

Ana João Alves Fernandes de Sousa

Os benefícios dos probióticos e prebióticos na saúde e em estados de disbiose: revisão  
narrativa

Faculdade Ciências da Saúde  
Universidade Fernando Pessoa

Porto, 2021



Ana João Alves Fernandes de Sousa

Os benefícios dos probióticos e prebióticos na saúde e em estados de disbiose: revisão  
narrativa

Faculdade Ciências da Saúde  
Universidade Fernando Pessoa

Porto, 2021

Os benefícios dos probióticos e prebióticos na saúde e em estados de disbiose: revisão  
narrativa

---

Ana João Alves Fernandes de Sousa

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

## **Sumário**

O ser humano, integra em si, um reservatório único e bastante diversificado de microrganismos, os quais constituem o microbioma humano. Desequilíbrios no microbioma humano, ou disbiose, estão na origem de diversas doenças, de diferentes etiologias. Os probióticos e prebióticos, são essencialmente prescritos, para prevenção e tratamento de distúrbios gastrointestinais, no entanto, surgem cada vez mais evidências clínicas que provam que os efeitos destes compostos se estendem para além do intestino.

*Saccharomyces cerevisiae var. boulardii*, e as estirpes bacterianas, pertencentes aos géneros *Lactobacillus spp.* e *Bifidobacterium spp.*, são os microrganismos probióticos mais utilizados em seres humanos. Já os prebióticos mais comuns, são os fruto-oligossacarídeos, galacto-oligossacarídeos e a inulina.

Este trabalho tem como objetivos uma revisão bibliográfica atual sobre as características dos probióticos e prebióticos, os seus benefícios e potenciais mecanismos de ação, na saúde do ser humano, e em diferentes estados de disbiose nos vários sistemas que compõem o corpo humano: no sistema gastrointestinal, no sistema respiratório, no sistema tegumentar, no sistema nervoso central e no sistema cardiovascular.

Este estudo permitiu comprovar, um crescimento exponencial no interesse da aplicação dos probióticos e prebióticos, como potenciais agentes terapêuticos em vários estados de disbiose que visem o pleno equilíbrio de saúde no ser humano. Contudo, é crucial a continuidade da investigação científica sobre os seus benefícios no ser humano.

**Palavras-Chave:** Probiótico, Prebiótico, Simbiótico, Disbiose, Microbiota, Benefícios, Saúde

## **Abstract**

The human being, integrates in itself, a unique and quite diversified reservoir of microorganisms, which constitute the human microbiome. Imbalances in the human microbiome, or dysbiosis, are at the origin of several diseases, of different etiologies. Probiotics and prebiotics are primarily prescribed for the prevention and treatment of gastrointestinal disorders, however, there's increasing clinical evidence which prove that the effects of these compounds extend beyond the intestine.

*Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii*, and bacterial strains belonging to the genus *Lactobacillus* spp. and *Bifidobacterium* spp. are the most used probiotic microorganisms in humans. The most common prebiotics are Fructo-oligosaccharides, Galacto-oligosaccharides and inulin.

This dissertation aims to provide a current literature review on the characteristics of probiotics and prebiotics, their benefits and potencial mechanisms of action, in human health, and in different states of dysbiosis in the various systems that make up the human body: gastrointestinal system, respiratory system, integumentary system, central nervous system and cardiovascular system.

This study showed an exponential growth in the interest in the application of probiotics and prebiotics as potencial therapeutic agentes in various states of dysbiosis that aim at achieving full health balance in humans beings. However, it is crucial to continue scientific research on it's benefits in humans.

**Keywords:** Probiotic, Prebiotic, Synbiotic, Dysbiosis, Microbiota, Benefits, Health

## **Agradecimentos**

Agradeço...

...à Professora Doutora Cristina Pina pelo acompanhamento, disponibilidade e por todas as sugestões transmitidas durante o processo de realização desta dissertação.

...aos meus pais, por ser incansáveis na procura da minha felicidade. Agradeço-lhes pela força, pelas palavras, pelo colo e por todos os valores transmitidos.

...ao meu namorado, pelo apoio, pela ajuda e pelas várias leituras de revisão que efetuou da presente dissertação.

...à Doutora Fátima Silva, não só por fazer sempre o seu melhor para me proporcionar horários de trabalho compatíveis com as aulas e com os momentos de avaliação, mas também pela preocupação e pelo apoio.

...à minha grande amiga, Débora Martins, colega da primeira licenciatura, colega de trabalho, e que partilhou mais esta aventura comigo, a ti, minha amiga, obrigado pelo companheirismo. Parecia tão difícil de alcançar, mas juntas conseguimos.

## **Índice**

<b>Sumário .....</b>	<b>i</b>
<b>Abstract .....</b>	<b>ii</b>
<b>Agradecimentos .....</b>	<b>iii</b>
<b>Índice de Figuras .....</b>	<b>vi</b>
<b>Índice de Tabelas .....</b>	<b>vii</b>
<b>Abreviaturas .....</b>	<b>viii</b>
<b>I. Introdução.....</b>	<b>1</b>
<b>II. Probióticos.....</b>	<b>3</b>
2.1. Origem e Definição.....	3
2.2. Características dos probióticos .....	4
2.3. Mecanismos de ação .....	10
<b>III. Prebióticos.....</b>	<b>16</b>
3.1. Origem e Definição.....	16
3.2. Características dos prebióticos.....	16
3.3. Mecanismos de ação .....	20
<b>IV. Benefícios dos Probióticos e Prebióticos em estados de disbiose .....</b>	<b>25</b>
4.1. Sistema Gastrointestinal .....	25
4.2. Sistema Respiratório .....	37
4.3. Sistema Tegumentar .....	41
4.4. Sistema Nervoso Central .....	43
4.5. Sistema Cardiovascular.....	46
<b>V. Simbióticos .....</b>	<b>50</b>
5.1. Definição e exemplos.....	50

<b>VI. Riscos e segurança dos probióticos e prebióticos .....</b>	<b>51</b>
<b>VII. Conclusão .....</b>	<b>52</b>
<b>VIII. Referências Bibliográficas.....</b>	<b>54</b>

## **Índice de Figuras**

<b>Figura 1:</b> Critérios de seleção de microrganismos probióticos.....	7
<b>Figura 2:</b> Mecanismos de ação dos probióticos.....	10
<b>Figura 3:</b> Critérios de seleção dos prebióticos.....	18
<b>Figura 4:</b> Mecanismos de ação dos prebióticos.....	20
<b>Figura 5:</b> Fatores associados ao CCR e potenciais mecanismos de ação dos probióticos envolvidos no CCR.....	34

**Índice de Tabelas**

**Tabela 1:** Microrganismos probióticos utilizados em seres-humanos.....4

**Tabela 2:** Fontes das diferentes classes de prebióticos.....17

## **Abreviaturas**

AGCC – Ácidos Gordos de Cadeia Curta

Células *Natural Killer* - Células NK

CCR – Cancro Cólon-Retal

CLA – Ácido Linoleico Conjugado, do inglês *Conjugated Linoleic Acid*

DAA – Diarreia Associada a Antibióticos

DM2 – Diabetes Mellitus tipo 2

DPOC - Doença Pulmonar Obstrutiva Crónica

FAO – Organização para a Alimentação e Agricultura, do inglês *Food and Agriculture Organization*

FOS - Fruto-oligossacarídeos

GABA - Ácido Gama Aminobutírico, do inglês *Gamma-AminoButyric Acid*

GLP-1 – Péptido semelhante ao glucagon tipo 1, do inglês *Glucagon-like peptide 1*

GOS - Galacto-oligossacarídeos

IgA - Imunoglobulina A

IL – Interleucina

IFN- $\gamma$  – Interferon-gamma

ISAPP – Associação Científica Internacional de Probióticos e Prebióticos, do inglês *International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics*

ISO - Isomalto-oligossacarídeos

LPS – Lipopolissacárido

MALT – Tecido Linfoide Associado à Mucosa, do inglês *Mucosa Associated Lymphoid Tissue*

SNC – Sistema Nervoso Central

TGI – Trato Gastrointestinal

TLR – Recetor do tipo *Toll*, do inglês *Toll-like Receptor*

TNF - Fator de Necrose Tumoral, do inglês *Tumor Necrosis Factor*)

TOS - Transgalacto-oligossacarídeos

UFC – Unidades formadoras de colónias

VB – Vaginose bacteriana

WHO – Organização Mundial de Saúde, do inglês *World Health Organization*

XOS - Xilo-oligossacarídeos

## **I. Introdução**

O corpo humano sustenta uma grande diversidade de microrganismos que constitui um sistema dinâmico e funcional, que se desenvolve sinergicamente e em sincronia com o seu hospedeiro – o microbioma humano. O desenvolvimento do microbioma humano é um processo complexo, que se inicia durante a gestação, e que apresenta elevada importância na regulação da função imunológica. Assim, microrganismos adquiridos verticalmente, horizontalmente, assim como fatores ambientais, nutricionais, de modos de vida e de estados de disbiose apresentam implicações na saúde ao longo da vida (Rackaityte and Lynch, 2020).

A grande maioria dos microrganismos que constituem o microbioma humano localiza-se no trato gastrointestinal (TGI). Idealmente, o hospedeiro humano vive em harmonia com a sua complexa microbiota intestinal favorecendo a resiliência fisiológica. No entanto, podem surgir desequilíbrios nessa microbiota (disbiose) como resultado de uma má nutrição, estilo de vida, cirurgias, envelhecimento e administração de medicamentos (Plaza-Diaz *et al.*, 2019). Atualmente, a nutrição, para além de exibir um papel fundamental no fornecimento dos nutrientes necessários ao crescimento e desenvolvimento do organismo, adquiriu aspetos adicionais que se tornam cada vez mais importantes, nomeadamente a manutenção do estado de saúde e o combate às doenças (Markowiak and Ślizewska, 2017). Assim sendo, a investigação do papel da dieta e a sua capacidade de modular o microbioma, despertou o interesse de utilizar a dieta como um agente terapêutico para modificar a composição microbiana (Gu and Roberts, 2019).

A administração de probióticos e prebióticos, em associação com a dieta ou isoladamente, permite assegurar um microbioma saudável e restaurar o equilíbrio, quando se verificam alterações na homeostasia em casos de doença (Quigley, 2019). Está comprovado que muitas das infeções e doenças que afetam o corpo humano estão relacionadas com uma microflora intestinal comprometida, como por exemplo, infeções no TGI, obstipação, diarreia associada a antibióticos, síndrome do intestino irritável, doença inflamatória intestinal, alergias, doenças cardiovasculares, entre outras (Shokryazdan *et al.*, 2017).

Os probióticos, segundo a Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura (FAO, do inglês *Food and Agriculture Organization of United Nations*) e a Organização Mundial de Saúde (WHO, do inglês *World Health Organization*), são

“microrganismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios à saúde do hospedeiro” (FAO/WHO, 2002). Foram introduzidos no início do século XX e, desde então, diversas investigações foram desenvolvidas para compreender os mecanismos de ação, as suas funções e obter evidências clínicas que comprovam os seus benefícios para a saúde. O estudo aprofundado dos probióticos originou o desenvolvimento dos prebióticos (George Kerry *et al.*, 2018). Os prebióticos são “ingredientes fermentados seletivamente que resultam em alterações específicas na composição e/ou atividade da microbiota gastrointestinal, conferindo benefício(s) na saúde do hospedeiro”, segundo a Associação Científica Internacional de Probióticos e Prebióticos (ISAPP, do inglês *International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics*). Estes têm a capacidade de melhorar a sobrevivência, o crescimento, o metabolismo e as atividades benéficas para a saúde, dos probióticos (Mohanty *et al.*, 2018).

Probióticos e prebióticos são os termos da era moderna, capazes de modificar a microbiota intestinal, favorecendo a sua colonização com microrganismos (bactérias, leveduras) benéficos, e limitando a proliferação de microrganismos patogénicos (Sanders *et al.*, 2019; Mohanty *et al.*, 2018). Têm despertado muita atenção nas últimas duas décadas, e tem-se obtido avanços significativos na seleção e caracterização de culturas probióticas, bem como na associação entre o seu consumo e o tratamento e/ou diminuição de diversas patologias (George Kerry *et al.*, 2018; Gu and Roberts, 2019).

Dada a importância desta temática para a saúde pública, o objetivo desta dissertação é realizar uma revisão narrativa, por forma a reunir fatos emergentes sobre as características dos probióticos e prebióticos, os seus benefícios e potenciais mecanismos de ação, na saúde do ser humano, e em diferentes estados de disbiose nos vários sistemas que compõem o corpo humano. Para tal, efetuou-se uma pesquisa bibliográfica de artigos científicos de revisão, no intervalo temporal compreendido entre 2006 e 2021, em bases de dados científicas digitais, nomeadamente a Pubmed e o Google Scholar. Utilizando, para isso, as seguintes palavras-chave: “probiotics health benefits”, “prebiotics health benefits”, “mechanisms of action of probiotics”, “mechanisms of action of prebiotics”, “probiotics and prebiotics clinical uses”, “probiotics and prebiotics risk and safety” e “synbiotics”. A respetiva revisão bibliográfica realizou-se entre Outubro de 2020 e Junho de 2021.

## **II. Probióticos**

### **2.1. Origem e Definição**

A história dos probióticos é tão antiga quanto a história humana, pois está intimamente inter-relacionada com a utilização de alimentos fermentados. Praticamente todas as civilizações desenvolveram algum tipo de fermentação alimentar. Supõe-se que a produção de alimentos e bebidas fermentadas, pelo Homem, teve início há cerca de 10 000 anos, quando a agricultura começou a substituir a caça. Arqueólogos encontraram evidências da produção de bebidas fermentadas desde o ano 7000 A.C. numa aldeia da China e desde o ano 5000 A.C. na Mesopotâmia. No antigo Egipto e na Mesopotâmia, as bebidas fermentadas eram produzidas recorrendo a frutas, mel e cereais, enquanto que na Ásia eram produzidas recorrendo principalmente ao arroz (Gasbarrini *et al.*, 2016).

A história moderna dos probióticos teve início nos anos 1900, com os estudos pioneiros do cientista russo, Elie Metchnikoff, vencedor de um prémio Nobel. Metchnikoff verificou que o consumo de bactérias ácido-láticas, presentes em iogurtes, reduzia o número de bactérias produtoras de toxinas no intestino, permitindo assim um aumento da esperança média de vida do hospedeiro (Ghasemian *et al.*, 2018). O termo “probiótico” surgiu pela primeira vez em 1953, sendo introduzido pelo cientista alemão, Werner Kollath, para designar “substâncias ativas que são essenciais para um desenvolvimento saudável da vida do hospedeiro”. Em 1965, Lilly e Stillwell definiram probióticos como “microrganismos que estimulam o crescimento de outros microrganismos”. Fuller, em 1992, reformulou a definição e postulou que, os probióticos consistiam num “suplemento alimentar que afeta beneficemente o animal hospedeiro, melhorando o equilíbrio microbiano intestinal” (Gasbarrini *et al.*, 2016). Desde então, esta definição tem sido alterada e modificada diversas vezes. A definição atualmente em vigor, formulada em 2002, pela FAO e pela WHO, assenta que os probióticos são “microrganismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios à saúde do hospedeiro” (FAO/WHO, 2002).

## 2.2. Características dos probióticos

### Microrganismos probióticos

Os probióticos influenciam, qualitativa e quantitativamente, a composição do ecossistema intestinal (Molska and Regula, 2019). São identificados pelo seu género, espécie e estirpe. Por exemplo, o probiótico *Lactobacillus rhamnosus* GG, em que “*Lactobacillus*” caracteriza o género, “*rhamnosus*” a espécie, e “GG” a estirpe (Sanders *et al.*, 2018b).

Os microrganismos probióticos, na sua maioria, são provenientes da microbiota intestinal comensal e, podem integrar bactérias ou leveduras (Sanders *et al.*, 2018b; Pandey *et al.*, 2015). No entanto, verifica-se o predomínio de bactérias, pertencentes ao género *Lactobacillus spp.* e *Bifidobacterium spp.*, como agentes probióticos (Sanders *et al.*, 2018b; Pandey *et al.*, 2015; Molska and Regula, 2019). *Saccharomyces cerevisiae var. boulardii* é a levedura com maior relevância probiótica (Tsai *et al.*, 2019). Na tabela 1, encontram-se descritos os principais microrganismos utilizados como probióticos, em seres-humanos.

**Tabela 1** – Microrganismos probióticos utilizados em seres-humanos. Adaptado de: (Markowiak and Śliżewska, 2017)

<i>Lactobacillus</i>	<i>Bifidobacterium</i>	Outras bactérias ácido-láticas	Outros Microrganismos
<i>L. acidophilus</i>			
<i>L. amylovorus</i>			
<i>L. casei</i>	<i>B. adolescentis</i>		
<i>L. gasseri</i>	<i>B. animalis</i>	<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Bacillus dausii</i>
<i>L. helveticus</i>	<i>B. bifidum</i>	<i>Lactococcus lactis</i>	<i>Escherichia coli</i>
			Nissle 1917
			<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>L. johnsonii</i>	<i>B. breve</i>	<i>Streptococcus thermophilus</i>	( <i>boulardii</i> )
<i>L. pentosus</i>	<i>B. infantis</i>		
<i>L. plantarum</i>	<i>B. longum</i>		
<i>L. reuteri</i>			
<i>L. rhamnosus</i>			

Os lactobacilos, pertencentes ao grupo das bactérias ácido-láticas, foram os primeiros probióticos a ser descobertos, e integram 183 espécies conhecidas, com diversas aplicações em processos industriais. São bactérias de Gram-positivo, não formadoras de esporos, não flageladas, maioritariamente anaeróbias facultativas e catalase-negativo. As bifidobactérias, pertencentes ao grupo das actinobactérias, foram isoladas pela primeira vez no fim do século XIX, pelo Francês, Henry Tissier. São bactérias de Gram-positivo, não flageladas, anaeróbias e catalase-negativo. Atualmente, o género *Bifidobacterium spp.* compreende trinta espécies, das quais dez são de origem humana (cárie dentária, fezes, vagina), dezassete de origem animal, duas de águas residuais e uma de leite fermentado (de Melo Pereira *et al.*, 2018).

As leveduras são microrganismos eucariotas presentes no TGI de seres humanos, em plantas e em produtos alimentares. Demonstram interesse probiótico por serem ricas em proteínas, vitaminas do complexo B, minerais e diversos compostos imunoestimulantes, como proteases ou  $\beta$ -glucanos. As leveduras não são suscetíveis a antibióticos e apresentam boa tolerância às condições de fabrico industrial, como liofilização e altas temperaturas. Para além da *Saccharomyces cerevisiae var. boulardii*, outras leveduras têm sido identificadas como potenciais probióticos, nomeadamente, *Kluyveromyces spp.*, *Pichia spp.*, *Rhodotorula, spp.*, *Schizosaccharomyces spp.*, e *Candida spp.* (de Melo Pereira *et al.*, 2018).

É importante salientar que, nem todas as bactérias probióticas pertencentes à mesma espécie, vão apresentar as mesmas propriedades ou os mesmos efeitos no organismo. Estes aspetos variam consoante a estirpe e, nem todas as estirpes pertencentes à mesma espécie são estirpes probióticas (Molska and Regula, 2019).

*Faecalibacterium prausnitzii*, *Akkermansia muciniphila*, e determinadas estirpes de *Clostridium spp.*, são probióticos de última geração e, estão presentes na microbiota intestinal da maioria dos seres humanos. Uma diminuição na sua contagem, tem sido apontada como um fator de risco no desenvolvimento de doenças imuno-metabólicas, como a obesidade e a diabetes mellitus tipo 2 (Vallianou *et al.*, 2020).

