

Universidade de Lisboa
Faculdade de Farmácia



Microbiota e Doença Inflamatória Intestinal

Catarina Silva Malaquias

Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

2019

Universidade de Lisboa
Faculdade de Farmácia



Microbiota e Doença Inflamatória Intestinal

Catarina Silva Malaquias

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

Orientador: Professora Doutora Auxiliar Maria Cristina Marques

2019

Resumo

A Doença inflamatória intestinal (DII) consiste num distúrbio inflamatório do intestino, de etiologia incerta, prevalente na América do Norte e Europa e cuja incidência tem vindo a aumentar.

As principais formas de DII são a Doença de Crohn (DC) e Colite Ulcerosa (UC) e, estas patologias parecem estar relacionadas com fatores genéticos, imunológicos, infecciosos e ambientais. Nos últimos anos, tem sido atribuída uma crescente importância à microbiota intestinal nos processos de inflamação e desenvolvimento da DII, uma vez que diversos fatores como alterações no padrão alimentar, idade, fatores genéticos, exposição a antibioterapia e outros agentes patogénicos podem conduzir a um estado de disbiose.

A DII continua a ser tema de vários estudos, pois trata-se de uma patologia crónica e recidivante, caracterizada por períodos de exacerbação intercalados com outros de remissão, para a qual ainda não é conhecida a cura e, que por isso, conduz a uma diminuição da qualidade de vida do doente. A abordagem farmacológica da DII é, principalmente, centrada na resolução dos sintomas agudos e na indução da remissão da patologia, com recurso a aminossalicilatos (ASAs), corticosteróides, imunossuppressores, antibióticos e agentes biológicos. No entanto, a administração de antibióticos tem sido questionada pelo facto de provocar desequilíbrios na microbiota intestinal, com possível exacerbação dos processos inflamatórios. Deste modo, a modulação da microbiota intestinal parece ser promissora não só como medida profilática mas também como terapêutica na DII.

Esta monografia teve como principal objetivo a realização de uma revisão bibliográfica acerca da importância que a microbiota intestinal tem na patogénese das DII, nomeadamente na DC e UC, resumindo as interações entre microorganismos comensais e hospedeiro e os mecanismos pelos quais essa interação interfere na homeostasia da mucosa intestinal. São ainda abordados diversos fatores que contribuem para a disbiose intestinal e potenciais estratégias terapêuticas que visam esse desequilíbrio entre microorganismos na DII, como a administração de pré e probióticos ou transplante de microbiota fecal (FMT), quer enquanto agentes isolados ou como adjuvantes de fármacos imunossuppressores.

Palavras-chave: Doença Inflamatória Intestinal; Doença de Crohn; Colite Ulcerosa; Microbiota; Disbiose

Abstract

Inflammatory Bowel Disease (IBD) is an inflammatory bowel disorder of uncertain etiology prevalent in North America and Europe and the incidence of which is increasing.

The main forms of IBD are Crohn's Disease (DC) and Ulcerative Colitis (UC) and these conditions seem to be related to genetic, immunological, infectious and environmental factors. In recent years, increasing importance has been attached to the gut microbiota in the inflammatory processes and development of IBD, since various factors such as changes in dietary, age, genetic factors, exposure to antibiotics and other pathogens can lead to a state of dysbiosis.

IBD continues to be the subject of several studies, as it is a chronic and relapsing pathology characterized by periods of exacerbation interspersed with remission, for which cure is not yet known and, therefore, leads to a decreased quality of life of the patient. The pharmacological approach of IBD is mainly focused on the resolution of acute symptoms and induction of pathology remission, using aminosalicylates (ASAs), corticosteroids, immunosuppressants, antibiotics and biological agents. However, the administration of antibiotics has been questioned because it causes imbalances in the gut microbiota, with possible exacerbation of inflammatory processes. Thus, modulation of the gut microbiota appears to be a promising approach not only as a prophylactic measure but also as a therapy in IBD.

This monograph had, as main objective, the accomplishment of a bibliographical review about the importance that the intestinal microbiota has in the IBD pathogenesis, namely in CD and UC, summarizing the interactions between commensal and host microorganisms and the mechanisms by which this interaction interferes in the homeostasis of the intestinal mucosa. A number of factors that contribute to intestinal dysbiosis and potential therapeutic strategies aimed at this imbalance between microorganisms in DII, such as administration of probiotics or fecal microbiota transplantation (FMT), either as isolated agents or as immunosuppressive drug adjuvants are also discussed.

Key-words: Inflammatory Bowel Disease; Crohn's Disease; Ulcerative Colitis; Gut Microbiota; Dysbiosis

Agradecimentos

À Professora Doutora Maria Cristina Marques, quero agradecer a orientação e partilha dos seus conhecimentos e disponibilidade durante a realização desta monografia.

À Faculdade de Farmácia da Universidade de Lisboa e a todos os professores com os quais contatei durante este percurso académico, agradeço todos os saberes transmitidos.

Aos meus colegas e amigos da Faculdade de Farmácia da Universidade de Lisboa, quero agradecer toda a colaboração e companheirismo durante os trabalhos e estudo, assim como a amizade, ao longo destes cinco anos.

E, por fim, à minha família, principalmente aos meus pais, irmão, avó e ao meu namorado, um grande e especial agradecimento, pelo apoio incondicional e toda a compreensão que tiveram comigo durante este percurso e por toda a força e incentivo que me transmitiram ao longo do mesmo. A eles dedico este trabalho!

Índice

| | |
|--|----|
| 1. Introdução..... | 10 |
| 2. Objetivos..... | 10 |
| 3. Materiais e métodos | 11 |
| 4. Anatomia e Fisiologia do Intestino..... | 11 |
| 5. Ecossistema Intestinal (Microbiota)..... | 12 |
| 6. Composição da Microbiota Intestinal..... | 14 |
| 6.1. Colonização Microbiana do Intestino Infantil | 15 |
| 6.2. Colonização Microbiana do Adulto | 16 |
| 7. Funções da Microbiota | 18 |
| 8. Disbiose..... | 21 |
| 9. Doenças Inflamatórias Intestinais..... | 23 |
| 9.1. Doença de Crohn..... | 24 |
| 9.2. Colite Ulcerosa | 25 |
| 9.3. Complicações extraintestinais das DII..... | 27 |
| 10. Microbiota e Doenças Inflamatórias Intestinais | 27 |
| 11. Terapêutica Farmacológica da DII | 30 |
| 11.1. Terapêutica Farmacológica | 30 |
| 11.1.1. Aminossalicilatos | 31 |
| 11.1.2. Corticosteróides..... | 31 |
| 11.1.3. Imunossupressores | 32 |
| 11.1.4. Terapêutica Biológica | 32 |
| 11.1.5. Antibióticos | 33 |
| 11.2. Terapêutica Não Farmacológica | 33 |
| 12. Terapia dirigida à microbiota na Doença Inflamatória Intestinal..... | 34 |
| 12.1. Alimentação e Microbiota | 34 |
| 12.2. Probióticos e Prebióticos | 36 |
| 12.3. Transplante de Microbiota Fecal (FMT)..... | 38 |
| 13. Discussão | 39 |
| 14. Referências Bibliográficas | 40 |

Índice de Figuras

| | |
|--|----|
| Figura 1 - Evolução de alguns representantes da microbiota intestinal, em função da idade..... | 17 |
|--|----|

Índice de Tabelas

| | |
|--|----|
| Tabela 1 - Conceitos relacionados com a Microbiota..... | 13 |
| Tabela 2 - Constituintes comuns da Microbiota Intestinal Humana e algumas das suas funções | 20 |

Lista de Abreviaturas

- 6-MP** - 6-Mercaptopurina
- AMP** - Proteínas Antimicrobianas
- ASAs** - Aminossalicilatos
- AZA** - Azatiopirina
- CCR** - Cancro Colo-retal
- CDAI** - Índice de Atividade da Doença de Crohn
- DC** - Doença de Crohn
- DII** - Doenças inflamatórias intestinais
- ELAM-1** - Molécula-1 de Aderência aos Leucócitos Endoteliais
- FDA** - The Food and Drug Administration
- FMT** - Transplante de Microbiota Fecal
- GALT** - Tecido Linfático Associado ao Intestino
- GOS** - Galacto-oligossacarídeos
- HBI** - Índice de Harvey-Bradshaw
- HMP** - Projeto Microbioma Humano
- ICAM-1** - Molécula-1 de Aderência Intercelular
- ICOS** - Proteína Imunológica Indutível Co-estimuladora
- IFN** - Interferão
- IgA** - Imunoglobulina A
- IL** - Interleucinas
- MTX** - Metotrexato
- PCR** - Reacção de Polimerização em Cadeia
- rRNA** - RNA ribossómico
- SCFA** - Ácidos gordos de cadeia curta
- Th1, Th2, Th17** - linfócitos T auxiliares
- TNF** - Fator de Necrose Tumoral
- T_{reg}** - Células T Reguladoras
- UC** - Colite Ulcerosa
- UFC** - Unidade Formadora de Colónias
- VHS** - Velocidade de Hemossedimentação
- XOS** - Xilo-oligossacarídeos

1. Introdução

O tubo digestivo é dotado de diversas estruturas e funções, entre as quais, o reconhecimento das substâncias que passam ao longo do mesmo, das quais obtém nutrição e defesa (1,2). Essas duas funções parecem não só resultar das próprias estruturas do tubo digestivo mas também da comunidade microbiana que coloniza o intestino, denominada por “microbiota” (3,4). Assim, o tubo digestivo humano aloja uma grande e diversificada família de microorganismos, particularmente bactérias, mas também fungos, vírus e outros protozoários, que habitam a superfície mucosa, sendo no total, pelo menos 100 trilhões de células microbianas (3,5).

A DII classifica um grupo de doenças crônicas, recidivantes, nomeadamente a DC e UC, que comprometem o tubo digestivo, mas cuja inflamação varia na extensão e distribuição com que afetam o mesmo (6). De facto, tem-se verificado um notável interesse pela microbiota intestinal e pelas interações entre microorganismos e hospedeiro, o que se deve em parte ao crescente reconhecimento do importante papel de bactérias intestinais na origem da DII, mas também devido a evidências do potencial benefício da manipulação da microbiota neste tipo de patologias (4,7,8).

A DII continua a ser tema de vários estudos, pois trata-se de uma patologia crónica e recidivante, caracterizada por períodos de exacerbação intercalados com outros de remissão, para o qual ainda não é conhecida a cura e, que por isso, conduz a uma diminuição da qualidade de vida do doente (4). No entanto, apesar de terem vindo a ser introduzidas novas técnicas de biologia molecular que têm permitido identificar bactérias não cultiváveis, continuam a ser necessárias pesquisas sobre este tema, pela enorme diversidade e complexidade da microbiota e a inter e intra-variabilidade individual, de forma a melhor compreender o papel que a microbiota tem no desenvolvimento da DII.

2. Objetivos

A incidência de DII tem vindo a aumentar e é provável que a alteração de diversos fatores ambientais afetem a microbiota intestinal humana, contribuindo para a patogénese da DII.

Esta monografia teve como principal objetivo a realização de uma revisão bibliográfica acerca da importância que a microbiota intestinal tem na patogénese das DII, nomeadamente na DC e UC, resumindo as interações entre microorganismos comensais e hospedeiro e os mecanismos pelos quais essa

interação interfere na homeostasia da mucosa intestinal. São ainda abordados diversos fatores que contribuem para a disbiose intestinal e potenciais estratégias terapêuticas que visam esse desequilíbrio entre microorganismos na DII, como a administração de probióticos ou transplante de microbiota fecal (FMT), quer como agentes isolados ou como adjuvantes de fármacos imunossupressores.

3. Materiais e métodos

Esta monografia teve como base a análise e interpretação de vários artigos científicos originais e de revisão, publicados entre 1987 e 2019, cujas fontes utilizadas foram as bases de dados bibliográficas PubMed, SciELO, ResearchGate e Google Acadêmico. Os principais conceitos pesquisados, isolados ou em diferentes combinações foram: Microbiota Intestinal, Doenças Inflamatórias Intestinais, Doença de Crohn, Colite Ulcerosa, Disbiose, Prebióticos, Probióticos, Transplante de Microbiota Fecal, Gut Microbiota, Inflammatory Bowel Disease, Crohn's disease, Ulcerative Colitis, Dysbiosis, Prebiotics, Probiotics, Fecal Microbiota Transplant e Gut Microbiome.

