

Telma Sofia Moreira Ribeiro

O papel do Microbioma Humano na saúde e na doença

Faculdade Ciências da Saúde

Universidade Fernando Pessoa

Porto, 2020

Telma Sofia Moreira Ribeiro

O papel do Microbioma Humano na saúde e na doença

Faculdade Ciências da Saúde

Universidade Fernando Pessoa

Porto, 2020

Telma Sofia Moreira Ribeiro

O papel do Microbioma Humano na saúde e na doença

Trabalho apresentado à Universidade Fernando Pessoa

como parte dos requisitos para obtenção de

grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Telma Sofia Moreira Ribeiro

RESUMO

O termo microbioma foi pela primeira vez introduzido, no ano 2000, pelo Biólogo Joshua Lederberg para definir a comunidade ambiental e biológica de microrganismos comensais, simbióticos e patogênicos que partilham o corpo humano. A composição do microbioma humano tem sido desvendada ao ritmo a que despontam métodos de investigação progressivamente mais elaborados e capazes. Estes métodos têm comprovado e realçado a sua influência no estado de saúde ou disbiose no Homem.

Esta dissertação aborda, através de uma revisão bibliográfica atual, o papel do microbioma na saúde humana e a sua responsabilidade no desenvolvimento de patologias locais e sistémicas, tais como, acne, vaginose bacteriana, doenças orais e intestinais e distúrbios metabólicos e neurológicos. Adicionalmente, são abordadas potenciais estratégias terapêuticas assentes na recuperação do microbioma saudável, nomeadamente, a utilização de probióticos, prebióticos e o transplante fecal.

Palavras-chave: Microbioma Humano, Microbiota, Disbiose, Projeto Microbioma Humano

ABSTRACT

The term human microbiome was first introduced, in 2000, by the Biologist Joshua Lederberg to define the environmental and biological community of commensal symbiotic and pathogenic microorganisms that share the human body. The composition of the human microbiome has been continuously unveiled as more and more elaborate and capable research methods are emerging. These methods have proven and enhanced its influence on man's health condition or dysbiosis.

This dissertation addresses, in the light of current knowledge, the role of the microbiome for human health and its responsibility in the development of local and systemic pathologies, such as acne, bacterial vaginosis, oral and intestinal diseases and metabolic and neurological disorders. In addition, potential therapeutic strategies based on the recovery of the healthy microbiome are addressed, namely, the use of probiotics, prebiotics and fecal transplantation.

Keywords: Human Microbiome, Microbiota, Dysbiosis, Human Microbiome Project.

AGRADECIMENTOS

A elaboração desta dissertação de mestrado só foi possível devido ao apoio de várias pessoas, a quem gostaria de agradecer.

À Professora Doutora Cristina Pina, porque sempre procurou mostrar-me um rumo, de cada vez que me perdia.

Aos meus irmãos e à Mafalda por estarem presentes em todos os momentos, especialmente nos mais difíceis.

Aos meus amigos, em especial ao Ivo e à Juliana, pelo apoio e pelos conselhos valiosos.

Ao Jorge, que é tão importante na minha vida e que acredita tanto em mim. Sempre mais do que eu.

E, por fim, àqueles que são para mim um exemplo – os meus pais. Por todo o amor e pela paciência infinita. A eles dedico esta dissertação, porque sem eles seria tudo mais difícil.

ÍNDICE

RESUMO	v
ABSTRACT	vi
AGRADECIMENTOS	vii
ÍNDICE DE FIGURAS	x
ÍNDICE DE SIGLAS E ABREVIATURAS	xi
I. INTRODUÇÃO	1
II. DESENVOLVIMENTO	3
1. Microbioma Humano.....	3
i. Aquisição e evolução do microbioma humano	4
ii. As diferentes microbiotas.....	11
a. Microbiota do trato urogenital feminino.....	13
b. Microbiota da Pele.....	15
c. Microbiota da cavidade oral	16
d. Microbiota do trato gastrointestinal.....	18
2. O papel do microbioma na saúde	20
3. O papel do microbioma na doença	23
i. Vaginose Bacteriana.....	24
ii. Acne	26
iii. Doenças da cavidade oral.....	27
iv. Doenças intestinais	28

v. Obesidade e diabetes mellitus tipo 2	32
vi. Doenças cardiovasculares.....	36
vii. Distúrbios neurológicas.....	37
4. Potencial da modelação do microbioma na terapêutica	40
III. CONCLUSÃO.....	43
BIBLIOGRAFIA	44

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1- Esquema representativo das diferentes teorias acerca da forma como o microbioma é adquirido (Perez-Munoz <i>et al.</i> , 2017).....	5
Figura 2- Fatores que influenciam o microbioma humano (Tamburini, <i>et al.</i> , 2016).....	7
Figura 3- Representação gráfica da constituição do microbioma humano. Baseado nos dados apresentados em Ferrer <i>et al.</i> , 2017.	12
Figura 4- Representação gráfica do total de amostras recolhidas por local, no âmbito do Projeto do Microbioma Humano. Disponível em <portal.hmpdacc.org>. Consultado em 01.09.2020.	12
Figura 5- Funções da microbiota vaginal. Adaptado de Appanna, 2017.	14
Figura 6- O papel do microbioma na saúde (Jones <i>et al.</i> , 2014).....	21
Figura 7- Diferenças entre a microbiota intestinal saudável e a microbiota intestinal característica das doenças inflamatórias intestinais (Khan <i>et al.</i> , 2019).	31
Figura 8- O sistema imune como intermediário da comunicação entre a microbiota intestinal e o eixo hipotalâmico - pituitário - adrenocortical (Cussotto <i>et al.</i> , 2018).....	32
Figura 9- Relação entre a disbiose intestinal e a obesidade (Villanueva-Millan, Perez-Matute e Oteo, 2015).....	35
Figura 10- Contribuição da microbiota intestinal no desenvolvimento da doença de Parkinson (Troncoso-Escudero <i>et al.</i> , 2018).	39

ÍNDICE DE SIGLAS E ABREVIATURAS

5-HT	Serotonina
ACTH	<i>Adrenocorticotropic hormone</i> (Adrenocorticotrofina)
AIEC	<i>Adherent-invasive Escherichia Coli</i> (<i>Escherichia coli</i> Aderente-Invasiva)
AMPs	<i>Antimicrobial peptides</i> (Péptidos antimicrobianos)
BHE	Barreira hematoencefálica
CAZymes	<i>Carbohydrate-Active Enzymes</i> (Enzimas ativas em hidratos de carbono)
CB1	<i>Cannabinoid receptor type 1</i> (Recetor canabinoide tipo 1)
CD36	<i>Cluster of differentiation 36</i> (Grupo de diferenciação 36)
CRH	<i>Corticotropin-Releasing Hormone</i> (Hormona Libertadora de Corticotropina)
ESP	<i>Extracellular serine protease</i> (serino-protease extracelular)
FIAF	<i>Fasting-induced adipocyte factor</i> (fator adiposo induzido pelo jejum)
GABA	<i>Gamma-AminoButyric Acid</i> (Ácido Gama-Aminobutírico)
GLP-1	<i>Glucagon -Like Peptide -1</i> (Péptido semelhante ao glucagon 1)
GPRs	<i>G-protein-coupled receptors</i> (Recetores acoplados à proteína G)
HMO	<i>Human Milk Oligosaccharides</i> (Oligossacarídeos do leite humano)
HMP	<i>Human Microbiome Project</i> (Projeto do Microbioma Humano)
HPA	<i>Hypothalamic-Pituitary-Adrenocortical Axis</i> (Eixo Hipotalâmico-Pituitário-Adrenocortical)
IBDs	<i>Inflammatory Bowel Diseases</i> (Doenças Inflamatórias Intestinais)

IgA1	Imunoglobulina A1
IL	Interleucinas
LDL	<i>Low Density Lipoprotein</i> (Lipoproteína de baixa densidade)
LPL	<i>Lipoprotein Lipase</i> (Lipase Lipoproteica)
LPS	<i>Lipopolysaccharide</i> (Lipopolissacarídeo)
MBP	Microbiota da pele
MetaHIT	<i>Metagenomics of the Human Intestinal Tract</i> (Projeto Metagenómica do Trato Intestinal Humano)
mRNA	<i>Messenger Ribonucleic Acid</i> (Ácido Ribonucleico Mensageiro)
NGPs	<i>New Generation Probiotics</i> (Probióticos de Nova Geração)
rRNA	<i>Ribosomal Ribonucleic Acid</i> (Ácido Ribonucleico Ribossômico)
SCFAs	<i>Short-chain fatty acids</i> (Ácidos gordos de cadeia curta)
SRA	<i>Class A Scavenger receptor</i> (Recetores Sequestradores Classe A)
TGI	Trato Gastrointestinal
TGR-5	<i>G-protein-coupled bile acid receptor</i> (Recetores de ácidos biliares acoplados à proteína G)
Th17	<i>T helper 17 cells</i> (Células T auxiliares 17)
TLR	<i>Toll-Like Receptors</i> (receptores do tipo Toll)
TMA	<i>Trimethylamine</i> (Trimetilamina)
TMAO	<i>Trimethylamine N-oxide</i> (N-óxido de trimetilamina)
TNF- α	<i>Tumor necrosis factor alpha</i> (Factor de necrose tumoral alfa)
Treg	<i>Regulatory T cells</i> (Células T regulatórias)

I. INTRODUÇÃO

O termo microbioma foi pela primeira vez introduzido, no ano 2000, pelo Biólogo Joshua Lederberg, para definir a comunidade ambiental e biológica de microrganismos comensais, simbióticos e patogênicos que partilham o corpo humano (Thomas *et al.*, 2017; Haque e Haque, 2017). Desde então, tem sido utilizado por muitos autores como sinónimo de microbiota - conjunto de células microbianas presentes num determinado nicho (Zegans e Van Gelder, 2014; Davenport *et al.*, 2017). Na realidade, o conceito de microbioma transcende o de microbiota, pois engloba a relação entre os microrganismos e o hospedeiro, através dos seus genomas, transcriptomas, proteomas e metabolomas (Mimica, 2017).

A existência de um microbioma que interage com o *Homo sapiens*, desempenhando um papel fulcral no seu desenvolvimento, é atualmente uma certeza. No entanto, o mundo da microbiologia permaneceu oculto durante muito tempo, sendo revelado no século XVII pelo engenho de um naturalista holandês, Antonie Van Leeuwenhoek, que, entre outros ofícios, era também um construtor de microscópios. Leeuwenhoek observou e descreveu cinco tipos de bactérias presentes na sua boca e, posteriormente, comparou a sua microbiota oral com a fecal, confirmando que eram distintas. Contudo, a descoberta destes “animálculos” pelo naturalista Holandês não conquistou na altura a devida atenção e apenas cerca de dois séculos mais tarde ressurgiu o interesse nesta área do conhecimento (Ursell *et al.*, 2012; Pariente, 2019).

No século XIX, o trabalho de Louis Pasteur, que se destacou na área da Microbiologia ao descobrir o processo de fermentação e ao desenvolver a pasteurização, e de Robert Koch, responsável pela descoberta do *Bacillus anthracis* e pela sua associação ao carbúnculo, veio lançar um alerta acerca da relação entre microrganismos e doenças. Os microrganismos ficaram assim com uma conotação negativa e o desenvolvimento de métodos de identificação e eliminação dos mesmos tornou-se uma prioridade. Paralelamente, foram identificadas outras bactérias responsáveis por doenças muitas vezes fatais, como o *Mycobacterium leprae* (lepra) e a *Yersinia pestis* (peste), reforçando a ideia de que os microrganismos eram um alvo a abater (Appanna, 2017).

O desenvolvimento de novos métodos de análise do microbioma tem permitido explorar o papel dos microrganismos não só no surgimento de doenças, mas também na manutenção da saúde do indivíduo. Esta mudança de paradigma, na qual os microrganismos passam de vilões a seres imprescindíveis à vida, tem despertado interesse e tem transformado o modo como estes seres vivos são analisados (Chu *et al.*, 2019; Gevers *et al.*, 2012).

Desta forma, tendo em consideração o conhecimento científico evolutivo sobre o microbioma humano, o objetivo desta dissertação é perceber, por um lado, de que modo o microbioma interage com o ser humano tornando-se fundamental para o desempenho de inúmeras das suas funções e para a sua sobrevivência, e, por outro, compreender até que ponto desequilíbrios nesta interação podem pôr em causa a saúde. Pretende-se, através de uma revisão bibliográfica atual, compreender o papel do microbioma humano na saúde e na doença e entender de que modo este conhecimento pode culminar no desenvolvimento de estratégias de prevenção e tratamento de diversas patologias.

A metodologia para a elaboração desta dissertação baseou-se na pesquisa bibliográfica em livros científicos e em bases de dados eletrónicas, nomeadamente, *Pubmed*, *Science direct* e *b-on*. Para tal, foram inicialmente utilizados conceitos gerais (Microbiome, Microbiota, Dysbiosis, Human Microbiome Project), seguindo-se o refinamento da pesquisa através da associação dos seguintes termos: human microbiome and health, human microbiome and disease, microbiome and dysbiosis, human microbiome, probiotics and prebiotics.

A pesquisa foi efetuada entre Outubro de 2019 e Setembro de 2020, restringindo-se a publicações dos últimos 10 anos, da literatura científica de elevada qualidade. Foram selecionados artigos publicados na Língua Inglesa e Portuguesa.

II. DESENVOLVIMENTO

1. Microbioma Humano

Compondo entre 1% a 3 % da massa corporal do indivíduo, o microbioma, também intitulado como “órgão esquecido”, tem vindo a ser desvendado ao longo dos últimos anos (Appanna, 2017; Sender, Fuchs e Milo, 2016).

Se, inicialmente, a ideia de que o ser humano possui cerca de dez vezes mais células microbianas do que humanas era citada pela maioria dos autores, recentemente, este rácio tem sido criticado e valores mais modestos (1.3) têm sido estimados (Scharschmidt e Fischbach, 2013; Sender, Fuchs e Milo, 2016). Ainda assim, esta redução em nada diminui a importância que o microbioma exerce no estado de saúde do indivíduo, até porque, o número de genes que o constituem (cerca de sete milhões) ultrapassa copiosamente o número de genes humanos (vinte e sete mil) (Arnold *et al.*, 2019).

No século XIX, Robert Koch desenvolveu uma forma de cultivar e isolar o agente causador do carbúnculo (*Bacillus anthracis*). Desde então, as culturas tornaram-se o maior aliado para a identificação e caracterização de bactérias. Todavia, muitas vezes, estes métodos ficam aquém, mostrando-se inadequados ao crescimento de muitos dos microrganismos que integram o microbioma humano (Meisel e Grice, 2016).

O desenvolvimento de métodos independentes de cultura contribuiu significativamente para a expansão do conhecimento nesta área. Um dos métodos mais utilizados é o sequenciamento do gene que codifica o ácido ribonucleico ribossómico 16S (*Ribosomal ribonucleic acid*, rRNA), presente na subunidade 30S dos ribossomas procarióticos, um gene que contém regiões variáveis e conservadas e que é comum a todas as bactérias. Enquanto as regiões variáveis são essenciais para o estabelecimento de relações filogenéticas, as regiões conservadas possibilitam o desenvolvimento de *primers* (Arnold *et al.*, 2019; Thursby e Juge, 2017). Este método permite a caracterização fácil de comunidades bacterianas complexas, sendo que, quanto mais próximas as espécies, mais semelhantes as sequências. Da mesma maneira que bactérias e arqueias podem ser identificadas e classificadas com base neste gene, outros elementos são utilizados na classificação de fungos, nomeadamente, o gene que codifica o rRNA 18S e regiões do

espaçador interno transcrito. Contudo, a necessidade de métodos mais capazes na identificação dos constituintes não bacterianos do microbioma é consensual (Meisel e Grice, 2016).

Em 2007, nos Estados Unidos, foi lançado o Projeto do Microbioma Humano (Human Microbiome Project, HMP), a primeira grande iniciativa, levada a cabo pelo *National Institute of Health*, com a finalidade de identificar e caracterizar o microbioma e compreender qual a sua influência na saúde e na doença (Gevers *et al.*, 2012; NIH, 2012). O HMP surgiu como uma extensão do Projeto do Genoma Humano e dedicou-se, numa fase inicial, à análise do microbioma da pele, nariz, cavidade oral, trato gastrointestinal e vagina de indivíduos saudáveis. O objetivo seria caracterizar o microbioma do indivíduo saudável (core microbiome), de forma a que, posteriormente, fosse possível associar alterações na sua composição a estados patológicos e, naturalmente, intervir (Gevers *et al.*, 2012). Os resultados demonstraram que cada ser humano possui um microbioma único, como se de uma impressão digital se tratasse (Appanna, 2017). Este é constituído por triliões de microrganismos, sendo a sua composição afetada por diversos fatores, como a idade, o sexo, a geografia, a etnia, a dieta, a interação social e a administração de antibióticos (Mesnage *et al.*, 2018; Tamburini *et al.*, 2016). Existem ainda muitas incertezas acerca de qual o momento exato em que o microbioma é adquirido e de que forma este evolui com o indivíduo, no entanto, à medida que surgem novos métodos de investigação, surgem também mais respostas (Rehbinder *et al.*, 2018; Perez-Munoz *et al.*, 2017).

i. Aquisição e evolução do microbioma humano

Até ao final do século passado, afirmava-se que o feto crescia num ambiente estéril, sendo colonizado de forma diferencial no momento do parto (vaginal ou cesariana). Contudo, dados mais recentes, provenientes das novas tecnologias de investigação do microbioma, parecem refutar esta teoria, e a ideia de que o indivíduo é colonizado ainda antes do nascimento (durante a gestação) tem ganho cada vez mais destaque (Perez-Munoz *et al.*, 2017).

A Figura 1 representa o modo como se prevê que o microbioma seja adquirido de acordo com as duas teorias.