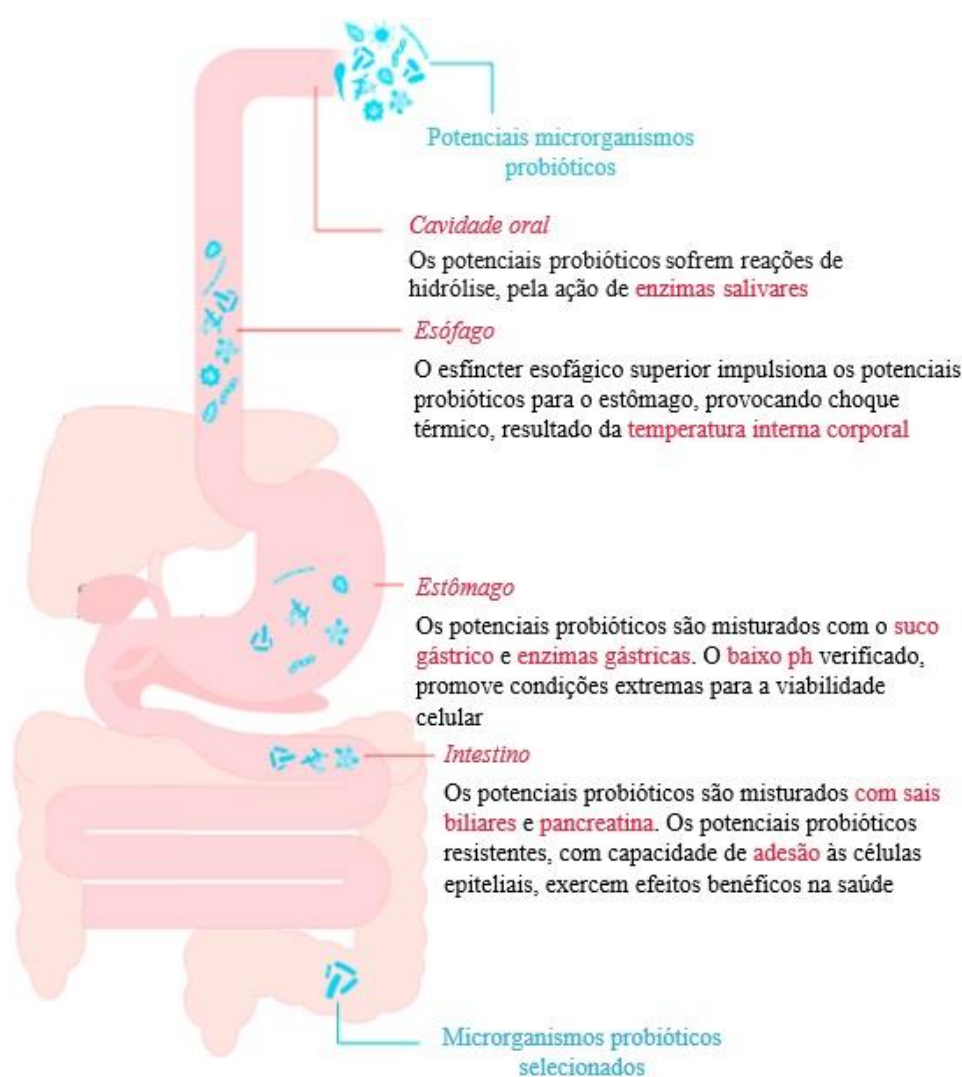
Um probiótico, pode apresentar diferentes benefícios, se usado individualmente ou em combinação com outros microrganismos probióticos. Os seus benefícios podem variar também, consoante o grupo de pacientes (Pandey *et al.*, 2015).

Em pesquisas recentes, observou-se que, constituintes bacterianos não viáveis ou metabólitos de microrganismos probióticos, apresentam atividade biológica no hospedeiro e podem ser capazes de produzir efeitos semelhantes aos microrganismos probióticos viáveis. Estes compostos foram designados de pós-bióticos. Não apresentam toxicidade nem patogenicidade, podendo constituir, em determinadas situações clínicas, uma alternativa mais segura do que o uso de microrganismos inteiros (George Kerry *et al.*, 2018;Plaza-Diaz *et al.*, 2019).

### CrITÉRIOS de seleÇÃO

A ISAPP estabelece que, um probiótico deve estar vivo aquando da sua administração, apresentar benefícios para a saúde do hospedeiro, e ser efetivo numa dose específica. Estipula ainda que, o probiótico deve ser seguro para o uso pretendido e deve integrar uma entidade bem definida, de forma a permitir uma identificação ao nível da estirpe (Pandey *et al.*, 2015).

Os potenciais microrganismos probióticos, depois de isolados, são submetidos a vários testes para que se identifique as linhagens com maior número de propriedades funcionais (figura 1).



**Figura 1** – Critérios de seleção de microrganismos probióticos. Adaptado de (de Melo Pereira *et al.*, 2018)

Primeiramente, os candidatos a probióticos precisam sobreviver às condições adversas que o corpo humano apresenta, isto é, têm de resistir à ação de enzimas presentes na cavidade oral (amilase, lisozima), apresentar boa tolerância a fatores antimicrobianos estomacais, como valores reduzidos de pH, suco gástrico e pepsina, e a fatores antimicrobianos intestinais, como a pancreatina e os sais biliares. Os lactobacilos apresentam maior resistência gastrointestinal, quando comparados com as bifidobactérias, que são bastante sensíveis a níveis baixos de pH.

Numa fase seguinte, o probiótico precisa colonizar as células epiteliais do TGI. Esta colonização ocorre por mecanismos de adesão microbiana, que dependem da composição físico-química das estruturas de superfície do microrganismo probiótico. A adesão dos probióticos às células epiteliais do TGI do hospedeiro, é promovida pela capacidade destes microrganismos se co-agregarem, aumentando a sua densidade celular no intestino, e pela presença de estruturas hidrófobas à superfície celular, que melhoram a interação com as células do hospedeiro.

Após colonização do TGI, os probióticos necessitam antagonizar a atividade de agentes patogênicos, inibindo o seu desenvolvimento. Para tal, têm de ser capazes de sintetizar componentes com atividade antimicrobiana (enzimas, ácidos orgânicos, entre outros), e ser eficazes na competição por nutrientes.

Por último, a segurança dos probióticos tem de ser avaliada. Para além de ser possível a sua identificação taxonómica, os probióticos devem ser desprovidos de virulência, toxicidade e genes transmissores de resistência a antibióticos.

Para aumentar a compatibilidade probiótica e a sua sobrevivência no TGI, a maioria dos probióticos comercializados foi isolada a partir de seres-humanos saudáveis (de Melo Pereira *et al.*, 2018).

### Fontes de probióticos

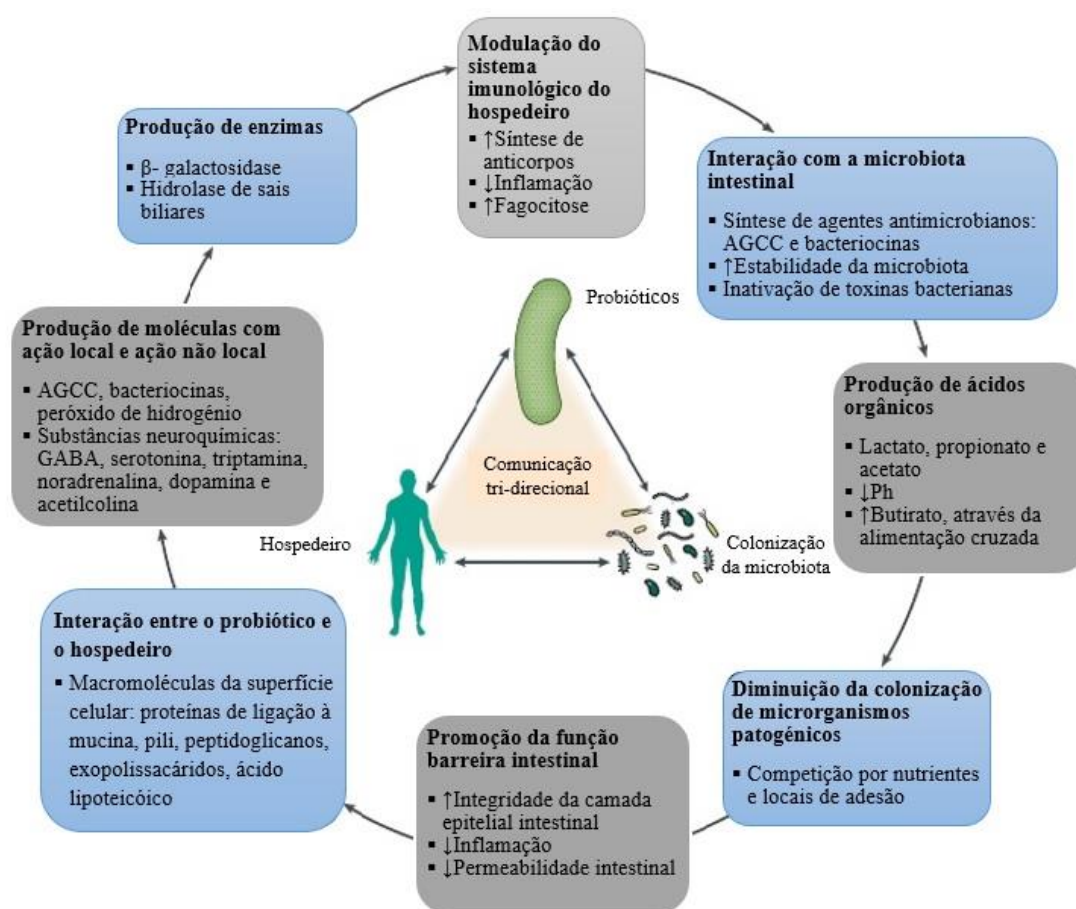
Os laticínios e seus derivados constituem uma fonte rica em probióticos. Há vários séculos que se utilizam, bactérias pertencentes ao género *Lactobacillus spp.* e *Bifidobacterium spp.*, bem como outros microrganismos, obtidos a partir de leites fermentados. Também no queijo se podem encontrar microrganismos probióticos, os quais são libertados no intestino humano. A espécie *L. plantarum* já foi isolada de queijos italianos, argentinos e búlgaros. No entanto, para além dos laticínios e seus derivados, também outros tipos de alimentos fermentados contêm microrganismos probióticos. É o caso da carne fermentada, legumes fermentados ou cereais fermentados (Sanders *et al.*, 2018b; Fontana *et al.*, 2013).

Na constituição do leite materno, também estão incluídas bactérias ácido-láticas e bifidobactérias. Foi observado, na microbiota intestinal de bebés amamentados, um predomínio de lactobacilos e bifidobactérias. Verificou-se também que, bebés alimentados com leite em fórmula, desenvolvem mais alergias e infeções gastrointestinais, em comparação com bebés amamentados. Deste modo, os probióticos presentes no leite materno, são isolados para posterior inclusão nos suplementos e outros alimentos direcionados a bebés.

Como abordado anteriormente, o TGI humano é uma fonte de probióticos, sendo que, é a partir desta fonte que a maioria dos probióticos atualmente usados, como *L. gasseri* e *L. reuteri*, é isolada. Estes microrganismos podem ser isolados a partir de amostras fecais de adultos e crianças saudáveis, por exemplo. Contudo, para além do TGI humano, também é possível isolar probióticos nos intestinos de várias espécies animais, como porcos, ratos ou aves (Fontana *et al.*, 2013).

### 2.3. Mecanismos de ação

Os probióticos são entidades biológicas e como tal podem exercer a sua atividade através de diversos mecanismos (figura 2) (Sanders *et al.*, 2018b). O conhecimento dos mecanismos de ação dos probióticos resulta da investigação realizada a partir de ensaios experimentais “in vitro”, modelos animais, culturas de células ou modelos humanos “ex vivo”. No entanto, estudos desenvolvidos em humanos são limitados (Barbara *et al.*, 2018).



**Figura 2** – Mecanismos de ação dos probióticos. Adaptado de (Sanders *et al.*, 2019)

#### Modulação do sistema imunológico do hospedeiro

Os probióticos atuam no sistema imunológico a vários níveis, podendo ter influência na imunidade inata e na imunidade adquirida. Certos probióticos potenciam a fagocitose ou a atividade das células *Natural Killer* (NK) e interagem diretamente com as células

dendríticas (Klaenhammer *et al.*, 2012). Outros demonstraram a capacidade de estimular a produção de anticorpos e, deste modo, melhorar as defesas do hospedeiro contra agentes patogênicos, e aumentar a resposta a vacinas (Sanders *et al.*, 2019). Os probióticos podem também aumentar os níveis de citocinas anti-inflamatórias, como os fatores de necrose tumoral (TNF, do inglês *Tumor Necrosis Factor*), e assim promover uma redução no desenvolvimento do cancro colón-retal e da colite (Rowland *et al.*, 2018; Markowiak and Śliżewska, 2017).

Estas atividades, estão relacionadas com o fato de determinadas espécies probióticas expressarem à superfície da sua parede celular, estruturas como fimbrias, cápsula, componentes proteicos, peptidoglicanos, entre outras (Sanders *et al.*, 2019). Bem como, com os seus produtos metabólicos e DNA, que são reconhecidos por células especializadas do hospedeiro. No caso das leveduras com ações probióticas, a atividade imunológica está associada à presença de glucanos na parede celular, sendo que estes compostos vão estimular a resposta do sistema reticuloendotelial.

As células epiteliais intestinais e as células imunes intestinais são as que apresentam maior importância no contexto da resposta imunitária (Oelschlaeger, 2010).

O sistema imunológico pode ser beneficiado pela combinação de vários probióticos, resultando num efeito sinérgico. Este efeito é geralmente observado quando se associam *Lactobacillus spp.* e *Bifidobacterium spp.* (Ghasemian *et al.*, 2018).

#### Produção de ácidos orgânicos

As espécies probióticas, pertencentes ao género *Lactobacillus spp.* e *Bifidobacterium spp.*, produzem lactato e ácidos gordos de cadeia curta (AGCC), como produto primário do metabolismo dos hidratos de carbono. A produção, *in situ*, destes compostos, como o acetato e propionato, para além de constituir uma fonte de energia, também diminui o pH do lúmen intestinal, dificulta o desenvolvimento de agentes patogênicos, influencia a motilidade intestinal e estimula a apoptose de células cancerígenas (Tsai *et al.*, 2019; Ríos-Covián *et al.*, 2016). Estas bactérias probióticas não produzem butirato, no entanto, conseguem obtê-lo através da alimentação cruzada com bactérias comensais, como a *Faecalibacterium*. Deste modo, aumentam os níveis de butirato assim como de outros AGCC, no intestino. Este aumento pode influenciar vários aspetos fisiológicos, sendo que com base no estilo de vida, análises de peso, medições dos parâmetros metabólicos e

níveis de AGCC, pode-se calcular o risco de um determinado indivíduo desenvolver doenças de cariz cardiovascular (Sanders *et al.*, 2019).

### Interação com a microbiota intestinal

Os probióticos interagem com a microbiota intestinal através da competição por nutrientes, antagonismo, alimentação cruzada e promovendo a sua estabilidade (van Baarlen *et al.*, 2013).

Os probióticos absorvem os nutrientes que seriam absorvidos por agentes patogénicos. Estudos laboratoriais revelaram que, certos microrganismos intestinais são mais eficientes que *Clostridium difficile*, na absorção de fosfato de cálcio (monocálcico), glucose, N-acetil-glucosamina e ácido siálico, no cólon (Ghasemian *et al.*, 2018).

O efeito antagonista que se verifica em relação a outros microrganismos, é maioritariamente observado nas estirpes probióticas pertencentes ao género *Lactobacillus spp.* e *Bifidobacterium spp.* Este efeito advém do metabolismo dos hidratos de carbono, do qual resultam os AGCC e, também da produção de bacteriocinas (Hegarty *et al.*, 2016; Plaza-Diaz *et al.*, 2019). As bacteriocinas, são pequenas moléculas catiónicas constituídas por aproximadamente 30 a 60 aminoácidos, que atuam na membrana citoplasmática de bactérias-alvo, aumentando a sua permeabilidade através da formação de poros. O aumento da permeabilidade da membrana promove a dissipação da força protomotriz, envolvida na síntese de ATP e, a inibição do transporte de aminoácidos, originando a morte celular (Plaza-Diaz *et al.*, 2019). Manesh Kumar *et al.*, verificaram que as bacteriocinas produzidas por *L. plantarum* e *L. acidophilus* inibiam o desenvolvimento da *Helicobacter spp.*, *C. difficile*, rotavírus, *Shigella spp.* e *E. coli*, em determinadas condições gastrointestinais, assim como também apresentavam atividade contra determinados agentes patogénicos do trato urinário humano (Kumar *et al.*, 2016).

Certas estirpes probióticas têm a capacidade de produzir derivados de ácidos biliares, ácidos biliares desconjugados, que demonstram maior atividade antibacteriana do que os sais biliares produzidos pelo seu hospedeiro (Oelschlaeger, 2010)

A inibição da produção de toxinas bacterianas, é outro dos efeitos descritos dos probióticos, uma vez que são capazes de inativar as toxinas e removê-las do organismo, por adsorção destas à sua parede celular, diminuindo a absorção intestinal. Contudo, nem

todos os probióticos exibem propriedades desintoxicantes (Markowiak and Śliżewska, 2017).

### Interações entre o probiótico e o hospedeiro

As interações dos probióticos com os tecidos do hospedeiro são mediadas por macromoléculas existentes à sua superfície celular. Incluem-se nestas macromoléculas, componentes não proteicos, como o ácido lipoteicoico, peptidoglicanos e exopolissacáridos, e componentes proteicos, como proteínas de ligação à mucina, pili, proteínas de ligação a LPxTG (leucina, prolina, x, treonina e glicina, em que x pode ser qualquer aminoácido). A presença destas macromoléculas vai influenciar a ligação às células intestinais e vaginais, à mucina e às células dendríticas, como referido anteriormente, resultando num aumento da função barreira (Sanders *et al.*, 2018a). Um exemplo em que se verifica diferentes estruturas à superfície celular, pode ser observado na comparação do genoma de *L. rhamnosus* GG que interage com as células intestinais através da pili, e *L. rhamnosus* GR-1 que apresenta um grupo específico de exopolissacáridos, com ação nas células vaginais (Sanders *et al.*, 2019).

Recentemente, a formação de biofilme foi reconhecida como uma importante interação entre os probióticos e o hospedeiro. Até então, as investigações desenvolvidas concentravam-se apenas nos efeitos prejudiciais de biofilmes associados a bactérias patogénicas, mas diversos estudos confirmaram o benefício dos probióticos na formação de biofilmes, nomeadamente no aumento da resistência à temperatura e ao pH gástrico. Como resultado, obtém-se um aumento da colonização dos probióticos e uma maior permanência na mucosa do hospedeiro, evitando a colonização por bactérias patogénicas. A exploração das propriedades dos biofilmes permitiu um desenvolvimento de novas tecnologias de encapsulação, originando os probióticos de quarta geração (Villena and Kitazawa, 2017).

### Promoção da função barreira intestinal

A barreira intestinal é constituída por diversos elementos que atuam na regulação da permeabilidade intestinal. Elementos mecânicos (muco e camada epitelial), elementos humorais (defensinas, IgA), elementos celulares (linfócitos e células da imunidade inata), elementos musculares e elementos neurológicos. A arquitetura das células da camada epitelial intestinal, nomeadamente a presença de junções estreitas entre os enterócitos,

constitui também uma propriedade importante na permeabilidade do intestino. Alterações na barreira intestinal estão fortemente associadas ao desenvolvimento de várias doenças, como doença celíaca, doença inflamatória intestinal, doenças autoimunes ou infecções entéricas (Cerdo *et al.*, 2019).

Os probióticos contribuem para a manutenção da integridade da barreira epitelial intestinal, prevenindo a disbiose, através do aumento da expressão de genes que codificam as proteínas de junção, do aumento do estímulo da produção de muco, defensas, IgA's, e diminuindo processos inflamatórios (Cerdo *et al.*, 2019; Plaza-Diaz *et al.*, 2019; Sanders *et al.*, 2019). Têm também a capacidade de se co-agregar, reforçando a barreira, e deste modo, impedindo a colonização do epitélio por bactérias patogênicas (Markowiak and Śliżewska, 2017).

De notar que, embora determinados probióticos apresentem capacidades de melhorar a função barreira, este processo não é observado em todos os ensaios de investigação desenvolvidos, por razões ainda desconhecidas (Sanders *et al.*, 2019).

#### Produção de moléculas com ação local e ação não local

Os probióticos produzem diversos compostos com ação inibitória em bactérias de Gram-positivo e em bactérias de Gram-negativo. Como já referido, incluem-se nestes compostos os AGCC (acetato, propionato, butirato), o peróxido de hidrogénio e as bacteriocinas. Para além de antagonizar a colonização por bactérias patogênicas, estes compostos podem também condicionar o metabolismo dessas bactérias, bem como a sua capacidade de produção de toxinas (Ghasemian *et al.*, 2018).

Uma das descobertas com maior relevância, acerca do modo de ação dos probióticos, é a sua capacidade de produzir substâncias neuroquímicas como a oxitocina, ácido gama-aminobutírico (GABA, do inglês *Gamma-Aminobutyric Acid*), serotonina, triptamina, noradrenalina, dopamina e acetilcolina (Kim *et al.*, 2018; Reid, 2019). Num ensaio desenvolvido num modelo animal, nomeadamente em ratinhos em stress, verificou-se uma diminuição na concentração plasmática de corticosteroides, diminuição nos níveis da hormona adrenocorticotrópica e reposição dos níveis de serotonina e noradrenalina no hipocampo, após administração de *L. helveticus* NS8 (Liang *et al.*, 2015).

### Produção de enzimas

As atividades enzimáticas dos probióticos no lúmen intestinal, possuem um papel importante nos efeitos biológicos desses mesmos probióticos. *Lactobacillus spp.* e *Bifidobacterium spp.* produzem mais de 20 enzimas diferentes, sendo a  $\beta$ -galactosidase a mais comum. A  $\beta$ -galactosidase e a enzima que hidrolisa os sais biliares, melhoram a digestão da lactose e o perfil lipídico em humanos, respetivamente (Plaza-Diaz *et al.*, 2019).

A introdução de *Streptococcus thermophilus* no iogurte, facilita a digestão da lactose, devido à sua predisposição para permear a bÍlis ao entrar no intestino e promover a libertação da  $\beta$ -galactosidase, que hidrolisa a lactose nos seus monómeros digestÍveis, glucose e galactose. Este fato constitui um benefício para os indivíduos intolerantes à lactose, sendo que a Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos autorizou a alegação médica de que a presença de *S. thermophilus* e *L. bulgaricus*, como constituintes do iogurte, melhora os sintomas associado à má digestão da lactose (Sanders *et al.*, 2019).