4. Anatomia e Fisiologia do Intestino

O intestino delgado, parte do tubo digestivo onde ocorre a maior parte da digestão, situa-se na cavidade abdominal e pélvica, entre o estômago e o intestino grosso, apresenta entre 6 a 8 metros de comprimento e, é constituído por três porções, o duodeno, jejuno e íleo (1,2). Dois importantes órgãos anexos, o fígado e o pâncreas, relacionam-se com o duodeno, para o qual secretam enzimas que participam na digestão, através de ductos (2,9).

O duodeno, inicia-se a seguir ao piloro e termina no jejuno, apresenta a grande papila duodenal e a pequena papila duodenal, sendo que na grande papila desembocam o canal colédoco e o canal pancreático, formando a ampola hepato-pancreática ou de Vater, cuja abertura no duodeno é regulada pelo esfíncter de Oddi (1). Na pequena papila duodenal, que pode estar ausente, encontra-se a abertura para o canal pancreático Santorini, que é um ducto acessório (1,2). O jejuno e o íleo, constituem os últimos segmentos do intestino delgado, limitados superiormente pela flexura duodeno-jejunal e, inferiormente, pela junção íleo-cecal. A sua conformação interna apresenta pregas circulares (kerkring), vilosidades e placas de Payer (1).

A conformação interna do intestino delgado é constituída por quatro camadas, nomeadamente, pela túnica serosa, camada mais externa que cobre todo o intestino delgado, à exceção das primeiras porções do duodeno, pela túnica muscular, pela submucosa, constituída por tecido conjuntivo laxo e pela mucosa, onde se formam pregas circulares (kerkring) transversais, vilosidades e microvilosidades, que aumentam bastante a área de superfície disponível, permitindo uma digestão e absorção dos alimentos mais eficaz (1,10).

O intestino delgado participa na digestão e absorção de uma grande parte das substâncias, nomeadamente de monossacarídeos e aminoácidos, cuja absorção é mediada por transportadores específicos, através das células epiteliais intestinais e absorção de ácidos gordos por difusão, enquanto o transporte da água é feito por osmose. Além dessas funções, o intestino delgado, participa ainda, na mistura e propulsão do conteúdo luminal através dos músculos lisos constituintes das suas paredes (9). Após quase total absorção de todos os nutrientes secretados no intestino delgado, o quimo aí formado, composto por um pequeno volume de água, sais e outros nutrientes não digeridos, passa para o intestino grosso (9,10).

O intestino grosso, cujo comprimento varia entre 1 e 1,70 metros, constitui o segmento final do tubo digestivo e é constituído por diferentes porções, designadamente, o cego, cólon ascendente, cólon transversal, cólon descendente, cólon sigmoide e recto, que se abre no períneo através do ânus (1).

A conformação interna do intestino grosso é também constituída por quatro camadas, túnica serosa que é uma extensão do peritoneu, a túnica muscular, a submucosa com tecido conjuntivo laxo e a mucosa, camada mais interna com uma grande quantidade de glândulas e células epiteliais (1,10).

O intestino grosso apresenta na sua superfície interna, pregas e depressões e sob o ponto de vista fisiológico, tem como funções, a realização de movimentos peristálticos, antiperistálticos, pendulares e rotatórios (1,11), que asseguram a progressão e absorção do conteúdo intestinal e funções de digestão que consistem na absorção hídrica, lipídica e glicídica (1), sendo parte do material não digerido metabolizado por bactérias aí presentes (9). No cólon, o quimo transforma-se em fezes após a absorção de água e eletrólitos para o líquido extracelular, sendo depois propelidas para o reto e eliminadas através do ânus, pelo esfíncter anal externo, constituído por músculo esquelético (10).

5. Ecossistema Intestinal (Microbiota)

O intestino humano alberga uma grande e diversificada comunidade de

microorganismos, particularmente bactérias, ao longo da sua superfície mucosa, mas, embora em menor abundância, também vírus, *archae*, fungos e outros protozoários (3). Este ecossistema é designado por microbiota ou microflora (12,13) e, os genes que estes microorganismos codificam, por microbioma (14).

A microbiota intestinal pode ser considerada como um órgão microbiano dentro de um órgão hospedeiro, entre os quais se estabelecem interações mutuamente benéficas (12,13), sendo o equilíbrio entre estes dois elementos condicionante da homeostasia do indivíduo (15). Esta comunidade é separada do meio interno através de uma camada de células epiteliais (12,16) e grande parte dos microorganismos é designado nativo, por habitarem permanentemente o tubo digestivo, enquanto a restante considera-se em trânsito por existirem temporariamente nas mucosas (13). Este nicho ecológico tem uma população de cerca de 100 triliões de bactérias, com 500 a 1000 espécies diferentes (15), sendo cerca de dez vezes superior ao número total de células somáticas e germinativas do corpo humano (14,17). Embora as espécies colonizem diversas superfícies corporais, como a boca, vagina, pele, verificam-se particularmente ao longo do tubo digestivo (14). Encontram-se, em menor número de microorganismos, na mucosa do estômago e duodeno, nomeadamente, cerca de 10^3 células bacterianas por grama de conteúdo, pois as secreções ácidas, biliares e pancreáticas destroem grande parte dos microorganismos que ingerimos (8). Por outro lado, existe um aumento progressivo do número de bactérias do jejuno para o íleo, isto é, de 10^4 para 10^7 unidades formadoras de colónias por grama. Já o intestino grosso, é colonizado por uma maior densidade de bactérias, atingindo valores de 10^{11} unidades formadoras de colónias por grama de conteúdo luminal (15,18). Como no cólon, o tempo de digestão é mais lento, os microorganismos têm maior possibilidade de fermentar substratos provenientes da dieta ou de outras secreções endógenas (15).

Para melhor compreender a diversidade e caracterizar o microbioma humano, assim como fatores que influenciam a distribuição e evolução dos microorganismos que o constituem, surgiu o Projeto Microbioma Humano (HMP), sendo uma extensão lógica do Projeto Genoma Humano. Este projeto teve início nos Estados Unidos da América, sendo atualmente desenvolvido simultaneamente em todo o mundo (19,20). A tabela 1 apresenta alguns conceitos relacionados com a microbiota.

Tabela 1 - Conceitos relacionados com a Microbiota (Adaptado de (21))

| Conceitos relacionados com a Microbiota | |
|--|---|
| Microbiota | Comunidade de microorganismos vivos que colonizam certo |

| | |
|--------------------------|--|
| | nicho ecológico |
| Microbioma humano | Conjunto dos microorganismos, respetivos genes e metabolitos que vivem no corpo humano |
| Disbiose | Alterações da microbiota como resposta a alterações que ocorrem no hospedeiro |
| Metagenoma | Conjunto do material genético do microbioma |
| Metagenómica | Estudo do material genético das bactérias |

6. Composição da Microbiota Intestinal

O conhecimento acerca da composição da microbiota intestinal, baseou-se, inicialmente, nas informações recolhidas de culturas de fezes ou de biópsias intestinais, tendo sido demonstrado, pelo isolamento de bactérias em crescimento em meios de cultura seletivos, que o número de bactérias anaeróbias estritas superava as aeróbias num factor de 100 ou 1000 espécies anaeróbias por espécies de aeróbias (13). No entanto, estes dados fornecidos por cultura são, em parte, incompletos, pois este tipo de técnicas de cultura e espécies anaeróbias têm diversas limitações e, além disso, cerca de metade das células bacterianas que é observada por microscópio em amostras fecais não chegam a ser recuperadas em meios de cultura (13,16).

Nos últimos anos, têm sido introduzidas técnicas de biologia molecular, que têm permitido identificar bactérias não cultiváveis, através de técnicas de eletroforese e de sequenciamento, em que o DNA bacteriano ao ser separado em bandas, permite o reconhecimento de sequências de DNA semelhantes (6). O sequenciamento metagenómico ou, simplesmente metagenómica, é o principal método utilizado para analisar o microbioma, nomeadamente a amplificação por PCR e sequenciamento de regiões variáveis do gene RNA ribossómico 16S (rRNA), uma vez que este gene se encontra presente em todas as bactérias e *archaea*, possibilitando a caracterização dos níveis taxonómicos *Bacteria* e *Archaea*, encontrados na microbiota intestinal, sem a utilização de culturas (3,15). A informação genética recolhida através do rRNA 16S é depois agrupada em unidades taxonómicas, de acordo com a semelhança entre rRNA e, por convenção, fala-se de género se existir uma semelhança no rRNA 16S de 95% ou de espécies quando a similaridade é de 97% (22).

Estes avanços tecnológicos demonstram que cada indivíduo tem um padrão de bandas característico ao longo do tempo, sendo a colonização microbiana um

processo dinâmico, influenciado por diversos factores externos e estocásticos, mas principalmente, por fatores ambientais e fatores genéticos do hospedeiro (13,17,18).

6.1. Colonização Microbiana do Intestino Infantil

Tem sido aceite a ideia de que a colonização do trato digestivo por microorganismos se inicia durante a gestação e logo após o nascimento (23). Até há pouco tempo, permanecia a ideia de que o feto se desenvolvia num ambiente estéril, visão decorrente do facto de que durante décadas, análises biológicas a amostras relacionadas com a gestação serem apenas realizadas no caso de suspeita ou evidência de infecção intra-uterina (23,24). No entanto, este dogma tem sido colocado em causa, estabelecendo-se que a exposição materna durante a gravidez pode induzir alterações na fisiologia fetal, sendo o contato microbiano precoce fundamental para um amadurecimento imunológico saudável (24).

Alguns estudos têm referido a transmissão de bactérias através do contato microbiano durante a vida pré-natal, uma vez que têm sido detetadas bactérias na placenta (25), líquido amniótico (24,26), amostras de sangue do cordão umbilical (27) e membranas do feto (24), a partir de recém-nascidos saudáveis, além de que o mecónio, primeira amostra de fezes infantil, não é estéril como se acreditava ser (26).

Embora ainda não seja completamente claro, diversos fatores parecem influenciar o desenvolvimento da microbiota intestinal infantil, como o tipo de parto, terapia antibiótica, dieta, idade gestacional e peso à nascença (28). A análise de mecónio e de fezes de bebés prematuros revelou, segundo um estudo de Moles et al. (28), baixa diversidade de espécies e uma grande variabilidade inter-individual, sendo a diversidade nas amostras de mecónio inferior à das fezes. Os bebés, logo após o nascimento, são expostos a uma infinidade de microorganismos de diferentes ambientes, sendo rapidamente colonizados por estes (14), os que nascem por parto vaginal, apresentam uma microbiota semelhante à microbiota vaginal da mãe, composta predominantemente por *Lactobacillus*, *Prevotella*, *Atopobium* ou *Sneathia* spp., enquanto os que nascem por cesariana, exibem um tipo de microbiota característico da pele das mães, constituído, como exemplo, por *Staphylococcus* e *Propionibacterium* spp. (29), assim, os primeiros microorganismos colonizadores são transmitidos através da mãe (30). Mais se acrescenta, que segundo o estudo de Dominguez-Bello et al. (29), os recém-nascidos apresentavam uma microbiota semelhante ao nível da pele, mucosas orais, nasofaringe e intestino, demonstrando uma distribuição inicial homogénea. A administração de leite materno parece constituir também uma fonte de bactérias para modular a microbiota

intestinal do bebê. Por outro lado, a introdução na alimentação de fórmulas lácteas infantis ou de alimentos sólidos, em particular fibras insolúveis, poderá alterar a colonização bacteriana e reduzir os benefícios exclusivos da amamentação (31).

