease. *The Lancet*, 380 (9853), pp. 1590-1605.
- Bianchi, F. *et al.* (2018). Brandtzaeg, P. (2006). The Innate and Adaptive Immune Gut microbiome approaches to treat obesity in humans. *Applied Microbiology and Biotechnology*, article number 10.1007.
- Bron, P. *et al.* (2017). Can probiotics modulate human disease by impacting intestinal barrier function?. *The British Journal of Nutrition*, 117 (1), pp. 93-107.
- Brosseau, C. *et al.* (2019). Prebiotics: Mechanisms and Preventive Effects in Allergy. *Nutrients*, 11 (8), pp: 1841.
- Buford, T. (2017). (Dis)Trust your gut: the gut microbiome in age-related inflammation, health, and disease. *Microbiome*, 5 (50).
- Capuco, A. *et al.* (2020). Current Perspectives on Gut Microbiome Dysbiosis and Depression. *Advances in Therapy*, 37, pp. 1328-1346.
- Carlicci, C., Petrof, E. O. e Allen-Vercoe, E. (2016). Fecal Microbiota-based Therapeutics for Recurrent *Clostridium difficile* Infection, Ulcerative Colitis and Obesity. *Ebiomedicine*, 13, pp. 37-45.
- Carvalho, B. M. e Saad, M. J. (2013). Influence of Gut Microbiota on Subclinical Inflammation and Insulin Resistance. *Hindawi*, 2013, article number 986734.

- Chong-Neto, H. J. *et al.* (2019). A microbiota intestinal e sua interface com o sistema imunológico. *Arquivos de Asma Alergia e Imunologia*, 3 (4), pp. 406-420.
- Clercq, N. C. *et al.* (2016). Gut Microbiota in Obesity and Undernutrition. *Advances in Nutrition*, 7 (6), pp. 1080-1089.
- Corzo, N. *et al.* (2015). Prebióticos; concepto, propiedades y efectos beneficiosos. *Nutrición Hospitalaria*, 31 (1), pp. 99-118.
- Cresci, G.A. e Bawden, E. (2015). The Gut Microbiome: What we do and don't know. *Nutrition in Clinical Practise*, 30 (6), pp. 734-746.
- Cukrowska, B. *et al.* (2020). The Relationship between the Infant Gut Microbiota and Allergy. The Role of *Bifidobacterium breve* and Prebiotic Oligosaccharides in the Activation of Anti-Allergic Mechanisms in Early Life, *Nutrients*, 12 (4), article number 946.
- Curciarello, R. *et al.* (2019). Contribution of Non-immune Cells to Activation and Modulation of the Intestinal Inflammation. *Frontiers in Immunology*, 10, article number 647.
- D'Argenio, V. e Salvatore, F. (2015). The role of the gut microbiome in the healthy adult status. *Clinica Chimica Acta*, 451, pp. 97-102.
- Davenport, E. *et al.* (2017). The human microbiome in evolution. *BMC Biology*, 15 (127), article number 29282061.
- Dominguez-Bello M. G. *et al.* (2019). Role of microbiome in human development. *Gut*, 68, pp. 1108-1114.
- Dudek, R. K., Junka, A. e Bartoszewicz, M. (2018). The influence of antibiotics and dietary components on gut microbiota. *Gastroenterology Review*, 13 (2), pp. 85-92.
- Fattorusso, A. *et al.*, (2019). Autism Spectrum Disorders and the Gut Microbiota. *Nutrients*, 11 (3), article number 521.
- Fong, W., Li, Q. e Yu, J. (2020). Gut microbiota modulation: a novel strategy for prevention and treatment of colorectal cancer. *Oncogene*, 39 (26), pp. 4925-4943.
- Gallo, A. *et al.* (2016). Modulation of microbiota as treatment for intestinal inflammatory disorders: An update. *World Journal of Gastroenterology*, 22 (32), pp. 7186-7202.

- Gareau, M. G., Sherman, P. M. e Walker, W.A. (2010). Probiotics and the gut microbiota in intestinal health and disease. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 7 (9), pp. 503-514.