Bactérias intestinais produtoras de  $\beta$ -glucuronidase são responsáveis por hidrolisar metabolitos do glucuronidato nas suas formas tÓxicas, aumentando a quantidade de produtos carcinogénicos e, conseqüentemente, originando danos no intestino. A administração de *B. longum* altera a microbiota intestinal e diminui a atividade da  $\beta$ -glucuronidase, diminuindo assim o risco de desenvolvimento do cancro cólon-retal (Plaza-Diaz *et al.*, 2019).

A ISAPP, avaliou a evolução do conceito relativo à especificidade dos mecanismos de ação dos probióticos e, verificou que vários mecanismos de ação responsáveis por determinados benefícios para a saúde podem ser partilhados por diferentes estirpes probióticas pertencentes ao mesmo grupo taxonómico. Um exemplo, é a produção do lactato e AGCC, que é um mecanismo partilhado pela maioria das espécies pertencentes ao gênero *Lactobacillus spp.* e *Bifidobacterium spp.* (Sanders *et al.*, 2018b).

Contudo, a importância de um determinado mecanismo de ação depende de muitos fatores, isto é, numa inflamação intestinal, é essencial a capacidade de diminuir os mediadores inflamatÓrios e aumentar a função da barreira epitelial enquanto que, a

capacidade de aumentar a produção AGCC e a hidratação no cólon é mais importante para a normalização da motilidade intestinal (Sanders *et al.*, 2019).

### **III. Prebióticos**

#### **3.1. Origem e Definição**

Em 1980, verificou-se que, certos compostos da dieta exibiam a capacidade de promover o crescimento de determinadas estirpes bacterianas, existentes no intestino. Bactérias essas, intimamente associadas a benefícios para a saúde do hospedeiro (Tsai *et al.*, 2019).

O termo “prebiótico”, surgiu pela primeira vez em 1995. Foi introduzido por Glenn Gibson e Marcel Roberfroid, que o definiram como “ingredientes alimentares não digeríveis, capazes de estimular, seletivamente, o crescimento e/ou atividade de microrganismos, existentes no trato gastrointestinal, melhorando o estado de saúde do hospedeiro” (Markowiak and Śliżewska, 2017). Esta definição manteve-se praticamente inalterada por mais de quinze anos. Em 2008, no 6º encontro da ISAPP, reformulou-se a definição para “ingrediente fermentado seletivamente que resulta em alterações específicas na composição e/ou atividade microbiota gastrointestinal, conferindo benefício(s) na saúde do hospedeiro”, sendo esta a atualmente em vigor (Davani-Davari *et al.*, 2019).

#### **3.2. Características dos prebióticos**

##### Tipos e fontes de prebióticos

Como já mencionado, os microrganismos vivem num ecossistema funcional e complexo – o microbioma humano – onde desempenham diversas funções. Uma das quais, inclui a metabolização de hidratos de carbono, proteínas e certos lípidos, da qual resultam metabolitos com capacidade de exercer efeitos positivos ou negativos na saúde do hospedeiro (Sanders *et al.*, 2019). Os prebióticos identificados até ao momento, são na sua maioria, hidratos de carbono presentes naturalmente nos alimentos, que não são digeríveis pois o ser humano carece de enzimas para os hidrolisar (Markowiak and Śliżewska, 2017). Os polifenóis e os ácidos gordos essenciais, constituem outros tipos de substâncias que podem também exercer efeitos prebióticos (Sanders *et al.*, 2019).

De um modo geral, os prebióticos pertencem às seguintes classes: fibras alimentares, polióis e oligossacarídeos (Mohanty *et al.*, 2018). As fontes onde estes podem ser encontrados estão descritas na tabela 2.

**Tabela 2** – Fontes das diferentes classes de prebióticos. Adaptado de: (Mohanty *et al.*, 2018)

<b>Classe de Prebióticos</b>	<b>Tipos de prebióticos</b>	<b>Fontes</b>
Polióis	Lactulose	Lactose (leite)
	Xilitol, sorbitol, manitol, lactitol	
Oligossacarídeos	FOS	Banana, mel, beterraba, alho, cebola, espargos, cevada, tomate, chicória, alcachofra, trigo e centeio
	GOS SOS	Leite humano e leite de vaca Soja
	XOS	Frutas, vegetais, leite, mel e farelo de trigo
	IMO	Soja e alimentos ricos em amido
	Rafinose	Leguminosas (feijão, grão, soja), ervilhas, lentilhas, grão de bico e feijões
	Inulina	Alho, espargos, cebola, chicória e trigo
Fibras	Pectinas, $\beta$ -glucanos, dextrinas, linhina, celulose e hemicelulose	Vegetais, leguminosas, batatas e frutas

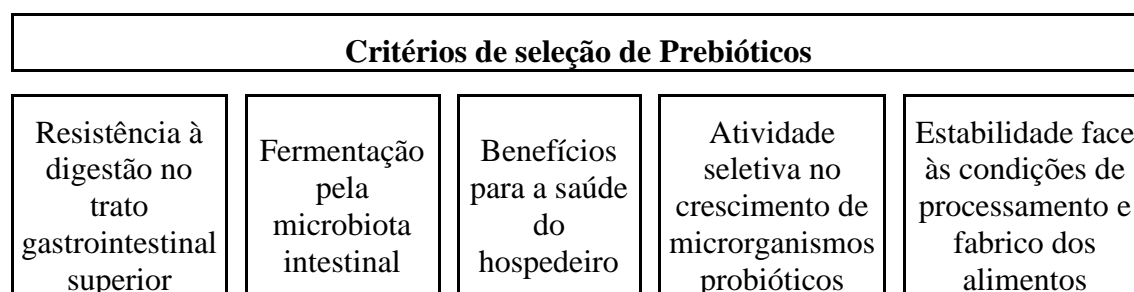
Apesar de todos os prebióticos constituírem fibras alimentares não digeríveis, nem todas as fibras são consideradas prebióticos (Markowiak and Śliżewska, 2017). Isto é, enquanto que a fibra alimentar é metabolizada pela maioria dos microrganismos presentes na microbiota intestinal, os prebióticos são metabolizados estritamente por grupos específicos de microrganismos, como por exemplo, microrganismos pertencentes ao género *Lactobacillus spp.* e *Bifidobacterium spp.* (Choque Delgado and Tamashiro, 2018; Pandey *et al.*, 2015). São exemplos de fibras alimentares solúveis com efeito prebiótico, as pectinas,  $\beta$ -glucanos e dextrinas (Mohanty *et al.*, 2018). Também fibras alimentares insolúveis, como a celulose e a hemicelulose, exibem potencial atividade prebiótica (Markowiak and Śliżewska, 2017). Polissacarídeos, pertencentes ao grupo dos frutanos, como a inulina, atuam como fibras alimentares e integram outro tipo de prebióticos (Mohanty *et al.*, 2018).

O sorbitol, xilitol, manitol, lactulose e lactitol são exemplos de polióis prebióticos (Mohanty *et al.*, 2018).

Os oligossacarídeos resultam de ligações glicosídicas entre três e nove monossacarídeos, e constituem os compostos mais utilizados como prebióticos. Neste grupo incluem-se, os fruto-oligossacarídeos (FOS), soja-oligossacarídeos (SOS), isomalto-oligossacarídeos (IMO), xilo-oligossacarídeos (XOS), transgalacto-oligossacarídeos (TOS), galacto-oligossacarídeos, e rafinose (Mohanty *et al.*, 2018).

### Crítérios de seleção

Um determinado composto é definido como prebiótico se obedecer a cinco critérios importantes (figura3).



**Figura 3:** Critérios de seleção de prebióticos. Adaptado de (Markowiak and Śliżewska, 2017)

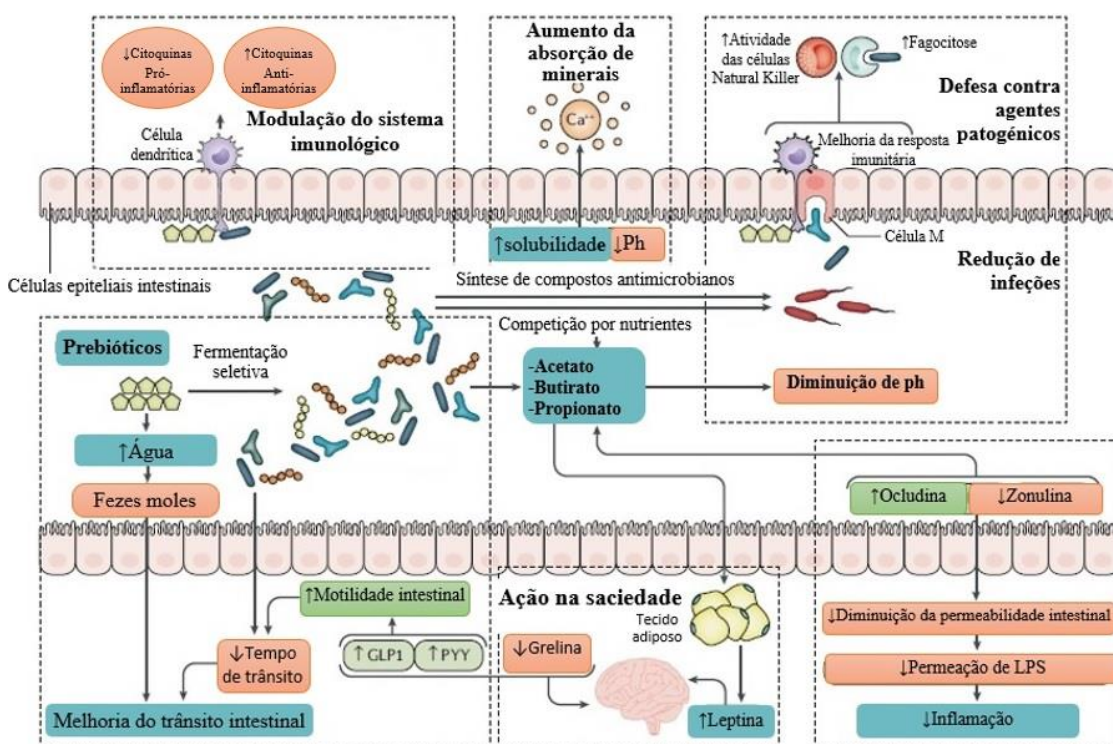
Em primeiro lugar, os prebióticos não são digeridos, ou apenas são parcialmente digeridos, no TGI superior. Assim, conseguem atingir o cólon e, deste modo, ser objeto de fermentação por parte de microrganismos potencialmente benéficos – segundo critério. Os metabolitos resultantes da sua fermentação apresentam características benéficas para o hospedeiro, as quais incluem o aumento da massa de fezes e a melhoria do sistema imunitário – terceiro critério. O quarto critério assenta que, os prebióticos necessitam ser capazes de promover seletivamente o crescimento e/ou atividade de microrganismos associados à proteção da saúde e bem-estar do hospedeiro – probióticos. Por último, os prebióticos têm que resistir às condições de processamento dos alimentos, de forma a permanecer inalterados e não perder a sua atividade (Markowiak and Śliżewska, 2017; Pandey *et al.*, 2015).

Em suma, os prebióticos, para além de constituírem um suporte adicional aos probióticos, podem também ser utilizados em alternativa a estes (Markowiak and Śliżewska, 2017; Sanders *et al.*, 2019). Apresentam grande potencial na modificação da microbiota intestinal, sendo que, esta modificação é dependente dos diferentes tipos de prebióticos existentes. Isto é, diferentes prebióticos promovem o crescimento e/ou atividade de diferentes microrganismos. Além disso, apesar do intestino constituir a principal porta de entrada para os benefícios associados aos prebióticos, estes podem também exibir benefícios ao nível do trato urogenital, cavidade oral e até ao nível da pele (Sanders *et al.*, 2019; Valcheva and Dieleman, 2016).

### 3.3. Mecanismos de ação

#### Defesa contra agentes patogênicos

Os prebióticos têm a capacidade de proteção contra uma grande variedade de potenciais bactérias patogênicas, como *Salmonella enterica serovar typhimurium* (*S. typhimurium*), *Listeria monocytogenes* e *Escherichia coli*. Essa proteção é conferida pela produção de componentes antagonistas, AGCC e bacteriocinas, e pela resistência que oferecem à colonização por microrganismos patogênicos (figura 4).



**Figura 4** – Mecanismos de ação dos prebióticos. Adaptado de (Sanders *et al.*, 2019)

Os prebióticos, durante a sua fermentação, melhoram as funções e o crescimento da população de microrganismos benéficos na microbiota intestinal. Os produtos finais resultantes da metabolização dos prebióticos, por bactérias intestinais ou por probióticos, são os AGCC. O acetato é essencialmente produzido por *Bifidobacterium spp.*, o butirato por *Lachnospiraceae spp.* e *Ruminococcaceae spp.* e o propionato por *Propionibacteria spp.* e Bacteroidetes (Valcheva and Dieleman, 2016). Como já referido, estes são responsáveis pela diminuição do pH no TGI, inibindo assim o crescimento de

microrganismos patogênicos, estimulam o crescimento de células nas criptas do cólon, diminuem o risco de mutações no intestino e auxiliam na síntese de proteínas.

Certos prebióticos bloqueiam a adesão de microrganismos nocivos às células epiteliais intestinais por processos de competição. Os oligossacáridos são capazes de se ligar a locais, existentes nesses microrganismos, responsáveis pela ligação à superfície dos enterócitos. Os oligossacáridos derivados do leite, GOS, são estruturalmente semelhantes aos hidratos de carbono que constituem as glicoproteínas existentes à superfície das células epiteliais intestinais, às quais muitos agentes patogênicos se ligam. Estes prebióticos são capazes de inibir uma infecção, quando o microrganismo patogênico se liga aos oligossacáridos em vez de se ligar aos receptores da célula hospedeira, ou seja, funcionam como análogos dos receptores da célula hospedeira. Além disso, prebióticos não derivados do leite, como as pectinas, demonstraram inibir infecções interagindo diretamente com o agente patogênico, isto é, são eficazes a diminuir a atividade de toxinas como a shiga produzida pela *E. coli* O157: H7 (Mohanty *et al.*, 2018).

Segundo Vamanu e Vamanu, prebióticos como a inulina, rafinose e lactulose aumentam significativamente a síntese de bacteriocinas por *L. paracasei* CMGB16 (Vamanu and Vamanu, 2010).

#### Modulação do sistema imunológico do hospedeiro

Os prebióticos desempenham um papel importante na modulação do sistema imunológico e no aumento das defesas do hospedeiro, embora os mecanismos através dos quais eles atuam não seja totalmente conhecidos (Mohanty *et al.*, 2018; Sanders *et al.*, 2019).

No estudo do efeito imunomodulador de prebióticos como os GOS, FOS e as pectinas, verificou-se que a sua administração aumentava a síntese de citoquinas anti-inflamatórias e reduzia as citoquinas pró-inflamatórias, diminuindo assim a inflamação intestinal.

Existem evidências de que os prebióticos são capazes de diminuir a atividade das células T helper tipo 2 (th2) e, deste modo, interferir em processos de alergias. Em estudos desenvolvidos em bebês, observou-se que a incorporação de GOS e FOS nos suplementos de leite reduzia a incidência da dermatite atópica e urticária (Sanders *et al.*, 2019).

### Aumento da absorção de minerais

A absorção de minerais, a nível intestinal, ocorre principalmente por mecanismos de transporte ativo. Como referido anteriormente, os AGCC, resultantes dos processos da fermentação bacteriana dos prebióticos, diminuem o pH no TGI. Esta diminuição de pH aumenta a solubilidade do cálcio e, conseqüentemente, facilita a sua absorção através de mecanismos de transporte passivo.

Pesquisas desenvolvidas têm comprovado que o consumo de misturas de FOS e inulina ou FOS e GOS, por adolescentes, aumentam significativamente a absorção de cálcio nos ossos. Assim, uma intervenção atempada poderá evitar ou retardar o desenvolvimento de doenças, como a osteoporose (Sanders *et al.*, 2019). Verificou-se, em estudos humanos, que 15g/dia de oligofrutose ou 40g/dia de inulina aumentavam a absorção de cálcio, e que absorção de magnésio aumentava após consumo de FOS (Mohanty *et al.*, 2018).

Estes resultados são, maioritariamente, baseados em ensaios realizados em modelos animais, sendo que ainda são insuficientes os estudos, a longo prazo, realizados em humanos (Sanders *et al.*, 2019).

### Melhoria da função intestinal

A inulina, os FOS e os arabinogalactanos, favorecem a proliferação de bactérias comensais, promovendo a manutenção de uma função intestinal ideal (Mohanty *et al.*, 2018). Ensaios, em modelos animais, mostraram que os AGCC têm a capacidade de regular hormonas intestinais, que por sua vez regulam a motilidade intestinal (Sanders *et al.*, 2019).

Os prebióticos são hidratos de carbono humectantes e, como tal, são capazes de atrair água para o intestino. Este fato, permite melhorar a consistência das fezes e a frequência de defecação (Sanders *et al.*, 2019).

Passariello *et al.*, desenvolveram uma pesquisa para avaliar a eficácia de soluções de reidratação oral suplementadas com zinco e prebióticos (FOS e XOS) no tratamento de diarreias com duração superior a 72h, em crianças. O que verificaram foi que, para além de reduzirem a duração da diarreia, as soluções de reidratação oral suplementadas,

também estimulavam a reabsorção de água e eletrólitos pela mucosa intestinal (Passariello *et al.*, 2011).

### Atividade metabólica

Os AGCC exibem diversas funções, previamente já referidas, que lhes permitem melhorar a função da barreira intestinal. Uma alteração nesta função barreira permite a permeação de mediadores inflamatórios, como lipopolissacáridos (LPS) bacterianos, do intestino para a circulação sanguínea. Denominando-se este processo de endotoxemia metabólica, o qual tem sido sugerido como um fator predisponente da diabetes e obesidade. No entanto, estas evidências apenas têm como base ensaios em modelos animais. Da metabolização de diferentes prebióticos, resultam diferentes quantidades e composições de AGCC, ou seja, para a prevenção ou tratamento de determinadas patologias é fundamental selecionar os prebióticos adequados ao efeito desejado (Valcheva and Dieleman, 2016).

De um modo geral, os estudos desenvolvidos, indicam que a atividade prebiótica exibe um efeito positivo na homeostasia da glicose, na inflamação e no perfil lipídico, em seres humanos. Foi proposto que, a inulina apresenta a capacidade de inibir diretamente a ação da isomaltase-sacarase no intestino e, por conseguinte, regular a função glicémica.

Em ensaios *in vitro*, foi demonstrado que, os GOS podem estimular a expressão de genes codificadores das proteínas de junção nas células epiteliais intestinais e diminuir o fluxo transepitelial.

Contudo, a identificação dos mecanismos metabólicos resultantes de estudos realizados em seres humanos é muito difícil (Sanders *et al.*, 2019).

### Ação na saciedade

Os AGCC podem regular o apetite por diversos mecanismos. A interação entre os AGCC e as células L da mucosa do cólon resulta na produção de hormonas anorexigénias, como o péptido semelhante ao glucagon tipo 1 (GLP-1, do inglês *Glucagon-like peptide 1*) e o péptido YY (PYY). Os AGCC capazes de alcançar o fígado, através da veia portal hepática, como o propionato, estimulam a gliconeogénese que atua como um sinal na saciedade. Já os AGCC que alcançam a circulação sistémica, podem interagir com os seus

recetores específicos, FFAR2 e FFAR3, localizados no tecido adiposo, e estimular a libertação da leptina. Estudos desenvolvidos em ratos, confirmaram que o principal AGCC obtido da fermentação de prebióticos, o acetato, pode atravessar a barreira hematoencefálica e atingir o hipotálamo, promovendo sinais anorexigénios (Sanders *et al.*, 2019).

#### **IV. Benefícios dos Probióticos e Prebióticos em estados de disbiose**

##### **4.1. Sistema Gastrointestinal**

###### Diarreia

A WHO define diarreia como “três ou mais fezes moles ou aquosas durante um período de 24h”. É um problema de saúde pública mundial, provocando a morte de milhões de seres humanos todos os anos (Jain *et al.*, 2015). Sendo que, para além da mortalidade, episódios múltiplos e sucessivos de diarreia, afetam o crescimento, nutrição e cognição dos indivíduos (O’Bryan *et al.*, 2013). O desenvolvimento nas investigações sobre microrganismos probióticos e compostos prebióticos, através de estudos *in vitro*, modelos animais e estudos clínicos, veio comprovar os efeitos benéficos destes, na prevenção e contenção da diarreia de diversas etiologias (Narayan *et al.*, 2010).