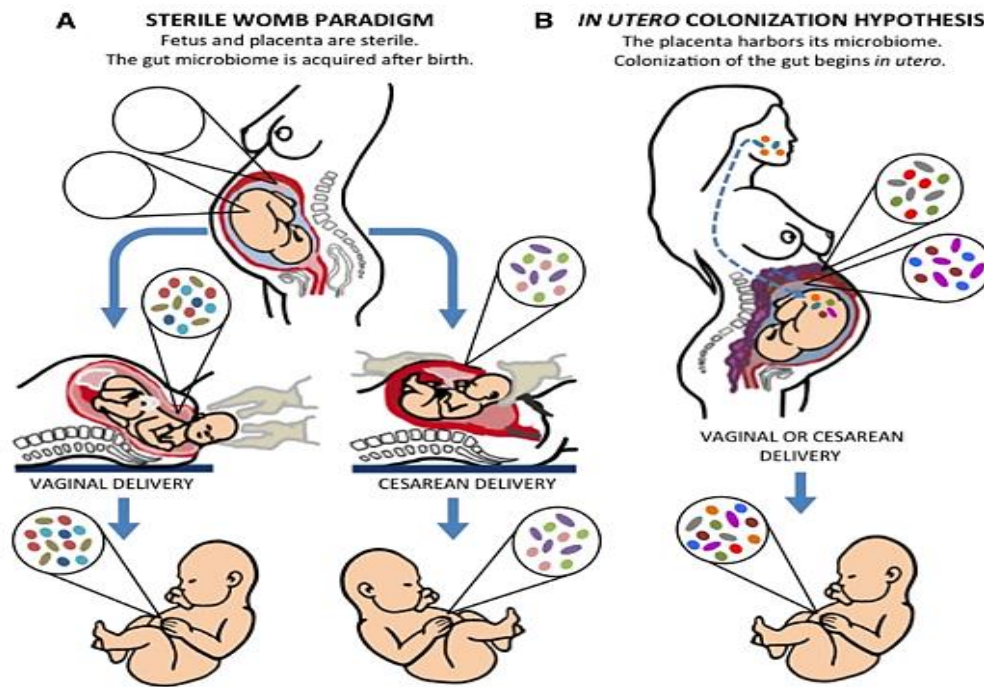


Figura 1- Esquema representativo das diferentes teorias acerca da forma como o microbioma é adquirido (Perez-Munoz *et al.*, 2017).

O estudo do microbioma tem revelado a presença de microrganismos em estruturas que antes se julgavam estéreis, como é o caso do útero, da placenta, do cordão umbilical, do líquido amniótico, das trompas de Falópio, do córion, do âmnio e do próprio feto. Baseada nestes novos dados, tem sido equacionada a possibilidade do feto se desenvolver em função dos sinais emitidos pelo microbioma, ou seja, a possibilidade do microbioma influenciar inclusive o modo como os órgãos e os sistemas biológicos do ser humano se desenvolvem (Chu *et al.*, 2019).

A descoberta de que a microbiota do mecônio do neonato (primeiras fezes do recém-nascido) é semelhante à da placenta da mãe, parece confirmar a transferência de elementos do microbioma ainda no útero (Dong e Gupta, 2019; Lavelle e Hill, 2019).

Alguns investigadores têm-se mantido, ainda assim, fiéis à hipótese do útero estéril, defendendo que os microrganismos identificados nas estruturas previamente citadas não são mais do que meros contaminantes. Na realidade, a detecção de pequenas quantidades de contaminantes em alguns reagentes pode não ter um grande impacto quando se estudam amostras como por exemplo fezes, mas no que respeita ao estudo de amostras

teoricamente estéreis ou, pelo menos, com quantidades muito pequenas de microrganismos pode fazer toda a diferença (Stinson *et al.*, 2019; Bushman, 2019).

O facto de se ter estudado e comprovado que é possível a geração de neonatos estéreis em diferentes mamíferos, desde que o parto decorra em condições de esterilidade (cesariana) e o neonato permaneça nessas mesmas condições, parece igualmente contrariar a existência de um microbioma fetal, uma vez que os progenitores possuem um microbioma normal, e, portanto, o que distingue estes neonatos dos restantes são as condições de esterilidade nas quais são concebidos e mantidos (Bushman, 2019).

Assim, as dúvidas acerca da colonização / contaminação do feto mantêm-se, sendo necessários mais estudos para que se consigam tecer conclusões definitivas acerca desta matéria (Dong e Gupta, 2019).

Se o momento em que o microbioma é adquirido é ainda uma incerteza, a influência do tipo de parto na sua composição dispõe de maior consenso. Durante a gravidez, a microbiota vaginal da mãe sofre alterações, tornando-se menos diversa e caracterizando-se especialmente por algumas espécies de *Lactobacillus*, especialmente, *L. crispatus* e *L. iners* (Jovel *et al.*, 2018). Este género, juntamente com *Prevotella*, predomina em bebés que nascem por parto vaginal e que, naturalmente, apresentam uma microbiota semelhante à da vagina da mãe. Já bebés que nascem através de cesariana possuem uma microbiota mais parecida com a da pele da mãe, dominando géneros como *Staphylococcus* (Walker *et al.*, 2017; Albenberg e Wu, 2014). Neste último caso, verifica-se também o predomínio de anaeróbios facultativos (microrganismos que influenciam negativamente a saúde do indivíduo) (Tamburini *et al.*, 2016).

Como será explorado posteriormente nesta dissertação, as diferenças nos microrganismos que constituem o microbioma serão responsáveis por uma maior ou menor propensão para determinadas patologias.

O microbioma é, então, em grande parte herdado da mãe. Contudo, o ambiente exerce também um papel fundamental e seletivo na sua composição, sendo que, apenas os microrganismos com capacidade de adaptação a uma determinada parte do corpo vingam (Korpela e de Vos, 2018). Do mesmo modo, os primeiros microrganismos a colonizarem o recém-nascido influenciam o crescimento das restantes espécies, na medida em que, os

pioneiros alteram as características dos nichos que ocupam, através da produção e secreção de diferentes produtos metabólicos (Sampaio-Maia *et al.*, 2016).

No momento do nascimento, o recém-nascido depara-se com um ambiente completamente diferente daquele que conhecia no útero, no que concerne à abundância de microrganismos. O simples facto de nascer em casa ou no hospital faz com que fique exposto a microrganismos distintos, e que, portanto, o seu microbioma evolua em sentidos diferentes. Também as suas interações sociais, o facto de conviver ou não com animais de estimação, os brinquedos com que se entretém, os antibióticos que lhe são administrados e a dieta que segue, influenciam a evolução do seu microbioma (Appanna, 2017).

A figura 2 representa a evolução do microbioma ao longo do tempo. Como se pode observar, o microbioma vai-se moldando e adaptando a diversos fatores, tornando-se mais estável a partir dos 3 anos de idade, altura em que se assemelha ao do adulto (Tamburini *et al.*, 2016; Chu *et al.*, 2019).

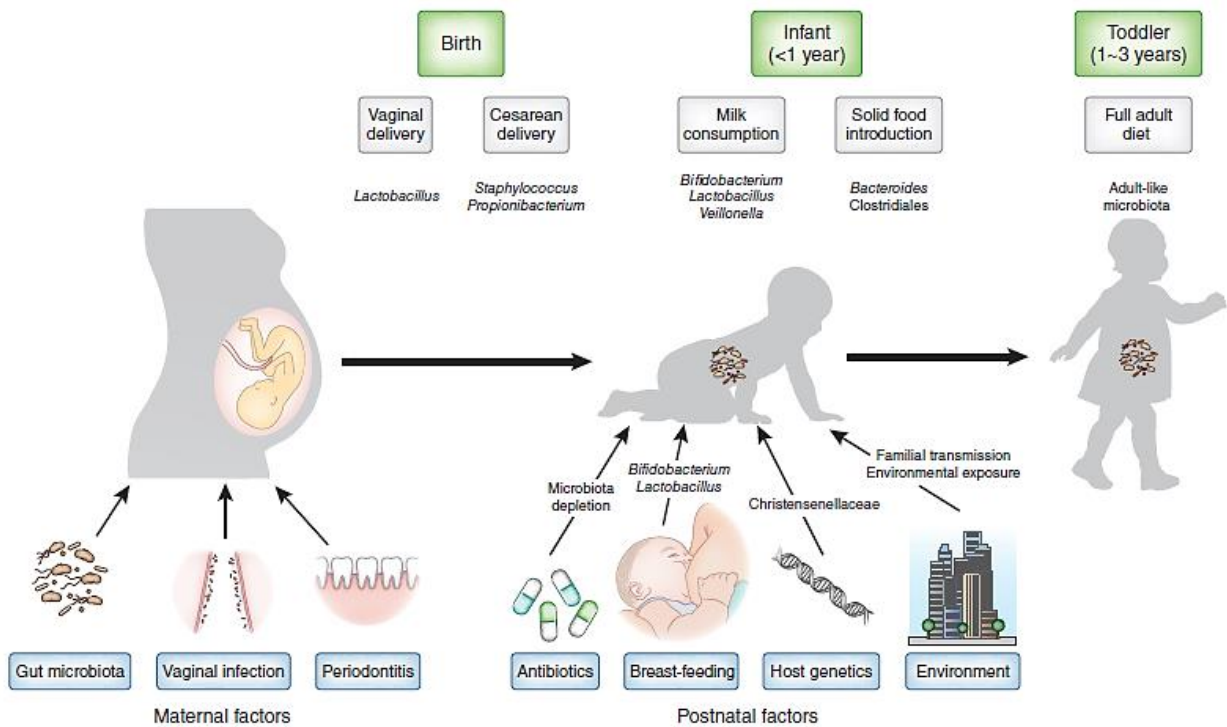


Figura 2- Fatores que influenciam o microbioma humano (Tamburini, *et al.*, 2016).

A dieta é um dos fatores que influencia de forma significativa a evolução do microbioma. Algo tão trivial como o facto do recém-nascido ser alimentado através de leite de fórmula ou leite materno faz toda a diferença na sua composição. Os bebés que são amamentados estão expostos ao microbioma do leite materno e da pele da mãe, enquanto os bebés que ingerem leite de fórmula estão expostos aos probióticos neste incluídos (Rautava *et al.*, 2012; Dreyer e Liebl, 2018).

A microbiota do leite materno é bastante diversificada e a sua proveniência é ainda uma incógnita. Alguns autores defendem que é adquirida por contaminação, ou seja, através da microbiota oral do bebé e da pele da mãe, devido ao fluxo retrógrado do leite através do mamilo, durante a amamentação. Porém, o facto do género *Bifidobacterium* ser encontrado no leite materno parece contrariar a hipótese da contaminação, uma vez que, estes microrganismos são anaeróbios estritos e, portanto, a sua transferência da cavidade oral do recém-nascido para a mama parece improvável. Para além disso, é possível o isolamento de bactérias no colostro ainda antes do nascimento. Finalmente, alguns estudos têm comprovado a deteção de bactérias administradas oralmente no leite materno (Jeurink *et al.*, 2013; Rautava *et al.*, 2012).

Atendendo a estas contrariedades, outros autores apoiam a possibilidade de existir um caminho alternativo que leva à colonização do leite materno por microrganismos da microbiota intestinal da mãe, ainda que o mecanismo exato dessa transferência não seja claro. De acordo com esta teoria, os microrganismos teriam a capacidade de atravessar as células epiteliais e atingir a glândula mamária sem que, entretanto, fossem detidos pelo sistema imunológico. Para isso, algumas células (células dendríticas e macrófagos) funcionariam como transportadores (Jeurink *et al.*, 2013).

O leite materno possui também na sua composição oligossacarídeos e lactoferrina que parecem contribuir para a proliferação de bactérias do género *Bifidobacterium*. Os oligossacarídeos do leite humano (*Human Milk Oligosaccharides* - HMO) não são digeridos pelo bebé, uma vez que este não possui as enzimas necessárias, funcionam por isso como prebióticos, favorecendo o desenvolvimento do microbioma, em especial da microbiota intestinal. *Bifidobacterium* tem a capacidade de fermentar estes compostos, convertendo-os em ácidos gordos de cadeia curta (*Short-chain fatty acids*, SCFAs). Isto leva a uma diminuição do pH intestinal, o que inibe a proliferação de alguns microrganismos patogénicos (Tamburini *et al.*, 2016; Korpela e de Vos, 2018).

Enquanto bebês amamentados com leite materno apresentam uma prevalência dos gêneros *Bifidobacterium* e *Lactobacillus* na sua microbiota intestinal, bebês amamentados com leite de fórmula tendem a possuir uma menor diversidade de microrganismos, com predomínio da ordem Clostridiales e do filo Proteobacteria (Dong e Gupta, 2019). Estes dados parecem reforçar a importância da amamentação sempre que esta seja viável.

A dieta é decisiva na constituição do microbioma humano, sobretudo, mas não exclusivamente, nos primeiros anos de vida, moldando-o durante toda a existência do ser humano. O microbioma é, por isso, em parte, um reflexo daquilo que o indivíduo come (Albenberg e Wu, 2014). *Exempli gratia*, um elemento muito comum na culinária japonesa são as algas marinhas, em particular, a popular nori (*Porphyra* spp.), utilizada para envolver o sushi. Ricas em polissacarídeos sulfatados, as algas marinhas são de difícil digestão, o que obrigou o microbioma dos Japoneses (consumidores) a adaptar-se e a encontrar uma solução para as digerir. Estes hidratos de carbono são habitualmente degradados por bactérias marinhas (Bacteroidetes) capazes de produzir enzimas específicas, nomeadamente, enzimas ativas em hidratos de carbono, (*Carbohydrate-Active Enzymes*, CAZymes). Os genes que codificam as CAZymes estão ausentes no genoma humano, logo, o que justifica a capacidade dos Japoneses digerirem estes polissacarídeos complexos (ausentes em plantas terrestres) é o facto dos genes que codificam as CAZymes terem sido transferidos de bactérias marinhas para bactérias da microbiota intestinal dos Japoneses, mais especificamente, para o *Bacteroides plebeius*. A inclusão das algas cruas na dieta permitiu o contacto das bactérias a estas associadas com a microbiota intestinal. As algas marinhas são, por isso, o vetor mais provável para explicar esta transferência de genes. Este tipo de variações no microbioma humano tende a diminuir com a globalização da indústria alimentar (Hehemann *et al.*, 2010; Lepage *et al.*, 2013; El Kaoutari *et al.*, 2013).

Um outro exemplo da adaptação do microbioma humano ao ambiente, mais especificamente à dieta, é o da comunidade tanzaniana de caçadores-coletores Hadza. Os Hadza alimentam-se da caça e das plantas silvestres que coletam. A sua dieta baseia-se em carne, mel, bagas, frutos da árvore baobá e tubérculos. A microbiota intestinal dos Hadza é caracterizada pela sua diversidade e riqueza, apresentando diferenças importantíssimas quando comparada com a microbiota intestinal da maioria da população (Schnorr *et al.*, 2014). *Bifidobacterium* (Actinobacteria), por exemplo, é um género

ausente nos Hadza. Este género, está muito associado à amamentação e ao início da colonização, sendo-lhe atribuído um papel promotor da saúde do indivíduo, de tal modo que é vulgarmente incluído em probióticos (Albenberg e Wu, 2014). Surpreendentemente, estes microrganismos foram erradicados da microbiota intestinal dos Hadza, talvez por esta comunidade, após desmame, não incluir na sua alimentação produtos de origem agro-pastoral, ou, pelo facto de não criarem gado, obtendo a carne essencialmente através da caça. *Bifidobacterium* está presente na microbiota intestinal do gado, mas atendendo ao estilo de vida destes caçadores-coletores, esta também não é uma via que permita a sua exposição aos microrganismos supracitados (Schnorr *et al.*, 2014).

Os filos Proteobacteria e Spirochaetes possuem elevada representação no que respeita à microbiota intestinal dos Hadza. Ao nível do género, *Prevotella* (Bacteroidetes) e *Treponema* (Spirochaetes) têm maior visibilidade, isto porque a maior ingestão de plantas e fibras exigiu a expansão de géneros produtores de enzimas que garantissem a digestão eficiente de celulose e xilano. Portanto, em indivíduos saudáveis da comunidade Hadza, microrganismos ditos patogénicos (como é o caso do *Treponema*, associado a patologias como a sífilis, boubá e bejel) ganham terreno, enquanto, aqueles que à partida trariam maior benefício sofrem depleção (Schnorr *et al.*, 2014). Isto levanta questões acerca do que é um microbioma saudável e se existirá ou não um conjunto de microrganismos ideais, isto é, comuns a todos os indivíduos saudáveis - “core microbiome” (Aguirre de Carcer, 2018) Neste caso em concreto, o microbioma dos Hadza encontrou um equilíbrio diferente do da maioria dos indivíduos, o que, mais uma vez, revela o seu carácter adaptativo (Schnorr *et al.*, 2014).

A dieta ocidental, rica em proteína animal, açúcar, sal e gordura e pobre em fibras, em nada se assemelha à dieta mediterrânea, que valoriza mais alimentos como o azeite, fruta, vegetais, leite, cereais e queijo, desmerecendo as carnes vermelhas e as gorduras saturadas. Estas diferenças têm consequências no microbioma do indivíduo, sobretudo na microbiota intestinal (Childs, 2018). Assim, a microbiota intestinal de indivíduos que seguem uma dieta ocidental caracteriza-se por uma menor diversidade de microrganismos. Neste contexto, os géneros *Bifidobacterium*, *Eubacterium* e *Lactobacillus* encontram-se em menor número, enquanto, o género *Enterobacter* tem um claro destaque. Por outro lado, a microbiota intestinal de indivíduos que se regem por uma dieta mediterrânea, apresenta um predomínio de *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Eubacterium* e *Prevotella* (Singh *et al.*, 2017).

Os antibióticos são também importantes modeladores do microbioma humano, estando entre as drogas mais prescritas para crianças (Neuman *et al.*, 2018). A sua administração parece modificar de forma expressiva o microbioma, sendo que o tipo e a dose de antibiótico utilizado influenciam a extensão da transformação (Nicholas, 2016).

De um modo geral, a administração de antibióticos modifica o microbioma, levando a uma redução do número de microrganismos que o compõem, a uma quebra na sua diversidade e a um aumento do número de espécies resistentes. A menor diversidade filogenética favorece a incursão de microrganismos patogénicos. O microbioma, eventualmente, retorna ao seu estado inicial, porém o tempo necessário para que isso aconteça varia de indivíduo para indivíduo e varia de microbiota para microbiota, podendo durar semanas ou anos. Do mesmo modo, diferentes antibióticos originam diferentes efeitos no microbioma (Langdon, Crook e Dantas, 2016; Neuman *et al.*, 2018; Cabral *et al.*, 2019). A influência destes fármacos não se cinge ao nível taxonómico, ou seja, às alterações a nível quantitativo entre os diferentes taxa, mas também ao nível genómico, proteómico e metabólico (Lepage *et al.*, 2013).

Em suma, resiliência, redundância funcional e dinâmica são adjetivos que caracterizam o microbioma humano. A cada perturbação este reage, de modo a garantir a continuidade das suas funções essenciais e a regressar, tanto quanto possível, ao estado inicial. Cada alimento consumido, cada antibiótico administrado, cada novo ambiente, exige um novo ajuste e, por isso, a adaptação é constante (Dethlefsen e Relman, 2011; Cho e Blaser, 2012).

ii. As diferentes microbiotas

Como descrito na figura 3, o microbioma humano é constituído maioritariamente por bactérias, sendo que, no seu conjunto, os filos Firmicutes e Bacteroidetes representam 99% do seu todo. A restante percentagem (1%) refere-se a elementos dos filos Proteobacteria, Verrucomicrobia, Fusobacteria, Cyanobacteria, Actinobacteria, Spirochaetes e inclui também outros microrganismos como fungos, protozoários, vírus e arquea (Ferrer *et al.*, 2017).