- Ghurye, J., Cepeda-Espinoza, V. e Pop, M. (2016). Metagenomic Assembly: Overview, Challenges and Applications. *Yale Journal of Biology and Medicine*, 89 (3), pp. 353-362.
- Gilbert, J. *et al.* (2018). Current understanding of the human microbiome. *Nature Medicine*, 24 (4), pp. 392-400.
- Goffau, M. *et al.* (2019). Human placenta has no microbiome but can contain potencial pathogens. *Nature*, 572, pp. 329-334.
- Gomes, A. C. *et al.* (2014). Gut microbiota, probiotics and diabetes. *Nutrition Journal*, 13 (60), article number 10.1186.
- Gorkiewicz, G. e Moschen, A. (2017). Gut microbiome: a new player in gastrointestinal disease. *Virchows Archiv*, 472, pp. 159-172.
- Grondin, J. A. *et al.* (2020). Mucins in Intestinal Mucosal Defense and Inflammation: Learning From Clinical and Experimental Studies. *Frontiers in Immunology*, article number 11:2054.
- Gurung, M. *et al.* (2020). Role of gut microbiota in type 2 diabetes pathology. *Ebiomedicine*, 51, article number 102590.
- Hermoso, M. A., MacDonald, T. T. e De La Fuente, M. K. (2020). *Intestinal Homeostasis and Disease: A Complex Partnership Immune Cells, Non-Immune Cells, and the Microbiome, Non-Immune Cells, and the Microbiome*. Lausanne, Frontiers Media S.A.
- Holscher, H. (2017). Dietary fiber and prebiotics and the gastrointestinal microbiota. *Gut microbes*, 8 (2), pp. 172-184.
- Ihekweazu, F. D. e Versalovic, J. (2018). Development of the Pediatric Gut Microbiome: Impact on Health and Disease. *The American Journal of the Medical Sciences*, 356 (5), pp. 413-423.
- Johansson, M. E. e Hansson, G. (2016). Immunological aspects of intestinal mucus and mucins. *Nature Reviews Immunology*, 16 (10), pp. 639-649.
- Johansson, M. E., Sjövall, H. e Hansson, G. (2013). The gastrointestinal mucus system in health and disease. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 10 (6), pp. 352-361.

- Johnson, E. *et al.* (2017). Microbiome and metabolic disease: revisiting the bacterial phylum Bacteroidetes. *Journal of Molecular Medicine (Berlim, Germany)*, 95 (1), pp. 1-8.
- Kåhrström, C., Pariente, N. e Weiss, U. (2016). Intestinal microbiota in health and disease. *Nature*, 535, pp. 47.
- Kataoka, K. (2016). The intestinal microbiota and its role in human health and disease. *The Journal of Medical Investigation*, 63 (1.2), pp. 27-37.
- Khan, I. *et al.* (2019). Alteration of Gut Microbiota in Inflammatory Bowel Disease (IBD): Cause or Consequence? IBD Treatment Targeting the Gut Microbiome. *Pathogens*, 8 (3), article number 126.
- Kim, J. J. e Khan, W. L. (2013). Goblet Cells and Mucins: Role in Innate Defense in Enteric Infections. *Pathogens*, 2 (1), pp. 55-70.
- Kim, S. e Jazwinski, S. M. (2018). The gut microbiota and healthy aging. *Gerontology*, 64 (6), pp. 513-520.
- Knudsen, K. E *et al.* (2018). Impact of Diet-Modulated Butyrate Production on Intestinal Barrier Function and Inflammation. *Nutrients*, 10 (10), article number 1499.
- Kump, P. e Högenauer, C. (2016). Any Future for Fecal Microbiota Transplantation as Treatment Strategy for Inflammatory Bowel Diseases? *Digestive Diseases*, 34 (1), pp. 74-81.
- Kundu, P. *et al.* (2017). Our Gut Microbiome: The Evolving Inner Self. *Cell*, 171 (7), pp. 1481-1493.