O rotavírus é a causa mais comum da diarreia infecciosa em crianças, com idade compreendida entre um mês e três anos (Jain *et al.*, 2015; O’Bryan *et al.*, 2013). Foi comprovado que probióticos, como *L. reuteri* (ATCC 55730), *L. acidophilus LB*, *S. boulardii* e a mistura de *S. thermophilus*, *L. acidophilus* e *L. bulgaricus*, reduzem a duração da diarreia e diminuem a propagação do rotavírus (Nixon *et al.*, 2012; O’Bryan *et al.*, 2013; Sansotta *et al.*, 2019). Observou-se também que, os efeitos dos probióticos são determinantes da dose, sendo que a dose mínima efetiva para crianças, é de 10 bilhões de unidades formadoras de colónias (UFC), nas primeiras 48 horas (Pandey *et al.*, 2015). Realizou-se um estudo clínico, em crianças entre os cinco e os vinte e quatro meses de idade, internadas com diarreia aguda. De forma aleatória, e por um período de 14 dias, um grupo dessas crianças foi alimentado com um suplemento infantil padrão, enquanto que outro grupo foi alimentado com o mesmo suplemento infantil adicionado de *B. bifidum* ( $1.9 \times 10^8$  UFC/g) e *S. thermophilus* ( $1.4 \times 10^7$  UFC/g). Verificou-se uma diminuição significativa no número de crianças com diarreia, no grupo ao qual foi administrado o suplemento com probióticos (O’Bryan *et al.*, 2013). A associação de *B. lactis* B94 com inulina, demonstrou também, reduzir a duração da diarreia, induzida por rotavírus (İşlek *et al.*, 2014). ). O estudo de Rigo-Adrover *et al.*, desenvolvido em ratos, postulou que os prebióticos, GOS, FOS e pectinas, em associação com probióticos, promoveram a eliminação viral e reduziram os sintomas clínicos (Rigo-Adrover *et al.*, 2017).

Terapêuticas com medicamentos antibióticos comprometem a microflora intestinal, provocando a sua alteração/destruição. Os antibióticos são capazes de diminuir a resistência da microflora a agentes patogênicos, e interferir com o metabolismo dos hidratos de carbono, AGCC e ácidos biliares. Estas alterações na microbiota, originam efeitos adversos, como a diarreia – diarreia associada a antibióticos (DAA) (Pandey *et al.*, 2015; Silverman *et al.*, 2017). A DAA é, normalmente, definida como benigna, autolimitada, e pode ter início logo nas 24 horas após a primeira administração do antibiótico oral (Mizock, 2015). A infecção por *Clostridium difficile*, uma bactéria bastante virulenta que sintetiza toxinas que provocam danos e inflamação na mucosa intestinal, constitui uma forma de DAA com maior gravidade, e é responsável pela ocorrência de casos graves de colite (Markowiak and Śliżewska, 2017; Mizock, 2015). A DAA, é a razão do insucesso de diversos tratamentos, pois os pacientes recusam-se a administrar antibióticos e não cumprem as posologias aconselhadas. O aumento de estudos clínicos nos últimos anos, forneceu dados que permitem concluir que probióticos, como *L. acidophilus*, *L. rhamnosus* GG, *L. delbrückii*, *L. fermentum*, e *S. boulardii* apresentam eficácia na redução da incidência da DAA, em adultos e crianças. Sendo que, apenas *S. boulardii* se mostrou efetiva na infecção por *C. difficile* (Szajewska and Kołodziej, 2015a; Szajewska and Kołodziej, 2015b; Vandenplas *et al.*, 2015). Contudo, ainda não foram bem definidas as dosagens que devem ser administradas (Pandey *et al.*, 2015).

A diarreia do viajante, afeta particularmente indivíduos que viajam de países industrializados para países em desenvolvimento, especialmente para regiões tropicais e semitropicais (Pandey *et al.*, 2015). As infecções bacterianas são responsáveis por cerca de 60-85% dos casos, sendo a infecção por *E. coli* a mais comum. (Allen *et al.*, 2010; Islam, 2016). Seguem-se as infecções por parasitas, responsáveis por cerca de 10% dos casos, e as infecções por vírus envolvidas, em 5% dos casos (Pandey *et al.*, 2015). De acordo com as guidelines da Sociedade Internacional de Medicina do Viajante, não é recomendado o uso de probióticos no tratamento da diarreia do viajante (Riddle *et al.*, 2017). No entanto, a meta-análise desenvolvida por Bae e a revisão sistemática de Pinos *et al.*, comprovaram que probióticos, como *L. casei*, *L. rhamnosus* GG, *L. acidophilus*, *B. lactis*, e *S. boulardii*, para além de serem eficazes na profilaxia, também apresentam efetividade no tratamento da diarreia do viajante (Bae, 2018; Pinos *et al.*, 2016). Hasle *et al.*, avaliaram eficácia dos prebióticos em 330 viajantes, e concluíram que, 19% dos indivíduos que realizou o

tratamento profilático com GOS, desenvolveu diarreia, enquanto que no grupo placebo, a incidência da diarreia foi de 29% (Hasle *et al.*, 2017).

Existem também evidências dos benefícios dos probióticos na diarreia provocada pela radioterapia. Uma meta-análise avaliou seis estudos clínicos, envolvendo 900 pacientes, e verificou uma diminuição da incidência da diarreia no grupo tratado com probióticos, em comparação com o grupo placebo (Liu *et al.*, 2017).

### Obstipação

As fibras alimentares são essenciais para o normal funcionamento do sistema digestivo. O seu efeito laxante é há muito conhecido, e deve-se ao facto, de aumentarem o volume e a fluidez das fezes, e acelerarem a motilidade intestinal. De um modo geral, as fibras de cereais são as mais eficazes no aumento do volume das fezes, principalmente, o farelo de trigo. É importante salientar que, nem todas as fibras exibem a mesma tolerância gastrointestinal, por exemplo, os FOS podem exercer atividade a baixas doses (10g), enquanto que outras fibras, como o amido resistente, exigem doses mais elevadas ( $\geq 50$ g) (Pandey *et al.*, 2015).

Segundo Marteau *et al.*, o consumo de 15g/dia de inulina, melhora a obstipação e a qualidade de vida, da população idosa que sofre desta condição (Marteau *et al.*, 2011). A fibra de psílio, exerce poucos efeitos na microbiota intestinal de indivíduos saudáveis, mas exerce efeitos benéficos em indivíduos obstipados. Um grupo de investigadores, confirmou a capacidade do psílio em reter água no intestino e aumentar a frequência de defecação, aconselhando o seu uso na obstipação crónica (Jalanka *et al.*, 2019).

Um estudo clínico, que envolveu 211 pacientes com obstipação pós-parto, concluiu que a lactulose foi eficaz e segura, no tratamento e melhoria dos sintomas da obstipação, permitindo a redução da dose semana após semana (Huang *et al.*, 2016).

### Cólica Infantil

A cólica infantil é caracterizada, em crianças saudáveis, pela presença de crises de choro, durante pelo menos três horas por dia, três dias por semana e por períodos superiores a três semanas. Afeta cerca de 20% dos bebés, no entanto, a sua etiologia permanece

desconhecida. Acredita-se na influência da dieta e do microbioma intestinal, verificando-se menor quantidade de lactobacilos na microbiota intestinal de bebês com cólicas.

*L. reuteri* DSM 17938 é o probiótico mais estudado para o tratamento da cólica infantil (Sanders *et al.*, 2018b). A dosagem proposta para a sua administração é de  $10^8$  UFC/dia (Urbańska and Szajewska, 2014). Estudos clínicos evidenciaram que, a administração de *L. reuteri* DSM 17938 melhora as crises de choro, após duas a três semanas de tratamento (Chau *et al.*, 2015; Xu *et al.*, 2015). Uma meta-análise, onde se incluíram quatro ensaios clínicos randomizados, que avaliaram a ação de *L. reuteri* DSM 17938, demonstrou uma diminuição significativa, no tempo de choro diário em bebês amamentados e tratados com a bactéria probiótica, em comparação com o grupo placebo. O mesmo não se verificou em bebês alimentados com leite em fórmula suplementado com *L. reuteri* DSM 17938. Tal acontecimento, pode ser explicado pelo fato da composição da microbiota intestinal ser diferente nestes dois grupos de bebês. Concluindo-se assim, que o efeito do probiótico é dependente da microbiota intestinal residente (Sung *et al.*, 2018).

No estudo clínico randomizado de Pärty *et al.*, um conjunto de bebês prematuros, foi dividido de acordo com a terapêutica a receber, em três grupos: prebiótico (GOS e polidextrose), probiótico e placebo. As terapêuticas foram administradas durante os primeiros dois anos de vida, e após um ano de acompanhamento, os investigadores verificaram uma redução significativa na frequência de choro, nos grupos prebiótico e probiótico, em comparação com o grupo placebo (Pärty *et al.*, 2013). Segundo Giovannini *et al.*, a incorporação de GOS no leite em fórmula, diminui a incidência de cólicas, além de que, diminui também a contagem fecal de bactérias do gênero *Clostridium spp.* (Giovannini *et al.*, 2014). Um outro estudo clínico postula que, a associação de probióticos e prebióticos, é mais eficaz na redução das cólicas, do que a utilização isolada de cada um deles (Vandenplas *et al.*, 2017).

### Síndrome do intestino irritável

A síndrome do intestino irritável constitui um dos distúrbios gastrointestinais mais comuns na comunidade (Pandey *et al.*, 2015). Trata-se de uma condição crônica, que se caracteriza pela presença frequente de episódios de dor e desconforto abdominal, inchaço, flatulência e trânsito intestinal alterado. Provoca alterações na motilidade intestinal,

favorecendo a produção de espasmos, hipersensibilidade visceral, alterações no processamento cerebral da dor, stress e ansiedade (Mizock, 2015).

A origem da síndrome do intestino irritável é multifatorial. Podem estar envolvidos fatores psicológicos, fatores sociais, e fatores biológicos, como as alterações na microbiota intestinal. O facto com maior relevância observado, foi a instabilidade na microbiota fecal, traduzindo a perda de homeostasia na microbiota intestinal dos indivíduos que sofrem desta condição (Mizock, 2015). Estudos verificaram uma diminuição na contagem de *Bifidobacterium spp.* e *Lactobacillus spp.*, e um aumento das espécies pertencentes à classe *Gammaproteobacterium* – classe à qual pertencem diversas bactérias patogénicas (Saulnier *et al.*, 2011; Zhernakova *et al.*, 2016).

Os probióticos consoante os seus modos de ação, podem regular a motilidade intestinal, diminuir a hipersensibilidade visceral e a inflamação da mucosa, melhorar a permeabilidade intestinal e a comunicação intestino-cérebro, e eliminar a disbiose (Barbara *et al.*, 2018). No estudo clínico, desenvolvido por Guglielmetti *et al.*, avaliou-se terapêutica com *B. bifidum* MIMBb75, por um período de quatro semanas e, verificou-se a melhoria desta síndrome, bem como um alívio nos sintomas associados (Guglielmetti *et al.*, 2011). Kruis *et al.*, demonstraram o benefício de *E. coli* Nissle 1917, em pacientes que desenvolveram esta condição, após gastroenterocolite ou administração de antibióticos (Kruis *et al.*, 2012). A associação probiótica, constituída por *L. casei*, *L. plantarum*, *B. animalis*, *B. lactis*, e *B. breve*, também se revelou eficaz na redução dos sintomas da síndrome do intestino irritável, em um estudo desenvolvido em 113 indivíduos com doença celíaca. Contudo, esta redução não se manteve após término do tratamento (Francavilla *et al.*, 2019). Na revisão sistemática com meta-análise, realizada por Alexander Ford *et al.*, com o objetivo de avaliar os efeitos de diferentes probióticos e combinações probióticas, foram avaliados 53 ensaios clínicos, onde se incluíram 5500 pacientes. Apesar de probióticos, como *Lactobacillus spp.*, demonstrarem eficácia na redução da flatulência, e *Bifidobacterium spp.* na diminuição da dor, não se conseguiu esclarecer qual a espécie, estirpe ou combinação probiótica, específica para cada paciente, de forma individual (Ford *et al.*, 2018).

A dificuldade observada na terapêutica probiótica, assenta na heterogeneidade da população sensível a esta síndrome. Isto é, o fato do ecossistema microbiano ser diferente nos diferentes perfis clínicos da síndrome do intestino irritável, permite explicar porque

alguns pacientes respondem favoravelmente à intervenção probiótica, enquanto que outros não demonstram qualquer resposta (Barbara *et al.*, 2018; Sanchez *et al.*, 2017).

Os benefícios dos prebióticos na síndrome do intestino irritável ainda são controversos. Enquanto que, certas investigações não demonstram qualquer efeito positivo dos prebióticos nesta patologia, outras exibem evidências benéficas. Paineau *et al.*, verificaram que o consumo de 5g/dia de FOS, por um período de seis semanas, promoveu a melhoria dos sintomas associados (Paineau *et al.*, 2008). Resultados semelhantes foram observados, com a administração de 3,5g/dia de GOS, durante 12 semanas (Silk *et al.*, 2009).

O tipo e a dose de prebiótico, revelaram influenciar a melhora e a exacerbação dos sintomas (Wilson *et al.*, 2019). Deste modo, verificou-se que, doses mais altas podem apresentar efeitos negativos sobre os sintomas (Wilson and Whelan, 2017).

### Doença inflamatória intestinal

A doença inflamatória intestinal é uma patologia crónica multifatorial, que pode surgir em qualquer faixa etária. Supõe-se que tratamentos com antibióticos, durante o primeiro ano de vida, constituem um risco, quase três vezes maior, no desenvolvimento da doença inflamatória intestinal (Sanders *et al.*, 2018b). A doença de Crohn e a colite ulcerosa, são exemplos das principais doenças inflamatórias intestinais existentes (Mizock, 2015).

A doença de Crohn, ocorre na maioria das vezes no intestino, podendo também ocorrer em qualquer parte do TGI, desde a boca até ao final do reto (Pandey *et al.*, 2015). Caracteriza-se pela presença de episódios recorrentes de diarreia, podendo ou não ocorrer perda de sangue, dor abdominal, febre, fadiga e perda de peso (Coqueiro *et al.*, 2019). Os agentes patogénicos comumente envolvidos nesta patologia são *Salmonella spp.*, *Campylobacter jejuni*, *C. difficile*, *Adenovirus* e *Mycoplasma spp.* (Pandey *et al.*, 2015). A colite ulcerosa, ocorre essencialmente no revestimento do intestino grosso e reto, atingindo a mucosa e submucosa do cólon. Caracteriza-se pela ulceração da mucosa, fezes sanguinolentas frequentes, secreção de muco pelo reto, tenesmo e dor abdominal inferior (Coqueiro *et al.*, 2019). Esta patologia constitui um fator predisponente no desenvolvimento do cancro cólon-retal (Pandey *et al.*, 2015).

A doença de Crohn e a colite ulcerosa, partilham muitos medicamentos no seu tratamento. Contudo, os resultados obtidos em ensaios clínicos, que avaliaram os efeitos dos probióticos e prebióticos como terapêutica nestas patologias, foram diferentes (Sanders *et al.*, 2018b). Na doença de Crohn, existem poucas evidências clínicas dos benefícios dos probióticos e prebióticos (Derwa and Gracie, 2017; Mizock, 2015). Alguns dos ensaios clínicos com resultados positivos, apontaram como probióticos benéficos, *E. coli* Nissel 1917, *S. boulardii*, *L. rhamnosus* GG, e VSL#3 - uma combinação de oito estirpes bacterianas probióticas: *B. breve*, *B. longum*, *B. infantis*, *L. acidophilus*, *L. planetarium*, *L. paracasei*, *L. bulgaricus*, e *S. thermophilus* (Pandey *et al.*, 2015). Os FOS, demonstraram resultados promissores, na redução da atividade da doença e no aumento da contagem de bactérias bifidogénicas (Lindsay *et al.*, 2006).

Na colite ulcerosa, os resultados dos estudos clínicos relativos aos benefícios dos probióticos, já são mais promissores. Mardini e Grigorian, desenvolveram uma meta-análise, que incluiu cinco estudos clínicos, com um total de 319 pacientes com colite ulcerosa envolvidos, onde se avaliou a resposta terapêutica do VSL#3, em comparação com o placebo. Observou-se que a colite ulcerosa foi atenuada em cerca de 44,6% dos indivíduos aos quais foi administrado o VSL#3, em comparação com uma redução de 25,1% observada no grupo placebo (Mardini and Grigorian, 2014). Um outro ensaio clínico randomizado, mencionado numa meta-análise, demonstrou que a *E. coli* Nissel 1917 é tão eficaz quanto a messalazina no tratamento da colite ulcerosa. O ensaio incluía 327 pacientes, aos quais foi administrada uma dose diária do probiótico ou 500mg de messalazina três vezes por dia. Após um período de doze meses, os pacientes foram avaliados clinicamente, endoscopicamente e histologicamente, e verificou-se uma taxa de recidiva correspondente a 36,4%, no grupo *E. coli* Nissel 1917, e uma taxa de recidiva corresponde a 33,9% no grupo messalazina (Sanders *et al.*, 2018b). No entanto, o benefício é maior quando se associam probióticos aos anti-inflamatórios normalmente prescritos, em vez da sua administração isolada (Jakubczyk and Leszczyńska, 2020). Conclusões semelhantes foram descritas por Palumbo *et al.*, que verificaram que a associação da messalazina com a combinação probiótica, *L. salivarius*, *L. acidophilus*, e *B. bifidum* BGN4, resultou na redução do tempo de recuperação, atividade mais atenuada da doença e em uma imagem endoscópica mais favorável (Palumbo *et al.*, 2016).

Comparativamente aos probióticos, são poucas as evidências clínicas da aplicação dos prebióticos na terapêutica da colite ulcerosa. Casellas *et al.*, revelaram que, 12g/dia de inulina enriquecida com oligofrutose, em pacientes com colite ulcerosa leve a moderada, medicados com messalazina, promoveu a redução significativa da calprotectina fecal - marcador biológico da inflamação intestinal (Casellas *et al.*, 2007).

#### Erradicação da *Helicobacter pylori*

*Helicobacter pylori* é um bacilo de Gram-negativo, flagelado e com forma espiralada. É uma bactéria microaerofílica, produtora de urease – enzima que hidrolisa a ureia, com produção de NH<sub>3</sub> – permitindo-lhe sobreviver em ambientes ácidos. *H. pylori* coloniza principalmente a mucosa gástrica, e constitui fator etiológico da gastrite, doença ulcerosa péptica, adenocarcinoma gástrico e linfoma do tecido linfoide associado à mucosa (MALT) (Boltin, 2016;Eslami *et al.*, 2019;Homan and Orel, 2015). A infecção por *H. pylori* afeta cerca de 50% da população mundial e, para além dos efeitos gástricos, também está associada ao desenvolvimento de anemias, por deficiência de ferro ou vitamina B12, e trombocitopenia imune primária (Homan and Orel, 2015).

A percentagem de erradicação da infecção por *H. pylori* tem vindo a diminuir, resultado do aumento das resistências aos antibióticos e falta de adesão dos pacientes ao tratamento, essencialmente devido aos efeitos adversos associados à terapêutica. Por este motivo, os probióticos surgem como novo foco de alguns estudos, na abordagem terapêutica desta infecção (Goderska *et al.*, 2018). Os estudos já publicados, referem que os probióticos podem apresentar um papel duplo no combate à infecção por *H. pylori*, isto é, para além de minimizar os efeitos adversos da terapia com antibióticos, também promovem a taxa de erradicação (Eslami *et al.*, 2019).

Como já referido no capítulo dos mecanismos de ação dos probióticos, estes produzem AGCC e outros agentes antibacterianos, capazes de inibir o desenvolvimento de *H. pylori*. Em 1989, surgiu o primeiro estudo clínico que comprovou a ação antagonista de *Lactobacillus spp.* em *H. pylori*, através da produção de AGCC. Anos mais tarde, verificou-se que os *Lactobacillus spp.* inibiam também a ação da urease, produzida pela *H. pylori*. Diferentes estirpes de *Lactobacillus spp.* produzem diferentes tipos de bacteriocinas, as quais apresentam atividades variáveis nesta bactéria patogénica. As bacteriocinas produzidas por *L. bulgaricus* BB18 e *L. brevis* BK11 demonstraram efeito

inibitório em *H. pylori*, assim como, as bacteriocinas produzidas por *E. faecalis* BK61 e *E. faecium* TM39. No entanto, verificou-se que, as bacteriocinas com maior atividade antagônica do desenvolvimento de *H. pylori*, são sintetizadas por *L. lactis* A164 e *L. lactis* BH5 (Eslami *et al.*, 2019).