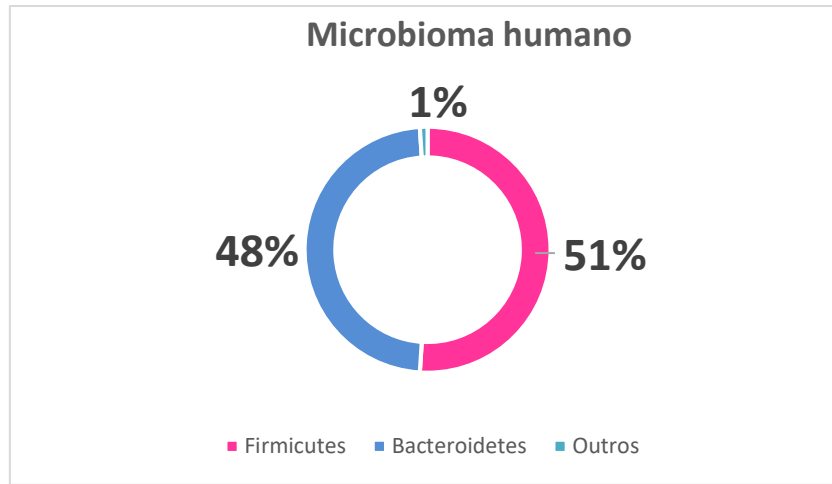


Figura 3- Representação gráfica da constituição do microbioma humano. Baseado nos dados apresentados em Ferrer *et al*, 2017.

O estudo do microbioma humano tem incidido mais na microbiota intestinal, oral, urogenital e da pele, conforme evidenciado na figura 4. Entre estas, as duas primeiras apresentam clara supremacia e serão, por esse motivo, as mais enfatizadas nesta dissertação.

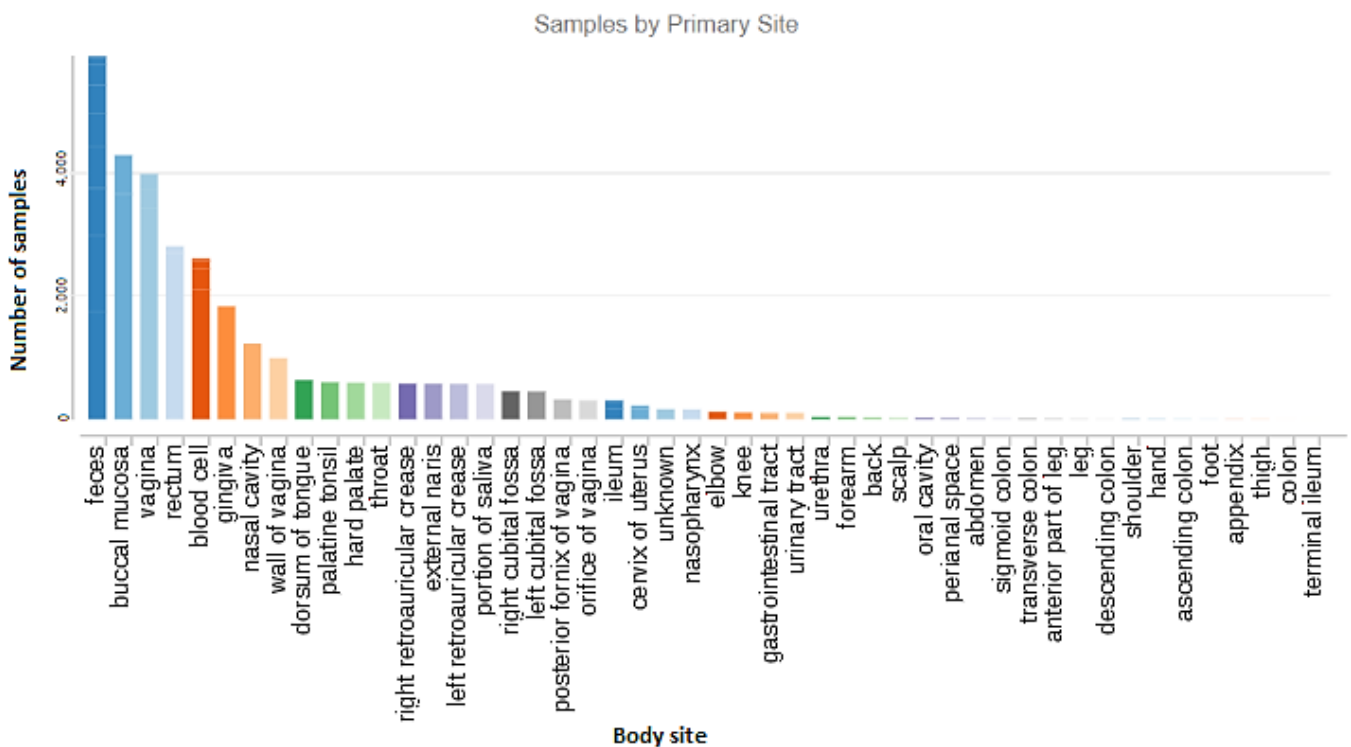


Figura 4- Representação gráfica do total de amostras recolhidas por local, no âmbito do Projeto do Microbioma Humano. Disponível em <portal.hmpdacc.org>. Consultado em 01.09.2020.

a. Microbiota do trato urogenital feminino

A microbiota do trato urogenital feminino situa-se principalmente entre o último terço da uretra e a vagina. Os rins continuam a ser considerados estéreis. Os filos com maior representatividade são Firmicutes (60-65%), Bacteroidetes (18%), Actinobacteria (12-16%), Fusobacteria (3%) e Proteobacteria (2%). No que concerne ao género, *Lactobacillus*, *Prevotella* e *Gardnerella* são os mais abundantes (Tungland, 2018).

A pouca diversidade da microbiota vaginal saudável não se reflete na maioria das restantes microbiotas e contraria a noção de que a diversidade microbiana é uma característica imprescindível a uma microbiota sã (Lloyd-Price, Abu-Ali e Huttenhower, 2016). Fatores como a gravidez (diminuição do pH), a administração de antibióticos, a relação sexual, o uso de certos métodos contraceptivos (e.g. espermicidas), a utilização de pensos higiénicos e a altura do ciclo menstrual podem comprometer a homeostasia vaginal e causar disbiose (Tungland, 2018).

Por norma, a microbiota saudável da mulher em idade reprodutiva enquadra-se num de cinco tipos, quatro dos quais, dominados por *Lactobacillus*. Este é, de facto, o género que impera na microbiota vaginal da maioria das mulheres, particularmente as espécies *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus iners* e *Lactobacillus jensenii* (Lloyd-Price, Abu-Ali e Huttenhower, 2016). Esta superioridade ocorre, sobretudo, após a menarca, altura em que as alterações hormonais levam a uma maior disponibilidade de glicogénio, convertido, pelo citado género, em ácido láctico. O ácido láctico reduz o pH vaginal impedindo, desta forma, a colonização de diversos microrganismos patogénicos. O quinto grupo distingue-se pelo aumento de outras espécies anaeróbias (v.g. *Gardnerella*, *Prevotella*, *Atopobium*, *Megasphaera* e *Peptoniphilus*), da diversidade microbiana e do pH, características curiosamente comuns a um quadro de vaginose bacteriana (Younes *et al.*, 2018; Onderdonk, Delaney e Fichorova, 2016; Smith e Ravel, 2017).

Além da diminuição do pH vaginal, *Lactobacillus* utiliza outras armas contra microrganismos invasores, nomeadamente a produção de compostos bactericidas e bacteriostáticos, a indução da autofagia em células infetadas por microrganismos, a competição pelos mesmos locais de adesão e a manutenção da integridade do epitélio,

uma vez que, promovem a secreção de muco (Yang *et al.*, 2021; Ravel e Brotman, 2016; Younes *et al.*, 2018). A figura 5 resume algumas destas funções.

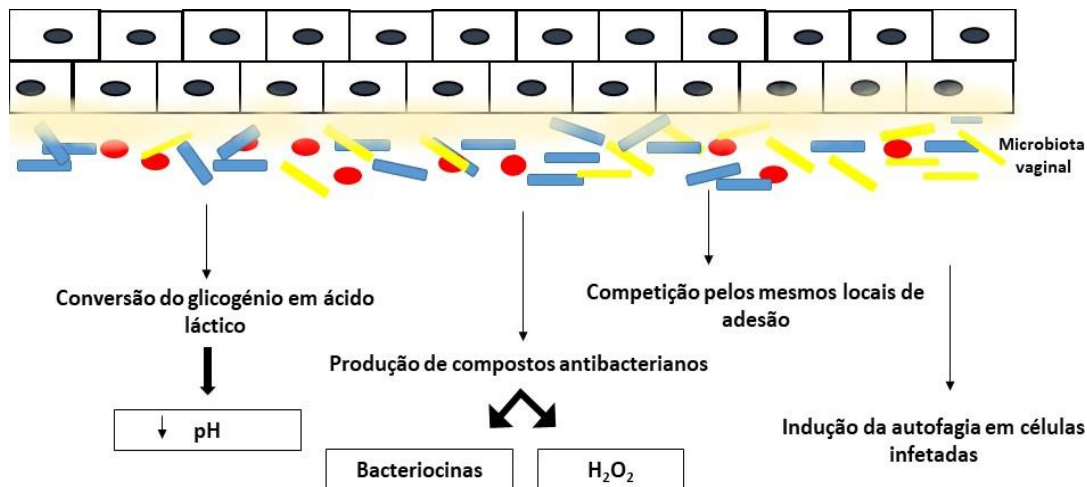


Figura 5- Funções da microbiota vaginal. Adaptado de Appanna, 2017.

Estas funções enaltecem o papel protetor da microbiota vaginal. Esta defende o organismo de infecções do trato urogenital (e.g. vaginose bacteriana) e de doenças sexualmente transmissíveis (e.g. infecção pelo vírus da imunodeficiência humana). Desequilíbrios na sua composição podem, inclusive, contribuir para o desenvolvimento da doença inflamatória pélvica, comprometer a fertilidade ou culminar num parto prematuro (Smith e Ravel, 2017; Ravel e Brotman, 2016).

As variações hormonais influenciam a composição da microbiota vaginal ao longo de cada ciclo menstrual e de toda a vida. Durante a menstruação, a maior disponibilidade de ferro parece contribuir para um predomínio de *Gardnerella vaginalis* e *Lactobacillus iners*. Na gravidez, a microbiota vaginal torna-se mais estável e mais ácida, apresentando um maior número de *Lactobacillus* e uma diminuição de espécies anaeróbias, v.g. *Prevotella*. Já na menopausa, o género *Lactobacillus* é suplantado por outros géneros anaeróbios (Appanna, 2017; Tunland, 2018).

A microbiota do aparelho reprodutor masculino encontra-se menos explorada na literatura científica, embora pareça desempenhar um importante papel na predisposição para infecções sexualmente transmissíveis (Meisel e Grice, 2016).

b. Microbiota da Pele

Ao longo de toda a sua extensão, a pele possui diferentes microclimas que permitem, meramente, a sobrevivência e proliferação dos microrganismos com maior capacidade de adaptação. Com zonas húmidas, secas, aeróbias, anaeróbias, mais ácidas ou mais alcalinas, a pele, apesar de toda a sua adversidade, tornou-se o habitat ideal para uma microbiota única (Dreno *et al.*, 2016).

A microbiota da pele (MBP) é dinâmica, adaptando-se às características do nicho que ocupa. Por exemplo, na puberdade, o aumento da produção de sebo leva ao predomínio de *Propionibacterium acnes*, uma bactéria capaz de hidrolisar triglicérides (Cundell, 2018; Christensen e Bruggemann, 2014).

Foram identificados, até ao momento, pelo menos 19 filos de bactérias constituintes da microbiota da pele, entre os quais merecem destaque os seguintes: Actinobacteria (51,8%), Firmicutes (24,4%), Proteobacteria (16,5%) e Bacteroidetes (6,3%). Os géneros mais abundantes são *Corynebacterium*, *Propionibacterium* e *Staphylococcus*, dependendo o seu predomínio do nicho em questão (Woo e Sibley, 2020; Chen e Tsao, 2013).

Os fungos fazem-se representar principalmente pelo género *Malassezia*, um género que, em geral, tem especial afinidade para lípidos e que, por isso, pode ser encontrado em zonas sebáceas. A predileção de *Malassezia* por estas áreas prende-se com a sua incapacidade de sintetizar lípidos (Grice e Dawson, 2017; Dreno *et al.*, 2016).

Os artrópodes, por sua vez, embora em pequeno número, também enriquecem a MBP, sendo representados por apenas duas espécies: *Demodex folliculorum* (presente em folículos capilares) e *Demodex brevis* (presente em glândulas sebáceas e meibomianas) (Grice e Segre, 2011).

A topografia é, de acordo com o exposto, um dos parâmetros responsáveis pelas variações na constituição da MBP, sendo que áreas mais expostas sofrem variações mais significativas do que áreas mais resguardadas. Mas existem muitos outros fatores na base destas flutuações, alguns relacionados com o hospedeiro, outros relacionados com o meio ambiente. A título de exemplo, as alterações hormonais e a produção de sebo e de suor contribuem para variações na microbiota, ao longo da vida e entre géneros. A toma de

antibióticos e a exposição à luz UV (propriedades bactericidas) diminuem significativamente a sua diversidade e o número de microrganismos que a compõem. Também a utilização de cosméticos pode empobrecer (desodorizantes) ou enriquecer (hidratantes) a MBP (Grice e Segre, 2011; Cundell, 2018).

c. Microbiota da cavidade oral

A cavidade oral, no seu todo, acolhe uma das mais opulentas e complexas comunidades microbianas do corpo humano, logo a seguir ao cólon, abarcando microrganismos de todos os domínios e de vários reinos (Wade, 2013).

A maioria das bactérias da microbiota oral (94%) distribuem-se por seis filos: Firmicutes, Bacteroidetes, Proteobacteria, Actinobacteria, Spirochaetes e Fusobacteria. *Streptococcus* é o género mais comum (Wade, 2013).

Cladosporium, *Aureobasidium*, *Saccharomyces*, *Aspergillus*, *Fusarium* e *Cryptococcus* são alguns dos fungos em maior número na cavidade oral, embora, *Candida* seja o género dominante. A sua aquisição parece estar relacionada com a microbiota vaginal materna (durante o parto), com o ambiente nosocomial e com o contacto com objetos contaminados (v.g. chupetas) (Sharma *et al.*, 2018; Sampaio-Maia *et al.*, 2016).

O domínio Archaea faz-se representar por escassas espécies, todas elas produtoras de metano, designadamente, *Methanobrevibacter oralis*, *Methanobacterium curvum/congolense* e *Methanosarcina mazei*. Em algumas patologias orais, como na periodontite, verifica-se um enriquecimento tanto deste domínio, como do reino Protozoa. Os protozoários da microbiota oral são maioritariamente saprófitas e utilizam os restos de comida e as bactérias como fontes de energia. Encontram-se, por isso, em maior número quando a higiene oral é parca. *Entamoeba gingivalis* e *Trichomonas tenax* são as espécies mais comuns (Sharma *et al.*, 2018).

Quanto aos vírus, a grande parte daqueles que constituem a microbiota oral são bacteriófagos, ou seja, são vírus que infetam bactérias (Baker *et al.*, 2017).

Desde que Leeuwenhoek descobriu a existência de bactérias na cavidade oral, há cerca de quatro séculos, uma miríade de microrganismos foram, entretanto, revelados e

caracterizados (Ursell *et al.*, 2012). A cavidade oral está em contacto constante com o exterior e, obviamente, com uma grande quantidade de microrganismos. Porém, como já foi abordado, apenas aqueles que possuem maior capacidade de adaptação conseguem instalar-se e constituir a microbiota autóctone. Os restantes, isto é, aqueles que ocupam a cavidade oral apenas por um curto período de tempo, fazem parte da microbiota alóctone ou transiente (Nobbs, Jenkinson e Jakubovics, 2011; Donaldson, Lee e Mazmanian, 2016).

A microbiota oral organiza-se em biofilmes, comunidades microbianas altamente estruturadas, embebidas numa matriz polimérica produzida pelas mesmas. Os microrganismos ligam-se a locais específicos das células epiteliais e/ou das outras bactérias. A forma como aderem às várias superfícies orais varia de acordo com a espécie. Esta capacidade é imprescindível à colonização, uma vez que, de outra forma, os microrganismos seriam envolvidos pela saliva e arrastados. Assim, a colonização não ocorre ao acaso (Marsh e Zaura, 2017).

A colonização inicia-se com *Streptococcus* e *Fusobacterium*. O primeiro é capaz de metabolizar HMO. Os produtos da sua metabolização transformam a cavidade oral no nicho ideal para uma série de microrganismos. Algumas espécies de *Streptococcus* são ainda capazes de clivar a IgA1, e, por isso, conseguem sobreviver num ambiente como o que é proporcionado pela ingestão do leite materno. Este é, assim, um elemento decisivo para a colonização dos restantes constituintes da microbiota oral (Nobbs, Jenkinson e Jakubovics, 2011; Gomez e Nelson, 2017).

Fusobacterium, em especial, *Fusobacterium nucleatum* funciona como um elemento de ligação ou intermediário, na medida em que, consegue aderir às espécies pioneiras e também facilitar a agregação dos colonizadores mais tardios (Nobbs, Jenkinson e Jakubovics, 2011).

À medida que ocorre a erupção dentária, surgem novos locais de adesão para as bactérias. Os dentes, sulcos gengivais, língua, bochechas, amígdalas, palato duro e palato mole constituem diferentes habitats para o desenvolvimento dos biofilmes orais (Sampaio-Maia *et al.*, 2016).

A cavidade oral faz parte do trato respiratório superior que, numa perspetiva microbiológica, pode ser definido como uma sequência de nichos com comunidades

distintas, embora relacionadas entre si (Lanaspa *et al.*, 2017). As restantes estruturas do trato respiratório são bem mais parcias em microrganismos do que a cavidade oral. Os diferentes gradientes fisiológicos e microbiológicos presentes ao longo de todo o trato são responsáveis pela diversidade de microrganismos que o ocupam (Man, De Steenhuijsen Piters e Bogaert, 2017). Muitos desses microrganismos, embora comensais, são potencialmente patogênicos (v.g. *Streptococcus pneumoniae*), ou seja, são microrganismos que não conferem qualquer perigo para o hospedeiro, desde que a microbiota se encontre estável. Porém, qualquer desequilíbrio pode favorecer a sua proliferação e causar, em consequência, infecções (de Steenhuijsen Piters e Bogaert, 2016).