Para que uma espécie possa existir e persistir no intestino, tem que ter recursos suficientes para se reproduzir e, deste modo, ser competitiva ou, alcançar o intestino num número suficientemente elevado que permita sustentar uma população. Esses microorganismos podem provocar alterações no ambiente intestinal, como conduzir ao esgotamento de oxigénio e assim favorecer diferentes fenótipos (30). Os primeiros microorganismos que colonizam o intestino são, geralmente, anaeróbios facultativos, pois inicialmente, o intestino do recém-nascido contém oxigénio em abundância, tratando-se de uma colonização oportunista (32). Alguns exemplos destes primeiros colonizadores são *E. coli* e *enterococos* (*E. faecalis* e *E. faecium*). *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Aeromonas*, *Pseudomonas* e *Acinetobacter* que podem colonizar o intestino de recém-nascidos mas não são, geralmente, encontrados no adulto (33). Com a expansão deste tipo de bactérias anaeróbias facultativas, o consumo do oxigénio favorece o crescimento de bactérias anaeróbias obrigatórias, existindo uma substituição progressiva por microorganismos como *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Eubacterium* e *Clostridium* spp., consoante o ambiente intestinal se altera (32,33). Algumas espécies *Bifidobacterium* comuns são *B. longum*, *B. breve*, *Bifidum*, *B. adolescentis*, *B. infantis* e *B. catenulatum*, entre o filo *Bacteroides*, predomina o grupo *B. fragilis* e, da espécie *Clostridium*, *C. Difficile* (33,34). Sucessivamente, a microbiota vai-se tornando mais diversificada com o aparecimento de Bacteroidetes e Firmicutes (23).

A constituição da microbiota infantil começa a convergir para a constituição microbiota de um adulto até ao fim, do primeiro ano de idade (23,32).

6.2. Colonização Microbiana do Adulto

À medida que o ser humano se desenvolve, também a sua microbiota muda (14). A figura 1 ilustra a evolução de alguns representantes da microbiota intestinal, em função da idade.

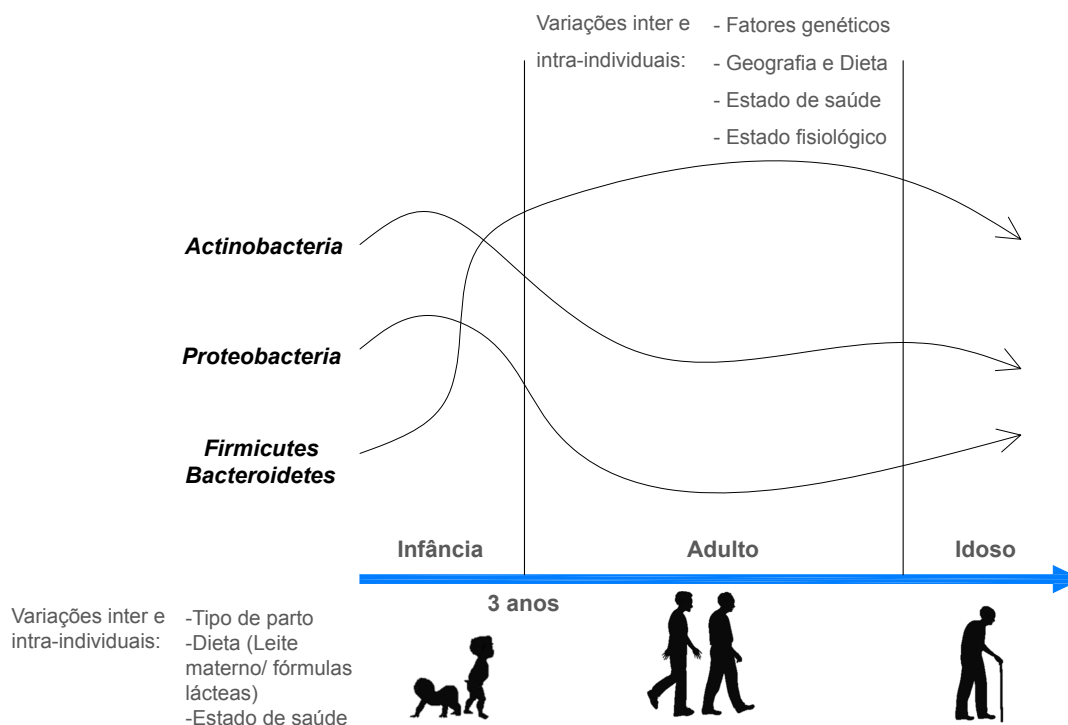


Figura 1 - Evolução de alguns representantes da microbiota intestinal, em função da idade (Adaptado de (35)).

Estudos com métodos baseados em cultura, sugerem que adultos saudáveis partilham uma grande maioria de espécies de bactérias intestinais, enquanto que os estudos de sequenciamento, independentes de cultura de bactérias, propõem uma enorme diversidade de microorganismos, variável ao longo do tempo e entre populações (36), isto é, na idade adulta, a composição da microbiota intestinal tende a ser relativamente estável mas, pode ser sujeita a certas perturbações (37). Além disso, a análise de microbiota recolhida por biópsia da mucosa intestinal poderá dar resultados diferentes da recolhida através da análise de fezes (33), que são facilmente adquiridas mas nem sempre fornecem dados fiáveis sobre microorganismos não patogénicos do microbioma, sendo, por vezes, pouco representativos do trato digestivo e do microbioma associado à sua mucosa (38).

A microbiota intestinal tem sido caracterizada como uma complexa coleção de microorganismos, verificando-se uma relação entre bactérias intestinais e hospedeiro que implica um benefício mútuo e, uma reatividade imune não excessiva (34). Hollister et al. (38) refere que segundo o Projecto Microbioma Humano e, de acordo com dados recolhidos de estudos do gene rRNA 16S, o número de bactérias

no intestino humano saudável parece exceder cerca de 1000 espécies, com cerca de 470 filos conhecidos, por indivíduo adulto saudável. Embora o intestino delgado não seja tão estudado, existe uma maior abundância de oxigênio relativamente ao intestino grosso, o que permite a predominância de bactérias aerotolerantes como *Bacillus* (33,38). O conteúdo proximal do intestino delgado apenas contém 10^{2-4} bactérias/mL, enquanto junto à válvula íleocecal (ou de Bauhin) este aumenta para 10^{5-8} bactérias/mL (33). A partir desta válvula, a microbiota torna-se mais complexa, quer devido às condições de estase local como condições de anaerobiose (33), sendo que os filos dominantes são o Firmicutes e Bacteroidetes, seguidos por Actinobacteria e Verrucomicrobia (6,33,37–39) e, por vezes, o filo Proteobacteria pode também ser encontrado em indivíduos saudáveis (38). Bactérias pertencentes ao género *Clostridium* eram definidas, numa classificação taxonómica mais antiga, como anaeróbios gram-positivos que formavam esporos, o que não refletia o seu parentesco genético e, por isso, passaram a incluir-se no filo Firmicutes, juntamente com os géneros *Eubacterium*, *Ruminococcus*, *Coprococcus* e *Faecalibacterium* (33).

Como referido anteriormente, existe uma grande predominância de bactérias anaeróbias obrigatórias na constituição da microbiota intestinal (32), no entanto, bactérias anaeróbias facultativas podem representar 1% ou menos, e, incluem bactérias, principalmente da família *Enterobacteriaceae* (*E. coli*, *Klebsiella* e *Enterobacter*) e *enterococos* (33).

Assim, a composição da microbiota intestinal adulta apresenta uma certa individualidade, verificando-se variabilidade nas proporções relativas dos diferentes filos dominantes e variação de alguns géneros e espécies (40).

7. Funções da Microbiota

Estudar a colonização intestinal tem permitido identificar algumas funções da microbiota intestinal, benéficas para o hospedeiro, nomeadamente, funções de metabolismo e nutrição, funções de proteção e manutenção da integridade da mucosa e proteção contra certos agentes patogénicos (13,16,37), fenómeno designado por “resistência à colonização” (41) e produção de moléculas de sinalização farmacologicamente ativas (42). O conhecimento dessas funções tem revolucionado a abordagem a certas patologias crónicas (43).

A microbiota intestinal participa na imunomodulação do intestino, juntamente com o sistema imunológico inato e adaptativo, fazendo parte deste processo, os tecidos linfóides associados ao intestino (GALT), células T efetoras e reguladoras, controladas principalmente pelas células Th2, e células B produtoras de IgA e

macrófagos (44). A microbiota intestinal apresenta diversas vias para metabolismo de substratos provenientes da dieta não digeríveis, como amido resistente e certos polissacarídeos e oligossacarídeos complexos, mas também algumas proteínas, muco de origem endógena e outros detritos celulares. Esse metabolismo constitui uma importante fonte de energia para a proliferação das bactérias e, por outro lado, permite a produção de, por exemplo, ácidos gordos de cadeia curta (SCFAs) que podem ser absorvidos pelo hospedeiro, retirando um maior aproveitamento de energia da dieta e, ainda, a absorção de íons de cálcio, magnésio e ferro (13,45).

Uma das importantes funções da microbiota intestinal é o metabolismo de hidratos de carbono (13,36). Muitos dos genes das bactérias constituintes da microbiota intestinal codificam enzimas ativas de hidratos de carbono, que incluem glicosiltransferases que formam açúcares, glicosídeo hidrolases e polissacarídeos liases, envolvidas no catabolismo de hidratos de carbono. Algumas das bactérias que contêm esses genes pertencem ao filo Bacteroidetes (38,44). O catabolismo de hidratos de carbono não digeríveis produz SCFAs, como o butirato, acetato e propionato, que são rapidamente absorvidos pelas células epiteliais do tubo digestivo, onde estão envolvidos na regulação de processos celulares, como expressão genética, quimiotaxia, diferenciação, proliferação e apoptose (16,41,42,44). O butirato é produzido, essencialmente por Firmicutes, a partir de hidratos de carbono, via glicólise e acetoacetil-CoA, enquanto o propionato é produzido, principalmente por Bacteroidetes, pela via succinato ou propanodiol, consoante a natureza do açúcar. Estes SCFAs desempenham um papel importante na regulação do sistema imunológico e resposta inflamatória, pois influenciam a produção de citocinas, por exemplo, através da estimulação da produção de IL-18, envolvida na manutenção e reparação da integridade epitelial (37).

Especula-se ainda, que a microbiota participa na regulação de células linfóides inatas, embora o mecanismo ainda não seja totalmente claro (44). Também tem sido demonstrado que a microbiota intestinal tem um papel importante no metabolismo lipídico ao suprimir a inibição da atividade da lipoproteína lipase em adipócitos (44).

Outra via de metabolismo importante na qual algumas bactérias da microbiota intestinal participam é no catabolismo de proteínas. Através de proteases e peptidases microbianas e de transportadores de aminoácidos, encontrados na parede celular de certas bactérias, estas facilitam a entrada de aminoácidos no lumén intestinal, permitindo aí a conversão destes em pequenas moléculas de sinalização e peptídeos antimicrobianos como as bacteriocinas (38,44). Um exemplo deste metabolismo é a conversão de L-histidina em histamina pela enzima

bacteriana histidina descarboxilase, que é codificada pelos genes bacterianos (44,46). A histamina apresenta efeitos pró-inflamatórios em situações de alergia e anafilaxia, no entanto, pode também inibir a produção de citocinas pró-inflamatórias como a IL-1, IL-2 e TNF a partir de monócitos humanos estimulados por lipossacarídeos, sendo a distinção entre a função pró ou anti-inflamatória feita possivelmente através de modificações estruturais da histamina (46)

A síntese de vitamina K e alguns componentes da vitamina B são outras funções também desempenhadas pela microbiota intestinal, assim como a síntese de ácido linoleico conjugado (CLA) e a biotransformação de polifenóis provenientes da alimentação, para poderem depois serem absorvidos, e aos quais têm sido associados efeitos anti-inflamatórios, anti-estrogénios, cardioprotetores e neuroprotetores (44). Tem sido ainda descrita a capacidade da microbiota intestinal em metabolizar xenobióticos e certos fármacos, podendo assim influenciar as respostas induzidas pelos mesmos (47).

É ainda de salientar que o sistema imunológico humano deve, por um lado, distinguir entre possíveis agentes patogénicos e bactérias comensais constituintes da mucosa intestinal (13). As funções de defesa incluem, por exemplo, competição por locais de ligação ou fontes de nutrientes (37,41) produção de proteínas antimicrobianas (AMP) e presença de muco que permite manter microorganismos afastados do contacto epitelial (48), mas tendencialmente e sob condições normais predomina um contexto de tolerância mediado por células T reguladoras (13).

A tabela 2 refere os filos de bactérias mais abundantes da microbiota intestinal e alguns exemplos dos respetivos géneros e funções desempenhadas.