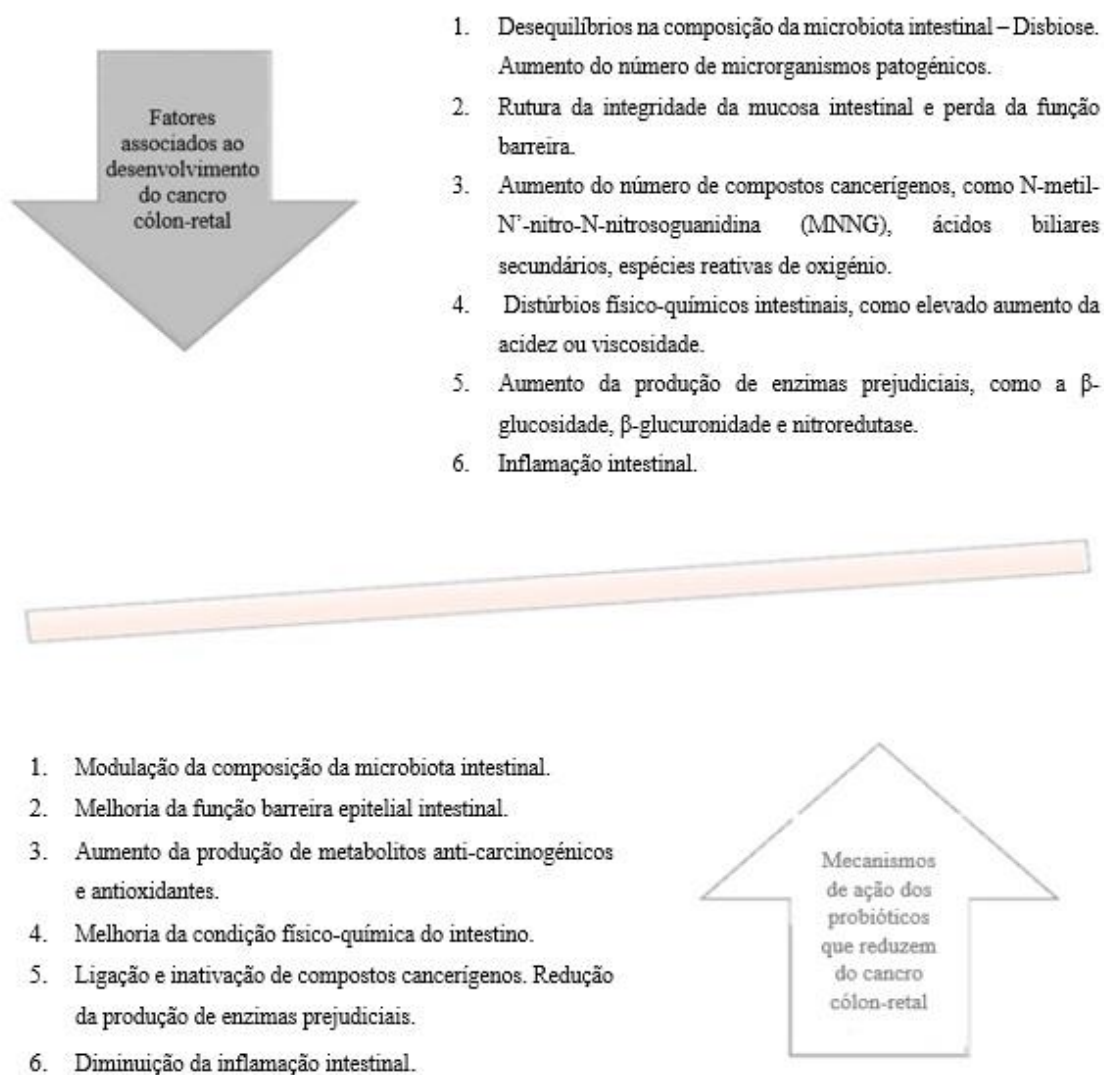
Para exercer os seus efeitos nocivos, é determinante a adesão de *H. pylori* às células epiteliais. A presença de mucinas – glicoproteínas complexas e de grandes dimensões – na superfície da mucosa intestinal, constitui um mecanismo fisiológico de defesa das células epiteliais contra os danos provocados por agentes patogênicos (Alzahrani *et al.*, 2014). *H. pylori* exibe atividade na supressão de genes que codificam a síntese de mucinas, nomeadamente, os genes MUC1 e MUC5. Eslami *et al.*, referem que estudos *in vitro*, demonstraram que, estirpes de *L. plantarum* e estirpes de *L. rhamnosus*, aumentam a expressão dos genes codificadores da síntese de mucinas, MUC2 e MUC3. Deste modo, a secreção extracelular de mucina aumenta, promovendo uma melhoria na permeabilidade intestinal, dificultando adesão de *H. pylori* (Eslami *et al.*, 2019).

Para além dos mecanismos fisiológicos abordados, os probióticos podem também combater a infeção por *H. pylori* através de mecanismos imunológicos. Determinadas bactérias probióticas, demonstraram capacidade de se ligar a recetores existentes na superfície das células epiteliais, como os recetores do tipo *Toll* (TLR, do inglês *Toll-like Receptor*), e ativar uma cascata de mecanismos de defesa. O TLR4 reconhece o LPS da *H. pylori*, o que provoca a libertação da interleucina 8 (IL-8), a qual promove a migração de neutrófilos e monócitos para a mucosa gástrica. Como consequência, outras interleucinas são produzidas (IL-4, IL-5 e IL-6), assim como citocinas interferon-gamma (IFN- $\gamma$ ) (Eslami *et al.*, 2019). Verificou-se que, *L. bulgaricus* inibe a ativação do TLR4, impedindo a ligação do LPS de *H. pylori* e, conseqüentemente, não ocorre a libertação da IL-8. *L. salivarius* demonstrou, *in vitro*, diminuir também a secreção da IL-8 (Homan and Orel, 2015).

Contudo, vários autores, não consideram os probióticos como uma terapêutica alternativa na infeção por *H. pylori*. Sendo que, apenas aconselham a sua utilização em associação com o tratamento atualmente em vigor. Deste modo, promovem a erradicação da infeção e diminuem os efeitos adversos associados à terapêutica medicamentosa, como diarreias e náuseas (Feng *et al.*, 2017; Lü *et al.*, 2016; McFarland *et al.*, 2016; Wang *et al.*, 2017).

## Cancro cólon-retal

Atualmente, a incidência do cancro cólon-retal (CCR) é elevada e o número de casos continua a aumentar. Estatísticas mundiais revelam que, o CCR é o segundo tipo de cancro mais diagnosticado em mulheres, depois do cancro da mama, e o terceiro tipo mais diagnosticado nos homens, depois do cancro dos pulmões e próstata (Molska and Regula, 2019). São vários os fatores envolvidos no desenvolvimento desta neoplasia (figura 5).



**Figura 5** – Fatores associados ao CCR e potenciais mecanismos de ação dos probióticos envolvidos no CCR. Adaptado de (Molska and Regula, 2019)

Segundo Hsieh *et al.*, bactérias pertencentes ao género *Bifidobacterium spp.* promovem a integridade do epitélio, ao prevenir a perda da função da barreira epitelial, induzida pelo TNF $\alpha$  (Hsieh *et al.*, 2015). As claudinas e ocludinas, são proteínas de junção apertada,

que apresentam um papel importante na manutenção da integridade e permeabilidade intestinal. Verificou-se que *L. reuteri* ZJ617 e *L. rhamnosus*, diminuem o stress oxidativo e a inflamação. Por conseguinte, ocorre uma melhoria na expressão de proteínas de junção apertada, restaurando-se a função barreira (Cui *et al.*, 2017). Resultados semelhantes foram observados com os probióticos presentes no suplemento VSL#3 (Molska and Regula, 2019). A associação de *L. rhamnosus* e *B. lactis* com a inulina, também revelou melhoria na função e integridade da barreira epitelial, e diminuição da proliferação celular, em pacientes com CCR (Candela *et al.*, 2011).

*L. acidophilus*, *L. casei*, *L. plantarum*, *L. delbrueckii* e *Propionicaterium freuenreichii*, têm a capacidade de produzir ácido linoleico conjugado (CLA, do inglês *Conjugated Linoleic Acid*), na parte distal do intestino, a partir do ácido linoleico (Clapp *et al.*, 2017). O CLA, exibe efeitos benéficos locais, entre os quais se distingue a inibição da produção de eucosanóides pelos colonócitos, através da inibição de enzimas, como a COX-1 e a lipoxigenase, e a atividade anti carcinogénica (Molska and Regula, 2019).

Bactérias probióticas, como *Pedicoccus petosaceus* 16:1, *L. plantarum* 2592 e *L. paracasei*, sintetizam compostos antioxidantes equivalentes a 100mg de vitamina C. Esta característica é importante na prevenção do desenvolvimento do CCR e de outras neoplasias, uma vez que, a capacidade antioxidante demonstrada permite inibir a peroxidação e a formação de radicais livres (Molska and Regula, 2019).

Bactérias ácido-láticas, diminuem a atividade de agentes carcinogénicos, como 1,2-dimetilhidrazina e N-metil-N'nitro-N-nitroguanidina, ao produzir compostos que os desativam, e enzimas antioxidantes, como a superóxido dismutase, glutathione S-transferase, glutathione reductase, glutathione peroxidase e catalase. Segundo Pithva *et al.*, o probiótico *L. rhamnosus* exibe atividade anti mutagénica e anti genotóxica contra o N-metil-N'nitro-N-nitroguanidina (Pithva *et al.*, 2015). Num estudo, desenvolvido em modelo animal, administrou-se 1,2-dimetilhidrazina a ratos e, observou-se uma redução da atividade das enzimas antioxidantes acima mencionadas. Os resultados não foram os mesmos quando, se administrou a associação de um quimioterápico com as bactérias probióticas *L. plantarum* (AdF10) e *L. rhamnosus* GG. Verificou-se um aumento significativo das enzimas antioxidantes. O que sugere o benefício dos probióticos na proteção contra o stress oxidativo durante o tratamento do CCR (Walia *et al.*, 2018).

Acredita-se que, o consumo de uma dose diária de  $10^{10}$ - $10^{11}$  UFC de probióticos pertencentes ao gênero *Lactobacillus spp.* e *Bifidobacterium spp.*, por um período mínimo de quatro a seis semanas, pode reduzir o risco em desenvolver CCR. No entanto, são necessários mais estudos na área (Molska and Regula, 2019).

A revisão sistemática de Clark *et al.*, através da análise de alguns estudos clínicos, avaliou os efeitos de prebióticos, como frutanos, lactulose e amido resistente, nos biomarcadores do CCR. Os autores concluíram que, apenas a lactulose se revelou benéfica (Clark *et al.*, 2012).

O benefício dos prebióticos, pode surgir também, através da sua utilização por outros microrganismos, para além dos lactobacilos e bifidobactérias, como *Clostridium coccoides* ou *Eubacterium rectale*. Estas bactérias, são produtoras de butirato, o qual é importante para a funcionalidade intestinal, bem como na prevenção contra o CCR (Roberfroid *et al.*, 2010).

### Enterocolite Necrotizante

A enterocolite necrotizante é uma doença grave associada a estados de disbiose em bebés prematuros. A nutrição enteral restrita e o uso frequente de antibióticos nestes bebés, constituem a principal causa dos estados de disbiose verificados. A enterocolite necrotizante afeta cerca de 7% a 12% dos bebés prematuros com peso inferior a 1,5 Kg (Bertelsen *et al.*, 2016). Caracteriza-se por inflamação e necrose de regiões do intestino, e apresenta uma taxa de mortalidade que chega a atingir os 30% (Sanders *et al.*, 2018b).

Estudos recentes, indicam que o uso de combinações probióticas e em doses elevadas, revelam-se mais eficazes na prevenção e tratamento desta patologia. Verificou-se em bebés tratados com a associação de *B. infantis*, *B. lactis*, e *S. thermophilus*, uma redução da enterocolite necrotizante de 4,4% (placebo) para 2% (probióticos). Enquanto que, em bebés tratados apenas com *B. breve*, não se observou qualquer efeito (Sun *et al.*, 2017).

Prebióticos, como os FOS e GOS, já foram apontados como eficazes na prevenção da enterocolite necrotizante, em bebés prematuros (Patel and Denning, 2013). Pammi e Abrams, após análise de quatro estudos clínicos randomizados, concluíram que a lactoferrina oral, que atua como prebiótico, é benéfica na profilaxia de estádios mais

graves da enterocolite necrotizante (Pammi and Abrams, 2015). A associação de *B. lactis* e inulina, também se mostrou eficaz na prevenção desta patologia (Dilli *et al.*, 2015).

## **4.2. Sistema Respiratório**

A microbiota intestinal, através do eixo intestino-pulmão, influencia as funções imunes dos pulmões. Uma vez que, é através deste eixo que ocorre a migração das células imunológicas, do intestino para o pulmão, bem como a migração de metabólitos microbianos intestinais, como os AGCC, que são moléculas cruciais para a manutenção da homeostasia imunológica (Shahbazi *et al.*, 2020).

A disbiose intestinal, para além de promover o desenvolvimento de condições inflamatórias intestinais, afeta também o trato respiratório, promovendo outras doenças inflamatórias, como a asma, alergias e doença pulmonar obstrutiva crónica (DPOC), e também infeções das vias respiratórias superiores (Shahbazi *et al.*, 2020).

Existem evidências que, bactérias probióticas diminuem a incidência de infeções bacterianas e virais das vias respiratórias (Budden *et al.*, 2017; Forsythe, 2014). Em modelos animais, com disbiose intestinal marcada, induzida por antibióticos, verificou-se uma predisposição aumentada para o desenvolvimento de doenças respiratórias e infeções virais das vias superiores, enquanto que a administração de *Lactobacillus spp.* e *Bifidobacterium spp.* reduziu a incidência e melhorou os sintomas das mesmas (Budden *et al.*, 2017).

### COVID-19

O SARS-CoV-2, Síndrome Respiratória Aguda Grave – Coronavírus – 2, é um vírus de RNA, responsável por provocar sintomas como febre, dor de garganta, tosse, cansaço e dores musculares e, em casos mais graves, pneumonia grave, síndrome respiratória aguda grave, septicémia, choque séptico e eventual morte. Além da doença respiratória, alguns pacientes apresentam também sintomas gastrointestinais, como diarreia, vômitos, náuseas, perda de apetite e dor abdominal (Gohil *et al.*, 2021).

O SARS-CoV-2 entra nas células através dos recetores da enzima conversora da angiotensina 2. Estes recetores, também se encontram expressos nas células epiteliais intestinais, sendo sugerido que, o novo coronavírus, infeta as células epiteliais intestinais por esta via, induzindo a produção de quimiocinas e citocinas pró-inflamatórias, o que

provoca uma inflamação intestinal aguda. Além do mais, o SARS-Cov-2, já foi identificado em amostras fecais de alguns pacientes infetados. Portanto, estas evidências podem demonstrar a ligação deste vírus e a microbiota intestinal, e o envolvimento do eixo intestino-pulmão na patogênese da COVID-19 (Shahbazi *et al.*, 2020).

Alguns dados da China, revelaram uma alteração na composição da microbiota intestinal em indivíduos infetados, com uma diminuição na contagem de *Lactobacillus spp.* e *Bifidobacterium spp.* No entanto, como os antivirais constituem uma das terapias medicamentosas frequentemente administradas em pacientes com COVID-19, ainda não foi totalmente esclarecido se a disbiose verificada é consequência da doença ou do tratamento (Mak *et al.*, 2020). Deste modo, a modulação da microbiota intestinal, pode constituir uma estratégia benéfica para reduzir os sintomas gastrointestinais e a gravidade da doença (Shahbazi *et al.*, 2020).

Os probióticos podem ser administrados para prevenir o estado de disbiose intestinal, consequência da doença ou da medicação. Além disso, também influenciam a microbiota pulmonar, e exercem ação anti-inflamatória nos pulmões. A bactéria probiótica *L. helveticus*, exibe atividade na regulação positiva do sistema imunológico, ao aumentar o número de células que sintetizam IgA's no intestino e no tecido linfóide associado aos brônquios. Este facto, é importante na COVID-19, uma vez que foi observado que a secreção de IgA's é o principal mecanismo de defesa, nas fases iniciais da infeção (Shahbazi *et al.*, 2020).

Pacientes com COVID-19, apresentam níveis séricos elevados de citocinas pró-inflamatórias, como TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-2, IL-4, IL-6, e da citocina anti-inflamatória IL-10. Elevadas concentrações plasmáticas de citocinas pró-inflamatórias, nestes doentes, associam-se a complicações como síndrome respiratória aguda grave ou choque séptico. A recente meta-análise de um ensaio clínico, desenvolvida por Milajerdi *et al.*, verificou que a suplementação com probióticos pode reduzir condições inflamatórias em adultos, ao promover uma diminuição da concentração sérica de citocinas pró-inflamatórias, incluindo as acima referidas (Milajerdi *et al.*, 2020).

Determinados indivíduos infetados com o SARS-CoV-2, necessitam ser submetidos a uma ventilação invasiva, quando se verificam situações de insuficiência respiratória e hipoxemia. Um ensaio clínico, desenvolvido em pacientes em estado crítico revelou que,

a administração de uma combinação de probióticos associada a prebióticos, diminui o período de permanência nos cuidados intensivos e o número de dias submetidos a ventilação mecânica (Baud *et al.*, 2020). Foram também relatados efeitos benéficos dos probióticos na prevenção da pneumonia associada à ventilação mecânica invasiva (Shahbazi *et al.*, 2020).

Ainda não existem dados diretos sobre a eficácia dos probióticos na prevenção ou tratamento da COVID-19, apesar de já se ter observado a atividade antiviral de determinadas espécies probióticas. Deste modo, sugere-se o uso de probióticos para modular a microbiota intestinal, como possível estratégia para melhorar as manifestações clínicas desta infecção (Shahbazi *et al.*, 2020).

Na medida em que potenciam o crescimento e a capacidade de sobrevivência dos probióticos, os prebióticos podem também ser benéficos contra a COVID-19. Além de que, podem exercer um efeito direto sobre os sintomas gastrointestinais causados pelo SARS-CoV-2, através do bloqueio da enzima conversora da angiotensina 2 (Olaimat *et al.*, 2020).

### Infeção pelo vírus Influenza

O vírus influenza é o agente responsável por um dos tipos mais comum de infecções respiratórias agudas, e é uma das principais causas de mortalidade. Mais uma vez, a microbiota intestinal, destaca-se na formação dos mecanismos de defesa contra esta infecção, e na melhoria dos resultados clínicos. A microbiota intestinal comensal, é responsável pela regulação da produção de linfócitos T CD4+ e CD8+, e anticorpos, na infecção pelo vírus influenza. Enquanto que, uma depleção de bactérias benéficas intestinais, resultado de terapêuticas com antibióticos, por exemplo, aumenta a suscetibilidade à infecção por este vírus (Shahbazi *et al.*, 2020).

Através de experiências em animais, e estudos clínicos em humanos, verificou-se o benefício dos probióticos nas infecções virais pulmonares, como a provocada pelo vírus influenza, ao regularem a microbiota e imunidade intestinal. A administração de diferentes espécies de *Lactobacillus spp.*, *Bifidobacterium spp.* e *Lactococcus spp.*, a modelos roedores, melhorou os sintomas associados a esta infecção (Lehtoranta *et al.*, 2014). Um probiótico isolado do TGI humano, *B. longum* MM-2, quando administrado em ratos infetados com influenza, diminuiu as respostas inflamatórias do trato respiratório

inferior e a taxa de mortalidade, através da ativação das células NK nos pulmões e no baço, e da regulação da expressão de citocinas nos pulmões (Kawahara *et al.*, 2015). Resultados semelhantes foram também observados após administração dos seguintes probióticos: *B. longum* BB536, *L. rhamnosus*, *L. paracasei*, *L. brevis* KB290, *L. acidophilus* L-92, *L. plantarum*, *L. fermentum*, e *L. kunkeei* (Shahbazi *et al.*, 2020).

Os resultados de um estudo, desenvolvido por Waki *et al.*, indicaram que o consumo de uma bebida formulada com *L. brevis* KB290, diminuiu a incidência da infecção por influenza, em estabelecimentos escolares (Waki *et al.*, 2014).

Com o aumento da idade, a composição da microbiota intestinal vai sofrendo modificações. Estas modificações afetam negativamente o sistema imunitário da população idosa. Bosch *et al.*, revelaram que *L. plantarum* CECT7315 e CECT7316, para além de melhorar as respostas imunitárias a diversas infeções, melhoram também as respostas às vacinas contra o vírus influenza, em idosos (Bosch *et al.*, 2012). Conclusões semelhantes, resultaram da revisão sistemática e meta-análise de Yeh *et al.*, que avaliou o impacto da associação de probióticos e prebióticos, na resposta da vacinação contra o vírus influenza. Os autores concluíram que, os probióticos e prebióticos, podem melhorar o título de anticorpos, após a vacinação (Yeh *et al.*, 2018).

Apesar das evidências existentes, que apoiam o efeito anti-inflamatório e imunomodulador, dos probióticos contra o vírus influenza, o número de ensaios clínicos em seres-humanos é limitado (Shahbazi *et al.*, 2020).

#### Outras infeções do trato respiratório

Existem evidências dos benefícios dos probióticos, na rinosinusite crónica e na asma, através da aplicação tópica de preparações em spray (Gohil *et al.*, 2021). A associação prebiótica GOS-Polidextrose, bem como *L. rhamnosus* GG, demonstraram reduzir a incidência de episódios induzidos por rinovírus (Luoto *et al.*, 2014).

Zhang *et al.*, desenvolveram um estudo experimental em ratinhos, e verificaram uma redução da hipersensibilidade asmática, resultado da diminuição da síntese de linfócitos Th17, após administração de *Enterococcus faecalis* FK-23 (Zhang *et al.*, 2012).

Foram também observados efeitos promissores dos probióticos na fibrose cística. Esta doença do trato respiratório caracteriza-se pela ocorrência de um estado de disbiose, e está associada ao uso frequente de antibióticos, que contribuem para um maior distúrbio na microbiota. Deste modo, foi sugerido que os probióticos podem reduzir a taxa de exacerbações pulmonares na fibrose cística (Neri *et al.*, 2019).

### **4.3. Sistema Tegumentar**

#### Eczema atópico

O eczema atópico é uma condição inflamatória da pele, caracterizada pela ocorrência de prurido, vermelhidão, descamação, secura, inchaço, exsudação e crostas. Associa-se, frequentemente, a outras doenças atópicas, como a rinite alérgica e asma. A Organização Mundial de Alergia, com base nas evidências sobre o uso dos probióticos na prevenção da alergia, recomenda: a administração de probióticos a mulheres grávidas que apresentem risco elevado de ter filhos alérgicos; administração de probióticos a mulheres que amamentem bebês com elevado risco de desenvolver alergia; administração de probióticos a bebês com elevado risco de desenvolver alergia (Sanders *et al.*, 2018b).