Quanto mais se estuda o microbioma humano mais se confirma a sua omnipresença no indivíduo. Os pulmões, por exemplo, durante anos e anos, foram considerados estruturas estéreis, até que novos métodos de investigação do microbioma apresentaram evidência contrária (Wang, Li e Tian, 2017). Na verdade, atendendo à grande adaptabilidade que a maior parte dos microrganismos possui, seria pouco provável que, um ambiente como este, quente, húmido, rico em nutrientes e em oxigénio, se mantivesse livre de microrganismos (Dickson e Huffnagle, 2015).

A microbiota pulmonar depende da migração de microrganismos do trato respiratório superior, da eliminação dos microrganismos pelos mecanismos de defesa naturais (tosse, depuração mucociliar e o sistema imunitário) e das condições ambientais deste órgão. Estas condições variam em função do estado de saúde do indivíduo e influenciam a taxa de crescimento microbiano (Dickson e Huffnagle, 2015; Dickson *et al.*, 2016).

d. Microbiota do trato gastrointestinal

Por fim, o trato gastrointestinal (TGI) alberga uma das comunidades microbianas que maior interesse tem despertado. A sua densidade, complexidade e dinâmica têm sido foco de especial atenção (Golofast e Vales, 2020).

Entre os projetos que se têm dedicado a desvendar a microbiota intestinal, o europeu MetaHIT (metagenomics of the Human Intestinal Tract) é um dos de maior relevo (Lepage *et al.*, 2013). Bactérias, vírus, fungos, arqueias e protozoários colonizam o TGI,

sendo que, sem surpresa, as bactérias prevalecem sobre todos os outros microrganismos, distribuindo-se essencialmente por quatro filos: Firmicutes, Bacteroidetes, Proteobacteria e Actinobacteria. Os dois primeiros são os mais abundantes representando 60% e 20% da microbiota intestinal, respetivamente (Sarojini, 2018).

Os bacteriófagos encontram-se em elevado número no TGI. Por influenciarem a comunidade bacteriana têm sido investigados como potenciais biomarcadores e ferramentas terapêuticas. Já os elementos eucariotas da microbiota intestinal, tais como, *Candida albicans*, *Malassezia* e *Saccharomyces*, são menos abundantes (Lavelle e Hill, 2019).

Alguns autores têm introduzido a noção de que os indivíduos podem ser distinguidos com base na composição da sua microbiota intestinal, ou seja, podem ser classificados de acordo com o seu enterotipo. Esta classificação seria preferível à definição de uma “core microbiota” comum a todos os seres humanos, uma vez que facilitaria o desenvolvimento de estratégias mais personalizadas de diagnóstico e tratamento de doenças relacionadas com desequilíbrios do microbioma (Knights *et al.*, 2014).

Mais uma vez, a elevada presença de *Lactobacillus* no TGI do recém-nascido está intrinsecamente associada à microbiota vaginal da mãe e do leite materno. Estas bactérias moldam o nicho que ocupam preparando-o para a colonização por subsequentes microrganismos. A cesariana e a ingestão do leite de fórmula podem comprometer esta sucessão (Cho e Blaser, 2012).

O conteúdo microbiano varia ao longo do extenso TGI, apresentando-se mais modesto na zona do esófago e estômago e mais rico na zona do cólon. Tal facto deve-se a condições ambientais, como por exemplo, mudanças na concentração de oxigénio, pH e motilidade (Ishiguro, Haskey e Campbell, 2018a; Donaldson, Lee e Mazmanian, 2016). A título de exemplo, no intestino delgado, o pH mais ácido, o trânsito intestinal mais rápido (adesão microbiana mais difícil) e a elevada quantidade de ácidos biliares são responsáveis por uma microbiota menos abundante do que a do cólon, estrutura que, pela sua elevada densidade microbiana e fácil acesso (através das fezes) tem sido uma das mais estudadas e parece ser a que maior impacto possui na saúde do indivíduo. Talvez por isso, frequentemente, o termo microbiota intestinal seja empregue referindo-se ao conjunto de

microrganismos presentes no cólon e não em todo o trato (Ishiguro, Haskey e Campbell, 2018a).

A caracterização das diferentes microbiotas foi um dos primeiros objetivos do estudo do microbioma humano, porém, novas abordagens têm incidido também na investigação das suas funções e da sua influência no organismo humano.

2. O papel do microbioma na saúde

O microbioma evoluiu paralelamente ao *Homo sapiens*. Esta evolução conjunta resultou numa interdependência que se reflete no estado de saúde do indivíduo. Embora invisível ao olho nu, torna o organismo capaz de desempenhar funções essenciais, inexecutáveis na sua ausência. Entre estas destacam-se, resumidamente, a manutenção da barreira intestinal, a metabolização de hidratos de carbono, a defesa contra patógenos, a síntese de vitaminas e nutrientes essenciais e o desenvolvimento normal do sistema neurológico e imunitário (Jones *et al.*, 2014).

A figura 6 resume algumas das funções desempenhadas pelo microbioma com influência no estado de saúde do indivíduo.

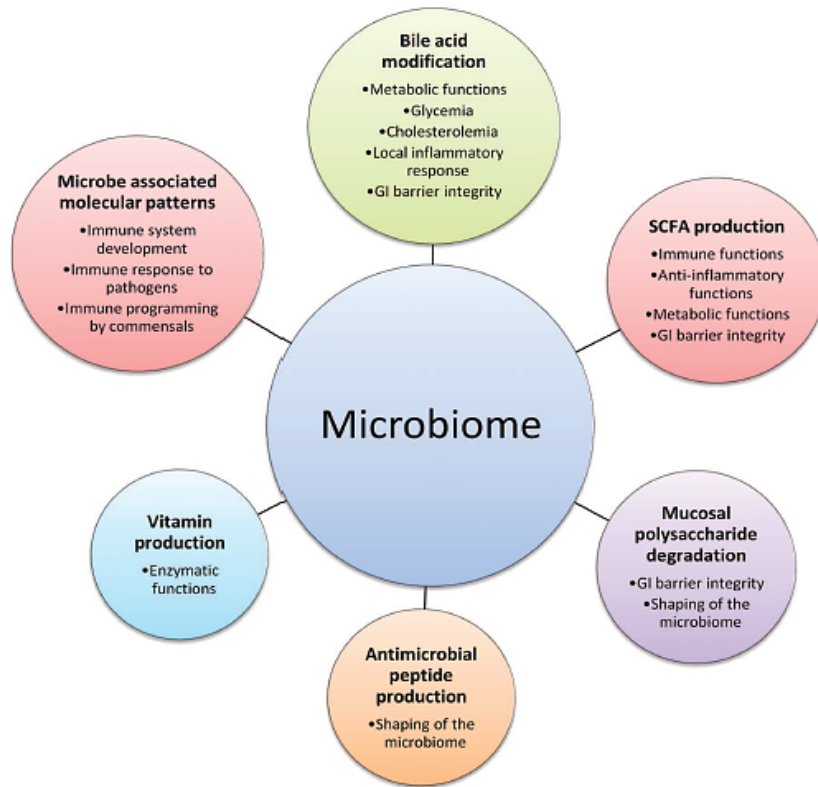


Figura 6- O papel do microbioma na saúde (Jones *et al*, 2014).

A defesa contra microrganismos patogênicos não se extingue na competição por exclusão, inclui também a produção de compostos antimicrobianos. Por exemplo, na epiderme, determinadas estirpes de *Staphylococcus epidermidis* produzem um serino-protease extracelular (Esp), que inibe a formação de biofilmes por um dos principais responsáveis por infecções nosocomiais, *Staphylococcus aureus*. Para isso, degradam proteínas essenciais para a adesão e coesão dos biofilmes e para a adesão de *S. aureus* às células do hospedeiro (Sugimoto *et al.*, 2013; Chen *et al.*, 2013).

O sistema digestivo alberga a maior comunidade microbiana do corpo humano e, portanto, o papel do microbioma intestinal na manutenção da saúde do indivíduo e no desenvolvimento de doenças será o mais explorado nesta dissertação. Dele depende a biossíntese e extração eficaz de nutrientes e vitaminas essenciais, tais como a vitamina K, importante no processo de coagulação, o ácido fólico, sintetizado por *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*, a vitamina B12 e outras vitaminas do complexo B, que são depois absorvidas (Brenchley e Douek, 2012).

Sem o microbioma, alguns hidratos de carbono seriam indigeríveis, uma vez que, o indivíduo carece de enzimas necessárias à sua digestão. O xiloglucano, por exemplo,

presente em vegetais, é hidrolisado e fermentado exclusivamente por certas espécies de *Bacteroides*, *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* metabolizam alguns oligossacarídeos e frutooligossacarídeos (Shreiner, Kao e Young, 2015).

A ingestão de fibras promove o crescimento de espécies capazes de as metabolizarem. Os produtos da sua metabolização são os SCFAs, como o butirato, o acetato ou o propionato. A concentração dos SCFAs depende da composição da microbiota intestinal, da quantidade de fibras ingeridas e do tempo de trânsito intestinal, mas, em média, ronda os 50-100 mmol.L⁻¹ por dia (Wang *et al.*, 2017; Tomova *et al.*, 2019). Em ratos estéreis, a sua concentração é praticamente nula (Tang e Hazen, 2017). Estes ácidos impedem a propagação de microrganismos patogénicos, na medida em que, reduzem o pH. Para além disso, ativam recetores de ácidos gordos livres presentes em diversos tipos de células: células epiteliais intestinais, células dendríticas, macrófagos, mastócitos, entre outras (Mohajeri *et al.*, 2018). Citando exemplo, ao estimular a produção do péptido YY pelas células L da mucosa do TGI, os SCFAs conseguem regular o apetite. Do mesmo modo, a indução da libertação de leptina pelos adipócitos contribui para essa inibição (Villanueva-Millan, Perez-Matute e Oteo, 2015). Portanto, para além de funcionarem como uma fonte de energia, os SCFAs possuem muitas outras funções, e.g., contribuem para a homeostasia da glicose, regulam hormonas envolvidas no apetite e na supressão tumoral e modulam a ação do sistema imunitário (Mohajeri *et al.*, 2018).

Os ácidos biliares secundários são também um dos produtos do microbioma e partilham algumas funções com os SCFAs. Para além de participarem na síntese e absorção de colesterol, modulam as respostas do sistema imunitário e contribuem para a homeostasia energética (Jones *et al.*, 2014).

A relação entre o microbioma e o sistema imunitário é feita através da expressão de recetores de reconhecimento de padrões por diversas células. Estes recetores reconhecem padrões moleculares associados a microrganismos, como por exemplo, LPS, flagelina e ácidos teicóicos. O seu reconhecimento desencadeia uma resposta antimicrobiana e inflamatória que resulta no aumento significativo da secreção de péptidos antimicrobianos (AMPs), citocinas pró-inflamatórias (e.g. IL-6 e TNF- α) e anti-inflamatórias (e.g. IL-10). A exposição prolongada dos recetores aos microrganismos comensais induz a sua dessensibilização (Grice e Segre, 2011; Frazao, Errante e Condino-Neto, 2013).

O microbioma é também responsável pela produção de compostos neuroativos, tais como a serotonina (5-HT) e o ácido gama-aminobutírico (*Gamma-AminoButyric Acid*, GABA). (Ghaisas, Maher e Kanthasamy, 2016) Para tal, utiliza aminoácidos obtidos através de alimentos ou sintetizados pelos microrganismos que o constituem. A 5-HT, por exemplo, é obtida a partir do triptofano, um aminoácido essencial que pode ser sintetizado por *Bifidobacterium*. Estes compostos influenciam o sistema nervoso central, interagindo com os recetores presentes no TGI, ou então, invadindo a corrente sanguínea e atravessando a barreira hematoencefálica (BHE). Flutuações na concentração intestinal dos neurotransmissores são comunicadas ao sistema nervoso central pelo eixo cérebro-intestino. Este eixo permite a comunicação bilateral e indireta entre o cérebro e o intestino, através de diversas vias, nomeadamente, via imunológica (citocinas), endócrina (eixo hipotálamo-pituitária-adrenal), metabólica e neural (nervo vago) (Dinan e Cryan, 2017). Os SCFAs funcionam como mediadores desta comunicação. Uma vez na corrente sanguínea, conseguem influenciar diretamente o cérebro ligando-se a transportadores de monocarboxilatos expressos na BHE e atravessando-a. Estes compostos promovem também a maturação da microglia e comportam-se como inibidores das histonas deacetilases, o que parece ter efeitos benéficos para a saúde mental do indivíduo (Cussotto *et al.*, 2018).

O cérebro influencia não só a composição da microbiota intestinal, como também a função e permeabilidade intestinais. Do mesmo modo, a microbiota intestinal tem uma notável influência no comportamento, na memória, na aprendizagem, na saúde e nas doenças relacionadas com o sistema nervoso (Matsumoto *et al.*, 2013). Um exemplo desta relação é a tendência de indivíduos que sofrem de doenças inflamatórias intestinais para emoções como a ansiedade e a depressão (Lyte, 2013).

Em suma, o organismo humano e o microbioma construíram uma relação assente num benefício mútuo. Distúrbios nessa interação podem comprometer a saúde do indivíduo.

3. O papel do microbioma na doença

Em circunstâncias normais, os elementos que compõem o microbioma encontram-se em harmonia. Contudo, se, por algum motivo, há um desequilíbrio que leva a uma anormal supremacia de determinados microrganismos face a outros, então as funções que lhe

cabem podem ser postas em causa e a saúde do indivíduo pode ficar comprometida. O termo utilizado para definir estas oscilações é disbiose - um desequilíbrio na composição taxonómica da microbiota (Jovel *et al.*, 2018; Ferrer *et al.*, 2017). A simplicidade desta definição contrasta com a dificuldade em caracterizar convenientemente a microbiota saudável, uma vez que esta varia significativamente de indivíduo para indivíduo e é influenciada por múltiplos fatores (Neuman *et al.*, 2018).

De um modo geral, o filo Firmicutes, particularmente os géneros *Faecalibacterium* e *Roseburia*, tem sido associado à população saudável e, por isso, frequentemente, encontra-se reduzido na presença de certas patologias (Jones *et al.*, 2014).

De acordo com a hipótese da biodiversidade, a exposição reduzida à microbiota ambiental tem como consequência um desenvolvimento anormal do sistema imunitário e, portanto, uma microbiota diversa é sinónimo de saúde (Zeeuwen *et al.*, 2013). De facto, a pouca diversidade microbiana associada à disbiose resulta de uma menor transmissão horizontal e vertical de microrganismos. Para isso, têm contribuído, conforme abordado anteriormente, fatores como o aumento do número de cesarianas, a substituição da amamentação pelo leite de fórmula, a redução do número de elementos do agregado familiar, a excessiva administração de antibióticos e a dieta (Jones *et al.*, 2014).

A questão que se coloca atualmente é se a disbiose está na origem de determinadas patologias ou se, por outro lado, é o contexto patológico que está na base da disbiose, ou seja, se os desequilíbrios identificados na microbiota são a causa ou a consequência de patologias. De qualquer forma, a relação entre ambos é inquestionável (Althani *et al.*, 2016).

O papel do microbioma na doença não se restringe a patologias locais (cárie dentária ou vaginose bacteriana). Da disbiose podem resultar diversas complicações, como doenças metabólicas, doenças intestinais, doenças relacionadas com o sistema nervoso e com o sistema imunitário (Pflughoeft e Versalovic, 2012; Ishiguro, Haskey e Campbell, 2018b).

i. Vaginose Bacteriana

Contrariamente à disbiose, a eubiose descreve o estado saudável da microbiota. As constantes flutuações que ocorrem na microbiota vaginal e o facto de existirem espécies

comuns aos dois estados torna, por vezes, difícil a sua distinção (Younes *et al.*, 2018). Como anteriormente descrito, há inclusive um grupo de mulheres com uma microbiota vaginal saudável muito semelhante à microbiota típica da vaginose bacteriana; uma desordem vaginal cujos principais sintomas incluem: dor, prurido, sensação de queimadura, corrimento e mau odor e que consiste num desequilíbrio da microbiota intestinal, no qual se verifica uma acentuada redução de *Lactobacillus* e um aumento de géneros e espécies anaeróbias (nocivas para a saúde do indivíduo), entre elas, *Gardnerella vaginalis*, *Atopobium vaginalis*, *Prevotella* e *Porphyromonas* (Onderdonk, Delaney e Fichorova, 2016).

Biofilmes espessos e muito aderentes são próprios desta patologia e conferem elevada resistência aos microrganismos que os compõem, tanto contra o sistema imunitário do hospedeiro como contra os microrganismos benéficos da microbiota vaginal. Uma das espécies mais importantes na sua constituição é *G. vaginalis*. A capacidade que esta espécie tem de produzir adesinas e citolisinas torna-a pioneira na formação do biofilme vaginal. As adesinas permitem a sua adesão ao epitélio vaginal e as citolisinas, para além de induzirem a morte celular, também aumentam a disponibilidade de nutrientes. *G. vaginalis* torna o ambiente favorável à adesão de *A. vaginae*, a segunda espécie colonizadora dos biofilmes na vaginose bacteriana (Onderdonk, Delaney e Fichorova, 2016).

Tanto *G. vaginalis* como *A. vaginae* induzem a produção de citocinas pró-inflamatórias, de AMPs e de mucinas, contribuindo assim para a inflamação (Younes *et al.*, 2018).

Prevotella é produtora de poliaminas (putrescina, cadaverina e trimetilamina) responsáveis pelo aumento do pH. Um pH mais elevado favorece o crescimento de outros microrganismos anaeróbios associados à vaginose bacteriana, v.g. *G. vaginalis*. Esta espécie, por sua vez, produz aminoácidos que são utilizados como substrato por *Prevotella*, o que comprova a relação simbiótica dos intervenientes (Onderdonk, Delaney e Fichorova, 2016).

ii. Acne

A acne é uma condição cutânea muito comum, sobretudo em adolescentes, marcada por hiperqueratinização folicular, inflamação, disbiose e elevada produção de sebo nas unidades pilosebáceas (unidades formadas pelos folículos pilosos e glândulas sebáceas) (Lee, Byun e Kim, 2019; Woo e Sibley, 2020).

Numa pele saudável, a presença de *S. epidermidis* limita o crescimento de *Cutibacterium acnes* através da secreção de ácido succínico. Além disso, suprime a produção de citocinas pró-inflamatórias pelos queratinócitos, pelo que a sua utilização em probióticos com o objetivo de prevenir ou tratar esta patologia tem sido explorada. (Wang *et al.*, 2014) *C. acnes*, por sua vez, secreta ácido propiónico e hidrolisa triglicéridos, abundantes nas zonas sebáceas. Desta forma, mantém o pH ácido e, conseqüentemente, limita o crescimento de microrganismos potencialmente patogénicos, e.g. *S. aureus* e *Streptococcus pyogenes* (Claudel *et al.*, 2019).