- Kuratsu, M., Hamano, Y. e Dairi, T. (2010). Analysis of the Lactobacillus metabolic pathway. *Applied and Environmental Microbiology*, 76 (21), pp. 7299-7301.
- Lacob, S. e Lacob D. G. (2019). Infectious Threats, the Intestinal Barrier, and Its Trojan Horse: Dysbiosis. *Frontiers in Microbiology*, 10, article number 10.3389.
- Lakes, J., Richards, C. e Flythe, M. (2020). Inhibition of Bacteroidetes and Firmicutes by select phytochemicals. *Anaerobe*, 61, article number 102145.
- Lebeer, S., Vanderley, J. e Keersmaecker, S. (2008). Genes and Molecules of Lactobacilli Supporting Probiotic Action. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 72 (4), pp. 728-764.

- Lloyd-Price, J., Abu-Ali, G. e Huttenhower, C. (2016). The healthy human microbiome. *Genome Medicine*, 8 (51), article number 27122046.
- Lynch, S. (2016). Gut Microbiota and Allergic Disease. New Insights. *Annals of the American Thoracic Society*, 13 (1), pp. 51-54.
- Lupp, C. *et al.*, (2007). Host-Mediated Inflammation Disrupts the Intestinal Microbiota and Promotes the Overgrowth of Enterobacteriaceae. *Cell Host & Microbe*, 2 (2), pp. 119-129.
- Ma, J., Zhou, Q. e Li, H. (2017). Gut Microbiota and Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Insights on Mechanisms and Therapy. *Nutrients*, 9 (10), article number 1124.
- Malla, M. *et al.* (2018). Exploring the Human Microbiome: The Potential Future Role of Next-Generation Sequencing in Disease Diagnosis and Treatment. *Frontiers in Immunology*, 9 (2868), article number 30666248.
- Mangiola, F. *et al.* (2016). Gut microbiota in autism and mood disorder. *World Journal of Gastroenterology*, 22 (1), pp. 361-368.
- Markowiak, P. e Slizewska, K. (2017). Effects of Probiotics, Prebiotics, and Synbiotics on Human Health. *Nutrients*, 9 (9), article number 1021.
- Martin, A. M. *et al.* (2019). The Influence of the Gut Microbiome on Host Metabolism Through the Regulation of Gut Hormone Release. *Frontiers in Physiology*, 10, article number 428.
- McDonald, D., Birmingham, A. e Knight, R. (2015). Context and the human microbiome. *Microbiome*, 3, article number 52.
- Mercier-Bonin, M. e Chapot-Chartier, M. (2017). Surface Proteins of *Lactococcus lactis*: Bacterial Resources for Muco-adhesion in the Gastrointestinal Tract. *Frontiers in Microbiology*, 8, article number 2247.
- Milani, C. *et al.* (2017). The First Microbial Colonizers of the Human Gut: Composition, Activities, and Health Implications of the Infant Gut Microbiota. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 81 (4), article number 00036-17.
- Mohajeri, M. H. *et al.* (2018). The role of the microbiome for human health: from basic science to clinical applications. *European Journal of Nutrition* , 57 (1), pp. 1-14.

- Moszak, M., Szulińska, M. e Bogdański, P. (2020). You Are What You Eat – The Relationship between Diet, Microbiota, and Metabolic Disorders – A Review. *Nutrients*, 12 (4).
- Nance, C. L. *et al.* (2020). The Role of the Microbiome in Food Allergy: A Review. *Children*, 7 (6), article number 50.
- Novakovic, M. *et al.* (2020). Role of gut microbiota in cardiovascular diseases. *World Journal of Cardiology*, 12 (4), pp. 110-160.
- O'Hara, A. M. e Shanahan, F. (2006). The gut flora as a forgotten organ. *EMBO Reports*, 7 (7), pp. 688-693.
- Ohno, H. (2016). Intestinal M cells. *Journal of Biochemistry*, 159 (2), pp. 151-160.