Blanchet-Réthoré *et al.*, estudaram o efeito da aplicação tópica de uma loção com *L. johnsonii* NCC 533, em pacientes com dermatite atópica colonizados por *Staphylococcus aureus*. O grupo de pacientes, incluiu homens e mulheres, com idades compreendidas entre os 18 e os 75 anos, diagnosticados com dermatite atópica leve a moderada. A loção probiótica, com uma concentração de  $3,1 \times 10^{11}$  UFC/g, foi aplicada nas lesões da pele, duas vezes por dia por um período de três semanas. Após o período de aplicação, verificou-se uma melhoria clínica local e o controlo da colonização de *S. aureus* (Blanchet-Réthoré *et al.*, 2017). Resultados semelhantes foram descritos por Yeşilova *et al.*, após avaliação da eficácia de uma associação probiótica, constituída por *B. bifidum*, *L. acidophilus*, *L. casei*, e *L. salivarius*, em crianças com eczema atópico (Yeşilova *et al.*, 2012).

Os prebióticos, não foram ainda, amplamente estudados no tratamento e prevenção de doenças dermatológicas. Contudo, as poucas evidências relatadas, sugerem que a associação com probióticos, é mais promissora do que, a sua utilização isolada (Schlichte *et al.*, 2016). O estudo clínico de Wu *et al.*, concluiu que, em crianças com dermatite atópica, o consumo de *L. salivarius* associado a FOS, promoveu melhorias

significativamente maiores, em comparação com o tratamento isolado com FOS (Wu *et al.*, 2012).

### Acne Vulgar

O acne vulgar é uma das doenças dermatológicas mais comuns, de etiologia multifatorial, que afeta mais de 85% dos adolescentes, especialmente do sexo masculino. Os fatores que o podem desencadear são a hipersecreção sebácea, hiperqueratose folicular, proliferação e colonização microbiana de *Propionibacterium acnes* e de espécies de *Malassezia*, e resposta inflamatória. A disbiose intestinal, através do eixo intestino-pele, também está envolvida na patogênese do acne, surgindo assim o potencial benefício dos probióticos e prebióticos (Bustamante *et al.*, 2020).

O ensaio in vitro, realizado por Lopes *et al.*, verificou que *Propioniferax innocua*, *L. acidophilus* La-5, *L. delbrueckii*, *L. acidophilus* La-10, *L. paracasei* La-26, *B. lactis* B-94, e *B. animalis* Bb-12, exibiam elevada adesividade à queratina dos seres-humanos. Além de que, o probiótico *P. innocua*, reduzia significativamente a aderência do *P. acnes*, e os probióticos *L. acidophilus* La-5, *L. delbrueckii*, *L. acidophilus* La-10, *L. paracasei* La-26, e *B. animalis* Bb-12, apresentavam importantes zonas de inibição (0,8 a 2,3 mm) contra o *P. acnes*. Lopes *et al.*, observaram ainda que todos os probióticos estudados no ensaio, diminuía a formação de biofilme do *P. acnes* (Lopes *et al.*, 2017).

Jung *et al.*, avaliaram se os probióticos poderiam atuar sinergicamente com os antibióticos, no tratamento do acne inflamatório, e se diminuía os efeitos secundários destes. O estudo envolveu quarenta e cinco mulheres, com idades compreendidas entre os 18-35 anos, com acne vulgar leve a moderado. As pacientes foram divididas, de forma aleatória, em três grupos: (1) Ao grupo probiótico, foi lhes administrada uma cápsula, composta por *L. acidophilus*, *L. delbrueckii bulgaricus* e *B. bifidum*, duas vezes por dia; (2) O grupo da minociclina foi aconselhado a administrar o antibiótico uma vez por dia, após o jantar; (3) O grupo da associação do probiótico e antibiótico, administrou o probiótico duas horas após a toma do antibiótico. Após doze semanas de tratamento, verificou-se uma redução significativa da contagem total de lesões, nas pacientes pertencentes ao grupo da associação do probiótico e antibiótico, em comparação com as pacientes dos outros dois grupos. Os autores, concluíram que os probióticos reduziram os

efeitos secundários do uso de antibióticos, enquanto que promoviam a ação terapêutica dos mesmos (Jung *et al.*, 2013).

Segundo Wang *et al.*, a sacarose é um prebiótico para *Staphylococcus epidermidis*, mas não para *P. acnes*. Os investigadores demonstraram que quando aplicada topicamente, a sacarose diminui os níveis de *P. acnes* e, aumenta os de *S. epidermidis* - bactéria probiótica comensal da pele (Wang *et al.*, 2016).

### Cancro da pele

Como nas patologias cutâneas anteriormente referidas, a disbiose no microbioma da pele, constitui também um fator de risco, na promoção de fenómenos carcinogénicos. Sendo esta observada, em várias neoplasias cutâneas (Yu *et al.*, 2020).

O estudo desenvolvido por Weill *et al.*, concluiu que o ácido lipoteicóico de *L. rhamnosus* GG, exibe propriedades foto protetivas contra a radiação ultravioleta e, conseqüentemente, diminui o risco de se desenvolver cancro de pele (Weill *et al.*, 2013).

Os probióticos podem também apresentar benefícios durante os tratamentos de neoplasias cutâneas, ao promover um microbioma saudável. Deste modo, regulam o microambiente do tumor, melhorando a resposta do cancro à terapia. Um estudo verificou que, imunoterapias com oligonucleotídeos ou terapêuticas com compostos de platina, apresentavam maior eficácia, em ratinhos com microbiomas intestinais saudáveis (Iida *et al.*, 2013).

## **4.4. Sistema Nervoso Central**

O eixo intestino-cérebro assume que, sinais neurológicos podem controlar a função gastrointestinal, assim como a microbiota intestinal pode afetar a função neurológica. Constituindo este eixo um sistema bidirecional. Um exemplo, é o papel do stress e outros fatores psicológicos, nos sintomas e exacerbações da doença inflamatória intestinal (Kane and Kinzel, 2018). Outro exemplo, é a importância dos AGCC produzidos pela microbiota intestinal, como o ácido butírico, ao regular a estrutura e função da barreira hematoencefálica (Dai *et al.*, 2017).

A microbiota intestinal comunica com o sistema nervoso central (SNC), através da síntese de metabolitos microbianos, como os já referidos AGCC, peptidoglicanos e triptofano, precursor da serotonina (Shahbazi *et al.*, 2020).

### Ansiedade e depressão

O microbioma intestinal assume elevada importância no desenvolvimento neurológico, comportamental e na cognição. A disbiose e inflamação do intestino, influenciam várias doenças mentais, como a ansiedade e a depressão. Como já referido, a inflamação do intestino aumenta a permeabilidade intestinal, possibilitando a libertação de citocinas e neurotransmissores na circulação sistémica e, posteriormente, a passagem destas moléculas através da barreira hematoencefálica, alterando assim a função cerebral (Dai *et al.*, 2017).

Diversos estudos já revelaram que os probióticos, ao neutralizar os efeitos destrutivos dos distúrbios intestinais na saúde mental, são eficazes na redução da ansiedade e sintomas depressivos (Clapp *et al.*, 2017; Cheung *et al.*, 2019). *L. mucosae* NK41, *B. longum* NK46, *L. reuteri* NK33, e *B. adolescentis* NK98, isolados de fezes de seres-humanos saudáveis, demonstraram efeitos antidepressivos, ao diminuir a concentração sanguínea de corticosterona, TNF $\alpha$ , e LPS, em ensaios desenvolvidos em ratinhos em stress (Jang *et al.*, 2019; Han and Kim, 2019). No estudo dirigido por Barrett *et al.*, observou-se que *L. brevis* DPC108 e *B. dentium*, sintetizavam grandes quantidades de GABA. O GABA é o principal neurotransmissor inibitório do SNC, que apresenta efeitos ansiolíticos, tranquilizantes e sedativos (Barrett *et al.*, 2012).

Um estudo clínico de indivíduos saudáveis, do sexo masculino e feminino, revelou que a ingestão de GOS, reduziu os níveis de cortisol no sangue, que é um biomarcador de distúrbios emocionais. Com base nestes resultados, os investigadores, sugeriram a utilização de GOS na redução de condições clínicas, como a ansiedade e depressão (Schmidt *et al.*, 2015).

### Esclerose múltipla

A esclerose múltipla é uma doença inflamatória, crónica e degenerativa do SNC, onde se verifica a perda da integridade da barreira hematoencefálica, degradação da bainha de mielina e, conseqüente, lesão dos axónios. As principais alterações imunológicas

observadas são, o aumento do número de linfócitos T CD4+ (Th1 ou Th17), monócitos, macrófagos, células dendríticas e linfócitos B, a redução de linfócitos T CD8+, e a disfunção dos linfócitos T reguladores (Shahbazi *et al.*, 2020).

Existem diferenças na composição da microbiota intestinal de indivíduos com esclerose múltipla, em comparação com indivíduos saudáveis. Os probióticos e os seus metabolitos, ao restaurar a microbiota, promover a barreira intestinal, regular as células imunitárias, e ao reduzir a inflamação crónica, podem ser benéficos na prevenção e na terapêutica desta doença autoimune. Tankou *et al.*, estudaram o efeito da formulação probiótica VSL#3, na microbiota intestinal e na função imune, de pacientes com esclerose múltipla. A administração de VSL#3, duas vezes ao dia por um período de dois meses, resultou numa microbiota intestinal equilibrada e na diminuição de células Th1 e Th17 (Tankou *et al.*, 2018).

Muitos pacientes com esclerose múltipla, desenvolvem anemias por deficiência de ferro. O ferro, é importante na biossíntese de colesterol e de lípidos, que são os principais constituintes da bainha de mielina. Os probióticos podem promover a mielinização, ao aumentar a absorção de ferro e, deste modo, reduzir as consequências da esclerose múltipla (Taherian *et al.*, 2019).

### Enxaqueca

Indivíduos com enxaqueca, sofrem geralmente de episódios de cefaleias, moderados a graves, durante várias horas, podendo atingir dias. A enxaqueca associa-se também a sintomas gastrointestinais, como náuseas, vômitos, diarreia, obstipação e dispepsia. Além disso, existem evidências de que indivíduos que sofrem de distúrbios gastrointestinais, apresentam maior prevalência no desenvolvimento de dores de cabeça (Dai *et al.*, 2017). Dimitrova *et al.*, observaram que a prevalência da enxaqueca é maior em indivíduos que sofrem de doença celíaca e doença inflamatória do intestino (Dimitrova *et al.*, 2013). Gelfand *et al.*, demonstraram que mães que sofrem de enxaquecas, têm cerca de duas vezes mais probabilidade de ter bebés com cólicas, do que mães sem historial de enxaquecas (Gelfand *et al.*, 2012).

A associação entre a enxaqueca e os distúrbios gastrointestinais, pode ser explicada pelo aumento da permeabilidade intestinal e das respostas inflamatórias, que permitem, por

exemplo, a passagem de metabólitos bacterianos para corrente sanguínea, que por sua vez vão atuar no sistema trigêmeo-vascular, e desencadear as enxaquecas (Dai *et al.*, 2017).

Roos *et al.*, desenvolveram em 2015, um estudo clínico sobre o efeito dos probióticos em indivíduos que sofriam de enxaqueca. Por um período de doze semanas, estes indivíduos ingeriram duas gramas diárias de uma formulação probiótica, constituída por *B. bifidum* W23, *B. lactis* W52, *L. acidophilus* W37, *L. brevis* W63, *L. casei* W56, *L. salivarius* W24, *Lactococcus lactis* W19, e *Lactococcus lactis* W58. Os resultados do estudo indicaram que, 67% dos participantes demonstraram uma redução do número de dias com enxaqueca (de Roos *et al.*, 2015).

#### Outras patologias neurodegenerativas

Segundo Best *et al.*, os prebióticos podem promover melhorias na memória, em indivíduos de meia idade (Best *et al.*, 2015). Uma recente revisão clínica, revelou que uma dose entre 5-10g/dia, de FOS ou inulina, melhorou a aprendizagem, memória e comportamento emocional, de adultos jovens e de meia idade (Serra *et al.*, 2019).

A experiência de Chen *et al.*, desenvolvida em ratos com Alzheimer, postulou que o tratamento com FOS, promoveu efeitos neurológicos positivos, como o aumento de acetilcolina, serotonina e adrenalina, e reduziu o dano na região CA1 do hipocampo (Chen *et al.*, 2017).

Segundo Umbrello e Esposito, a administração de uma dose diária de *L. plantarum* WCFS1, nomeadamente,  $4,5 \times 10^{10}$  UFC/dia, a crianças com perturbação do espectro do autismo, resultou na melhoria do aproveitamento escolar e da atitude destas crianças face aos alimentos (Umbrello and Esposito, 2016).

#### **4.5. Sistema Cardiovascular**

As doenças cardiovasculares afetam o sistema circulatório, isto é, o coração e os vasos sanguíneos. A grande maioria destas doenças é provocada por aterosclerose, ou seja, pelo depósito de placas de gordura no interior das artérias, que dificultam a circulação sanguínea nos órgãos. Estados de disbiose, como a diabetes e a obesidade, por constituírem importantes fatores de risco para o desenvolvimento das doenças cardiovasculares, serão apresentados neste capítulo.

### Hipercolesterolemia

Os probióticos podem diminuir a concentração de colesterol no sangue, através de diferentes mecanismos: (1) diminuição da absorção intestinal de colesterol; (2) desconjugação de sais biliares, pela enzima hidrolase de sais biliares, que é produzida pela maioria dos probióticos conhecidos; (3) regulação do metabolismo lipídico através do controlo dos perfis de citocinas e adipocinas; (4) incorporação do colesterol nas membranas celulares, durante o seu crescimento; (5) inibição da expressão de transportadores intestinais de colesterol (Villena and Kitazawa, 2017).

Jones *et al.*, avaliaram a eficácia de um iogurte formulado com a enzima hidrolase de sais biliares, de *L. reuteri* NCIMBB 30242, microencapsulada, na diminuição da concentração sanguínea de colesterol. O iogurte foi administrado a 114 indivíduos adultos com hipercolesterolemia, duas vezes por dia, por um período de seis semanas. Após o período de intervenção, os resultados demonstraram uma redução de 8,92% no colesterol LDL, 4,8% no colesterol total, e 6% no colesterol não-HDL, em comparação com o grupo placebo (Jones *et al.*, 2012). Também a formulação de iogurtes com *B. longum* BL1, revelou diminuir a concentração sanguínea de triglicédeos, colesterol total e LDL. O *B. longum* BL1, demonstrou ainda aumentar os níveis do colesterol HDL (Pandey *et al.*, 2015). Outros probióticos como, *L. casei* e *L. acidophilus*, revelaram eficácia na redução da concentração sanguínea de colesterol (Karimi *et al.*, 2015).

O estudo clínico de Luis *et al.*, demonstrou o benefício da ingestão de alimentos enriquecidos com FOS e inulina, na redução dos níveis séricos de colesterol total, colesterol LDL e da proteína C reativa, em homens com obesidade (de Luis *et al.*, 2011). Em 2015, a revisão sistemática e meta-análise de Beserra *et al.*, revelou que, para além de diminuir a concentração sanguínea de colesterol total e LDL, os prebióticos diminuíram também a concentração de triglicédeos e insulina, em pacientes adultos com excesso de peso ou obesidade (Beserra *et al.*, 2015).

### Diabetes Mellitus tipo 2

Distúrbios metabólicos, inflamação crónica, níveis elevados de citocinas pró-inflamatórias, e o stress oxidativo são fatores críticos no processo e prognóstico da Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2). Os probióticos podem ser úteis no seu tratamento, não só pela capacidade de reduzir a inflamação e o stress oxidativo, mas também pelo impacto

que apresentam na melhoria da glicemia e no metabolismo da insulina. Um estudo clínico evidenciou que, o consumo de 300g/dia de um iogurte probiótico, composto por *L. acidophilus* La5 e *B. lactis* Bb12, por um grupo de pacientes com DM2, resultou numa diminuição da concentração sanguínea da glucose em jejum e hemoglobina glicosilada, e no aumento da atividade das enzimas antioxidantes, superóxido dismutase e glutatona peroxidase (Ejtahed *et al.*, 2012). Outro potencial efeito antidiabético dos probióticos, surge da capacidade destes produzirem AGCC, que são responsáveis pela secreção de incretinas, as quais influenciam os níveis de glucose. Yadav *et al.*, demonstraram o efeito dos probióticos no controlo da glicemia, através da ação do butirato na secreção do peptídeo 1 semelhante ao glucagon (GLP-1, do inglês glucagon-like peptide 1), numa experiência em ratos. O GLP-1, é uma incretina, produzida pelas células L intestinais, que promove a secreção de insulina quando o glucagon está suprimido (Yadav *et al.*, 2013). Kellow *et al.*, avaliaram o impacto do consumo de prebióticos em 831 pacientes com distúrbios metabólicos, através da análise de 26 ensaios clínicos randomizados. Os autores concluíram que, os prebióticos para além de regular o apetite, reduziram a concentração sanguínea da glucose pós pandrial (Kellow *et al.*, 2014).

Os resultados do estudo de Laitinen *et al.*, indicaram que a administração de um suplemento probiótico, composto por *B. lactis* Bb12 e *L. rhamnosus* GG, em associação com aconselhamento nutricional, em mulheres grávidas, resultou numa melhoria do controlo da glicemia, durante e após a gravidez, em comparação com os grupos controlo e placebo (Laitinen *et al.*, 2009). Karamali *et al.*, avaliaram o efeito de uma cápsula probiótica diária, composta por *B. bifidum* (2×10<sup>9</sup> UFC/g), *L. acidophilus* (2×10<sup>9</sup> UFC/g) e *L. casei* (2×10<sup>9</sup> UFC/g), em sessenta mulheres com diabetes gestacional, durante um período de seis semanas. Os resultados revelaram uma redução na resistência à insulina (Karamali *et al.*, 2016).

### Obesidade

Existem relatos da ação dos probióticos e prebióticos no controlo do peso corporal, revelando-se benéficos em doenças, como a obesidade. Kang *et al.*, em 2010, verificaram que *L. gasseri* BNR17, isolado do leite materno humano, inibia os aumentos do peso corporal e do tecido adiposo, em ratos alimentados com uma dieta rica em sacarose (Kang *et al.*, 2010). Em 2013, os autores observaram ainda que, *L. gasseri* BNR17 inibia o desenvolvimento do tecido adiposo unilocular, que é a principal fonte de leptina e

adiponectina, reduzindo a secreção de leptina. A leptina, também conhecida como a hormona da saciedade, regula a ingestão de alimentos e o gasto de energia. A concentração desta hormona, está relacionada com a percentagem de gordura corporal, sendo que se verifica uma maior concentração em indivíduos obesos, em comparação com indivíduos saudáveis. A estirpe BNR17, ao suprimir o aumento dos níveis séricos da leptina, sugere uma redução na massa gorda e peso corporal (Kang *et al.*, 2013).

A associação dos probióticos, *L. casei* PXN 37, *L. rhamnosus* PXN 54, *L. acidophilus* PXN 35, *L. bulgaricus* PXN 35, *S. thermophilus* PXN 66, *B. breve* PXN 25, e *B. longum* PXN 30, com o prebiótico FOS, revelou um aumento da concentração de GLP-1 e PYY (Rabiei *et al.*, 2019). Como referido no capítulo dos mecanismos de ação dos prebióticos, estes compostos podem promover a síntese de hormonas anorexigénias, controlar o apetite e, deste modo, controlar o peso corporal. Segundo Dewulf *et al.*, o consumo de inulina, por mulheres obesas, resultou na modulação da microbiota intestinal e do metabolismo lipídico. Após três meses de tratamento, as pacientes apresentaram uma redução do índice de massa gorda, dos níveis séricos de LPS e da concentração de metabolitos, como hipurato, lactato e fosfatidilcolina. A redução da concentração sérica de LPS, consequência de uma microbiota intestinal saudável, constitui um fator crucial na diminuição de distúrbios inflamatórios associados à obesidade e outras doenças metabólicas (Dewulf *et al.*, 2013).

### Hipertensão arterial

A hipertensão arterial, a longo prazo, é um dos principais fatores de risco para o desenvolvimento de insuficiência cardíaca, acidente vascular cerebral e ataque cardíaco. Na medida em que, melhoram o colesterol total e os níveis séricos de colesterol LDL, reduzem a concentração sanguínea de glicose e a resistência à insulina, e regulam o sistema renina-angiotensina, os probióticos e os seus metabolitos exibem características anti hipertensoras (Thushara *et al.*, 2016)

Os probióticos, *L. helveticus*, *S. cerevisiae*, *L. rhamnosus* GG, *L. casei*, *L. acidophilus*, *L. rhamnosus*, *L. bulgaricus*, *B. breve*, *B. longum*, *S. thermophilus*, *L. delbrueckii* ssp. *Bulgaricus* e *Lactobacillus kefir*, são os mais utilizados como anti hipertensores (Rerksupphol and Rerksupphol, 2015; Ekhlasi *et al.*, 2017)

## **V. Simbióticos**

### **5.1. Definição e exemplos**

Os simbióticos referem-se a ingredientes alimentares ou suplementos dietéticos, compostos pela associação de probióticos e prebióticos. O termo simbiótico foi introduzido, pela primeira vez, em 1995, e o seu desenvolvimento surgiu, com o intuito de superar possíveis dificuldades dos probióticos, nomeadamente, na sobrevivência no TGI (Markowiak and Śliżewska, 2017).