Tabela 2 - Constituintes comuns da Microbiota Intestinal Humana e algumas das suas funções (Adaptado de (41))

| Filo | Características | Géneros comuns | Funções |
|-----------------------|--|---|---|
| Actinobacteria | - Gram-positivos - Anaeróbios obrigatórios | <i>Atopobium</i> <i>Bifidobacterium</i> <i>Collinsella</i> <i>Eggerthella</i> | - <i>Bifidobacterium</i> revela propriedades anti-inflamatórias, indução de células T produtoras de IL-10; propriedades antimicrobianas |
| Bacteroidetes | - Bacilos Gram-negativos - Anaeróbios obrigatórios - Abundantes da Microbiota Intestinal | <i>Alistipes</i> <i>Bacteroides</i> <i>Barnesiella</i> <i>Parabacteroides</i> <i>Prevotella</i> | - <i>Bacteroides</i> e <i>Prevotella spp</i> em abundância, estão, geralmente, associados a disbiose |
| Firmicutes | - Gram-positivas | Anaeróbios | - Espécies |

| | | | |
|-----------------------|---|---|---|
| | - Geralmente abundantes da microbiota intestinal - Filo com maior diversidade - Anaeróbios obrigatórios (maioria) | <u>obrigatórios:</u> <i>Anaerostipes</i> , <i>Clostridium</i> <i>Faecalibacterium</i> <i>Roseburii</i> <i>Ruminococcus</i> <i>Veillonella</i> <u>Anaeróbios facultativos:</u> <i>Enterococcus</i> <i>Lactobacillus</i> <i>Streptococcus</i> | obrigatórias anaeróbias encontram-se geralmente reduzidas em situações de disbiose - <i>Faecalibacterium prausnitzii</i> parece ter um efeito anti-inflamatório - <i>Enterococcus</i> está muitas vezes aumentada na DC - <i>Lactobacillus</i> são muito usados como probióticos |
| Proteobacteria | - Gram-negativos - Anaeróbios facultativos - Inclui espécies patogénicas e oportunistas | <i>Enterobacter</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Helicobacter</i> <i>Klebsiella</i> <i>Proteus</i> <i>Sutterella</i> | - <i>Enterobacteriaceae</i> muito associada à inflamação - <i>Escherichia coli</i> invasora, tem sido associada à DII |

8. Disbiose

A colonização microbiana intestinal desempenha um papel fulcral nas vias metabólicas e imunológicas e, alterações nesse processo de colonização microbiana, aumentam a susceptibilidade ao desenvolvimento de patologias ao longo da vida (23). As mudanças no equilíbrio da composição da microbiota que podem ser prejudiciais ao hospedeiro denominam-se por “disbiose” (35,39,41).

No entanto, a complexidade da microbiota e a variação intra e interindividual podem complicar a definição do que seria a microbiota ideal numa população ou num indivíduo (36), sendo esta uma característica também comum na disbiose (41), isto significa, que o termo disbiose não deve ser usado se se tratar apenas de descrever uma mudança na microbiota, pois em certos casos, pode tratar-se de uma adaptação do hospedeiro, sem implicações fisiopatológicas (35,41). A microbiota é relativamente resistente a perturbações, provocadas por pequenas alterações no padrão alimentar, administração a curto prazo de antibióticos ou outros fármacos, que por sua vez podem conduzir a uma adaptação da composição da microbiota de forma temporária ou permanente, levando os microorganismos a estabilizarem-se num novo “estado alternativo” (49).

Existem evidências de que a disbiose da microbiota intestinal está associada a determinadas patologias, como doenças inflamatórias do intestino e da pele,

alergias, asma, síndromes metabólicas, obesidade, doenças cardiovasculares, entre outras (50,51).

Diversos fatores podem conduzir a alterações da microbiota, nomeadamente, a exposição a certos fatores ambientais, dieta, estrutura do epitélio intestinal, peristaltismo, idade, genética, quimioterapia, antibioterapia, toxinas e agentes patogénicos, stress físico e psicológico (35,51).

Alguns fatores comumente associados à disbiose, independentemente da doença, são a redução da diversidade bacteriana, assim como diminuição do número de bactérias anaeróbicas como as pertencentes ao filo Firmicutes, o que conduz a uma menor produção de butirato e, por sua vez, de SCFAs, provocando, por exemplo, processos de inflamação excessiva ou, diarreia com consequente redução da absorção de sódio e água (41). No que diz respeito à idade, embora a microbiota intestinal seja relativamente estável desde a terceira à sétima década de vida (41,44), as proporções de *Bifidobacteria*, Firmicutes e *Fecalibacterium prausnitzii* tendem a diminuir, enquanto se verifica um aumento de *E. coli*, Proteobacteria e *Staphylococcus*, o que pode implicar uma menor produção de vitamina B12 e da atividade das redutases microbianas ou no aumento de mutações no DNA e disfunção imunológica (44).

Relativamente aos antibióticos, o potencial destes em alterar a microbiota intestinal está relacionado com o seu espectro de atividade, com a farmacocinética, dosagem e tempo de administração (35,39,44,52). Um antibiótico ativo contra organismos gram-positivos e negativos terá um maior impacto sobre a microbiota intestinal e, é ainda importante saber em termos de farmacocinética, o modo de excreção do antibiótico, pois esta vai determinar a concentração final de fármaco que chega ao lúmen intestinal. De um modo geral, quanto maior a dosagem e tempo de administração, maior será o impacto sobre a microbiota (52). Quando o fenómeno de resistência à colonização é quebrado, geralmente pela administração de antibióticos, bactérias como *Clostridium*, são capazes de proliferar e causar algumas patologias (41,52). Os antibióticos podem ainda conduzir à transferência horizontal de genes, ou seja, algumas espécies bacterianas são capazes de transferir informação genética mutante, levando ao desenvolvimento de um reservatório de genes de resistência (53).

O stress, pode alterar também a integridade da microbiota intestinal, conduzindo a uma menor resistência à colonização, pela diminuição da produção de mucina e de mucopolissacarídeos ácidos na superfície da mucosa intestinal que, por sua vez, são importantes na inibição da aderência de microorganismos potencialmente patogénicos à mucosa intestinal (54).

9. Doenças Inflamatórias Intestinais

A doença inflamatória intestinal (DII), designação que inclui a doença de Crohn (DC) e a Colite Ulcerosa (UC), é uma doença crônica, prevalente em países como a América do Norte e o norte da Europa cuja incidência tem vindo a aumentar (4). A DC tem uma incidência de 0,3 a 12,7 por 100.000 habitantes na Europa e 0 a 20,2 por 100.000 habitantes na América do Norte. Por outro lado, a UC apresenta uma incidência de 0,6 a 24,3 por 100.000 habitantes na Europa e 0 a 19,2 por 100.000 habitantes na América do Norte (4). Embora possa atingir todas as idades, parece ser mais frequente em adolescentes e adultos jovens, constituindo uma doença progressiva (4,55). A DC e a UC parecem ter incidência numa faixa etária entre os 15 e os 40 anos e entre os 50 e os 80 anos respetivamente e, as duas diferem em termos de extensão e distribuição da inflamação que atinge o tubo digestivo (4).

Ambas constituem patologias gastrointestinais crônicas, de etiologia incerta, que se caracterizam por inflamação crônica do intestino e cujos sintomas variam desde diarreia, perda de peso, úlceras, perfuração e obstrução do tubo digestivo (6).

As alterações imunitárias que se verificam, parecem estar relacionadas com fatores genéticos, imunológicos, infecciosos e ambientais, mas atribui-se também especial importância à microbiota intestinal, isto é, à disbiose, nos processos de inflamação e desenvolvimento da DII (4,7,8).

Relativamente aos fatores infecciosos, alguns microorganismos no tubo digestivo, têm sido propostos como principais e potenciais agentes capazes de desencadear inflamação na DII, o que poderá também estar associado a uma perda de tolerância à microbiota do tubo digestivo normal (4).

Os fatores genéticos desempenham também um importante papel na predisposição dos indivíduos à DII, assim como o grau de severidade e extensão da patologia, pois alguns marcadores genéticos têm sido observados com maior frequência em doentes com DII (4,56). Mutações no gene NOD2 (ou CARD15), que faz parte da resposta imunológica inata e participa no reconhecimento bacteriano e nos processos de apoptose, constituem um dos principais fatores de predisposição genética para a DC (4,8,57). Outros genes envolvidos em processos de autofagia por parte do sistema imunológico inato, como o ATG16L1, IRGM, e na resposta imunológica adaptativa, como as interleucinas (IL), nomeadamente IL-23 e, também STAT3 e CCR6, estão associados à DC e também à UC (4,56). Além destes, têm sido também implicadas na UC, mutações dos genes que codificam a IL-10, ECM1, HNF4A, CDH1, LAMB1, Th1 e Th17, relacionados com as células T auxiliares (4).

Mecanismos imunológicos desempenham também um papel crítico na patogênese da DII. O sistema imunitário inato relaciona-se com a barreira epitelial intestinal e as secreções em resposta ao contato com microorganismos, havendo libertação de peptídeos antibacterianos, como as defensinas pelas células de Paneth. A redução na secreção desses peptídeos, pode contribuir para a perda da função de barreira seletiva, e num doente com DC, a parede intestinal é invadida por linfócitos, mastócitos, macrófagos e neutrófilos, provocando, por vezes, a formação de granulomas. No caso de doentes com UC, uma vez que a inflamação é limitada ao cólon, verifica-se uma invasão semelhante na camada mucosa, estando os colonócitos altamente implicados (4). As células T CD4⁺ têm sido relatadas como tendo um papel crucial na cascata de processos inflamatórios adjacentes à DII (4,56), pois regulam aspetos fundamentais da resposta imune específica e a sua ativação é regulada por citocinas e interações celulares ligadas à membrana (56). As células T CD4⁺ subdividem-se em Th1, Th2 e, mais recentemente, em Th17, de acordo com a produção das respetivas citocinas específicas. As células Th1 participam em respostas imunológicas mediadas por células e têm a capacidade de produzir IL-2, INF- γ e TNF- β , enquanto as Th2, medeiam as respostas humorais e segregam IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 e IL-13. As células Th17 parecem ter um papel importante a nível do sistema imunológico adaptativo, conferindo proteção contra bactérias extracelulares e certos fungos (56,58). Portanto, na DII verifica-se um desequilíbrio entre a produção de citocinas pró-inflamatórias (TNF- α , INF- γ , IL-1, IL-2, entre outras) e a produção de citocinas anti-inflamatórias (IL-4, IL-10, IL-11) (58). Na DC associa-se a libertação aumentada de TNF- α , IFN- α , IL-12 e IL-17, enquanto na UC têm sido implicadas as células Th17, que produzem citocinas pró-inflamatórias IL-17 e requerem IL-23 (45,57).

Assim, as células CD4⁺, demonstram ter um papel importante na resposta imunológica e, a inibição das respostas Th1 pode constituir um objetivo na terapêutica da DII, particularmente na DC, pois esta apresenta maiores evidências dos efeitos Th1 associados (56).

9.1. Doença de Crohn

A DC caracteriza-se como um processo inflamatório, crónico, heterogéneo, granulomatoso e transmural, isto é, que afeta todas as camadas do tubo digestivo e, embora possa afetar qualquer parte do trato gastrointestinal, o íleo é a região mais comumente acometida (4,59). Geralmente, verificam-se segmentos do intestino normal, com segmentos do intestino que estão comprometidos.

No que diz respeito à clínica, os principais sintomas da DC são diarreia e dor abdominal, por vezes, hematoquésia, fadiga e perda de peso. Observam-se frequentemente úlceras, tipicamente profundas e alongadas, espessamentos nodulares da parede intestinal, estenoses e consequentes obstruções que poderão exigir cirurgia bem como fístulas (4,7), embora estas ocorram com maior frequência na UC (4). Segundo o estudo de Treuren et al. (60), pacientes com DC, apresentam uma microbiota intestinal alterada, isto é, uma disbiose caracterizada por maior abundância em bactérias como *Enterobacteriaceae*, *Pasteurellaceae*, *Veillonellaceae* e *Fusobacteriaceae*, e diminuição em *Erysipelotrichales*, *Bacteroidales* e *Clostridiales*. Algumas bactérias membros da família *Enterobacteriaceae*, pertencentes ao filo Proteobacteria, constituem agentes patogénicos e oportunistas como *Salmonella spp.*, *Shigella spp.*, *Klebsiella spp.*, *Proteus spp.* e *E. coli*. (41).