A disbiose leva à ativação da imunidade inata contribuindo para a inflamação. No caso específico da acne, a disbiose é caracterizada pela pouca diversidade e empobrecimento da microbiota da pele. O filo Proteobacteria encontra-se diminuído em zonas com comedões e lesões papulopostulares, enquanto *Cutibacterium* e *Staphylococcus* predominam em áreas ricas em sebo (Woo e Sibley, 2020). De facto, quanto maior a concentração de sebo, maior o crescimento de *C. acnes*, mas apenas algumas estirpes deste microrganismo anaeróbio, aerotolerante, de Gram-positivo estão relacionadas com esta patologia (Keisha Findley e Grice, 2014). O seu papel no agravamento da acne deve-se à capacidade de promoção da lipogénese, da resposta inflamatória e da formação de comedões que resulta da sua ação sobre sebócitos, queratinócitos e monócitos. O reconhecimento de *C. acnes* pelos recetores presentes nestas células (e.g. recetores do tipo Toll-2 e 4 e recetor CD-36) induz a libertação de diversas citocinas pró-inflamatórias e de espécies reativas de oxigénio, contribuindo para o processo inflamatório da pele (Lee, Byun e Kim, 2019).

C. acnes possui ainda diversos fatores de virulência que facilitam a invasão da pele e que lhe conferem elevada resistência a antibióticos. Entre eles destacam-se a produção de enzimas (lípsases, preteases e hialuronato liases) e a formação de biofilmes (Lee, Byun e Kim, 2019).

A microbiota intestinal parece influenciar também a microbiota da pele, de um modo direto e indireto. Quando a barreira intestinal está alterada, os elementos da microbiota intestinal, bem como os seus metabolitos, podem atravessá-la e acumular-se na pele, influenciando diretamente a sua estabilidade. Por outro lado, parece haver uma comunicação bilateral entre a microbiota da pele e o cérebro, mediada pela microbiota intestinal (eixo-cérebro-intestino-pele). Emoções, como por exemplo, a ansiedade, podem alterar a microbiota intestinal e, conseqüentemente, potenciar a ocorrência de processos inflamatórios locais e sistêmicos (Lee, Byun e Kim, 2019).

iii. Doenças da cavidade oral

A cárie dentária é uma das patologias orais mais comuns. A sua origem conjuga a elevada ingestão de hidratos de carbono e a excessiva produção de ácidos por bactérias presentes na microbiota oral. Os hidratos de carbono são convertidos por bactérias produtoras de ácidos em ácido láctico, ácido propiónico e ácido acético. De forma a contrariar a descida do pH e, portanto, manter a homeostasia, algumas bactérias produzem amónia através da ureia ou da arginina. Quando ingeridos em demasia, os hidratos de carbono provocam um grande aumento na produção de ácido, comprometendo assim a capacidade de tamponamento da saliva e induzindo a redução do pH oral. Esta diminuição do pH leva a alterações na composição da microbiota oral, onde passam a prevalecer microrganismos acidófilos e ácido-tolerantes. A alteração da microbiota, marcada pela perda de diversidade e de atividade metabólica de bactérias benéficas para o hospedeiro, pode culminar numa série de complicações, entre as quais, a cárie dentária, em que ocorre a destruição da estrutura do dente (Zhang *et al.*, 2018; Marsh e Zaura, 2017).

Inicialmente, a cárie dentária era associada apenas a *Streptococcus mutans*. Todavia, na base desta patologia não se encontra apenas uma espécie, mas antes uma complexa comunidade microbiana. *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Actinomyces*, *Propionibacterium* e *Veillonella* são géneros que também têm sido relacionados com esta patologia, assim como outras espécies de *Streptococcus* (Zhang *et al.*, 2018; Yang *et al.*, 2021).

A gengivite é uma doença periodontal reversível caracterizada por inflamação, inchaço e vermelhidão da gengiva e que resulta da resposta inflamatória do organismo perante o

biofilme que se forma na margem gengival. A resposta inflamatória e o aumento do fluxo crevicular gengival, associados a esta patologia, alteram o ambiente em torno da microbiota, interferindo com as interações entre os seus elementos e, conseqüentemente, com a sua composição. Se não for tratada atempadamente, a gengivite pode evoluir para periodontite, uma inflamação crónica, desta vez irreversível, que compromete os tecidos de suporte do dente e que pode levar à sua perda (Zhang *et al.*, 2018).

Não obstante terem sido identificados vários conjuntos de microrganismos com um papel ativo no desenvolvimento da periodontite, um deles, apelidado de “red complex”, parece ser o mais temido. Este complexo inclui os seguintes microrganismos: *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* e *Treponema denticola* (Zhang *et al.*, 2018)

A disbiose oral pode inclusive provocar complicações sistémicas. Os microrganismos que constituem a microbiota oral podem deslocar-se para zonas fisicamente próximas como é o caso da traqueia ou até dos pulmões e, por conseguinte, causar infeções (e.g. pneumonia). Do mesmo modo, estes microrganismos podem atingir a corrente sanguínea e causar complicações em qualquer outro local do organismo. A periodontite oral, na grávida, por exemplo, pode acarretar complicações durante a gravidez e no parto, dado que, o comprometimento do epitélio da zona afetada pode facilitar a invasão da corrente sanguínea pelos microrganismos aí presentes, possibilitando a sua migração para a placenta. De modo semelhante, a migração destes microrganismos para as artérias, onde segregam LPS e mediadores inflamatórios, é uma das causas das complicações cardiovasculares. Para além dos microrganismos, também as suas toxinas e/ou mediadores inflamatórios, abundantes nas doenças periodontais, onde a inflamação é um dos principais sintomas, podem entrar na corrente sanguínea e causar complicações fora da cavidade oral. Este é um mecanismo que aparenta estar associado, por exemplo, à Doença de Alzheimer, na qual, a migração das moléculas inflamatórias, presentes nas zonas afetadas pela periodontite, para o cérebro, favorece a inflamação local e o desenvolvimento da doença (Yang *et al.*, 2021).

iv. Doenças intestinais

A microbiota intestinal é aquela que maior influência exerce no desenvolvimento de patologias e será, obviamente, a mais explorada nesta dissertação. O seu desequilíbrio

pode culminar no desenvolvimento de diversas doenças: doenças autoimunes, metabólicas, neoplásicas, neurológicas, gastrointestinais, cardiovasculares e infecciosas (Mimica, 2017).

Uma das consequências da disbiose intestinal é a infecção por *C. difficile* (Khanna e Tosh, 2014). Este bacilo de Gram-positivo é um microrganismo comensal da flora intestinal que, habitualmente, não causa qualquer transtorno. Todavia, a disbiose intestinal, induzida, por exemplo, pela administração de antibióticos, pode permitir a proliferação desta bactéria produtora de esporos e de toxinas e culminar num quadro de colite pseudomembranosa, colocando em risco a vida do doente (Khanna e Tosh, 2014; Lynch e Pedersen, 2016; Marques *et al.*, 2016).

Infeções por *C. difficile* são adquiridas com maior frequência em contexto hospitalar e o seu tratamento é complicado. Os esporos conferem-lhe elevada resistência à maioria dos antibióticos e são muitas vezes responsáveis pelo desenvolvimento de infeções recorrentes (Lynch e Pedersen, 2016).

A antibioterapia pode agravar o quadro existente, na medida em que pode contribuir para um maior desequilíbrio da microbiota intestinal. Em alternativa, têm surgido outras opções de tratamento, como o transplante fecal que visa restabelecer a microbiota saudável (Khanna e Tosh, 2014; Mohajeri *et al.*, 2018; Marques *et al.*, 2016).

As doenças inflamatórias intestinais (*Inflammatory bowel diseases*, IBDs) são um conjunto de patologias do TGI caracterizadas por inflamação crónica, dor abdominal e alterações no trânsito intestinal (Dinan e Cryan, 2015). A doença de Crohn e a colite ulcerosa estão incluídas neste grupo de doenças. As causas não são ainda claras, contudo, acredita-se que uma desregulação na comunicação entre o sistema imunitário e a microbiota intestinal possa contribuir para o seu desenvolvimento (Jovel *et al.*, 2018; Marques *et al.*, 2016; Khan *et al.*, 2019).

As IBDs caracterizam-se por uma redução de bactérias comensais benéficas para a saúde do indivíduo e um predomínio de bactérias prejudiciais. Firmicutes e Bacteroidetes apresentam especial redução, ao contrário do filo Proteobacteria, em particular, a família Enterobacteriaceae, que sofre um aumento considerável. Atendendo a estes factos, o aumento do número de Firmicutes no TGI tem sido encarado como uma estratégia no tratamento das IBDs (Althani *et al.*, 2016; Zuo e Ng, 2018).

Ao nível da espécie, verifica-se um aumento de *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* e *Escherichia coli*, em especial a estirpe *Escherichia coli* aderente-invasiva (*Adherent-invasive Escherichia coli*, AIEC) (Khan *et al.*, 2019). O género *Fusobacterium*, que tal como AIEC possui capacidades aderentes e invasivas, encontra-se também aumentado nestas patologias (Zuo e Ng, 2018).

Assim como existem bactérias fomentadoras das IBDs, existem também bactérias com uma função protetora. É o caso de *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* e *Faecalibacterium* que reduzem a resposta inflamatória estimulando a produção de citocinas anti-inflamatórias, ao mesmo tempo que inibem a produção de citocinas pró-inflamatórias (Zuo e Ng, 2018). Destarte, não é de estranhar a menor representação destes géneros nas IBDs (Althani *et al.*, 2016).

A diminuição da diversidade bacteriana parece coincidir com o aumento de bacteriófagos da ordem Caudovirales, o que alerta para a importância do viroma na disbiose bacteriana. Já em relação ao microbioma verifica-se um aumento nos filos Basidiomycota e Ascomycota (em particular o género *C. albicans*) em comparação com indivíduos saudáveis (Zuo e Ng, 2018).

A disbiose pode comprometer a barreira intestinal, logo a homeostasia intestinal. Habitualmente, traduz-se em desequilíbrios entre o número de células T auxiliares 17 (*T helper 17 cells*, Th17), responsáveis por uma ação pró-inflamatória, e o número de células T regulatórias (*Regulatory T cells*, Treg), que possuem uma ação anti-inflamatória. A figura 7 resume as principais diferenças entre a microbiota intestinal do indivíduo saudável e a microbiota intestinal característica das IBDs (Khan *et al.*, 2019).

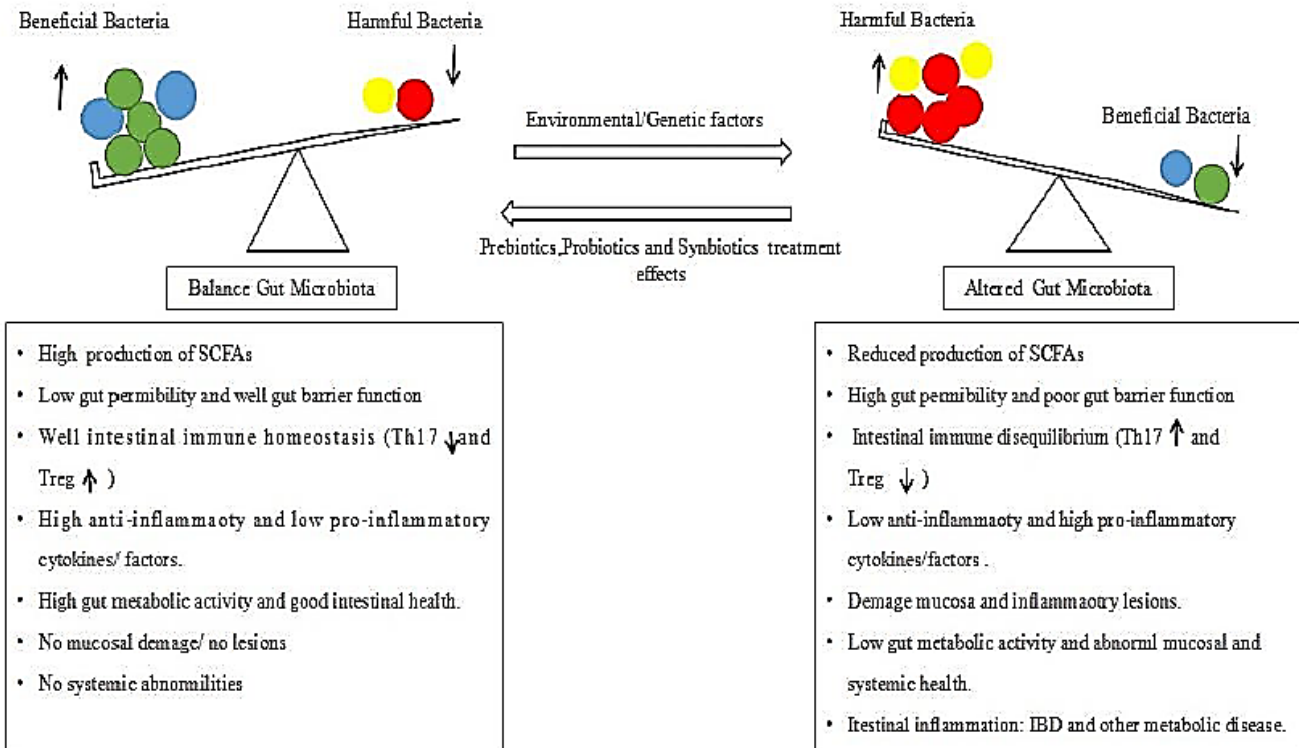


Figura 7- Diferenças entre a microbiota intestinal saudável e a microbiota intestinal característica das doenças inflamatórias intestinais (Khan *et al.*, 2019).

O eixo cérebro-intestino explica a ligação entre as IBDs e estados como a depressão e a ansiedade (Dinan e Cryan, 2017). A perda de integridade da barreira intestinal, inerente às IBDs, aumenta a concentração plasmática de LPS e citocinas pró-inflamatórias e altera a produção de metabolitos e neurotransmissores pela microbiota. IL-6, TNF- α e proteína C-reativa são alguns dos biomarcadores cujos níveis se encontram elevados tanto em casos de depressão como de ansiedade (Kelly *et al.*, 2015). Os efeitos desta elevação estão descritos na figura 8 e traduzem-se na excessiva ativação do eixo hipotalâmico-pituitário-adrenocortical (*Hypothalamic-Pituitary-Adrenocortical Axis*, HPA), o que provoca um aumento na produção da hormona libertadora de corticotropina (corticotropin-releasing hormone, CRH), pelo hipotálamo. CRH estimula a libertação de adrenocorticotrofina (adrenocorticotrophic hormone, ACTH) pela adenohipófise e a última, por sua vez, estimula a libertação de cortisol pelas glândulas adrenais. O cortisol encontra-se especialmente elevado em situações de stress (Clapp *et al.*, 2017; Kelly *et al.*, 2015; Cussotto *et al.*, 2018).

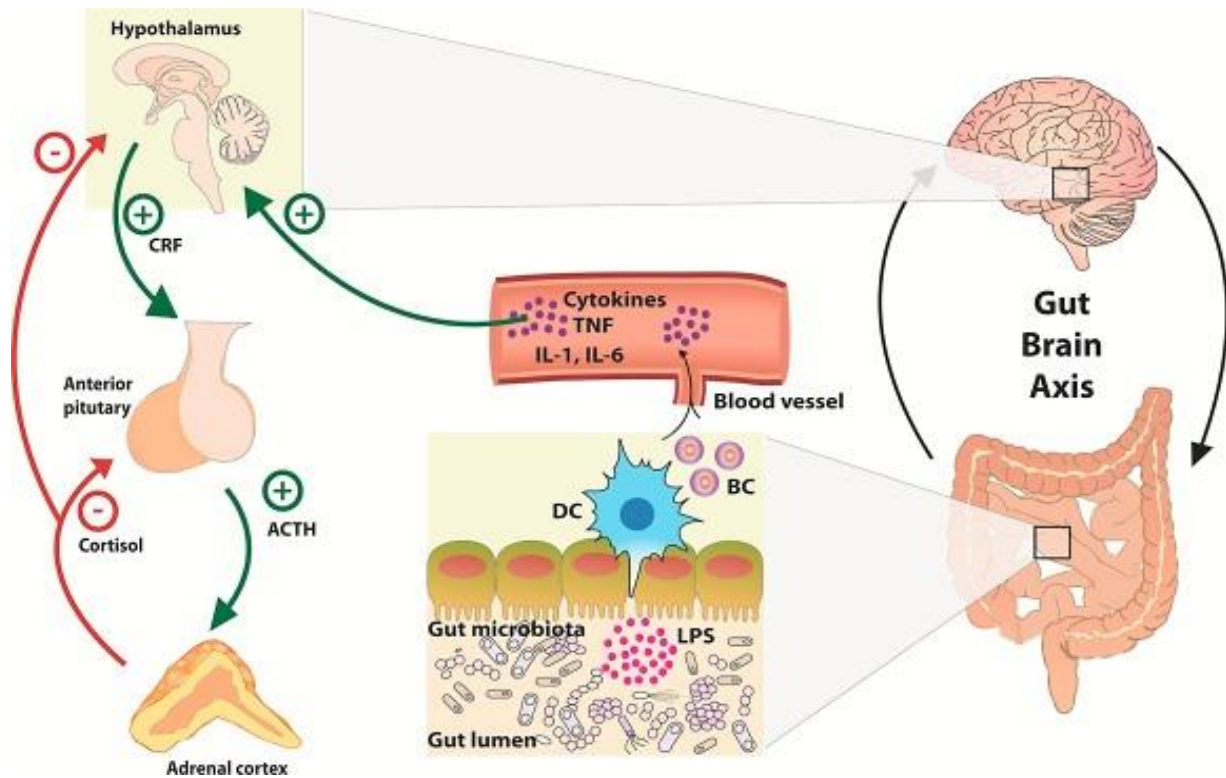


Figura 8- O sistema imune como intermediário da comunicação entre a microbiota intestinal e o eixo hipotalâmico - pituitário - adrenocortical (Cussotto *et al.*, 2018).

v. Obesidade e diabetes mellitus tipo 2

A obesidade é uma das doenças metabólicas cuja responsabilidade, em parte, pode ser atribuída ao microbioma. Esta doença resulta da acumulação excessiva de tecido adiposo e, na sua origem, têm sido apontados múltiplos fatores, entre os quais fatores genéticos, a dieta, o exercício físico e, mais recentemente, a disbiose (Dreyer e Liebl, 2018). A influência que a última exerce sobre a permeabilidade intestinal e sobre a fermentação e absorção de hidratos de carbono indigeríveis pode explicar o seu papel no desenvolvimento da epidemia abordada (Muscogiuri *et al.*, 2019). Esta relação justifica, por exemplo, a administração de doses subterapêuticas de antibióticos ao gado, com o objetivo de acelerar o seu crescimento e aumentar a sua massa gorda (Hartstra *et al.*, 2015).