A função dos simbióticos pode ser complementar ou sinérgica. A função é complementar, quando o probiótico é escolhido, com base nos benefícios específicos desejados no hospedeiro, e o prebiótico é escolhido, de forma independente, para promover um aumento da concentração de componentes benéficos na microbiota. Aqui, o prebiótico pode promover a atividade e crescimento do probiótico, mas de uma forma indireta, como parte integrante do seu foco de ação. É exemplo desta função, a associação do probiótico *L. casei* com o prebiótico FOS. Na função sinérgica, o probiótico continua a ser escolhido com base nos benefícios específicos necessários ao hospedeiro, mas o prebiótico é escolhido para promover, especificamente, o crescimento e atividade do probiótico. Isto é, o prebiótico é selecionado de acordo com afinidade observada com o probiótico, por forma a melhorar a sobrevivência deste no hospedeiro. A associação verificada entre o género *Bifidobacterium sp.* e FOS, é exemplo desta função. A abordagem sinérgica é a mais relevante, uma vez que, o efeito terapêutico da associação do probiótico e prebiótico é superior, aquele que se verifica, na sua atividade independente (Tsai *et al.*, 2019).

Os critérios de seleção assentam que, para uma formulação ser simbiótica, apenas são selecionados, os probióticos e prebióticos que exercem efeitos benéficos no hospedeiro, quando usados separadamente. Assume também que, a determinação das propriedades específicas de um prebiótico, em função do efeito favorável que representam no probiótico, é a abordagem mais apropriada (Markowiak and Śliżewska, 2017).

A associação de bactérias do género *Bifidobacterium spp.* ou *Lactobacillus spp.* com FOS, é a mais comum em produtos simbióticos (Markowiak and Śliżewska, 2017). ). Ao longo desta dissertação, foram citados alguns exemplos de simbióticos, inclusive os benefícios que estes representam em diversos estádios de disbiose.

## **VI. Riscos e segurança dos probióticos e prebióticos**

De um modo geral, são mais os benefícios, encontrados na terapêutica com probióticos e prebióticos, do que os riscos associados (Islam, 2016).

A maioria dos probióticos é segura para o hospedeiro. Os efeitos secundários mais comuns são a obstipação, flatulência, soluços, náuseas e erupção cutânea (Islam, 2016). O risco de desenvolvimento de infecção, após administração destes microrganismos, é raro e é semelhante ao risco de infecção por bactérias comensais. Em determinados grupos de pacientes, nomeadamente, com falência multiorgânica, doenças graves, imunocomprometidos, ou em bebés prematuros com muito baixo peso corporal, é imperativo um cuidado especial. Até ao momento, já foram reportadas situações de bacteriemia, sépsis ou endocardite, em alguns destes grupos de pacientes, após terapêuticas com *L. rhamnosus* GG ou *L. casei*, sendo que, infeções por *Bifidobacterium spp.*, são muito raras na literatura. Adicionalmente, já foram reportados casos de fungemia, por *S. boulardii*, em pacientes com comorbidades graves (Tsai *et al.*, 2019).

Os prebióticos, são seguros para serem consumidos a longo prazo, e para fins profiláticos. Não são substâncias alergénicas, e não promovem a proliferação de genes de resistência a antibióticos. Quando administrados nas doses corretas, não se verificam efeitos adversos. No entanto, em situações de sobredosagem, pode ocorrer diarreia, flatulência e suscetibilidade à luz UV (Markowiak and Śliżewska, 2017). Em bebés, é aconselhada a adição de prebióticos ao leite em fórmula, apenas a partir dos cinco meses de idade (Bertelsen *et al.*, 2016).

Em suma, os riscos e benefícios dos probióticos e prebióticos devem ser avaliados antes do seu uso.

## **VII. Conclusão**

A revisão bibliográfica realizada permitiu comprovar, um crescimento exponencial no interesse da aplicação de probióticos e prebióticos como potenciais agentes terapêuticos.

A microbiota intestinal, desempenha funções importantes, nas suas relações simbióticas com o hospedeiro. Consequentemente, o estado de disbiose na microbiota, constitui uma característica comum observada em diversas patologias, de diferentes etiologias. Ao longo desta dissertação foram narrados vários estudos, desenvolvidos por diferentes autores e, a partir de diferentes metodologias, sobre os efeitos que os probióticos, prebióticos e simbióticos, exercem sobre a saúde, metabolismo e sistema imunitário do hospedeiro.

A ação terapêutica probiótica e prebiótica, no sistema gastrointestinal, permanece a mais estudada, e com maiores evidências clínicas benéficas relatadas. No entanto, a obtenção de resultados promissores, decorrentes de estudos desenvolvidos em outros sistemas do corpo humano, como o sistema nervoso central, sistema tegumentar, sistema respiratório, e sistema cardiovascular, permitem sugerir uma ampliação do espectro de ação destes compostos.

A terapêutica simbiótica, surgiu com o objetivo de colmatar algumas das limitações encontradas nos probióticos e prebióticos.

De um modo geral, podemos concluir que, os probióticos e prebióticos são seguros para o ser humano, e que são mais as vantagens publicadas na bibliografia, do que as desvantagens. Contudo, é necessária especial precaução na sua utilização, em pacientes que apresentem doenças graves, falência multiorgânica, imunosuprimidos, ou em bebês prematuros com reduzido peso corporal.

Apesar de todos os benefícios já comprovados e descritos na literatura, ainda são várias as lacunas que precisam ser preenchidas e esclarecidas. Por exemplo, existem ainda, muitas dificuldades na escolha da estirpe probiótica específica, e respetiva dosagem, para a terapêutica de várias doenças. Diversos benefícios observados em ensaios em animais, precisam ser avaliados e transferidos para estudos clínicos. Adicionalmente, é necessário o desenvolvimento de um maior número de estudos clínicos, com tamanhos de amostras maiores e de todas as faixas etárias, períodos de avaliação e acompanhamento superiores,

e a realização de ensaios comparativos. A perspectiva futura é bastante promissora, mas é crucial a continuidade da investigação científica.

## **VIII. Referências Bibliográficas**

Allen, S. J., Martinez, E. G., Gregorio, G. V., *et al.* (2010). Probiotics for treating acute infectious diarrhoea, *Cochrane Database Syst Rev*, 2010, pp.Cd003048.

Alzahrani, S., Lina, T. T., Gonzalez, J., *et al.* (2014). Effect of *Helicobacter pylori* on gastric epithelial cells, *World J Gastroenterol*, 20, pp.12767-12780.

Bae, J. M. (2018). Prophylactic efficacy of probiotics on travelers' diarrhea: an adaptive meta-analysis of randomized controlled trials, *Epidemiol Health*, 40, pp.e2018043.

Barbara, G., Cremon, C. and Azpiroz, F. (2018). Probiotics in irritable bowel syndrome: Where are we?, *Neurogastroenterol Motil*, 30, pp.e13513.

Barrett, E., Ross, R. P., O'toole, P. W., *et al.* (2012).  $\gamma$ -Aminobutyric acid production by culturable bacteria from the human intestine, *J Appl Microbiol*, 113, pp.411-417.

Baud, D., Dimopoulou Agri, V., Gibson, G. R., *et al.* (2020). Using Probiotics to Flatten the Curve of Coronavirus Disease COVID-2019 Pandemic, *Frontiers in public health*, 8, pp.186-186.

Bertelsen, R. J., Jensen, E. T. and Ringel-Kulka, T. (2016). Use of probiotics and prebiotics in infant feeding, *Best Pract Res Clin Gastroenterol*, 30, pp.39-48.

Beserra, B. T., Fernandes, R., Do Rosario, V. A., *et al.* (2015). A systematic review and meta-analysis of the prebiotics and synbiotics effects on glycaemia, insulin concentrations and lipid parameters in adult patients with overweight or obesity, *Clin Nutr*, 34, pp.845-858.

Best, T., Howe, P., Bryan, J., *et al.* (2015). Acute effects of a dietary non-starch polysaccharide supplement on cognitive performance in healthy middle-aged adults, *Nutr Neurosci*, 18, pp.76-86.

Blanchet-Réthoré, S., Bourdès, V., Mercenier, A., *et al.* (2017). Effect of a lotion containing the heat-treated probiotic strain *Lactobacillus johnsonii* NCC 533 on *Staphylococcus aureus* colonization in atopic dermatitis, *Clin Cosmet Investig Dermatol*, 10, pp.249-257.

Boltin, D. (2016). Probiotics in Helicobacter pylori-induced peptic ulcer disease, *Best Pract Res Clin Gastroenterol*, 30, pp.99-109.

Bosch, M., Méndez, M., Pérez, M., *et al.* (2012). Lactobacillus plantarum CECT7315 and CECT7316 stimulate immunoglobulin production after influenza vaccination in elderly, *Nutr Hosp*, 27, pp.504-509.

Budden, K. F., Gellatly, S. L., Wood, D. L., *et al.* (2017). Emerging pathogenic links between microbiota and the gut-lung axis, *Nat Rev Microbiol*, 15, pp.55-63.

Bustamante, M., Oomah, B. D., Oliveira, W. P., *et al.* (2020). Probiotics and prebiotics potential for the care of skin, female urogenital tract, and respiratory tract, *Folia Microbiol (Praha)*, 65, pp.245-264.

Candela, M., Guidotti, M., Fabbri, A., *et al.* (2011). Human intestinal microbiota: cross-talk with the host and its potential role in colorectal cancer, *Crit Rev Microbiol*, 37, pp.1-14.

Casellas, F., Borruel, N., Torrejón, A., *et al.* (2007). Oral oligofructose-enriched inulin supplementation in acute ulcerative colitis is well tolerated and associated with lowered faecal calprotectin, *Aliment Pharmacol Ther*, 25, pp.1061-1067.

Cerdo, T., Garcia-Santos, J. A., M, G. B., *et al.* (2019). The Role of Probiotics and Prebiotics in the Prevention and Treatment of Obesity, *Nutrients*, 11.

Chau, K., Lau, E., Greenberg, S., *et al.* (2015). Probiotics for infantile colic: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial investigating Lactobacillus reuteri DSM 17938, *J Pediatr*, 166, pp.74-78.

Chen, D., Yang, X., Yang, J., *et al.* (2017). Prebiotic Effect of Fructooligosaccharides from Morinda officinalis on Alzheimer's Disease in Rodent Models by Targeting the Microbiota-Gut-Brain Axis, *Front Aging Neurosci*, 9, pp.403.

Cheung, S. G., Goldenthal, A. R., Uhlemann, A. C., *et al.* (2019). Systematic Review of Gut Microbiota and Major Depression, *Front Psychiatry*, 10, pp.34.

Choque Delgado, G. T. and Tamashiro, W. (2018). Role of prebiotics in regulation of microbiota and prevention of obesity, *Food Res Int*, 113, pp.183-188.

Clapp, M., Aurora, N., Herrera, L., *et al.* (2017). Gut microbiota's effect on mental health: The gut-brain axis, *Clin Pract*, 7, pp.987.

Clark, M. J., Robien, K. and Slavin, J. L. (2012). Effect of prebiotics on biomarkers of colorectal cancer in humans: a systematic review, *Nutr Rev*, 70, pp.436-443.

Coqueiro, A. Y., Raizel, R., Bonvini, A., *et al.* (2019). Probiotics for inflammatory bowel diseases: a promising adjuvant treatment, *Int J Food Sci Nutr*, 70, pp.20-29.

Cui, Y., Liu, L., Dou, X., *et al.* (2017). Lactobacillus reuteri ZJ617 maintains intestinal integrity via regulating tight junction, autophagy and apoptosis in mice challenged with lipopolysaccharide, *Oncotarget*, 8, pp.77489-77499.

Dai, Y. J., Wang, H. Y., Wang, X. J., *et al.* (2017). Potential Beneficial Effects of Probiotics on Human Migraine Headache: A Literature Review, *Pain Physician*, 20, pp.E251-e255.

Davani-Davari, D., Negahdaripour, M., Karimzadeh, I., *et al.* (2019). Prebiotics: Definition, Types, Sources, Mechanisms, and Clinical Applications, *Foods*, 8.

De Luis, D. A., De La Fuente, B., Izaola, O., *et al.* (2011). Double blind randomized clinical trial controlled by placebo with an alpha linoleic acid and prebiotic enriched cookie on risk cardiovascular factor in obese patients, *Nutr Hosp*, 26, pp.827-833.

De Melo Pereira, G. V., De Oliveira Coelho, B., Magalhaes Junior, A. I., *et al.* (2018). How to select a probiotic? A review and update of methods and criteria, *Biotechnol Adv*, 36, pp.2060-2076.

De Roos, N. M., Giezenaar, C. G., Rovers, J. M., *et al.* (2015). The effects of the multispecies probiotic mixture Ecologic®Barrier on migraine: results of an open-label pilot study, *Benef Microbes*, 6, pp.641-646.

Derwa, Y. and Gracie, D. J. (2017). Systematic review with meta-analysis: the efficacy of probiotics in inflammatory bowel disease, 46, pp.389-400.

Dewulf, E. M., Cani, P. D., Claus, S. P., *et al.* (2013). Insight into the prebiotic concept: lessons from an exploratory, double blind intervention study with inulin-type fructans in obese women, *Gut*, 62, pp.1112-1121.

Dilli, D., Aydin, B., Fettah, N. D., *et al.* (2015). The pro-pre-save study: effects of probiotics and prebiotics alone or combined on necrotizing enterocolitis in very low birth weight infants, *J Pediatr*, 166, pp.545-551.e541.

Dimitrova, A. K., Ungaro, R. C., Lebwohl, B., *et al.* (2013). Prevalence of migraine in patients with celiac disease and inflammatory bowel disease, *Headache*, 53, pp.344-355.

Ejtahed, H. S., Mohtadi-Nia, J., Homayouni-Rad, A., *et al.* (2012). Probiotic yogurt improves antioxidant status in type 2 diabetic patients, *Nutrition*, 28, pp.539-543.

Ekhlesi, G., Zarrati, M., Agah, S., *et al.* (2017). Effects of symbiotic and vitamin E supplementation on blood pressure, nitric oxide and inflammatory factors in non-alcoholic fatty liver disease, *Excli j*, 16, pp.278-290.

Eslami, M., Yousefi, B., Kokhaei, P., *et al.* (2019). Are probiotics useful for therapy of Helicobacter pylori diseases?, *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*, 64, pp.99-108.

FAO/WHO. (2002). Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food, *Joint FAO/WHO Working Group Report on Drafting*, pp.1-11.

Feng, J. R., Wang, F., Qiu, X., *et al.* (2017). Efficacy and safety of probiotic-supplemented triple therapy for eradication of Helicobacter pylori in children: a systematic review and network meta-analysis, 73, pp.1199-1208.

Fontana, L., Bermudez-Brito, M., Plaza-Diaz, J., *et al.* (2013). Sources, isolation, characterisation and evaluation of probiotics, *Br J Nutr*, 109 Suppl 2, pp.S35-50.

Ford, A. C., Harris, L. A. and Lacy, B. E. (2018). Systematic review with meta-analysis: the efficacy of prebiotics, probiotics, synbiotics and antibiotics in irritable bowel syndrome, 48, pp.1044-1060.

Forsythe, P. (2014). Probiotics and lung immune responses, *Ann Am Thorac Soc*, 11 Suppl 1, pp.S33-37.

Francavilla, R., Piccolo, M., Francavilla, A., *et al.* (2019). Clinical and Microbiological Effect of a Multispecies Probiotic Supplementation in Celiac Patients With Persistent IBS-type Symptoms: A Randomized, Double-Blind, Placebo-controlled, Multicenter Trial, *J Clin Gastroenterol*, 53, pp.e117-e125.

Gasbarrini, G., Bonvicini, F. and Gramenzi, A. (2016). Probiotics History, *Journal of Clinical Gastroenterology*, 50, pp.S116-S119.

Gelfand, A. A., Thomas, K. C. and Goadsby, P. J. (2012). Before the headache: infant colic as an early life expression of migraine, *Neurology*, 79, pp.1392-1396.

George Kerry, R., Patra, J. K., Gouda, S., *et al.* (2018). Benefaction of probiotics for human health: A review, *J Food Drug Anal*, 26, pp.927-939.

Ghasemian, A., Eslami, M., Shafiei, M., *et al.* (2018). Probiotics and their increasing importance in human health and infection control, *Reviews in Medical Microbiology*, 29, pp.153-158.

Giovannini, M., Verduci, E., Gregori, D., *et al.* (2014). Prebiotic effect of an infant formula supplemented with galacto-oligosaccharides: randomized multicenter trial, *J Am Coll Nutr*, 33, pp.385-393.

Goderska, K., Agudo Pena, S. and Alarcon, T. (2018). Helicobacter pylori treatment: antibiotics or probiotics, *Appl Microbiol Biotechnol*, 102, pp.1-7.

Gohil, K., Samson, R., Dastager, S., *et al.* (2021). Probiotics in the prophylaxis of COVID-19: something is better than nothing, 11, pp.1.

Gu, J. and Roberts, K. (2019). Chapter 6 - Probiotics and Prebiotics. *In: Corrigan, M. L., Roberts, K. and Steiger, E. (Ed.). Adult Short Bowel Syndrome*. Academic Press, pp. 67-80.

Guglielmetti, S., Mora, D., Gschwender, M., *et al.* (2011). Randomised clinical trial: Bifidobacterium bifidum MIMBb75 significantly alleviates irritable bowel syndrome and improves quality of life--a double-blind, placebo-controlled study, *Aliment Pharmacol Ther*, 33, pp.1123-1132.

Han, S. K. and Kim, D. H. (2019). Lactobacillus mucosae and Bifidobacterium longum Synergistically Alleviate Immobilization Stress-Induced Anxiety/Depression in Mice by Suppressing Gut Dysbiosis, *J Microbiol Biotechnol*, 29, pp.1369-1374.

Hasle, G., Raastad, R., Bjune, G., *et al.* (2017). Can a galacto-oligosaccharide reduce the risk of traveller's diarrhoea? A placebo-controlled, randomized, double-blind study, *J Travel Med*, 24.

Hegarty, J. W., Guinane, C. M., Ross, R. P., *et al.* (2016). Bacteriocin production: a relatively unharnessed probiotic trait?, 5, pp.2587.

Homan, M. and Orel, R. (2015). Are probiotics useful in *Helicobacter pylori* eradication?, *World J Gastroenterol*, 21, pp.10644-10653.

Hsieh, C. Y., Osaka, T., Moriyama, E., *et al.* (2015). Strengthening of the intestinal epithelial tight junction by *Bifidobacterium bifidum*, *Physiol Rep*, 3.

Huang, P., Gou, W. L., Wang, X. T., *et al.* (2016). Lactulose oral solution for the treatment of postpartum constipation, *J Biol Regul Homeost Agents*, 30, pp.523-528.

Iida, N., Dzutsev, A., Stewart, C. A., *et al.* (2013). Commensal bacteria control cancer response to therapy by modulating the tumor microenvironment, *Science*, 342, pp.967-970.

Islam, S. U. (2016). Clinical Uses of Probiotics, *Medicine (Baltimore)*, 95, pp.e2658.

İşlek, A., Sayar, E., Yılmaz, A., *et al.* (2014). The role of *Bifidobacterium lactis* B94 plus inulin in the treatment of acute infectious diarrhea in children, *Turk J Gastroenterol*, 25, pp.628-633.

Jain, M., Gupta, K. and Jain, P. (2015). Significance of Probiotics and Prebiotics in Health and Nutrition, *Malaya Journal of Bio Sciences*, 2014, pp.181-195.

Jakubczyk, D. and Leszczyńska, K. (2020). The Effectiveness of Probiotics in the Treatment of Inflammatory Bowel Disease (IBD)-A Critical Review, 12.

Jalanka, J., Major, G., Murray, K., *et al.* (2019). The Effect of Psyllium Husk on Intestinal Microbiota in Constipated Patients and Healthy Controls, *International journal of molecular sciences*, 20, pp.433.

Jang, H. M., Lee, K. E. and Kim, D. H. (2019). The Preventive and Curative Effects of *Lactobacillus reuteri* NK33 and *Bifidobacterium adolescentis* NK98 on Immobilization Stress-Induced Anxiety/Depression and Colitis in Mice, 11.

Jones, M. L., Martoni, C. J., Parent, M., *et al.* (2012). Cholesterol-lowering efficacy of a microencapsulated bile salt hydrolase-active *Lactobacillus reuteri* NCIMB 30242 yoghurt formulation in hypercholesterolaemic adults, *Br J Nutr*, 107, pp.1505-1513.

Jung, G. W., Tse, J. E., Guiha, I., *et al.* (2013). Prospective, randomized, open-label trial comparing the safety, efficacy, and tolerability of an acne treatment regimen with and without a probiotic supplement and minocycline in subjects with mild to moderate acne, *J Cutan Med Surg*, 17, pp.114-122.

Kane, L. and Kinzel, J. (2018). The effects of probiotics on mood and emotion, *JAAPA*, 31, pp.1-3.

Kang, J. H., Yun, S. I. and Park, H. O. (2010). Effects of *Lactobacillus gasseri* BNR17 on body weight and adipose tissue mass in diet-induced overweight rats, *J Microbiol*, 48, pp.712-714.