- Onali, S., Favale, A. e Fantini, M. (2019). The Resolution of Intestinal Inflammation: The Peace-Keeper's Perspective. *Cells*, 8 (4), article number 344.
- Organização Mundial da Saúde. [Em linha]. Disponível em: <https://www.who.int/pt/publications/pt/>. [Consultado em 20 de Dezembro de 2020].
- Pais, P., *et al.* (2020). *Saccharomyces boulardii*: What Makes It Tick as Successful Probiotic?. *Journal of Fungi*, 6 (2), article number 78.
- Peláez, C. e Requena, T. (2017). *Qué Sabemos de? La microbiota intestinal*. Madrid, CSIC.
- Perez-Muñoz, M. E. *et al.* (2017). A critical assessment of the “sterile womb” and “in utero colonization” hypotheses: implications for research on the pioneer infant microbiome. *Microbiome*, 5, article number 48.
- Petersen, C. e Round, J. L. (2014). Defining dysbiosis and its influence on host immunity and disease. *Cellular Microbiology*, 16 (7), pp. 1024-1033.
- Pickard, J. M. *et al.* (2017). Gut Microbiota: Role in Pathogen Colonization, Immune Responses and Inflammatory Disease. *Immunological Reviews*, 279 (1), pp. 70-89.
- Pizzorno, J. E., Murray, M. T. e Joiner-Bey, H. (2016). *The Clinician's Handbook of Natural Medicine*. Third Edition. Missouri, Elsevier.
- Raskov, H. *et al.*, (2016). Irritable bowel syndrome, the microbiota and the gut-brain axis. *Gut Microbiomes*, 7 (5), pp. 365-383.

- Reddel, S., Putignani, L. e Chierico, F. (2019). The Impact of Low-FODMAPs, Gluten-Free, and Ketogenic Diets on Gut Microbiota Modulation in Pathological Conditions. *Nutrients*, 11 (2), pp. 373.
- Rinniella, E. *et al.* (2019). What is the Healthy Gut Microbiota Composition? A Changing Ecosystem across Age, Environment, Diet, and Diseases. *Microorganisms*, 7 (1), pp.14.
- Rodiño-Janeiro, B. K. *et al.*, (2018). A Review of Microbiota and Irritable Bowel Syndrome: Future in Therapies. *Advances in Therapy*, 35 (3), pp. 289-310.
- Rodríguez, J. M. *et al.* (2015). The composition of the gut microbiota throughout life, with an emphasis on early life. *Microbial Ecology in Health and Disease*, 26, article number 26050.
- Round, J. e Mazmanian, S. (2014). The gut microbiome shapes intestinal immune responses during health and disease. *Nature Reviews Immunology*, 9 (5), pp. 313-323.
- Sanchez- Rodriguez, E. *et al.*(2020). The Gut Microbiota and Its Implication in the Development of Atherosclerosis and Related Cardiovascular Diseases. *Nutrients*, 12 (3), article number 605.
- Sánchez-Tapia, M., Tovar, A. R. e Torres, N. (2019). Diet as Regulator of Gut Microbiota and its Role in Health and Disease. *Archives of Medical Research*, 50 (5), pp. 259-268.
- Sarkar, A. e Mandal, S. (2016). Bifidobacteria – Insight into clinical outcomes and mechanisms of its probiotic action. *Microbiological Research*, 192, pp. 159-171.
- Schepper, J. *et al.* (2017). Probiotics in gut-bone signaling. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 1033, pp. 225-247.
- Schiffrin, E. J., Marteau, P. e Brassart, D. (2014). *Intestinal Microbiota in Health and Disease: Modern Concepts*. New York, CRC Press.
- Schmidt, T., Raes, J. e Bork, P. (2018). The Human Gut Microbiome: From Association to Modulation. *Cell*, 172 (6), pp. 1198-1215.
- Schnorr, S. *et al.* (2016). Insights into human evolution from ancient and contemporary microbiome studies. *Curr Opin Genet Dev.*, 41, pp. 14-26.