Relativamente à avaliação dos diferentes estadios da doença, existem alguns índices de avaliação da DC, como o Índice de Atividade da Doença de Crohn (CAI), que permite avaliar a resposta à terapêutica e eventual remissão ou o Índice de Harvey Bradshaw (HBI) (4). O CAI, apresenta um score de 0 a 600 e, define-se DC ativa para uma pontuação superior a 150 pontos, e remissão com pontuação inferior a esse valor, enquanto no HBI, se define que um score com pontuação inferior a 4 pontos corresponde a um estado de remissão da DC (61,62). Geralmente, a DC considera-se numa fase leve a moderada quando se trata de doentes ambulatorios, sem evidências de desidratação, toxicidade sistémica, perda de peso ou obstrução intestinal e, numa fase moderada a grave quando não se verifica resposta à terapêutica, existe febre, perda de peso, dor, sensibilidade abdominal, vômitos, obstrução intestinal ou anemia. Esta patologia é considerada grave a fulminante quando há persistência de sintomas ou toxicidade sistémica após terapêutica com corticosteróides ou biológica (4). Pacientes com DC podem apresentar períodos de remissão intercalados com outros de exacerbação (7).

9.2. Colite Ulcerosa

A UC caracteriza-se por inflamação confinada às camadas mucosa e submucosa do colón e reto, podendo raramente, o segmento terminal do íleo estar inflamado, designando-se nesse caso por ileíte. Na UC, é pouco frequente estarem envolvidas as camadas musculares profundas e a camada serosa, pois trata-se de uma inflamação superficial, além disso, a ocorrência de fístulas ou obstruções não são comuns (4).

Os principais sintomas são: cólicas abdominais, diarreia, hemorragias, hemorróidas, fissuras anais, abscessos perirectais e, eventualmente, obstipação (menos comum), febre, taquicardia, fadiga, perda de peso (4). A microbiota intestinal de doentes com UC apresenta níveis aumentados de *Rothia mucilaginosa*, que parece atuar como um agente patogénico oportunista em pacientes imunocomprometidos (60).

Esta patologia caracteriza-se, geralmente, por períodos de exacerbação intercalados com outros de remissão. Algumas complicações da UC incluem megacólon tóxico, que se caracteriza por uma distensão do cólon com colite aguda e sinais de toxicidade sistémica, pode conduzir à morte, pois nestes casos, os processos de ulceração podem atingir a submucosa e, por vezes, a camada serosa, com comprometimento da parte vascular e tónus muscular (4). Tal como referido, apesar de não ser habitual, podem ocorrer, perfuração, hemorragia ou estenose do cólon. Existe ainda, um risco aumentado de desenvolver Cancro colo-rectal (CCR) em doentes com UC, particularmente nos doentes com um início de doença em idade jovem, com inflamação severa e pólipos inflamatórios (4).

Não existe um sistema padrão de classificação da gravidade da UC universalmente aceite. Geralmente, as distinções entre as diferentes fases são determinadas pelos sintomas e sinais clínicos. Considera-se UC leve quando há menos de quatro dejeções por dia, com ou sem a presença de sangue, sem manifestações extraintestinais e velocidade de sedimentação normal (VHS), moderada no caso de existirem mais de quatro dejeções diariamente, mas com um mínimo de manifestações a nível sistémico (61). A UC grave caracteriza-se por mais de seis dejeções por dia, com presença de sangue, evidências de distúrbios a nível sistémico, febre, taquicardia, anemia ou VHS>30mm/h, enquanto na fulminante, ocorrem mais de 10 evacuações diariamente, com hematoquésia, toxicidade, sensibilidade abdominal, dilatação do cólon e necessidade de transfusão. A extensão da doença, é determinada por via endoscópica. Quando apenas o recto se encontra inflamado, designa-se por proctite, se a inflamação se estende até ao ângulo esplénico, designa-se por UC distal, englobando a proctite. Na UC extensa a inflamação prolonga-se além do ângulo esplénico, mas não atinge o cego, caso este último esteja acometido, designa-se por pancolite. O diagnóstico da UC faz-se através da suspeita do quadro clínico e posterior confirmação por biópsia, exame às fezes, sigmoidoscopia e colonoscopia (61).

9.3. Complicações extraintestinais das DII

As duas formas de DII estão muitas vezes associadas a manifestações extraintestinais, pois outros órgãos exteriores ao tubo digestivo são também muitas vezes acometidos (4).

Podem ocorrer complicações hepatobiliares, como hepatite, cirrose, colelitíase, por exemplo, resultantes da má absorção, uso de corticosteróides, e fibrose, complicações articulares como a artrite e osteoporose e, problemas oculares, como uveíte, irite e conjuntivite. Lesões cutâneas e mucosas são também frequentes nas DII, particularmente, eritema nodoso, estomatite aftosa e pioderma gangrenoso, assim como complicações hematológicas, principalmente, de coagulação, anemias com deficiência em ferro relacionadas com hemorragias crônicas, inflamação, malnutrição e, também tromboembolismo venoso (4).

Frequentemente, ocorrem algumas deficiências nutricionais em indivíduos com DC, nomeadamente, perda de peso, deficiente crescimento em crianças, anemias com deficiências em ferro associadas a possíveis hemorragias, deficiência de vitamina B12, folato, hipoalbuminémia, hipocalémia e osteomalácia (4).

O diagnóstico da DII, pressupõe uma minuciosa avaliação com testes laboratoriais, endoscopia e radiologia, de modo a detetar a extensão e caracterizar o tipo de patologia (4).

10. Microbiota e Doenças Inflamatórias Intestinais

Existem evidências experimentais e clínicas de que a disbiose contribui para o desenvolvimento das DII (63,64). De facto, novos estudos têm revelado importantes interações entre microorganismos e células hospedeiras na homeostasia da mucosa e com a inflamação e progressão desta patologia, sendo a disbiose considerada tanto uma causa como uma consequência da DII (63–65).

A perda da diversidade de espécies de microorganismos da microbiota está correlacionada com a atividade da doença em estudos de pacientes com doenças inflamatórias intestinais (DII) (6,7,60,63,64). Esta disbiose é frequentemente caracterizada pela menor abundância de bactérias do filo Bacteroidetes e Firmicutes, em particular a diminuição de *Lachnospiraceae*, como *Roseburia*, *Sutterella* e, *Clostridium cluster* XIVa e IV, como exemplo, *Faecalibacterium prausnitzii* (6,37,60,64–66), e um aumento de microorganismos aeróbios e anaeróbios facultativos como Proteobacteria, Fusobacteria e *Ruminococcus gnavus* (60,63). Tem sido também relatada a presença de microorganismos como o *Mycobacterium paratuberculosis* e outras bactérias como a *Listeria monocytogenes* e, ainda alguns

vírus como o do Sarampo (4,56). Esta disbiose encontra-se presente em estádios iniciais da DII, antes de se iniciar a terapêutica e é afetada pela administração prévia de antibióticos (41,64).

O uso de antibióticos, que são considerados muitas vezes como terapêutica na DII, deverá ser questionado pois a microbiota intestinal parece ficar em desequilíbrio quando exposta a antibióticos, e a diminuição de microorganismos protetores potencia a proliferação de outras espécies menos benéficas, podendo assim conduzir à exacerbação da inflamação (60,63,67).

Todas estas evidências são consistentes com a observação de que o nível de oxigénio no lúmen intestinal aumenta quando existe inflamação, assim como se verifica um aumento da permeabilidade vascular e da mucosa, conduzindo a uma desregulação da concentração de eletrólitos, promovendo a alteração da microbiota intestinal para uma composição em microorganismos aerotolerantes, como resposta ao stress oxidativo (56,64). Além disso, o facto da inflamação alterar as defesas epiteliais e a consistência do muco pode explicar o aumento da adesão de bactérias como *E. coli* à mucosa intestinal em doentes com DII ou de outros agentes potencialmente nocivos (63,64). Em doentes com DC e UC verificam-se níveis de SCFAs diminuídos, sendo esta diminuição consistente com concentrações mais baixas de espécies bacterianas comensais, produtoras de butirato, como *Lachnospiraceae*, *Roseburia* e *Faecalibacterium prausnitzii* (5,64). É possível que os níveis reduzidos de butirato sejam uma das razões para induzir a inflamação intestinal (68).

É ainda conhecido que as DII são mediadas por células T, e, as bactérias parecem ter efeito na diferenciação e função dessas células na mucosa, células imunes inatas, células linfóides e IgA, sendo que algumas dessas espécies alteradas durante a disbiose nas DII, como *Clostridium* e *Faecalibacterium prausnitzii*, desempenham um papel importante na homeostasia intestinal e controlo da inflamação (45,64). Estas estirpes induzem células T reguladoras (T_{reg}), mediadas por IL-10, proteína imunológica indutível co-estimuladora (ICOS) e butirato, afetando a diferenciação e proliferação de células T_{reg} (64), permitindo assim, a inibição de citocinas inflamatórias como IL-12 e TNF- γ (5). Por um lado, acredita-se que a resposta exagerada das células T possa causar uma resposta exagerada da mucosa às bactérias que constituem a microbiota intestinal, constituindo uma espécie de reatividade cruzada (63,65).

A DC está muitas vezes associada à presença de bactérias como *Saccharomyces cerevisiae*, *Mycobacterium avium spp.* e *E. coli* e à diminuição de *Faecalibacterium prausnitzii*, verificando-se uma menor produção de IL-10 por parte

destas últimas bactérias (4,63,64). Na UC, verifica-se também uma menor colonização de *Bacteroides*, *Escherichia*, *Eubacterium*, *Lactobacillus*, *Ruminococcus* e *Faecalibacterium prausnitzii* (5,68) e, observa-se, por exemplo, um aumento de *Fusobacterium*, que adere a regiões inflamadas e invade a mucosa ulcerada (68).

À UC está ainda associado um aumento de bactérias redutoras de sulfato, que produzem sulfeto de hidrogênio, tóxico para as células epiteliais intestinais, podendo causar inflamação (68).

Algumas estirpes residentes podem ainda sofrer alterações funcionais no intestino de doentes com DII e promover respostas imunológicas patogénicas como a *E. coli* e o *Enterococcus faecalis*, que aderem e invadem as células epiteliais intestinais e se replicam dentro dessas células e em macrófagos, o que pode ser também promovido por certas variantes em genes associados ao risco de DC que regulam a autofagia e, desta forma, permitem a persistência intracelular destas estirpes (5,64). Todas essas estirpes parecem ter fatores de virulência necessários para colonizar a mucosa intestinal, atravessar a barreira epitelial, interagir com macrófagos e, conseqüentemente, induzir a síntese de citocinas pró-inflamatórias, através de células epiteliais infetadas (65).

Alguns estudos de associação genómica, identificaram alguns genes alvo que indicam uma interrupção das interações entre microorganismo e hospedeiro, nomeadamente locais genéticos associados à detecção e depuração microbiana, assim como mecanismos de resiliência para lidar com o stress celular (60). Quando essas funções são alteradas, a mucosa torna-se disfuncional e ocorre ativação crónica de fatores imunes adaptativos que por sua vez conduzem à disbiose (69) e, muitos dos genes susceptíveis à DC estão associados ao reconhecimento bacteriano, como o NOD2 que por sua vez recruta o gene ATG16 implicado em processos de autofagia, enquanto no caso da UC, os genes suscetíveis relacionam-se com funções de barreira da mucosa (70).

Segundo o estudo de Hoarau et al. (71), demonstrou-se pela primeira vez, interações entre bactérias endógenas e fungos, nomeadamente entre a espécie fúngica *Candida tropicalis* e duas espécies bacterianas *Serratia marcescens* e *E. coli*, confirmada por cultura com biofilmes de espécies mistas. Embora existam menos evidências, um estudo de Norman et al. (72), refere que o viroma em pacientes com DC e UC, é anormal, apresentando uma maior expansão do bacteriófago Caudovirales, podendo assim o viroma ser também um possível candidato na patogénese de DII e um biomarcador para esta patologia.

A terapêutica farmacológica da DII, como a messalazina, afeta também a composição da microbiota intestinal, reduzindo o número total de bactérias

intestinais para quase metade, tal como o efeito dos antibióticos como já descrito (68).