Kang, J. H., Yun, S. I., Park, M. H., *et al.* (2013). Anti-obesity effect of *Lactobacillus gasseri* BNR17 in high-sucrose diet-induced obese mice, *PLoS One*, 8, pp.e54617.

Karamali, M., Dadkhah, F., Sadrkhanlou, M., *et al.* (2016). Effects of probiotic supplementation on glycaemic control and lipid profiles in gestational diabetes: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial, *Diabetes Metab*, 42, pp.234-241.

Karimi, G., Sabran, M. R., Jamaluddin, R., *et al.* (2015). The anti-obesity effects of *Lactobacillus casei* strain Shirota versus Orlistat on high fat diet-induced obese rats, *Food Nutr Res*, 59, pp.29273.

Kawahara, T., Takahashi, T., Oishi, K., *et al.* (2015). Consecutive oral administration of *Bifidobacterium longum* MM-2 improves the defense system against influenza virus infection by enhancing natural killer cell activity in a murine model, *Microbiol Immunol*, 59, pp.1-12.

Kellow, N. J., Coughlan, M. T. and Reid, C. M. (2014). Metabolic benefits of dietary prebiotics in human subjects: a systematic review of randomised controlled trials, *Br J Nutr*, 111, pp.1147-1161.

Kim, N., Yun, M., Oh, Y. J., *et al.* (2018). Mind-altering with the gut: Modulation of the gut-brain axis with probiotics, *J Microbiol*, 56, pp.172-182.

Klaenhammer, T. R., Kleerebezem, M., Kopp, M. V., *et al.* (2012). The impact of probiotics and prebiotics on the immune system, *Nat Rev Immunol*, 12, pp.728-734.

Kruis, W., Chrubasik, S., Boehm, S., *et al.* (2012). A double-blind placebo-controlled trial to study therapeutic effects of probiotic *Escherichia coli* Nissle 1917 in subgroups of patients with irritable bowel syndrome, *Int J Colorectal Dis*, 27, pp.467-474.

Kumar, M., Dhaka, P., Vijay, D., *et al.* (2016). Antimicrobial effects of *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus acidophilus* against multidrug-resistant enteroaggregative *Escherichia coli*, *Int J Antimicrob Agents*, 48, pp.265-270.

Laitinen, K., Poussa, T. and Isolauri, E. (2009). Probiotics and dietary counselling contribute to glucose regulation during and after pregnancy: a randomised controlled trial, *Br J Nutr*, 101, pp.1679-1687.

Lehtoranta, L., Pitkäranta, A. and Korpela, R. (2014). Probiotics in respiratory virus infections, *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 33, pp.1289-1302.

Liang, S., Wang, T., Hu, X., *et al.* (2015). Administration of *Lactobacillus helveticus* NS8 improves behavioral, cognitive, and biochemical aberrations caused by chronic restraint stress, *Neuroscience*, 310, pp.561-577.

Lindsay, J. O., Whelan, K., Stagg, A. J., *et al.* (2006). Clinical, microbiological, and immunological effects of fructo-oligosaccharide in patients with Crohn's disease, *Gut*, 55, pp.348-355.

Liu, M. M., Li, S. T., Shu, Y., *et al.* (2017). Probiotics for prevention of radiation-induced diarrhea: A meta-analysis of randomized controlled trials, 12, pp.e0178870.

Lopes, E. G., Moreira, D. A., Gullón, P., *et al.* (2017). Topical application of probiotics in skin: adhesion, antimicrobial and antibiofilm in vitro assays, *J Appl Microbiol*, 122, pp.450-461.

Lü, M., Yu, S., Deng, J., *et al.* (2016). Efficacy of Probiotic Supplementation Therapy for *Helicobacter pylori* Eradication: A Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials, *PLoS One*, 11, pp.e0163743.

Luoto, R., Ruuskanen, O., Waris, M., *et al.* (2014). Prebiotic and probiotic supplementation prevents rhinovirus infections in preterm infants: a randomized, placebo-controlled trial, *J Allergy Clin Immunol*, 133, pp.405-413.

Mak, J. W. Y., Chan, F. K. L. and Ng, S. C. (2020). Probiotics and COVID-19: one size does not fit all, *Lancet Gastroenterol Hepatol*, 5, pp.644-645.

Mardini, H. E. and Grigorian, A. Y. (2014). Probiotic mix VSL#3 is effective adjunctive therapy for mild to moderately active ulcerative colitis: a meta-analysis, *Inflamm Bowel Dis*, 20, pp.1562-1567.

Markowiak, P. and Ślizewska, K. (2017). Effects of Probiotics, Prebiotics, and Synbiotics on Human Health, *Nutrients*, 9.

Marteau, P., Jacobs, H., Cazaubiel, M., *et al.* (2011). Effects of chicory inulin in constipated elderly people: a double-blind controlled trial, *Int J Food Sci Nutr*, 62, pp.164-170.

Mcfarland, L. V., Huang, Y., Wang, L., *et al.* (2016). Systematic review and meta-analysis: Multi-strain probiotics as adjunct therapy for *Helicobacter pylori* eradication and prevention of adverse events, *United European Gastroenterol J*, 4, pp.546-561.

Milajerdi, A., Mousavi, S. M., Sadeghi, A., *et al.* (2020). The effect of probiotics on inflammatory biomarkers: a meta-analysis of randomized clinical trials, *Eur J Nutr*, 59, pp.633-649.

Mizock, B. A. (2015). Probiotics, *Dis Mon*, 61, pp.259-290.

Mohanty, D., Misra, S., Mohapatra, S., *et al.* (2018). Prebiotics and synbiotics: Recent concepts in nutrition, *Food Bioscience*, 26, pp.152-160.

Molska, M. and Regula, J. (2019). Potential Mechanisms of Probiotics Action in the Prevention and Treatment of Colorectal Cancer, *Nutrients*, 11.

Narayan, S. S., Jalgaonkar, S., Shahani, S., *et al.* (2010). Probiotics: current trends in the treatment of diarrhoea, *Hong Kong Med J*, 16, pp.213-218.

Neri, L. C. L., Taminato, M. and Silva Filho, L. (2019). Systematic Review of Probiotics for Cystic Fibrosis Patients: Moving Forward, *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 68, pp.394-399.

Nixon, A. F., Cunningham, S. J., Cohen, H. W., *et al.* (2012). The effect of Lactobacillus GG on acute diarrheal illness in the pediatric emergency department, *Pediatr Emerg Care*, 28, pp.1048-1051.

O'bryan, C., Pak, D., Crandall, P., *et al.* (2013). The Role of Prebiotics and Probiotics in Human Health, *Journal of Probiotics & Health*, 1.

Oelschlaeger, T. A. (2010). Mechanisms of probiotic actions - A review, *Int J Med Microbiol*, 300, pp.57-62.

Olaimat, A. N., Aolymat, I., Al-Holy, M., *et al.* (2020). The potential application of probiotics and prebiotics for the prevention and treatment of COVID-19, *npj Science of Food*, 4, pp.17.

Paineau, D., Payen, F., Panserieu, S., *et al.* (2008). The effects of regular consumption of short-chain fructo-oligosaccharides on digestive comfort of subjects with minor functional bowel disorders, *Br J Nutr*, 99, pp.311-318.

Palumbo, V. D., Romeo, M., Gammazza, A. M., *et al.* (2016). The long-term effects of probiotics in the therapy of ulcerative colitis: A clinical study, *Biomedical papers*, 160, pp.372-377.

Pammi, M. and Abrams, S. A. (2015). Oral lactoferrin for the prevention of sepsis and necrotizing enterocolitis in preterm infants, *Cochrane Database Syst Rev*, pp.Cd007137.

Pandey, K. R., Naik, S. R. and Vakil, B. V. (2015). Probiotics, prebiotics and synbiotics - a review, *J Food Sci Technol*, 52, pp.7577-7587.

Pärty, A., Luoto, R., Kalliomäki, M., *et al.* (2013). Effects of early prebiotic and probiotic supplementation on development of gut microbiota and fussing and crying in preterm infants: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial, *J Pediatr*, 163, pp.1272-1277.e1271-1272.

Passariello, A., Terrin, G., De Marco, G., *et al.* (2011). Efficacy of a new hypotonic oral rehydration solution containing zinc and prebiotics in the treatment of childhood acute diarrhea: a randomized controlled trial, *J Pediatr*, 158, pp.288-292.e281.

Patel, R. M. and Denning, P. W. (2013). Therapeutic use of prebiotics, probiotics, and postbiotics to prevent necrotizing enterocolitis: what is the current evidence?, *Clin Perinatol*, 40, pp.11-25.

Pinos, Y., Castro-Gutiérrez, V. and Rada, G. (2016). Are probiotics effective to prevent traveler's diarrhea?, *Medwave*, 16, pp.e6807.

Pithva, S. P., Ambalam, P. S., Ramoliya, J. M., *et al.* (2015). Antigenotoxic and Antimutagenic Activities of Probiotic *Lactobacillus rhamnosus* Vc against N-Methyl-N'-Nitro-N-Nitrosoguanidine, *Nutr Cancer*, 67, pp.1142-1150.

Plaza-Diaz, J., Ruiz-Ojeda, F. J., Gil-Campos, M., *et al.* (2019). Mechanisms of Action of Probiotics, *Adv Nutr*, 10, pp.S49-S66.

Quigley, E. M. M. (2019). Prebiotics and Probiotics in Digestive Health, *Clin Gastroenterol Hepatol*, 17, pp.333-344.

Rabiei, S., Hedayati, M., Rashidkhani, B., *et al.* (2019). The Effects of Synbiotic Supplementation on Body Mass Index, Metabolic and Inflammatory Biomarkers, and Appetite in Patients with Metabolic Syndrome: A Triple-Blind Randomized Controlled Trial, *J Diet Suppl*, 16, pp.294-306.

Rackaityte, E. and Lynch, S. V. (2020). The human microbiome in the 21(st) century, *Nat Commun*, 11, pp.5256.

Reid, G. (2019). Disentangling What We Know About Microbes and Mental Health, *Front Endocrinol (Lausanne)*, 10, pp.81.

Rerksuppaphol, S. and Rerksuppaphol, L. (2015). A Randomized Double-blind Controlled Trial of *Lactobacillus acidophilus* Plus *Bifidobacterium bifidum* versus Placebo in Patients with Hypercholesterolemia, *J Clin Diagn Res*, 9, pp.Kc01-04.

Riddle, M. S., Connor, B. A., Beeching, N. J., *et al.* (2017). Guidelines for the prevention and treatment of travelers' diarrhea: a graded expert panel report, *J Travel Med*, 24, pp.S57-s74.

Rigo-Adrover, M., Saldaña-Ruíz, S., Van Limpt, K., *et al.* (2017). A combination of scGOS/lcFOS with *Bifidobacterium breve* M-16V protects suckling rats from rotavirus gastroenteritis, *Eur J Nutr*, 56, pp.1657-1670.

Ríos-Covián, D., Ruas-Madiedo, P., Margolles, A., *et al.* (2016). Intestinal Short Chain Fatty Acids and their Link with Diet and Human Health, *Front Microbiol*, 7, pp.185.

Roberfroid, M., Gibson, G. R., Hoyles, L., *et al.* (2010). Prebiotic effects: metabolic and health benefits, *Br J Nutr*, 104 Suppl 2, pp.S1-63.

Rowland, I., Gibson, G., Heinken, A., *et al.* (2018). Gut microbiota functions: metabolism of nutrients and other food components, *Eur J Nutr*, 57, pp.1-24.

Sanchez, B., Delgado, S., Blanco-Miguez, A., *et al.* (2017). Probiotics, gut microbiota, and their influence on host health and disease, *Mol Nutr Food Res*, 61.

Sanders, M. E., Benson, A., Lebeer, S., *et al.* (2018a). Shared mechanisms among probiotic taxa: implications for general probiotic claims, *Curr Opin Biotechnol*, 49, pp.207-216.

Sanders, M. E., Merenstein, D., Merrifield, C. A., *et al.* (2018b). Probiotics for human use, *Nutrition Bulletin*, 43, pp.212-225.

Sanders, M. E., Merenstein, D. J., Reid, G., *et al.* (2019). Probiotics and prebiotics in intestinal health and disease: from biology to the clinic, *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 16, pp.605-616.

Sansotta, N., Peroni, D. G., Romano, S., *et al.* (2019). The good bugs: the use of probiotics in pediatrics, *Curr Opin Pediatr*, 31, pp.661-669.

Saulnier, D. M., Riehle, K., Mistretta, T. A., *et al.* (2011). Gastrointestinal microbiome signatures of pediatric patients with irritable bowel syndrome, *Gastroenterology*, 141, pp.1782-1791.

Schlichte, M. J., Vandersall, A. and Katta, R. (2016). Diet and eczema: a review of dietary supplements for the treatment of atopic dermatitis, *Dermatol Pract Concept*, 6, pp.23-29.

Schmidt, K., Cowen, P. J., Harmer, C. J., *et al.* (2015). Prebiotic intake reduces the waking cortisol response and alters emotional bias in healthy volunteers, *Psychopharmacology (Berl)*, 232, pp.1793-1801.

Serra, M. C., Nocera, J. R., Kelleher, J. L., *et al.* (2019). Prebiotic Intake in Older Adults: Effects on Brain Function and Behavior, *Curr Nutr Rep*, 8, pp.66-73.

Shahbazi, R., Yasavoli-Sharahi, H., Alsadi, N., *et al.* (2020). Probiotics in Treatment of Viral Respiratory Infections and Neuroinflammatory Disorders, *Molecules*, 25.

Shokryazdan, P., Faseleh Jahromi, M., Liang, J. B., *et al.* (2017). Probiotics: From Isolation to Application, *J Am Coll Nutr*, 36, pp.666-676.

Silk, D. B., Davis, A., Vulevic, J., *et al.* (2009). Clinical trial: the effects of a transgalactooligosaccharide prebiotic on faecal microbiota and symptoms in irritable bowel syndrome, *Aliment Pharmacol Ther*, 29, pp.508-518.

Silverman, M. A., Konnikova, L. and Gerber, J. S. (2017). Impact of Antibiotics on Necrotizing Enterocolitis and Antibiotic-Associated Diarrhea, *Gastroenterol Clin North Am*, 46, pp.61-76.

Sun, J., Marwah, G., Westgarth, M., *et al.* (2017). Effects of Probiotics on Necrotizing Enterocolitis, Sepsis, Intraventricular Hemorrhage, Mortality, Length of Hospital Stay, and Weight Gain in Very Preterm Infants: A Meta-Analysis, *Adv Nutr*, 8, pp.749-763.

Sung, V., D'amico, F., Cabana, M. D., *et al.* (2018). Lactobacillus reuteri to Treat Infant Colic: A Meta-analysis, *Pediatrics*, 141.

Szajewska, H. and Kołodziej, M. (2015a). Systematic review with meta-analysis: Lactobacillus rhamnosus GG in the prevention of antibiotic-associated diarrhoea in children and adults, *Aliment Pharmacol Ther*, 42, pp.1149-1157.

Szajewska, H. and Kołodziej, M. (2015b). Systematic review with meta-analysis: *Saccharomyces boulardii* in the prevention of antibiotic-associated diarrhoea, *Aliment Pharmacol Ther*, 42, pp.793-801.

Taherian, M., Mahin Samadi, P., Rastegar, H., *et al.* (2019). An Overview on Probiotics as an Alternative Strategy for Prevention and Treatment of Human Diseases, *Iran J Pharm Res*, 18, pp.31-50.

Tankou, S. K., Regev, K., Healy, B. C., *et al.* (2018). Investigation of probiotics in multiple sclerosis, *Mult Scler*, 24, pp.58-63.

Thushara, R. M., Gangadaran, S., Solati, Z., *et al.* (2016). Cardiovascular benefits of probiotics: a review of experimental and clinical studies, *Food Funct*, 7, pp.632-642.

Tsai, Y. L., Lin, T. L., Chang, C. J., *et al.* (2019). Probiotics, prebiotics and amelioration of diseases, *J Biomed Sci*, 26, pp.3.

Umbrello, G. and Esposito, S. (2016). Microbiota and neurologic diseases: potential effects of probiotics, *Journal of translational medicine*, 14, pp.298-298.

Urbańska, M. and Szajewska, H. (2014). The efficacy of *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 in infants and children: a review of the current evidence, *Eur J Pediatr*, 173, pp.1327-1337.

Valcheva, R. and Dieleman, L. A. (2016). Prebiotics: Definition and protective mechanisms, *Best Pract Res Clin Gastroenterol*, 30, pp.27-37.

Vallianou, N., Stratigou, T., Christodoulatos, G. S., *et al.* (2020). Probiotics, Prebiotics, Synbiotics, Postbiotics, and Obesity: Current Evidence, Controversies, and Perspectives, *Curr Obes Rep*, 9, pp.179-192.

Vamanu, E. and Vamanu, A. (2010). The influence of prebiotics on bacteriocin synthesis using the strain *Lactobacillus paracasei* CMGB16, *African journal of microbiology research*, 4, pp.534-537.

Van Baarlen, P., Wells, J. M. and Kleerebezem, M. (2013). Regulation of intestinal homeostasis and immunity with probiotic lactobacilli, *Trends Immunol*, 34, pp.208-215.

Vandenplas, Y., Huys, G. and Daube, G. (2015). Probiotics: an update, *Jornal de Pediatria (Versão em Português)*, 91, pp.6-21.

Vandenplas, Y., Ludwig, T., Bouritius, H., *et al.* (2017). Randomised controlled trial demonstrates that fermented infant formula with short-chain galacto-oligosaccharides and long-chain fructo-oligosaccharides reduces the incidence of infantile colic, *Acta Paediatr*, 106, pp.1150-1158.

Villena, J. and Kitazawa, H. (2017). Probiotic Microorganisms: A Closer Look, *Microorganisms*, 5.

Waki, N., Matsumoto, M., Fukui, Y., *et al.* (2014). Effects of probiotic *Lactobacillus brevis* KB290 on incidence of influenza infection among schoolchildren: an open-label pilot study, *Lett Appl Microbiol*, 59, pp.565-571.

Walia, S., Kamal, R., Dhawan, D. K., *et al.* (2018). Chemoprevention by Probiotics During 1,2-Dimethylhydrazine-Induced Colon Carcinogenesis in Rats, *Dig Dis Sci*, 63, pp.900-909.

Wang, F., Feng, J., Chen, P., *et al.* (2017). Probiotics in *Helicobacter pylori* eradication therapy: Systematic review and network meta-analysis, *Clin Res Hepatol Gastroenterol*, 41, pp.466-475.

Wang, Y., Kao, M. S., Yu, J., *et al.* (2016). A Precision Microbiome Approach Using Sucrose for Selective Augmentation of *Staphylococcus epidermidis* Fermentation against *Propionibacterium acnes*, *International journal of molecular sciences*, 17.

Weill, F. S., Cela, E. M., Paz, M. L., *et al.* (2013). Lipoteichoic acid from *Lactobacillus rhamnosus* GG as an oral photoprotective agent against UV-induced carcinogenesis, *Br J Nutr*, 109, pp.457-466.

Wilson, B., Rossi, M., Dimidi, E., *et al.* (2019). Prebiotics in irritable bowel syndrome and other functional bowel disorders in adults: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials, *Am J Clin Nutr*, 109, pp.1098-1111.

Wilson, B. and Whelan, K. (2017). Prebiotic inulin-type fructans and galacto-oligosaccharides: definition, specificity, function, and application in gastrointestinal disorders, *J Gastroenterol Hepatol*, 32 Suppl 1, pp.64-68.

Wu, K. G., Li, T. H. and Peng, H. J. (2012). Lactobacillus salivarius plus fructo-oligosaccharide is superior to fructo-oligosaccharide alone for treating children with moderate to severe atopic dermatitis: a double-blind, randomized, clinical trial of efficacy and safety, *Br J Dermatol*, 166, pp.129-136.

Xu, M., Wang, J., Wang, N., *et al.* (2015). The Efficacy and Safety of the Probiotic Bacterium Lactobacillus reuteri DSM 17938 for Infantile Colic: A Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials, *PLoS One*, 10, pp.e0141445.

Yadav, H., Lee, J. H., Lloyd, J., *et al.* (2013). Beneficial metabolic effects of a probiotic via butyrate-induced GLP-1 hormone secretion, *J Biol Chem*, 288, pp.25088-25097.

Yeh, T.-L., Shih, P.-C., Liu, S.-J., *et al.* (2018). The influence of prebiotic or probiotic supplementation on antibody titers after influenza vaccination: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials, *Drug design, development and therapy*, 12, pp.217-230.

Yeşilova, Y., Çalka, Ö., Akdeniz, N., *et al.* (2012). Effect of probiotics on the treatment of children with atopic dermatitis, *Ann Dermatol*, 24, pp.189-193.

Yu, Y., Dunaway, S., Champer, J., *et al.* (2020). Changing our microbiome: probiotics in dermatology, *Br J Dermatol*, 182, pp.39-46.

Zhang, B., An, J., Shimada, T., *et al.* (2012). Oral administration of Enterococcus faecalis FK-23 suppresses Th17 cell development and attenuates allergic airway responses in mice, *Int J Mol Med*, 30, pp.248-254.

Zhernakova, A., Kurilshikov, A., Bonder, M. J., *et al.* (2016). Population-based metagenomics analysis reveals markers for gut microbiome composition and diversity, *Science*, 352, pp.565-569.