Mais do que uma questão estética, a obesidade é a porta de entrada para inúmeras patologias com consequências graves, como a diabetes mellitus tipo 2 (Dreyer e Liebl, 2018). Tanto que, uma perda de peso na ordem dos 5-10% parece estar relacionada com

a diminuição da resistência à insulina em indivíduos obesos ou com excesso de peso (Everard e Cani, 2013).

Os metabolitos produzidos pela microbiota intestinal (v.g. SCFAs, ácidos biliares secundários) e o LPS são os principais intervenientes nos mecanismos promotores das desordens metabólicas (Villanueva-Millan, Perez-Matute e Oteo, 2015).

Para além da parca diversidade da microbiota intestinal do indivíduo obeso, existem alterações na expressão dos dois filos dominantes da microbiota intestinal. Enquanto o filo Firmicutes sofre um aumento, a representação do filo Bacteroidetes é diminuída. Esta alteração não é, contudo, consensual entre os vários autores (Rosenbaum, Knight e Liebel, 2015). Relativamente a níveis mais baixos, o género *Bifidobacterium* está diminuído tanto na microbiota intestinal do obeso como na do diabético (Everard e Cani, 2013). O aumento de Firmicutes, traduz-se num maior número de microrganismos capazes de metabolizar os hidratos de carbono ingeridos de modo mais eficaz, convertendo-os em SCFAs, ou seja, traduz-se numa maior capacidade da microbiota em obter energia. O excesso de energia é armazenado sob a forma de glucose ou lípidos, promovendo a obesidade. O papel obesogénico destes metabolitos é, contudo, controverso, uma vez que também estão envolvidos numa série de mecanismos promotores da perda de peso (Chakraborti, 2015).

O local de eleição para a produção dos SCFAs é o cólon, mais especificamente, o cólon proximal, onde a quantidade de substrato disponível é maior. Aí, os hidratos de carbono indigeríveis são convertidos pela microbiota em SCFAs, dióxido de carbono e hidrogénio. A maior parte do butirato é utilizado como fonte de energia para o metabolismo celular, contribuindo para a proliferação, diferenciação e maturação dos enterócitos e para a libertação dos seus produtos, ou seja, para a integridade do epitélio intestinal. A sua ausência no cólon induz a apoptose celular (Chakraborti, 2015; den Besten *et al.*, 2013). O propionato e o acetato, de um modo geral, migram através da corrente sanguínea até ao fígado e órgãos periféricos, onde funcionam como substratos na gliconeogénese e lipogénese e, no caso do acetato, na síntese de colesterol (Hartstra *et al.*, 2015).

Uma dieta rica em fibras, e, portanto, em SCFAs, estimula os recetores acoplados à proteína G (*G-protein-coupled receptors*, GPRs), GPR 41 e GPR 43, presentes nas células enteroendócrinas do epitélio intestinal. Em consequência, estes compostos diminuem a

libertação de citocinas pró-inflamatórias, induzem a libertação de hormonas gastrointestinais, tais como o péptido YY e o péptido semelhante a glucagon 1 (*Glucagon-Like Peptide -1*, GLP-1) e aumentam a produção de leptina e a sensibilidade do hipotálamo para a última, contribuindo para a saciedade e, naturalmente, para a perda de peso (Hartstra *et al.*, 2015; Maruvada *et al.*, 2017; Muscogiuri *et al.*, 2019).

Por outro lado, uma dieta rica em gordura contribui para a disbiose intestinal, com predomínio de filos onde imperam bactérias de Gram-negativo, bactérias que contêm LPS na membrana externa. Esta alteração da microbiota reduz a expressão de genes que codificam proteínas de junção intracelular (e.g. claudina e zonula ocludens-1), o que leva a uma maior permeabilidade da barreira intestinal, facilitando a translocação dos microrganismos e dos seus metabolitos para a corrente sanguínea. A elevada concentração plasmática desta endotoxina (endotoxemia metabólica) aumenta a resistência à insulina e despoleta uma resposta imune inata no hospedeiro, contribuindo para o processo inflamatório de baixo grau, crónico e sistémico que tão bem caracteriza a obesidade (Cani *et al.*, 2012; Maruvada *et al.*, 2017). A resposta inflamatória induzida pelo LPS enfraquece a integridade da barreira intestinal, que, por sua vez, propicia o aumento da concentração plasmática de LPS e assim sucessivamente (Muscogiuri *et al.*, 2019).

A conversão dos ácidos biliares primários em secundários está dependente dos microrganismos que compõem a microbiota intestinal. Estes metabolitos, quando reconhecidos pelos recetores de ácidos biliares acoplados à proteína G (*G-protein-coupled bile acid receptor*, TGR-5), aumentam o gasto energético e a libertação de GLP-1 nas células L intestinais. Possuem por isso um papel protetor, contrariando o aumento de peso e a maior resistência à insulina (Gurung *et al.*, 2020). Tanto no obeso quanto no diabético, a quantidade destes metabolitos é diminuta, comparativamente ao indivíduo saudável (Cornejo-Pareja *et al.*, 2019).

A microbiota intestinal parece controlar a expressão da fosfatase alcalina intestinal, uma enzima envolvida não só na digestão de lípidos, mas também na desfosforilação da componente lipídica do LPS. A sua expressão parece diminuída no obeso, o que pode contribuir para a endotoxemia metabólica (Everard e Cani, 2013).

A obesidade parece também estar associada a uma menor expressão do fator adiposo induzido pelo jejum (*fasting-induced adipocyte factor*, FIAF) no epitélio intestinal. O FIAF é um inibidor da lipase lipoproteica (LPL), logo a sua menor expressão permite que haja uma maior disponibilidade desta enzima que, para além de hidrolisar triglicéridos, estimula o seu armazenamento nos adipócitos, contribuindo para uma maior acumulação de gordura (John e Mullin, 2016; Cornejo-Pareja *et al.*, 2019).

Também a maior ativação do sistema endocanabinóide no intestino e no tecido adiposo parece estar associada à obesidade. Esta ativação, que se traduz na maior expressão do recetor de canabinoides (CB1) e do seu agonista anandamida, resulta num aumento da permeabilidade intestinal, da lipogénese e da concentração plasmática de LPS (Muccioli *et al.*, 2010). Alguns estudos em ratos demonstram que a administração de antibióticos reduz a expressão do mRNA de CB1, no cólon, o que, mais uma vez, comprova a influência da microbiota intestinal na obesidade (Everard e Cani, 2013).

A figura 9 resume os principais mecanismos que relacionam a microbiota intestinal com a patologia abordada.

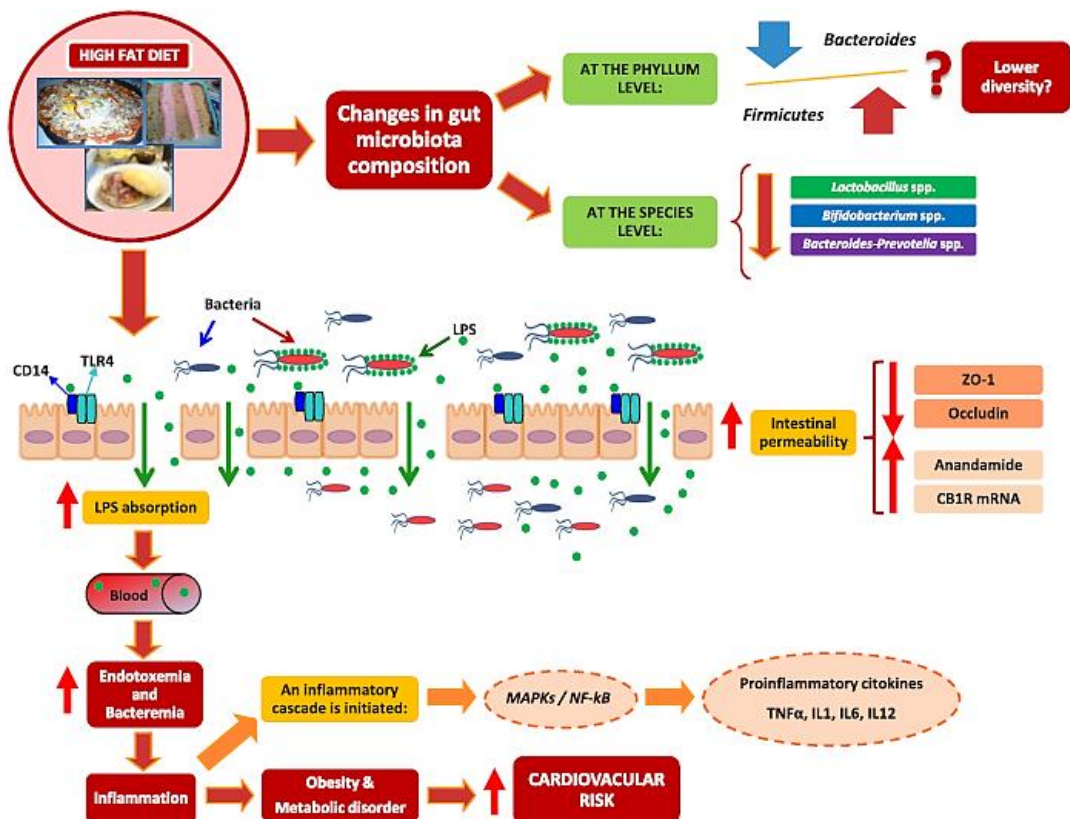


Figura 9- Relação entre a disbiose intestinal e a obesidade (Villanueva-Millan, Perez-Matute e Oteo, 2015).

A diabetes mellitus tipo 2 é uma patologia caracterizada, principalmente, pelo aumento da produção de glicose, no fígado, e pela diminuição da secreção e ação da insulina. Contrariamente ao que acontece na obesidade, a microbiota intestinal do diabético caracteriza-se por um aumento de Bacteroidetes e uma diminuição de Firmicutes, sobretudo de bactérias produtoras de butirato (e.g. *Roseburia intestinalis* e *Faecalibacterium prausnitzii*) (Moreno-Indias *et al.*, 2014). O número de espécies redutoras de sulfato e degradadoras de mucina também aumenta (Tilg e Moschen, 2014) Atendendo a que o butirato é essencial para a manutenção da integridade do epitélio intestinal, estas alterações podem favorecer a endotoxemia metabólica. Como anteriormente explicado, quando o LPS atinge a corrente sanguínea e é reconhecido pelos recetores do tipo Toll (TLR4), despoleta uma resposta imune, na qual estimula a produção de agentes pró-inflamatórios (e.g. Il-6 e TNF- α). Estes agentes contribuem para uma maior resistência à insulina no fígado, músculo e tecido adiposo, favorecendo o desenvolvimento da diabetes tipo 2. Assim, também esta patologia assenta na produção de SCFAs (em especial o butirato) e na endotoxemia metabólica (Xiao e Zhao, 2014; Moreno-Indias *et al.*, 2014).

vi. Doenças cardiovasculares

As doenças cardiovasculares são a maior causa de morte mundial e, tal como a obesidade e a diabetes, têm vindo a ser relacionadas com o microbioma. (Blekkenhorst *et al.*, 2018) A microbiota oral e a intestinal parecem ser as que maior impacto possuem nestas doenças, uma vez que muitos dos microrganismos identificados nas placas ateroscleróticas fazem parte da sua constituição (Koren *et al.*, 2011).

Sem surpresa, o LPS é um dos responsáveis pela inflamação que caracteriza as placas ateroscleróticas (Yang *et al.*, 2021). A diversidade microbiana nestes locais é muito elevada, verificando-se um predomínio de espécies que estimulam a produção de citocinas pró-inflamatórias (Saxena e Sharma, 2016). O enriquecimento do género *Collinsella* e a redução em *Roseburia* e *Eubacterium* distinguem as microbiotas do indivíduo saudável e do doente com aterosclerose (Karlsson *et al.*, 2012).

O N-óxido trimetilamina (*Trimethylamine N-oxide*, TMAO) é um produto fulcral no desenvolvimento das doenças cardiovasculares. Este metabolito resulta da intervenção da

microbiota, que converte alguns nutrientes (v.g. fosfatidilcolina, colina e L-carnitina), abundantes sobretudo em carnes vermelhas, em trimetilamina (TMA). A última é convertida, à posteriori, no fígado, em TMAO, pela ação da flavina monooxigenase (Tang, Kitai e Hazen, 2017; Sarojini, 2018).

TMAO parece estar associado a uma maior acumulação de gordura nas artérias, ou seja, à aterosclerose, muito embora não se conheça em concreto o mecanismo exato desta associação (Yoshida, Yamashita e Hirata, 2018; Saxena e Sharma, 2016). Este metabolito parece promover a acumulação de gordura nas artérias através da inibição do transporte reverso dos lípidos (transporte através de High Density Lipoproteins) e do bloqueio da secreção de ácidos biliares. Além disso, promove a formação de células espumosas (macrófagos ricos em lípidos), na medida em que aumenta a expressão de CD36 e SRA, recetores envolvidos na *clearance* de LDL (Liu, Niu e Zhang, 2015).

Curiosamente, a produção de TMAO é muito maior em omnívoros do que em vegetarianos, o que, novamente, comprova a influência de fatores ambientais, como a dieta, no microbioma (Koeth *et al.*, 2013). Uma dieta mais pobre em colina e nos restantes substratos das TMA-liases, pode diminuir o risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares. TMAO pode ser utilizado como um marcador, na determinação desse risco (Yoshida, Yamashita e Hirata, 2018; Saxena e Sharma, 2016).

Relativamente à microbiota oral, a redução do nitrato ingerido em nitrito é uma das suas funções. Uma vez na corrente sanguínea o nitrito é convertido em óxido nítrico, essencial para garantir o relaxamento do músculo liso da parede dos vasos sanguíneas. A disbiose oral, pode comprometer esta função, promovendo a hipertensão arterial (Wade, 2013; Blekkenhorst *et al.*, 2018).

vii. Distúrbios neurológicas

Como mencionado previamente, o eixo cérebro-intestino permite a comunicação bilateral entre estas estruturas. A comunicação é estabelecida por diferentes vias e intermediários, e.g. nervo vago, SCFAs, neurotransmissores, triptofano, hormonas gastrointestinais e citocinas. É através deste eixo que a microbiota intestinal influencia o sistema nervoso central e vice-versa. O seu desequilíbrio altera os níveis de neurotransmissores, dos seus

recetores e de diversos fatores neurotróficos, o que contribui, em parte, para o desenvolvimento de patologias como as IBDs, perturbações do comportamento alimentar e várias desordens neurológicas, entre elas, depressão, doença de Alzheimer e doença de Parkinson (Dinan e Cryan, 2017; Flux e Lowry, 2020; Troncoso-Escudero *et al.*, 2018).

A influência do microbioma no desenvolvimento do transtorno depressivo maior, vulgarmente denominado como depressão, foi já mencionado aquando da abordagem das IBDs. De um modo geral, indivíduos que sofrem deste transtorno apresentam mau humor, sono, alterações do apetite e do desejo sexual. Muitas vezes comportamentos suicidas e de auto-mutilação podem estar associados à depressão, pelo que, uma nova abordagem, sustentada no papel que o microbioma desempenha na génese deste transtorno e no seu potencial enquanto estratégia de tratamento, tem sido ambicionada (Dinan e Cryan, 2015).

Aparentemente, a disbiose intestinal, assente na redução do filo Firmicutes e no aumento de Bacteroidetes, Proteobacteria e Actinobacteria, caracteriza esta patologia (Dinan e Cryan, 2015). O aumento de géneros produtores do neurotransmissor inibitório GABA, e.g. *Bacteroides*, pode contribuir para o estado depressivo (Johnson, 2020; Flux e Lowry, 2020). Além de influenciar a concentração de diversos neurotransmissores, a disbiose parece associar-se a uma desregulação do HPA e à produção exagerada de cortisol, como explicado anteriormente (Clapp *et al.*, 2017).

A doença de Parkinson é uma das doenças neurodegenerativas mais prevalentes a nível mundial e é caracterizada por neuroinflamação, pela acumulação da proteína α -sinucleína (α -syn) e pela perda progressiva de neurónios dopaminérgicos na porção compacta da substância nigra (Cussotto *et al.*, 2018). Os principais sintomas desta patologia são bradicinesia, rigidez, tremor e instabilidade postural (Troncoso-Escudero *et al.*, 2018; Breugelmans, Winter e Smet, 2019).

Comparativamente ao indivíduo saudável, a microbiota intestinal do doente com Parkinson evidencia um aumento da família Enterobacteriaceae e uma redução na família Prevotellaceae (Ghaisas, Maher e Kanthasamy, 2016). Estas oscilações são responsáveis por um dos distúrbios gastrointestinais mais comuns no doente com Parkinson, a obstipação. Este distúrbio, surge, normalmente, muito antes dos principais sintomas da doença e parece estar relacionado com a perda de bactérias produtoras de SCFAs -

metabolitos promotores da motilidade intestinal (Troncoso-Escudero *et al.*, 2018). Também a dificuldade em caminhar e a instabilidade postural parecem estar relacionadas com a disbiose intestinal mencionada (Dinan e Cryan, 2015).

A figura 10 demonstra que, juntamente com a disbiose, a produção excessiva de α -syn facilita o desenvolvimento da doença de Parkinson. Este excesso é favorecido pela microbiota e seus metabolitos (Sampson *et al.*, 2016). A degeneração dos neurónios dopaminérgicos da substância nigra, leva à acumulação de α -syn e à sua agregação em corpos de Lewy e neuritos de Lewy (Miraglia e Colla, 2019). De acordo com a hipótese de Braak esta agregação inicia-se no intestino, mais concretamente, no plexo submucoso e mioentérico, disseminando-se posteriormente para o cérebro, durante a comunicação nervosa. A sua acumulação no intestino promove a inflamação local e a permeabilidade intestinal. Esta teoria é, contudo, controversa (Sampson *et al.*, 2016; Miraglia e Colla, 2019; Santos *et al.*, 2019). Enquanto os SCFAs favorecem a maturação da microglia (células que protegem o sistema nervoso central), α -syn induz a sua ativação, promovendo a neuroinflamação e a degeneração neuronal (Troncoso-Escudero *et al.*, 2018).