Apesar destas evidências, alguns dos estudos sobre DII apresentam como limitações, o seu poder estatístico, precisão na identificação ou o facto de apenas examinarem a microbiota fecal, que difere bastante da mucosa gastrointestinal (63). Embora se tente usar a disbiose como uma ferramenta de diagnóstico ou como biomarcador, a variabilidade interindividual dificulta a implementação deste processo (67) e, o facto de certos estudos sugerirem a disbiose como precedente da DII e, outros, mostrarem de maneira conflituosa, que a influência de fatores ambientais supera a influência genética dos indivíduos (73).

11. Terapêutica Farmacológica da DII

É necessário definir metas terapêuticas, que podem estar relacionadas com a resolução de processos inflamatórios agudos, complicações como fístulas, alívio de manifestações extraintestinais, induzir ou manter a remissão ou cura. Na ausência de terapêutica médica, cerca de metade a dois terços dos doentes têm recaídas num prazo de nove meses.

O tratamento da DII centra-se, principalmente, no alívio dos processos inflamatórios e na indução da remissão da patologia, nomeadamente, com ASAs, corticosteróides, imunossuppressores, antibióticos e agentes biológicos (4,6,55).

A gravidade e extensão da doença, assim como a presença de complicações extraintestinais, devem ser levadas em consideração, no que diz respeito à posologia, via, frequência e formulação da terapêutica medicamentosa (4,62). Determinar a atividade da doença pode ser mais difícil na DC do que na UC, pois nesta os sintomas podem ter outras causas que não a doença ativa (62).

11.1. Terapêutica Farmacológica

A terapêutica farmacológica usada no tratamento da DII não tem carácter curativo (4,59), razão pela qual, tal como referido acima, os objetivos são a resolução dos sintomas agudos da doença e indução da remissão da mesma (4). Agentes antidiarreicos como a loperamida, podem ser usados como terapia adjuvante, ou seja, como terapêutica sintomática, mas não em casos de DII moderada a grave pois poderia contribuir para o desenvolvimento do megacólon tóxico (4,74).

Podem ainda ser administrados fármacos analgésicos como acetaminofeno e a suplementação com vitamina B12 ou vitamina D e cálcio, principalmente para

doentes que fazem terapêutica com corticosteróides e, ainda, ferro no caso de anemias ferropénicas (74).

11.1.1. Aminossalicilatos

Os ASAs são agentes anti-inflamatórios, que derivam do ácido 5-amino-salicílico (5-ASA) e devem ser usados num primeiro estadio da DII ou quando se verifica apenas uma exacerbação inflamatória por ano, constituindo terapêutica de primeira linha na DII (74).

Algumas das preparações orais disponíveis nos EUA e na Europa Ocidental são sulfassalazina, mesalamina, olsalazina, mesalazina, balsalazida e, para uso rectal, enemas de mesalamina e supositórios. Os doentes que tomam sulfassalazina deverão tomar também ácido fólico (74).

11.1.2. Corticosteróides

Os corticosteróides, foram durante certo tempo, a primeira linha de tratamento na DII, são importantes para suprimir a inflamação e promover um rápido alívio dos sintomas, permitindo induzir a remissão em pacientes com uma primeira ou única exacerbação inflamatória da DC por ano, no entanto, os seus efeitos secundários limitam a sua administração a longo prazo, devido a efeitos como hipertensão arterial, diabetes e osteoporose, edema, disfunções neurológicas, infeções e úlceras pépticas (59,74). A sua forma de controlar a DII parece complexa, mas pode incluir modulação da fosfolipase A, IL-1, fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), molécula-1 de aderência aos leucócitos endoteliais (ELAM-1) e molécula-1 de aderência intercelular (ICAM-1) e, ainda, lise de linfócitos e eosinófilos (59).

Geralmente, não são usados na manutenção da remissão. Quando administrados é aconselhável o uso em simultâneo de cálcio e vitamina D, monitorização da glicemia e pressão arterial. A budesonida, que é aplicada topicamente, apresenta, obviamente, menos efeitos secundários mas não deverá ser administrada em estadios mais severos ou em exacerbações da DII. A via de administração de corticosteróides depende da severidade da doença. Metilprednisolona e hidrocortisona são administrados por via intravenosa, prednisolona, prednisona, budesonida e dexametasona por via oral, sendo estas formulações geralmente administradas em casos mais severos e extensos. Alguns desses corticosteróides podem ainda ser administrados por via rectal, através de enemas, espumas ou supositórios (74).

Os corticosteróides tópicos como a budesonida, apresentam, obviamente, menos efeitos secundários associados à ação sistémica, e são indicados, por exemplo, para doentes com UC distal e proctite (4).

11.1.3. Imunossupressores

Estes agentes são geralmente utilizados quando os doentes não respondem favoravelmente a doses de corticosteróides ou essa dose não pode ser diminuída ou descontinuada. No entanto, estes fármacos, tal como os corticosteróides, têm como efeito secundário aumentar o risco de infeções oportunistas (59).

As tiopurinas constituem uma das classes de imunossupressores que demonstra ser eficaz no tratamento de DII, sendo constituída pela 6-mercaptopurina (6-MP) e azatiopirina (AZA), pró-fármaco da 6-MP. Esta classe terapêutica inibe a síntese de ácidos nucleicos e proteínas, inibe a proliferação celular e tem ação bloqueadora da estimulação dos linfócitos T, assim impede o desencadeamento dos processos inflamatórios e, é ideal para manter o estado de remissão induzido pelos corticosteróides (59,74), podendo, no entanto, aumentar o risco de desenvolver linfomas pela sua ação de supressão medular ou, ainda, pancreatite, hepatite e rash, entre outros efeitos secundários (59).

O metotrexato (MTX), antagonista do ácido fólico, apresenta-se como alternativa às tiopurinas, com um início de ação mais rápido relativamente a essa classe e, parece apresentar um mecanismo de inibição da IL-1 pelo mimetismo molecular com a diidrofolato redutase (59). O MTX só deve ser considerado em doentes que não tolerem a AZA ou 6-MP ou que tenham alguma contra indicação para o seu uso e, a sua administração deve ser concomitante com a administração de ácido fólico. Alguns dos seus efeitos secundários são a supressão medular, a hepatotoxicidade e os efeitos teratogénicos (56,74).

Existem ainda os inibidores da calcineurina como a ciclosporina, que pode ser efetiva no tratamento de UC em estadio severo, principalmente em doentes que não respondem a elevadas doses de corticosteróides, o seu mecanismo de ação parece ser a inibição da transcrição de IL-2 e do seu receptor nos linfócitos T auxiliares e, a ativação de células B. Os seus efeitos secundários incluem, por exemplo, hipertensão arterial, nefrotoxicidade e hirsutismo (59).

11.1.4. Terapêutica Biológica

Na DII verifica-se uma produção excessiva de citocinas pró-inflamatórias, que por sua vez, induzem a expressão de certos recetores moleculares que irão promover a migração de leucócitos e assim desencadear a resposta inflamatória

característica da DII. Por essa razão, é possível recorrer à terapêutica com agentes biológicos, que são anticorpos monoclonais e atuam de modo seletivo, pois têm como alvo um mediador inflamatório específico, evitando, desta forma, a imunossupressão de modo generalizado (56).

Alguns dos agentes biológicos usados na DII incluem os inibidores do TNF- α como o Infliximab, Adalimumab, Golimumab e Certolizumab pegol e, ainda inibidores das IL como o Ustecinumab e antagonistas das integrinas como Vedolizumab e Natalizumab (55,56,74). Assim, a utilização de agentes como os anti- TNF- α , têm como propósito obter a remissão da DII e manter a remissão da mesma, livre de corticosteróides, obter cicatrização da mucosa e prevenir recidivas pós-cirúrgicas (61).

No entanto, apesar da evolução terapêutica destes fármacos, as suas estratégias terapêuticas continuam a apresentar certas lacunas, pois nem todos os doentes parecem responder à terapêutica biológica ou essa resposta é perdida com o tratamento prolongado e, podem ainda ocorrer alguns efeitos secundários como neoplasia ou o risco de infeções oportunistas (55).

11.1.5. Antibióticos

Os doentes com DII parecem apresentar uma microbiota com maior abundância de certas bactérias (7,60) e, nesse sentido, os antibióticos são, por vezes, usados como terapêutica nesta patologia, de modo a manipular a microbiota intestinal, muitas vezes com o uso concomitante de probióticos (75).

Alguns dos antibióticos mais usados, particularmente na DC, são o metronidazol e a ciprofloxacina, por vezes em combinação, que atuam a nível da síntese de ácidos nucleicos das bactérias, e, são usados no sentido de tratar algumas complicações desta patologia como fístulas, abscessos ou o crescimento bacteriano excessivo quando ocorre estenose (4,59,74). Na UC os antibióticos são usados em casos de colite fulminante (59,74).

A administração prolongada de antibióticos tem como possíveis efeitos adversos náuseas, anorexia, diarreia, erupção cutânea, neurotoxicidade, desenvolvimento de resistência a antibióticos e maior predisposição à infecção por certas bactérias como *C. Difficile* (4).

11.2. Terapêutica Não Farmacológica

Por vezes podem ser realizados procedimentos cirúrgicos, quando o doente não responde à terapia medicamentosa, apesar da diversidade de fármacos existentes para tratar a DII. Esses procedimentos cirúrgicos, incluem excisão de

segmentos de intestino comprometidos, correção de algumas complicações como fístulas ou drenagem de abscessos (4). As colectomias podem ser realizadas quando a patologia não é controlada pela terapêutica farmacológica ou existem complicações como perfuração do cólon, megacólon tóxico ou hemorragia ou estenoses não controladas. Caso o doente apresente DII com uma elevada duração, superior a 8-10 anos, poderá recorrer-se a colectomia como medida de profilaxia para o desenvolvimento de CCR. A proctocolectomia com ileostomia, é uma das abordagens de carácter curativo na UC, mas que deve ter em conta a qualidade de vida do doente (4). Para indivíduos com DC, as indicações cirúrgicas não se encontram tão bem estabelecidas como na UC, pois a taxa de recorrência é elevada (4).

Pacientes submetidos a múltiplas excisões do intestino podem desenvolver má absorção ou digestão, relacionada com a síndrome do intestino curto e, por isso, é também relevante ter em conta alguns cuidados nutricionais e eventual suplementação, principalmente em doentes com DC, em que o intestino delgado poderá estar comprometido, ou quando os próprios doentes excluem da sua dieta alimentos como o leite, frutas ou legumes.

Uma vez que a microbiota intestinal desempenha um papel importante na patogénese de DII, a administração de probióticos deve ser considerada como tratamento adjuvante nestes doentes, pois têm como benefícios o restabelecimento da microflora saudável no intestino, competição com bactérias potencialmente patogénicas, produção de substâncias antibacterianas e promover respostas favoráveis por parte do sistema imunitário do indivíduo (4,56,74).

12. Terapia dirigida à microbiota na Doença Inflamatória Intestinal

O conhecimento da composição e função das comunidades de microorganismos que constituem a microbiota intestinal tem como potencial criar estratégias de tratamentos não só nutricionais como medicamentosos (60). Tem sido sugerido que as duas formas de DII podem beneficiar da correção dos desequilíbrios microbiológicos associados (36).

12.1. Alimentação e Microbiota

A colonização microbiana é fundamental nos três primeiros anos de vida, representando um período crítico para intervenções a nível de dieta, de modo a melhorar o desenvolvimento infantil (6), pois o tipo de alimentação parece ser um dos fatores determinantes da microbiota intestinal, na medida em que pode

promover o crescimento de microorganismos benéficos ou ser prejudicial para o hospedeiro (23,42).

De facto, após o nascimento, o leite materno constitui o alimento ideal para os bebés durante o primeiro ano, pois parece conter fatores estimulantes do crescimento seletivo de bactérias mutualistas, como oligossacarídeos, que podem ser usados pelo *Bifidobacterium longum* e por algumas espécies de *Bacteroides*, que competem com outras bactérias como a *E. coli* e o *Clostridium perfringens* (7,52,76). Além disso, o tipo de alimentação também pode afetar a abundância de certos tipos de bactérias na microbiota intestinal de latentes (76,77). Segundo o estudo de E. Bezirtzoglou et al. (78), bebés alimentados com leite materno, apresentam predominância de bactérias do género *Bifidobacterium*, seguido por *Bacteroides* e *Prevotella sp.*, já que este tipo de nutrição parece conferir uma vantagem selectiva para o crescimento dessas bactérias. Já bebés alimentados através de fórmulas lácteas, apresentam predomínio de *Bifidobacterium spp.*, mas em menor abundância relativa e, níveis alterados de outras bactérias como *E.coli*, *Clostridium difficile*, *Bacteroides fragilis* e *Lactobacillus* (44). Crianças desnutridas contêm uma microbiota rica em agentes enteropatogénios como *Enterobacteriaceae* (78).