- Shi, N. *et al.* (2017). Interaction between the gut microbiome and mucosal immune system. *Military Medical Research*, 4 (14), article number 28465831.
- Sidhu, M. (2017). The gut microbiome. *Advances in physiology*, 46 (4), pp. 206-2011.

- Sidhu, M. e Poorten, D. (2017). The gut microbiome. *Advances in physiology*, 46 (4), pp. 206-211.
- Solé, D. *et al.*, (2018). Consenso Brasileiro sobre Alergia Alimentar: 2018 – Parte 1 – Etiopatogenia, clínica e diagnóstico. *Arquivos de Asma, Alergia e Imunologia*, 2 (1), artigo especial.
- Sommer, F. *et al.* (2017). The resilience of the intestinal microbiota influences health and disease. *Nature Reviews Microbiology*. 15, pp. 630-638.
- Tanaka, M. e Nakayama, J. (2017). Development of the gut microbiota in infancy and its impact on health in later life. *Japanese Society of Allergology*, 66 (4), pp. 515-522.
- Tang, W. H., Kitai, T. e Hazen, S. (2017). Gut Microbiota in Cardiovascular Health and Disease. *Circulation Research*, 120 (7), pp. 1183-1196.
- Tolefree, J. A. *et al.* (2019). Alcoholic liver disease and mast cells: What's your gut got to do with it?. *Liver Research*, 3 (1), pp. 46-54.
- Toor, D. *et al.* (2019). Dysbiosis Disrupts Gut Immune Homeostasis and Promotes Gastric Diseases. *International Journal of molecular Sciences*, 20 (10), article number 2432.
- Tsai, Y. *et al.* (2019). Probiotics, prebiotics and amelioration of diseases. *Journal of Biomedical Science*, 26, pp. 3.
- Turrone, F. *et al.* (2014). *Bifidobacterium bifidum* as an example of a specialized human gut commensal. *Frontiers in Microbiology*, 5, article number 437.
- Valdes, A. V. *et al.* (2018). Role of the gut microbiota in nutrition and health. *Science and Politics of Nutrition*, 361, article number k2179.
- Veauthier, B. e Hornecker, J. R. (2018). Crohn's Disease: Diagnosis and management. *American Family Physician*, 98 (11), pp. 661-669.
- Vemuri, R. *et al.* (2018). Gut Microbial Changes, Interactions, and Their Implications on Human Lifecycle: An Ageing Perspective. *BioMed Research International*, article number 4178607.
- Wang, F. e Roy, S. (2017). Gut Homeostasis, Microbial Dysbiosis, and Opioids. *Toxicological Pathology*, 45 (1), pp. 150-156.

- Wang, W. *et al.* (2015). Application of metagenomics in the human gut microbiome. *World Journal of Gastroenterology*, 21 (3), pp. 803-814.
- Weaver, C. (2015). Diet, Gut Microbiome, and Bone Health. *Current Osteoporosis Report*, 13 (2), pp. 125-130.
- Weis, G. A. e Hennet, T. (2017). Mechanisms and consequences of intestinal dysbiosis. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 74, pp. 2959-2977.
- Woldeamlak, B., Yirdaw, K. e Biadgo, B. (2019). Role of Gut Microbiota in Type 2 Diabetes Mellitus and Its Complications: Novel Insights and Potential Intervention Strategies. *The Korean Journal of Gastroenterology*, 74 (6), pp. 314-320.
- Yang, Q. *et al.* (2020). Role of Dietary Nutrients in the Modulation of Gut Microbiota: A Narrative Review. *Nutrients*, 12 (2), article number 381.
- Zeng, M., Inohara, N., Nuñez, G. (2017). Mechanisms of inflammation – driven bacterial dysbiosis in the gut. *Mucosal Immunology*, 10 (1), pp. 18-26.
- Zotta, T., Parente, E. e Ricciardi, A. (2017). Aerobic metabolismo in the genus *Lactobacillus*: impact on stress response and potential applications in the food industry. *Journal of Applied Microbiology*, article number 13399.