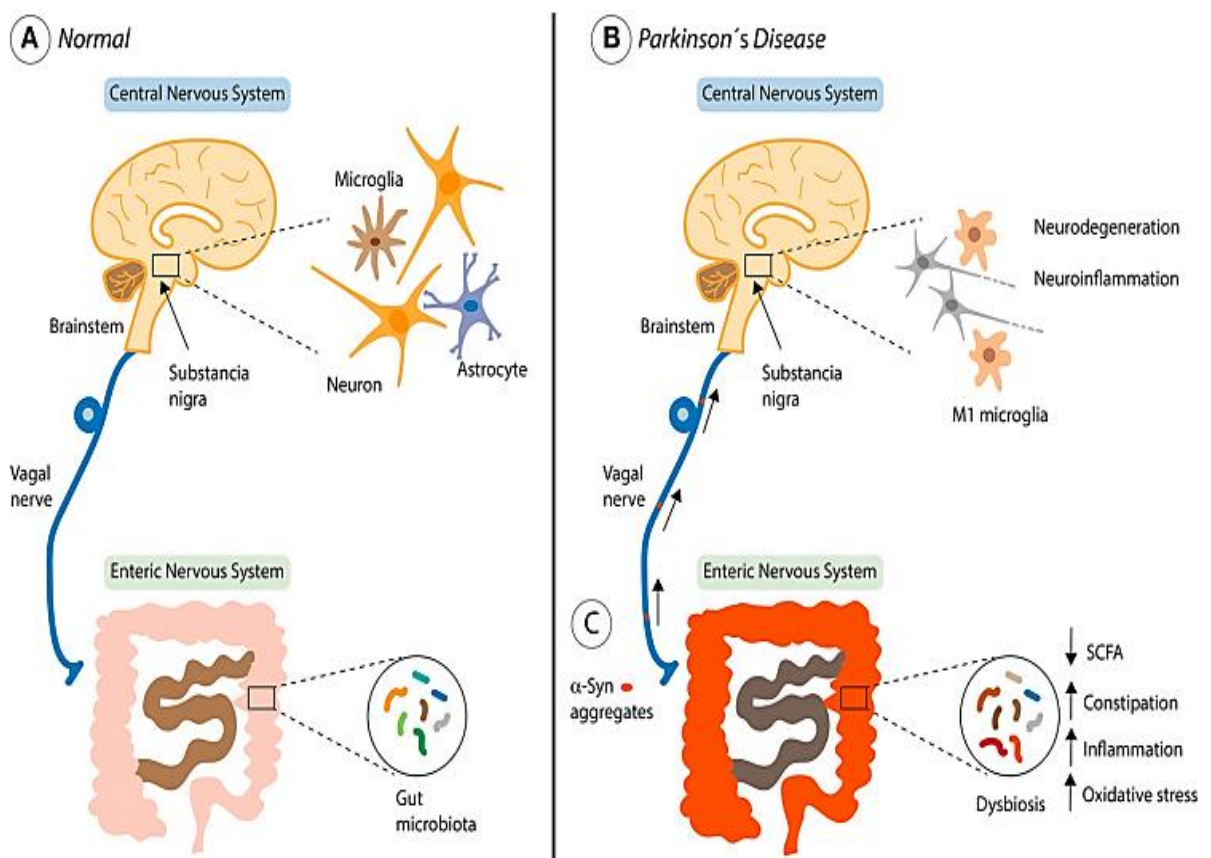


Figura 10- Contribuição da microbiota intestinal no desenvolvimento da doença de Parkinson (Troncoso-Escudero *et al.*, 2018).

Alguns estudos têm comprovado a diminuição da absorção de L-dopa em doentes infectados por *Helicobacter pylori* e o aumento da sua concentração plasmática após erradicação da bactéria. A infecção por *H.pylori* é muito comum no doente com Parkinson, mas a dúvida mantém-se: Será este microrganismo um dos responsáveis pela doença, ou será a doença a facilitar a sua invasão (Parashar e Udayabanu, 2017)?

4. Potencial da modelação do microbioma na terapêutica

Partindo do pressuposto que desequilíbrios no microbioma são sinónimo de doença, então a recuperação do microbioma saudável pode ser uma alternativa terapêutica interessante. Neste contexto, têm sido exploradas diferentes formas de modelar o microbioma recuperando a sua harmonia, tais como o recurso a probióticos e prebióticos e o transplante fecal (Preidis e Versalovic, 2009; Inda *et al.*, 2019).

Probióticos são microrganismos vivos que, quando administrados em doses adequadas, conferem benefícios à saúde do indivíduo. Podem ser utilizados isoladamente ou em associação a prebióticos (ingredientes alimentares não digeríveis, que afetam positivamente o hospedeiro ao estimularem o crescimento e/ou atividade de microrganismos benéficos para a saúde humana). A conjugação de ambos dá origem aos simbióticos (Hill *et al.*, 2014; Preidis e Versalovic, 2009).

De entre os microrganismos mais frequentemente incluídos em probióticos destacam-se: *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*. *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Bacillus* e a levedura *Saccharomyces* são também muito utilizados (Markowiak e Slizewska, 2017). Administrados isoladamente ou em associação, os probióticos impedem o crescimento de microrganismos patogénicos, competindo pelo mesmo nicho e produzindo compostos com ação antimicrobiana. Além disso, modulam o sistema imunitário e reduzem a permeabilidade intestinal e a concentração plasmática de LPS (Wosinska *et al.*, 2019). Apesar de todo o potencial desta estratégia, os estudos que avaliam a eficácia da utilização de probióticos no tratamento de doenças relacionadas com desequilíbrios do microbioma não são suficientes, nem consensuais. Os probióticos utilizados atualmente abrangem escassas espécies de microrganismos e destinam-se à generalidade da população (Lin *et al.*, 2019). Além disso, tanto os probióticos como o transplante fecal permitem

restabelecer o microbioma saudável apenas por um período limitado de tempo. Assim, a necessidade de novas alternativas é clara.

A possibilidade de se desvendar o microbioma no seu todo, ou seja, de se identificar todos os seus elementos e produtos, as suas funções e o modo como interagem entre si e com o indivíduo pode abrir caminho também ao desenvolvimento de probióticos personalizados, os chamados probióticos de próxima geração (*Next Generation Probiotics*, NPGs) que, contrariamente aos tradicionais, se destinam à prevenção e tratamento de doenças específicas como as aqui abordadas. Por serem consideradas espécies-chave, isto é, espécies cujo impacto na comunidade é desproporcionalmente grande atendendo à sua abundância, *Akkermansia muciniphila*, *Faecalibacterium prausnitzii*, *Bacteroides* spp., *Eubacterium halli* e *Clostridium* cluster IV são alguns dos atuais candidatos a NPGs (Dahiya *et al.*, 2019; Almeida *et al.*, 2019).

A utilização de antibióticos no combate a microrganismos invasores é uma estratégia comum no tratamento de algumas disbioses, mas o impacto que causa em toda a comunidade microbiana pode agravar o seu desequilíbrio, ao invés de resolver a situação. Além disso, as bactérias têm-se tornado cada vez mais resistentes à antibioterapia, pelo que novas estratégias têm sido tentadas. Uma das consequências do uso excessivo de antibióticos é a infecção intestinal causada por *C. difficile*. A elevada resistência desta bactéria a antibióticos torna, muitas vezes, esta opção terapêutica ineficaz, exigindo a adoção de novas alternativas, como o transplante fecal (Langdon, Crook e Dantas, 2016; Kashyap *et al.*, 2017). Este método consiste na introdução de fezes de um indivíduo saudável (dador) no TGI do doente, com vista a recuperar o microbioma saudável. O princípio será o mesmo da administração de probióticos, mas, neste caso, o doente não recebe uma ou outra estirpe, mas antes toda a comunidade microbiana do dador (Kashyap *et al.*, 2017; Jovel *et al.*, 2018). Posto isto, o potencial do transplante fecal não se esgota no tratamento da infecção abordada, podendo, futuramente, ser utilizado no tratamento de diversas patologias locais e sistémicas para as quais contribuam desequilíbrios no microbioma (Mimica, 2017). Citando exemplo, estudos em ratos comprovaram que a transferência da microbiota intestinal de dadores magros para indivíduos obesos resultou numa maior sensibilidade dos últimos à insulina (Oliveira e Hammes, 2016).

O desenvolvimento de compostos com ação antimicrobiana, específicos para determinados patógenos (e.g. péptidos antimicrobianos e bacteriófagos) poderá constituir mais uma solução terapêutica, no futuro (Inda *et al*, 2019).

Com o desenrolar da investigação do microbioma espera-se ainda identificar biomarcadores que permitam distinguir o microbioma saudável do microbioma em desequilíbrio, tais como alterações na composição microbiana ou nos seus metabolitos. Desta forma, espera-se intervir de modo mais eficaz não só no tratamento como na prevenção de patologias, melhorando o seu prognóstico (Xiao e Zhao, 2014; Lavelle e Hill, 2019).

III. CONCLUSÃO

O microbioma humano pode ser considerado parte integrante do indivíduo. Este termo define a totalidade de microrganismos, a sua informação genética e o meio no qual interagem (Cho e Blaser, 2012; Pflughoft e Versalovic, 2012). Sem ele, assim como sem um órgão essencial, a existência do ser humano estaria comprometida. Compreender de que forma é constituído, o modo como evolui e sobretudo como os seus elementos interagem é essencial para que todo o seu potencial seja revelado (Abenavoli *et al.*, 2019).

Ao longo do tempo, o microbioma e o ser humano estabeleceram uma relação de benefício mútuo. Em troca de um ambiente profícuo e favorável ao crescimento dos microrganismos que o compõem, o microbioma garante uma série de processos promotores da saúde do indivíduo, favorecendo a digestão, a obtenção de energia, a síntese de vitaminas, a manutenção da barreira intestinal, o desenvolvimento do sistema imunológico e neuronal e prevenindo a invasão de patógenos (Jones *et al.*, 2014; Althani *et al.*, 2016).

Desequilíbrios no microbioma humano representam um impacto negativo na saúde, uma vez que condicionam o modo como decorrem as interações entre os microorganismos e entre estes e o indivíduo, tendo sido associados a diversas patologias locais e sistémicas, tais como as abordadas na presente dissertação. Embora o sentido desta relação de causalidade seja ainda uma incógnita, esta associação abre caminho a novas perspetivas terapêuticas assentes na manipulação do microbioma (Cho e Blaser, 2012; Davenport *et al.*, 2017; Jovel *et al.*, 2018; Althani *et al.*, 2016).

A classificação de cada indivíduo de acordo com a sua impressão digital microbiana, poderá contribuir para a definição de novos alvos terapêuticos e de novas formas de diagnóstico e de tratamento, premiando assim uma abordagem mais personalizada a determinadas patologias (Langdon, Crook e Dantas, 2016; Zmora *et al.*, 2016; Kashyap *et al.*, 2017; Maruvada *et al.*, 2017; Abenavoli *et al.*, 2019).

Embora nos últimos anos esta área tenha sofrido um enorme impulso, há ainda um longo percurso a percorrer. A investigação levantou apenas a ponta do véu e o futuro parece promissor.

BIBLIOGRAFIA

Abenavoli, L., *et al.* (2019). Gut Microbiota and Obesity: A Role for Probiotics. *Nutrients*, 11(11), pp. 1-27.

Aguirre De Carcer, D. (2018). The human gut pan-microbiome presents a compositional core formed by discrete phylogenetic units. *Scientific Reports*, 8(1), pp. 1-8.

Albenberg, L. G. and Wu, G. D. (2014). Diet and the intestinal microbiome: associations, functions, and implications for health and disease. *Gastroenterology*, 146(6), pp. 1564-1572.

Almeida, D., *et al.* (2019). Evolving trends in next-generation probiotics: a 5W1H perspective. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 60(11), pp. 1783-1796.

Althani, A. A., *et al.* (2016). Human Microbiome and its Association With Health and Diseases. *Journal of Cellular Physiology*, 231(8), pp. 1688-1694.

Appanna, V. D. (2017). *Human Microbes - The Power Within*. Singapore, Springer Nature.

Arnold, W. M., *et al.* (2019). The Human Microbiome in Health and Disease. In: Netto, G. J. and Schrijver, I. (Eds.). (2015). *Genomic applications in pathology*. Springer New York, pp. 607-618.

Baker, J. L., *et al.* (2017). Ecology of the Oral Microbiome: Beyond Bacteria. *Trends in Microbiology*, 25(5), pp. 362-374.

Blekkenhorst, L. C., *et al.* (2018). Nitrate, the oral microbiome, and cardiovascular health: a systematic literature review of human and animal studies. *American Journal Clinical Nutrition*, 107(4), pp. 504-522.

Brenchley, J. M. and Douek, D. C. (2012). Microbial translocation across the GI tract. *Annual Review of Immunology*, 30, pp. 149-173.

Breugelmans, T., Winter, B. Y. D. and Smet, A. (2019). The microbiota-gut-brain axis in gastrointestinal inflammation and neurological comorbidities. *Microbiota in Health and Disease*, 1, pp. 1-7.

Bushman, F. D. (2019). De-Discovery of the Placenta Microbiome. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 220(3), pp. 213-214.

Cabral, D. J., *et al.* (2019). Microbial Metabolism Modulates Antibiotic Susceptibility within the Murine Gut Microbiome. *Cellular Metabolism*, 30(4), pp. 800-823.

Cani, P. D., *et al.* (2012). Involvement of gut microbiota in the development of low-grade inflammation and type 2 diabetes associated with obesity. *Gut Microbes*, 3(4), pp. 279-288.

Chakraborti, C. K. (2015). New-found link between microbiota and obesity. *World Journal of Gastrointestinal Pathophysiology*, 6(4), pp. 110-119.

Chen, C., *et al.* (2013). Secreted proteases control autolysin-mediated biofilm growth of *Staphylococcus aureus*. *Journal of Biological Chemistry*, 288(41), pp. 29440-29452.

Chen, Y. E. and Tsao, H. (2013). The skin microbiome: current perspectives and future challenges. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 69(1), pp. 143-155.

Childs, C. E. (2018). From the Mediterranean Diet to the Microbiome. *The Journal of Nutrition*, 148(6), pp. 819-820.

Cho, I. and Blaser, M. J. (2012). The human microbiome: at the interface of health and disease. *Nature Reviews Genetics*, 13(4), pp. 260-270.

Christensen, G. J. and Bruggemann, H. (2014). Bacterial skin commensals and their role as host guardians. *Beneficial Microbes*, 5(2), pp. 201-215.

Chu, D. M., *et al.* (2019). The Development of the Human Microbiome: Why Moms Matter. *Gastroenterology Clinics of North America*, 48(3), pp. 357-375.

Clapp, M., *et al.* (2017). Gut microbiota's effect on mental health: The gut-brain axis. *Clinical Practice*, 7(4), pp. 131-136.

Claudel, J. P., *et al.* (2019). Staphylococcus epidermidis: A Potential New Player in the Physiopathology of Acne? *Dermatology*, 235(4), pp. 287-294.

Cornejo-Pareja, I., *et al.* (2019). Importance of gut microbiota in obesity. *The European Journal of Clinical Nutrition*, 72(Suppl 1), pp. 26-37.

Cundell, A. M. (2018). Microbial Ecology of the Human Skin. *Microbial Ecology*, 76(1), pp. 113-120.

Cussotto, S., *et al.* (2018). The Neuroendocrinology of the Microbiota-Gut-Brain Axis: A Behavioural Perspective. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 51, pp. 80-101.

Dahiya, D. K., *et al.* (2019). New-Generation Probiotics. *Microbiome and Metabolome in Diagnosis, Therapy, and other Strategic Applications*. pp. 417-424.

Davenport, E. R., *et al.* (2017). The human microbiome in evolution. *BMC Biology*, 15(1), pp. 127.

De Steenhuijsen Piters, W. A. and Bogaert, D. (2016). Unraveling the Molecular Mechanisms Underlying the Nasopharyngeal Bacterial Community Structure. *mBio*, 7(1), pp. 1-3.

Den Besten, G., *et al.* (2013). The role of short-chain fatty acids in the interplay between diet, gut microbiota, and host energy metabolism. *Journal of Lipid Research*, 54(9), pp. 2325-2340.

Dethlefsen, L. and Relman, D. A. (2011). Incomplete recovery and individualized responses of the human distal gut microbiota to repeated antibiotic perturbation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108(Suppl 1), pp. 4554-4561.

Dickson, R. P., *et al.* (2016). The Microbiome and the Respiratory Tract. *Annual Review of Physiology*, 78, pp. 481-504.

Dickson, R. P. and Huffnagle, G. B. (2015). The Lung Microbiome: New Principles for Respiratory Bacteriology in Health and Disease. *PLoS Pathogenes*, 11(7), pp. 1-5.

- Dinan, T. G. and Cryan, J. F. (2015). The impact of gut microbiota on brain and behaviour. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, 18(6), pp. 552-558.
- Dinan, T. G. and Cryan, J. F. (2017). The Microbiome-Gut-Brain Axis in Health and Disease. *Gastroenterology Clinics of North America*, 46(1), pp. 77-89.
- Donaldson, G. P., Lee, S. M. and Mazmanian, S. K. (2016). Gut biogeography of the bacterial microbiota. *Nature Reviews Microbiology*, 14(1), pp. 20-32.
- Dong, T. S. and Gupta, A. (2019). Influence of Early Life, Diet, and the Environment on the Microbiome. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 17(2), pp. 231-242.
- Dreno, B., et al. (2016). Microbiome in healthy skin, update for dermatologists. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, 30(12), pp. 2038-2047.
- Dreyer, J. L. and Liebl, A. L. (2018). Early colonization of the gut microbiome and its relationship with obesity. *Human Microbiome Journal*, 10, pp. 1-5.
- El Kaoutari, A., et al. (2013). The abundance and variety of carbohydrate-active enzymes in the human gut microbiota. *Nature Reviews Microbiology*, 11(7), pp. 497-504.
- Everard, A. and Cani, P. D. (2013). Diabetes, obesity and gut microbiota. *Best Practice Research Clinical Gastroenterology*, 27(1), pp. 73-83.
- Ferrer, M., et al. (2017). Antibiotic use and microbiome function. *Biochemical Pharmacology*, 134, pp. 114-126.
- Flux, M. C. and Lowry, C. A. (2020). Finding intestinal fortitude: Integrating the microbiome into a holistic view of depression mechanisms, treatment, and resilience. *Neurobiology Disease*, 135, pp. 1-36.
- Frazao, J. B., Errante, P. R. and Condino-Neto, A. (2013). Toll-like receptors' pathway disturbances are associated with increased susceptibility to infections in humans. *Archivum Immunologiae Therapiae Experimentalis (Warsz)*, 61(6), pp. 427-443.
- Gevers, D., et al. (2012). The Human Microbiome Project: a community resource for the healthy human microbiome. *PLoS Biology*, 10(8-e1001377), pp. 1-5.