Em adultos, a dieta continua a ser um factor determinante na composição da microbiota (37). A modelação da microbiota é sujeita à disponibilidade de hidratos de carbono, que são encontrados em fibras alimentares, o que significa que dietas extremas à base de animais ou com uma base vegetal, irão resultar em diferentes alterações da microbiota intestinal (44), isto é, dietas a curto prazo extremas desprovidas de quaisquer hidratos de carbono, parecem ter um efeito pronunciado na microbiota intestinal (37). De um modo geral, uma alimentação rica em frutas, vegetais e fibras alimentares, encontra-se associada a uma maior diversidade da microbiota intestinal, verificando-se uma maior abundância de microorganismos metabolizadores de hidratos de carbono insolúveis do filo Firmicutes, como *Ruminococcus bromii*, *Roseburia* e *Eubacterium rectale* (76). Por outro lado, uma dieta à base de proteína animal parece resultar numa diminuição de microorganismos do filo Firmicutes e num aumento de microorganismos tolerantes à bÍlis pertencentes ao filo Bacteroidetes como *Alistipes sp.* e *Bacteroides sp.* e ao filo Proteobacteria, como *Bilophila sp.* (44).

Tem sido também demonstrado que existem diferenças geográficas associadas a uma diferença nos padrões alimentares e que por sua vez condicionam a composição da microbiota intestinal (7,79). Segundo um estudo de Filippo et al. (80), que comparou a microbiota fecal de crianças europeias e de

crianças de uma aldeia rural africana, verificou-se que as crianças africanas apresentavam uma maior abundância de Prevotella, enquanto as crianças europeias exibiam maior predominância de Bacteroides. Embora esses dois tipos de bactérias sejam taxonômica e funcionalmente semelhantes, uma maior abundância de Prevotella está associada a uma dieta mais rica em fibras, enquanto a presença de Bacteroides é característica de uma dieta ocidental mais rica em proteína animal, açúcar, amido e mais pobre em fibras (80).

Toda esta informação relativa à dieta, parece ter especial importância na medida em que se acredita que exposições ambientais precoces afetam a predisposição a certas doenças imunomediadas (80). E, de facto, uma dieta ocidental, rica em proteína animal, rica em hidratos de carbonos e ácidos gordos saturados, pobre em frutas e vegetais poderá ser um dos estímulos para o desenvolvimento da UC e DC (76). A dieta mediterrânica, caracterizada por um elevado consumo de frutas e vegetais, ricos em fibras, antioxidantes e vitaminas, azeite e peixe, poderá ser útil na prevenção e/ou melhoria de patologias intestinais (50,81) e, muitos dos benefícios do consumo desse tipo de dieta podem ser mediados através, por exemplo, da produção de SFCAs pelos microorganismos intestinais (7).

No entanto, uma vez que a resposta à dieta é influenciada pela composição da microbiota intestinal, até certo ponto, as respostas serão específicas de indivíduo para indivíduo (41).

12.2. Probióticos e Prebióticos

De um modo geral, remover espécies nocivas através, por exemplo, do uso de antibióticos, é uma das estratégias comprovadas para melhorar a saúde do hospedeiro mas, manipular a microbiota, reforçando espécies de microorganismos benéficas constitui uma abordagem oposta e potencialmente complementar (41). “Probióticos são microorganismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios à saúde do hospedeiro” (41).

E, dado que a microbiota parece desempenhar um importante papel na patogénese da DII, a administração de probióticos como tratamento adjuvante nesta patologia deve ser considerada, pois um dos seus potenciais benefícios é evitar o aumento de terapêutica medicamentosa com agentes potencialmente tóxicos (41,82), através da capacidade da promoção de resistência à colonização, regulação do trânsito intestinal ou normalização da microbiota intestinal alterada (4). Os probióticos apresentam assim, um potencial imunomodulador para combater as condições inflamatórias (82). Alguns mecanismos resultantes da atividade de

probióticos incluem inibição e estimulação química, competição por nutrientes e por recetores de adesão, produção de bacteriocinas produzidas por determinadas estirpes de bactérias e outros produtos de fermentação como acetato, lactato e peróxido de hidrogénio e, ainda, a capacidade de adesão à mucosa intestinal, resistindo desta forma ao peristaltismo (34).

A adição de prebióticos, ingredientes seletivamente fermentados, que contêm oligossacarídeos não digeríveis pelo hospedeiro mas sim por bactérias, como galacto e xilo-oligossacarídeos (GOS e XOS), inulina e lactulose e, que estimulam seletivamente o crescimento e/ou a atividade de um certo número de espécies bacterianas já presentes no intestino (83), poderá ainda aumentar o efeito dos probióticos (41,82), sendo a associação entre prebióticos e probióticos designada por simbiótica (41,44), pois consiste numa adição microbiana viva com um substrato específico para o seu crescimento (44).

Para que os prebióticos possam ser classificados como tal, não podem ser hidrolisados nem absorvidos no trato tubo digestivo, devem incluir fermentação seletiva para um certo número de bactérias benéficas, alterar a composição e induzir efeitos benéficos para a saúde do hospedeiro (83).

Assim, prebióticos aumentam o número de bactérias anaeróbias que são benéficas ao hospedeiro e diminuem o número de agentes potencialmente patogénicos, enquanto os probióticos estimulam mecanismos do sistema imunológico da mucosa intestinal, através da interação com bactérias comensais, e consequente produção de metabolitos como SCFAs (83). As recomendações para administração de probióticos, devem ter em conta determinadas estirpes específicas e os seus benefícios comprovados em estudos com seres humanos, ainda que o seu potencial patogénico seja considerado bastante baixo e, a dose necessária a administrar variar em função da estirpe, embora muitos dos produtos de venda livre forneçam entre 1-10 biliões de UFC/dose (82,83). As preparações com probióticos incluem, por norma, bactérias como *E. coli Nissle*, as bifidobactérias, com efeitos inibitórios contra *salmonellae*, por exemplo, incluem ainda *Lactobacillus*, o *Streptococcus thermophilus* ou o *Saccharomyces boulardii* (82). Particularmente na UC, a utilização de probióticos tem demonstrado eficácia na indução e manutenção da remissão desta patologia, em especial nos estadios leves a moderados. Na DC, não existem tantas evidências quanto aos benefícios da terapêutica com probióticos, o que deverá ser aprofundado (4,44).

No caso da UC, para indução da remissão, as indicações de probióticos e Prebióticos, baseadas em evidências, são misturas de estirpes com *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus delbrueckii*

subsp. bulgaricus, *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium breve* e *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus*, sendo a dose recomendada de 1800 bilhões de 3 bactérias, duas vezes por dia (4).

No entanto, há que considerar que a administração de probióticos em doentes com DII, tem um custo adicional e poderá existir a necessidade da toma ser feita várias vezes por dia, o que poderá pesar na decisão de os utilizar (82).

12.3. Transplante de Microbiota Fecal (FMT)

O transplante fecal ou bacterioterapia fecal consiste numa técnica em que ocorre transplante de microbiota de um doador saudável para um indivíduo doente, com o objetivo de substituir ou reforçar a sua microbiota intestinal (4,5,84). Os doentes podem receber o FMT por via oral, através de cápsulas, sonda nasogástrica ou nasointestinal, procedimentos endoscópicos, enemas de retenção e colonoscopia e, as fezes têm que ser mecanicamente homogeneizadas e rastreadas quanto a agentes patogénicos para poderem ser administradas (84).

Esta técnica parece produzir um efeito benéfico significativo na remissão de doentes com DII (85), particularmente com UC, verificando-se que os indivíduos que recebem este transplante passam a registar um perfil de microbiota semelhante à dos dadores e, desta forma, uma melhoria da qualidade de vida (41,64), particularmente, porque se trata de uma doença crónica e sem cura (85).

Relativamente à utilidade de eventual transplante fecal em doentes com DC esta ainda permanece incerta (41). Atualmente, o tratamento por FMT tem apenas indicação para a colite por *C. difficile*, em pacientes que não respondem à terapêutica padrão, de acordo com a FDA (84).

Ainda assim, existe um risco inerente de introduzir novos agentes patogénicos no indivíduo receptor, pressupondo um maior esforço na identificação e rastreio de dadores adequados ao processo de transplante fecal, para que este possa ser um processo de adoção mais amplo no futuro (55,64,86), sendo necessários estudos adicionais neste sentido (64) e, como se trata de uma terapia emergente, deverá ser administrada em doentes com DII apenas num ambiente de estudo clínico (73). De facto, a FDA, alertou, em Junho de 2019, para o risco potencial de infeções graves causadas por bactérias, potencialmente fatais, com o uso de FMT, causadas por organismos resistentes a diversos fármacos (87).

13. Discussão

A incidência de DII tem vindo a aumentar, de um modo geral, e é provável que a alteração de diversos fatores ambientais afetem a microbiota intestinal humana, contribuindo para a patogénese da DII.

A microbiota intestinal é altamente complexa e, apesar dos inúmeros estudos que existem já sobre este tema, são ainda necessárias diversas pesquisas sobre os mecanismos envolvidos quer no desenvolvimento da microbiota, quer a nível das interações entre o hospedeiro e os microorganismos e, em particular, no papel que estes agentes têm no desenvolvimento de patologias como as DII. É também importante entender a disbiose como causa ou consequência dos processos de inflamação, e explorar melhor não apenas as bactérias, mas também os outros microorganismos constituintes da microbiota intestinal, para que se possam desenvolver diagnósticos, prognósticos e estratégias terapêuticas corretas. A microbiota intestinal como método de diagnóstico representa uma promissora alternativa aos métodos de invasivos de diagnóstico das DII que são usados atualmente.

A modulação da microbiota intestinal parece ser promissora quer como medida de profilaxia quer como terapêutica na DII, assim como uma possível mudança na dieta alimentar poderá ser eficaz isoladamente como tratamento da DII ou como adjuvante de fármacos imunossupressores. No entanto, tendo em conta a variabilidade entre indivíduos no que respeita à composição da microbiota intestinal e à própria variabilidade individual temporal, corroborada por diversos artigos, uma estratégia terapêutica personalizada pode ser necessária para a resolução da disbiose associada à DII, o que é expectável tendo em conta o interesse que tem sido demonstrado mundialmente no estudo da microbiota.

14. Referências Bibliográficas

1. Pina JAE. Anatomia Humana dos Órgãos [Internet]. 2ª Edição. LIDEL; 2017 [cited 2019 May 6]. 688 p. Available from: <https://www.lidel.pt/pt/catalogo/ciencias-fundamentais/anatomia/anatomia-humana-dos-orgaos-2/>
2. Rod R. Seeley, Dr., Cinnamon VanPutte, Andrew F. Russo, Dr. JR. Seeley's Anatomy & Physiology [Internet]. 11th ed. McGraw-Hill Education; 2016 [cited 2019 May 6]. 1264 p. Available from: https://books.google.pt/books/about/Seeley_s_Anatomy_Physiology.html?id=2HxMjwEACAAJ&redir_esc=y
3. Forster SC, Kumar N, Anonye BO, Almeida A, Viciani E, Stares MD, et al. A human gut bacterial genome and culture collection for improved metagenomic analyses. *Nat Biotechnol* [Internet]. 2019;37(2):186–92. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41587-018-0009-7>
4. DiPiro JT, Talbert RL, Yee GC, Matzke GR, Wells BG, Posey LM. *Pharmacotherapy: a pathophysiologic approach*. 9th editio. McGraw-Hill Education; 2014. 2624 p.
5. Nishida A, Inoue R, Inatomi O, Bamba S, Naito Y, Andoh A. Gut microbiota in the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Clin J Gastroenterol* [Internet]. 2018;11(1):1–10. Available from: <https://doi.org/10.1007/s12328-017-0813-5>
6. Frank DN, Amand ALS, Feldman RA, Boedeker EC, Harpaz N, Pace NR. Molecular-phylogenetic characterization of microbial community imbalances in human inflammatory bowel diseases. 2007;
7. Tomasello G, Mazzola M, Leone A, Sinagra E, Zummo G, Farina F, et al. Nutrition, oxidative stress and intestinal dysbiosis: Influence of diet on gut microbiota in inflammatory bowel diseases. *Biomed Pap*. 2016;160(4):461–6.
8. Magro F. REFLEXÕES SOBRE A ETIOPATOGENIA. *Cad Form EM GASTROENTEROLOGIA*. 2007;14(18):78–80.
9. Widmaier EP, Raff H, Strang KT. *Vander's human physiology: the mechanisms of body function*. 38 p.
10. Silverthorn DU. *Fisiologia humana: uma abordagem integrada*. Artmed; 2010. 957 p.