- Ghaisas, S., Maher, J. and Kanthasamy, A. (2016). Gut microbiome in health and disease: Linking the microbiome-gut-brain axis and environmental factors in the pathogenesis of systemic and neurodegenerative diseases. *Pharmacology Therapy*, 158, pp. 52-62.
- Golofast, B. and Vales, K. (2020). The connection between microbiome and schizophrenia. *Neuroscience Biobehavior Review*, 108, pp. 712-731.
- Gomez, A. and Nelson, K. E. (2017). The Oral Microbiome of Children: Development, Disease, and Implications Beyond Oral Health. *Microbial Ecology*, 73(2), pp. 492-503.
- Grice, E. A. and Dawson, T. L., Jr. (2017). Host-microbe interactions: Malassezia and human skin. *Current Opinion Microbiology*, 40, pp. 81-87.
- Grice, E. A. and Segre, J. A. (2011). The skin microbiome. *Nature Reviews Microbiology*, 9(4), pp. 244-253.
- Gurung, M., et al. (2020). Role of gut microbiota in type 2 diabetes pathophysiology. *EBioMedicine*, 51, pp. 1-9.
- Haque, S. Z. and Haque, M. (2017). The ecological community of commensal, symbiotic, and pathogenic gastrointestinal microorganisms - an appraisal. *Clinical and Experimental Gastroenterology*, 10, pp. 91-103.
- Hartstra, A. V., et al. (2015). Insights into the role of the microbiome in obesity and type 2 diabetes. *Diabetes Care*, 38(1), pp. 159-165.
- NIH. (2012). *NIH Human Microbiome Project defines normal bacterial makeup of the body*. National Institutes of Health. [Em linha]. Disponível em <<https://www.nih.gov/news-events/news-releases/nih-human-microbiome-project-defines-normal-bacterial-makeup-body>>. [Consultado em 01/09/2020].
- Hehemann, J. H., et al. (2010). Transfer of carbohydrate-active enzymes from marine bacteria to Japanese gut microbiota. *Nature*, 464(7290), pp. 908-912.
- Hill, C., et al. (2014). The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 11(8), pp. 506-514.

- Inda, M. E., *et al.* (2019). Emerging Frontiers in Microbiome Engineering. *Trends Immunology*, 40 (10), pp. 952-973.
- Ishiguro, E., Haskey, N. and Campbell, K. (2018a). Chapter 2 - The Gut Microbiota. In: Ishiguro, E., Haskey, N. and Campbell, K. (Eds.) *Gut Microbiota*. Academic Press, pp. 17-39.
- Ishiguro, E., Haskey, N. and Campbell, K. (2018b). Chapter 4 - Gut Microbiota in Health and Disease. In: Ishiguro, E., Haskey, N. and Campbell, K. (Eds.) (2018). *Gut Microbiota*. Academic Press, 4, pp. 57-90.
- Jeurink, P. V., *et al.* (2013). Human milk: a source of more life than we imagine. *Beneficial Microbes*, 4(1), pp. 17-30.
- John, G. K. and Mullin, G. E. (2016). The Gut Microbiome and Obesity. *Current Oncology Reports*, 18, pp. 1-7.
- Johnson, K. V. A. (2020). Gut microbiome composition and diversity are related to human personality traits. *Human Microbiome Journal*, 15, pp. 1-15.
- Jones, M. L., *et al.* (2014). Emerging science of the human microbiome. *Gut Microbes*, 5(4), pp. 446-457.
- Jovel, J., *et al.* (2018). The Human Gut Microbiome in Health and Disease. *Metagenomics*, pp. 197-213.
- Karlsson, F. H., *et al.* (2012). Symptomatic atherosclerosis is associated with an altered gut metagenome. *Nature Communal*, 3, pp. 1-8.
- Kashyap, P. C., *et al.* (2017). Microbiome at the Frontier of Personalized Medicine. *Mayo Clinical Proceedings*, 92(12), pp. 1855-1864.
- Keisha Findley and Grice, E. A. (2014). The Skin Microbiome: A Focus on Pathogens and Their Association with Skin Disease. *PLOS Pathogens*, 10(11), pp. 1-3.
- Kelly, J. R., *et al.* (2015). Breaking down the barriers: the gut microbiome, intestinal permeability and stress-related psychiatric disorders. *Frontier Cellular Neuroscience*, 9(392), pp. 1-20.

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), pp. 3-28.

Khanna, S. and Tosh, P. K. (2014). A clinician's primer on the role of the microbiome in human health and disease. *Mayo Clinic Proceedings*, 89(1), pp. 107-114.

Knights, D., *et al.* (2014). Rethinking "enterotypes". *Cell Host Microbe*, 16(4), pp. 433-437.

Koeth, R. A., *et al.* (2013). Intestinal microbiota metabolism of L-carnitine, a nutrient in red meat, promotes atherosclerosis. *Nature Medicine*, 19(5), pp. 576-585.

Koren, O., *et al.* (2011). Human oral, gut, and plaque microbiota in patients with atherosclerosis. *Proceedings Natural Academy Science U S A*, 108(Suppl 1), pp. 4592-4598.

Korpela, K. and De Vos, W. M. (2018). Early life colonization of the human gut: microbes matter everywhere. *Current Opinion Microbiology*, 44, pp. 70-78.

Lanaspa, M., *et al.* (2017). Respiratory microbiota and lower respiratory tract disease. *Expert Reviews Anti Infection Therapy*, 15(7), pp. 703-711.

Langdon, A., Crook, N. and Dantas, G. (2016). The effects of antibiotics on the microbiome throughout development and alternative approaches for therapeutic modulation. *Genome Medicine*, 8 (1-39), pp. 1-16.

Lavelle, A. and Hill, C. (2019). Gut Microbiome in Health and Disease: Emerging Diagnostic Opportunities. *Gastroenterology Clinical North America*, 48(2), pp. 221-235.

Lee, Y. B., Byun, E. J. and Kim, H. S. (2019). Potential Role of the Microbiome in Acne: A Comprehensive Review. *Journal Clinical Medicine*, 8(7), pp. 1-25.

Lepage, P., *et al.* (2013). A metagenomic insight into our gut's microbiome. *Gut*, 62(1), pp. 146-158.

Lin, T.-L., *et al.* (2019). Investiture of next generation probiotics on amelioration of diseases – Strains do matter. *Medicine in Microecology*, 200, pp. 121-131.

- Liu, T. X., Niu, H. T. and Zhang, S. Y. (2015). Intestinal Microbiota Metabolism and Atherosclerosis. *Chinese Medical Journal*, 128 (20), pp. 2805-2811.
- Lloyd-Price, J., Abu-Ali, G. and Huttenhower, C. (2016). The healthy human microbiome. *Genome Medicine*, 8 (1-51), pp. 1-11.
- Lynch, S. V. and Pedersen, O. (2016). The Human Intestinal Microbiome in Health and Disease. *New England Journal Medicine*, 375(24), pp. 2369-2379.
- Lyte, M. (2013). Microbial endocrinology in the microbiome-gut-brain axis: how bacterial production and utilization of neurochemicals influence behavior. *PLoS Pathogens*, 9(11-e1003726), pp.1-3.
- Man, W. H., De Steenhuijsen Piters, W. A. and Bogaert, D. (2017). The microbiota of the respiratory tract: gatekeeper to respiratory health. *Nature Reviews Microbiology*, 15(5), pp. 259-270.
- Markowiak, P. and Slizewska, K. (2017). Effects of Probiotics, Prebiotics, and Synbiotics on Human Health. *Nutrients*, 9(9), pp. 1-30.
- Marques, T. M., *et al.* (2016). Correlating the Gut Microbiome to Health and Disease. *The Gut-Brain Axis*, pp. 261-291.
- Marsh, P. D. and Zaura, E. (2017). Dental biofilm: ecological interactions in health and disease. *Journal Clinical Periodontology*, 44(Suppl 18), pp. S12-S22.
- Maruvada, P., *et al.* (2017). The Human Microbiome and Obesity: Moving beyond Associations. *Cell Host Microbe*, 22(5), pp. 589-599.
- Matsumoto, M., *et al.* (2013). Cerebral low-molecular metabolites influenced by intestinal microbiota: a pilot study. *Front System Neuroscience*, 7(9), pp. 1-19.
- Meisel, J. S. and Grice, E. A. (2016). Chapter 4 - The Human Microbiome. In: Ginsburg, G. S. and Willard, H. F. (Eds.) (2016). *Genomic and Precision Medicine (Third Edition)*. Boston; Academic Press, pp. 63-77.
- Mesnage, R., *et al.* (2018). Gut microbiome metagenomics to understand how xenobiotics impact human health. *Current Opinion in Toxicology*, 11-12, pp. 51-58.

- Mimica, M. (2017). Human microbiome: definition, characteristics and potential pathological and therapeutic implications. *Arquivo Medico Hospital Faculdade Ciencias Medicas Santa Casa São Paulo*, 62(1), pp. 42-45.
- Miraglia, F. and Colla, E. (2019). Microbiome, Parkinson's Disease and Molecular Mimicry. *Cells*, 8(3), pp. 2-16.
- Mohajeri, M. H., *et al.* (2018). The role of the microbiome for human health: from basic science to clinical applications. *European Journal Nutrients*, 57(Suppl 1), pp. 1-14.
- Moreno-Indias, I., *et al.* (2014). Impact of the gut microbiota on the development of obesity and type 2 diabetes mellitus. *Frontier Microbiology*, 5(190), pp. 1-10.
- Muccioli, G. G., *et al.* (2010). The endocannabinoid system links gut microbiota to adipogenesis. *Molecular Systems Biology*, 6(392), pp.1-15.
- Muscogiuri, G., *et al.* (2019). Gut microbiota: a new path to treat obesity. *International Journal Obesity Supplements*, 9(1), pp. 10-19.
- Neuman, H., *et al.* (2018). Antibiotics in early life: dysbiosis and the damage done. *FEMS Microbiology Review*, 42(4), pp. 489-499.
- Nicholas, A., *et al.* (2016). Antibiotics, birth mode, and diet shape microbiome maturation during early life. *Microbiome*, 8(343), pp. 1-13.
- Nobbs, A. H., Jenkinson, H. F. and Jakubovics, N. S. (2011). Stick to your gums: mechanisms of oral microbial adherence. *Journal Dental Research*, 90 (11), pp. 1271-1278.
- Oliveira, A. M. and Hammes, T. O. (2016). Microbiota e barreira intestinal: implicações para obesidade. *Clinical & Biomedical Research*, 36(4), pp. 222-229.
- Onderdonk, A. B., Delaney, M. L. and Fichorova, R. N. (2016). The Human Microbiome during Bacterial Vaginosis. *Clinical Microbiology Review*, 29(2), pp. 223-238.
- Parashar, A. and Udayabanu, M. (2017). Gut microbiota: Implications in Parkinson's disease. *Parkinsonism & Related Disorders*, 38, pp. 1-7.
- Pariente, N. (2019). A field is born. *Nature*, pp. s3-s4.

Perez-Munoz, 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(48), pp. 1-19.

Pflughoeft, K. J. and Versalovic, J. (2012). Human microbiome in health and disease. *Annual Review Pathology*, 7, pp. 99-122.

Preidis, G. A. and Versalovic, J. (2009). Targeting the Human Microbiome With Antibiotics, Probiotics, and Prebiotics: Gastroenterology Enters the Metagenomics Era. *Gastroenterology*, 136(6), pp. 2015-2031.

Rautava, S., *et al.* (2012). Microbial contact during pregnancy, intestinal colonization and human disease. *Nature Review Gastroenterology Hepatology*, 9(10), pp. 565-576.

Ravel, J. and Brotman, R. M. (2016). Translating the vaginal microbiome: gaps and challenges. *Genome Medicine*, 8 (1-35), pp. 1-3.

Rehbinder, E. M., *et al.* (2018). Is amniotic fluid of women with uncomplicated term pregnancies free of bacteria? *American Journal Obstetric Gynecology*, 219(3), pp. 289 e1-289 e12.

Rosenbaum, M., Knight, R. and Leibel, R. L. (2015). The gut microbiota in human energy homeostasis and obesity. *Trends Endocrinology Metabolism*, 26(9), pp. 493-501.

Sampaio-Maia, B., *et al.* (2016). The Oral Microbiome in Health and Its Implication in Oral and Systemic Diseases. *Advanced Applied Microbiology*, 97, pp. 171-210.

Sampson, T. R., *et al.* (2016). Gut Microbiota Regulate Motor Deficits and Neuroinflammation in a Model of Parkinson's Disease. *Cell*, 167(6), pp. 1469-1480.

Santos, S. F., *et al.* (2019). The Gut and Parkinson's Disease-A Bidirectional Pathway. *Frontier Neurology*, 10(574), pp.1-8.

Sarojini, S. (2018). Gut Microbes: The Miniscule Laborers in the Human Body. *Diet, Microbiome and Health*, pp. 1-31.

Saxena, R. and Sharma, V. K. (2016). A Metagenomic Insight Into the Human Microbiome. *Medical and Health Genomics*, pp. 107-119.

- Scharschmidt, T. C. and Fischbach, M. A. (2013). What Lives On Our Skin: Ecology, Genomics and Therapeutic Opportunities Of the Skin Microbiome. *Drug Discovery Today Disease Mechanism*, 10(3-4), pp.e83-e89
- Schnorr, S. L., *et al.* (2014). Gut microbiome of the Hadza hunter-gatherers. *Nature Community*, 5(3654), pp. 1-12.
- Sender, R., Fuchs, S. and Milo, R. (2016). Are We Really Vastly Outnumbered? Revisiting the Ratio of Bacterial to Host Cells in Humans. *Cell*, 164(3), pp. 337-340.
- Sharma, N., *et al.* (2018). Oral microbiome and health. *AIMS Microbiology*, 4(1), pp. 42-66.
- Shreiner, A. B., Kao, J. Y. and Young, V. B. (2015). The gut microbiome in health and in disease. *Current Opinion Gastroenterology*, 31(1), pp. 69-75.
- Singh, R. K., *et al.* (2017). Influence of diet on the gut microbiome and implications for human health. *Journal Translational Medicine*, 15(1), p. 73.
- Smith, S. B. and Ravel, J. (2017). The vaginal microbiota, host defence and reproductive physiology. *Journal Physiology*, 595(2), pp. 451-463.
- Stinson, L. F., *et al.* (2019). The Not-so-Sterile Womb: Evidence That the Human Fetus Is Exposed to Bacteria Prior to Birth. *Frontiers in Microbiology*, 10(1124), pp. 1-15.
- Sugimoto, S., *et al.* (2013). Staphylococcus epidermidis Esp degrades specific proteins associated with Staphylococcus aureus biofilm formation and host-pathogen interaction. *Journal Bacteriology*, 195(8), pp. 1645-1655.
- Tamburini, S., *et al.* (2016). The microbiome in early life: implications for health outcomes. *Nature Medicine*, 22(7), pp. 713-722.
- Tang, W. H., Kitai, T. and Hazen, S. L. (2017). Gut Microbiota in Cardiovascular Health and Disease. *Circulatory Research*, 120(7), pp. 1183-1196.
- Tang, W. H. W. and Hazen, S. L. (2017). The Gut Microbiome and Its Role in Cardiovascular Diseases. *Circulation*, 135(11), pp. 1008-1010.

- Thomas, S., *et al.* (2017). The Host Microbiome Regulates and Maintains Human Health: A Primer and Perspective for Non-Microbiologists. *Cancer Research*, 77(8), pp. 1783-1812.
- Thursby, E. and Juge, N. (2017). Introduction to the human gut microbiota. *Biochemical Journal*, 474(11), pp. 1823-1836.
- Tilg, H. and Moschen, A. R. (2014). Microbiota and diabetes: an evolving relationship. *Gut*, 63(9), pp. 1513-1521.
- Tomova, A., *et al.* (2019). The Effects of Vegetarian and Vegan Diets on Gut Microbiota. *Frontier Nutrition*, 6(47), pp. 1-28.
- Troncoso-Escudero, P., *et al.* (2018). Outside in: Unraveling the Role of Neuroinflammation in the Progression of Parkinson's Disease. *Frontier Neurology*, 9(869), pp. 1-15.
- Tungland, B. (2018). Chapter 14 - Microbiota and the Urogenital Tract, Pathogenesis, and Therapies. In: Tungland, B. (Ed.) (2018). *Human Microbiota in Health and Disease*. Academic Press, pp. 605-647.
- Ursell, L. K., *et al.* (2012). Defining the human microbiome. *Nutrient Review*, 70(Suppl 1), pp. S38-44.
- Villanueva-Millan, M. J., Perez-Matute, P. and Oteo, J. A. (2015). Gut microbiota: a key player in health and disease. A review focused on obesity. *Journal Physiology Biochemistry*, 71(3), pp. 509-525.
- Wade, W. G. (2013). The oral microbiome in health and disease. *Pharmacology Research*, 6 (1), pp. 137-143.
- Walker, R. W., *et al.* (2017). The prenatal gut microbiome: are we colonized with bacteria in utero? *Pediatric Obesity*, 12(Suppl 1), pp. 3-17.
- Wang, Y., *et al.* (2014). Staphylococcus epidermidis in the human skin microbiome mediates fermentation to inhibit the growth of Propionibacterium acnes: implications of probiotics in acne vulgaris. *Applied Microbiology Biotechnology*, 98(1), pp. 411-424.

- Wang, B., *et al.* (2017). The Human Microbiota in Health and Disease. *Engineering*, 3(1), pp. 71-82.
- Wang, J., Li, F. and Tian, Z. (2017). Role of microbiota on lung homeostasis and diseases. *Sci China Life Science*, 60(12), pp. 1407-1415.
- Woo, T. E. and Sibley, C. D. (2020). The emerging utility of the cutaneous microbiome in the treatment of acne and atopic dermatitis. *Journal American Academy Dermatology*, 82 (1), pp. 222-228.
- Wosinska, L., *et al.* (2019). The Potential Impact of Probiotics on the Gut Microbiome of Athletes. *Nutrients*, 11 (10-2270), pp. 1-23.
- Xiao, S. and Zhao, L. (2014). Gut microbiota-based translational biomarkers to prevent metabolic syndrome via nutritional modulation. *FEMS Microbiology Ecology*, 87(2), pp. 303-314.
- Yang, I., *et al.* (2021). The Microbiome in Health and Disease. *Systems Medicine*. pp. 232-246.
- Yoshida, N., Yamashita, T. and Hirata, K. I. (2018). Gut Microbiome and Cardiovascular Diseases. *Diseases*, 6(3-56), pp. 1-10.
- Younes, J. A., *et al.* (2018). Women and Their Microbes: The Unexpected Friendship. *Trends Microbiology*, 26(1), pp. 16-32.
- Zeeuwen, P. L., *et al.* (2013). Microbiome and skin diseases. *Current Opinion Allergy Clinical Immunology*, 13(5), pp. 514-520.
- Zegans, M. E. and Van Gelder, R. N. (2014). Considerations in understanding the ocular surface microbiome. *American Journal Ophthalmology*, 158(3), pp. 420-422.
- Zhang, Y., *et al.* (2018). Human oral microbiota and its modulation for oral health. *Biomedical Pharmacotherapy*, 99, pp. 883-893.
- Zmora, N., *et al.* (2016). Taking it Personally: Personalized Utilization of the Human Microbiome in Health and Disease. *Cell Host Microbe*, 19(1), pp. 12-20.

Zuo, T. and Ng, S. C. (2018). The Gut Microbiota in the Pathogenesis and Therapeutics of Inflammatory Bowel Disease. *Frontier Microbiology*, 9(2247), pp.1-13.