11. Guyton AC, Hall JE (John E. Textbook of medical physiology [Internet]. 11th ed. Hall JE, editor. Elsevier Saunders; 2006 [cited 2019 May 6]. 1116 p. Available from: https://books.google.pt/books/about/Textbook_of_Medical_Physiology.html?id=0mdqAAAAMAAJ&redir_esc=y
12. Shanahan F. The host-microbe interface within the gut. *Bailliere's Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2002;16(6):915–31.
13. Guarner F. Microbiota intestinal y enfermedades inflamatorias del intestino. *Gastroenterol Hepatol*. 2011;34(3):147–54.
14. Clemente JC, Ursell LK, Parfrey LW, Knight R. The impact of the gut microbiota on human health: An integrative view. *Cell* [Internet]. 2012;148(6):1258–70. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2012.01.035>
15. Guarner F. Papel de la flora intestinal en la salud y en la enfermedad. *Nutr Hosp* [Internet]. 2007;22(2):14–9. Available from: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-16112007000500003
16. O'Hara AM, Shanahan F. The gut flora as a forgotten organ. *EMBO Rep* [Internet]. 2006;7(7):688–93. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16819463> <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC1500832>
17. Blaser MJ, Falkow S. What are the consequences of the disappearing human microbiota? *Nat Rev Microbiol* [Internet]. 2009;7(12):887–94. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nrmicro2245>
18. Stürmer ES, Casasola, Samuel; Gall, Maristela Comoretto; Gall MC. A importância dos probióticos na microbiota intestinal humana. *Rev Bras Nutr Clin*. 2012;27(4):264–72.
19. Perez HJ, Menezes ME, D'Acâmpora AJ. Microbiota intestinal: Estado da arte. *Acta Gastroenterológica Latinoam* [Internet]. 2014;44(3). Available from: <http://www.redalyc.org/html/1993/199332403019/>
20. Turnbaugh PJ, Ley RE, Hamady M, Fraser-Liggett CM, Knight R, Gordon JL. The Human Microbiome Project. *Nature* [Internet]. 2007 Oct 17;449:804. Available from: <https://doi.org/10.1038/nature06244>

21. Icaza-Chávez ME. Microbiota intestinal en la salud y la enfermedad. *Rev Gastroenterol México* [Internet]. 2013;78(4):240–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.rgmx.2013.04.004>
22. Peterson DA, Frank DN, Pace NR, Gordon JI. Metagenomic Approaches for Defining the Pathogenesis of Inflammatory Bowel Diseases. *Cell Host Microbe*. 2008;3(6):417–27.
23. Rodríguez JM, Murphy K, Stanton C, Ross RP, Kober OI, Juge N, et al. The composition of the gut microbiota throughout life, with an emphasis on early life. *Microb Ecol Health Dis* [Internet]. 2015;26:26050. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25651996><http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC4315782>
24. Rautava S, Collado MC, Salminen S, Isolauri E. Probiotics modulate host-microbe interaction in the placenta and fetal gut: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Neonatology*. 2012;102(3):178–84.
25. Aagaard K, Ma J, Antony KM, Ganu R, Petrosino J, Versalovic J. The placenta harbors a unique microbiome. *Sci Transl Med*. 2014;6(237).
26. Jiménez E, Marín ML, Martín R, Odriozola JM, Olivares M, Xaus J, et al. Is meconium from healthy newborns actually sterile? *Res Microbiol*. 2008;159(3):187–93.
27. Jiménez E, Fernández L, Marín ML, Martín R, Odriozola JM, Nueno-Palop C, et al. Isolation of commensal bacteria from umbilical cord blood of healthy neonates born by cesarean section. *Curr Microbiol*. 2005;51(4):270–4.
28. Moles L, Gómez M, Heilig H, Bustos G, Fuentes S, de Vos W, et al. Bacterial Diversity in Meconium of Preterm Neonates and Evolution of Their Fecal Microbiota during the First Month of Life. *PLoS One*. 2013;8(6).
29. Dominguez-Bello MG, Costello EK, Contreras M, Magris M, Hidalgo G, Fierer N, et al. Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 2010;107(26):11971–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20566857><http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC2900693>
30. Guittar J, Shade A, Litchman E. Trait-based community assembly and succession of the infant gut microbiome. *Nat Commun* [Internet]. 2019;10(1):512. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41467-019-08377-w>

31. Yolanda DS, Fernández L, Langa S, Martín V, Maldonado A, Jiménez E, et al. The human milk microbiota: Origin and potential roles in health and disease. *Pharmacol Res* [Internet]. 2013;69(1):1–10. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S104366181200165X>
32. Palmer C, Bik EM, DiGiulio DB, Relman DA, Brown PO. Development of the human infant intestinal microbiota. *PLoS Biol*. 2007;5(7):1556–73.
33. Adlerberth I, Wold AE. Establishment of the gut microbiota in Western infants. *Acta Paediatr Int J Paediatr*. 2009;98(2):229–38.
34. Salminen S, Isolauri E. Intestinal colonization, microbiota, and probiotics. *J Pediatr* [Internet]. 2006 Nov 1 [cited 2019 Jun 14];149(5):S115–20. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022347606006238>
35. Tojo R, Suárez A, Clemente MG, De Los Reyes-Gavilán CG, Margolles A, Gueimonde M, et al. Intestinal microbiota in health and disease: Role of bifidobacteria in gut homeostasis. *World J Gastroenterol*. 2014;20(41):15163–76.
36. Lozupone CA, Stombaugh JI, Gordon JI, Jansson JK, Knight R. Diversity, stability and resilience of the human gut microbiota. *Nature*. 2012;489(7415):220–30.
37. Thursby E, Juge N. Introduction to the human gut microbiota. *Biochem J* [Internet]. 2017 Jun 1;474(11):1823 LP – 1836. Available from: <http://www.biochemj.org/content/474/11/1823.abstract>
38. Hollister EB, Gao C, Versalovic J. Compositional and Functional Features of the Gastrointestinal Microbiome and Their Effects on Human Health. *Gastroenterology* [Internet]. 2014;146:1449–58. Available from: <http://0-search.ebscohost.com.library.vu.edu.au/login.aspx?direct=true&db=edselp&AN=S0016508514001437&site=eds-live>
39. Rinninella E, Raoul P, Cintoni M, Franceschi F, Miggiano G, Gasbarrini A, et al. What is the Healthy Gut Microbiota Composition? A Changing Ecosystem across Age, Environment, Diet, and Diseases. *Microorganisms*. 2019;7(1):14.
40. Benson AK, Kelly SA, Legge R, Ma F, Low SJ, Kim J, et al. Individuality in gut microbiota composition is a complex polygenic trait shaped by multiple environmental and host genetic factors. *Proc Natl Acad Sci*. 2010;107(44):18933–8.

41. Walker AW, Lawley TD. Therapeutic modulation of intestinal dysbiosis. *Pharmacol Res* [Internet]. 2013 Mar 1 [cited 2019 Jun 18];69(1):75–86. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1043661812001831>
42. Boulangé CL, Neves AL, Chilloux J, Nicholson JK, Dumas ME. Impact of the gut microbiota on inflammation, obesity, and metabolic disease. *Genome Med* [Internet]. 2016;8(1):1–12. Available from: <http://dx.doi.org/10.1186/s13073-016-0303-2>
43. Ruiz V, Puig Y RM. Microbiota intestinal , sistema inmune y obesidad. *Rev Cuba Investig Biomédicas*. 2010;29(3):364–97.
44. Jandhyala SM, Talukdar R, Subramanyam C, Vuyyuru H, Sasikala M, Reddy DN. Role of the normal gut microbiota. *World J Gastroenterol*. 2015;21(29):8836–47.
45. Round JL, Mazmanian SK. The gut microbiota shapes intestinal immune responses during health and disease. *Nat Rev Immunol* [Internet]. 2009;9(5):313–23. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19343057>
<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC4095778>
46. Thomas CM, Hong T, van Pijkeren JP, Hemarajata P, Trinh D V., Hu W, et al. Histamine derived from probiotic lactobacillus reuteri suppresses tnf via modulation of pka and erk signaling. *PLoS One*. 2012;7(2).
47. Clayton TA, Baker D, Lindon JC, Everett JR, Nicholson JK. Pharmacometabonomic identification of a significant host-microbiome metabolic interaction affecting human drug metabolism. *Proc Natl Acad Sci*. 2009;106(34):14728–33.
48. Hooper L V. Do symbiotic bacteria subvert host immunity? *Nat Rev Microbiol* [Internet]. 2009 May 1;7:367. Available from: <https://doi.org/10.1038/nrmicro2114>
49. K. F, L. L, D. G, W.M. de V, J. R. Metagenomics meets time series analysis: Unraveling microbial community dynamics. *Curr Opin Microbiol* [Internet]. 2015;25:56–66. Available from: <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-84931265628&partnerID=40&md5=f17441869ccbef2b8acb1ddee5073633>
50. Singh RK, Chang H-W, Yan D, Lee KM, Ucmak D, Wong K, et al. Influence of

- diet on the gut microbiome and implications for human health. *J Transl Med* [Internet]. 2017;15(1):73. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28388917><http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC5385025>
51. Carding S, Verbeke K, Vipond DT, Corfe BM, Owen LJ. Dysbiosis of the gut microbiota in disease. *Microb Ecol Health Dis* [Internet]. 2015;26:26191. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25651997><http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC4315779>
 52. Hawrelak JA, Hons B, Myers SP. The Causes of intestinal dysbiosis: A review. 2004;9(2):180–97.
 53. Smillie CS, Smith MB, Friedman J, Cordero OX, David LA, Alm EJ. Ecology drives a global network of gene exchange connecting the human microbiome. *Nature*. 2011;480(7376):241–4.
 54. Lizko NN. Stress and intestinal microflora. *Food / Nahrung*. 1987;31(5–6):443–7.
 55. Freire P. Abordagem terapêutica na doença inflamatória do intestino: Desafios. *Rev Port Coloproctol*. 2018;11.
 56. Bosani M, Ardizzone S, Porro GB. Biologic targeting in the treatment of inflammatory bowel diseases.[Retraction in *Biologics*. 2014;8:39; PMID: 24501538]. *Biologics* [Internet]. 2009;3:77–97. Available from: <http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&CSC=Y&NEWS=N&PAGE=fulltext&D=pem&AN=19707398>
 57. Pinho M. A Biologia molecular das doenças inflamatórias intestinais. *Rev Bras Coloproctol* [Internet]. 2008 Mar [cited 2019 Jun 25];28(1):119–23. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-98802008000100018&lng=pt&tlng=pt
 58. Rutgeerts P, Vermeire S, Van Assche G. Biological Therapies for Inflammatory Bowel Diseases. *Gastroenterology* [Internet]. 2009 Apr [cited 2019 Jul 1];136(4):1182–97. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19249397>
 59. BIONDO-SIMÕES MDLP, MANDELLI KK, PEREIRA MAC, FATURI JL. Opções Terapeuticas Para As Doenças Inflamatorias. *Rev Bras Coloproctol*. 2003;

60. Treuren W Van, Ren B, Gevers D, Kugathasan S, Denson LA, Va Y, et al. The Treatment-Naive Microbiome in New-Onset Crohn's Disease. 2014;382–92.
61. DIREÇÃO-GERAL DA SAÚDE. Norma DGS nº 068/2011 de 30/12/2011. 2012;21. Available from: <https://www.dgs.pt/directrizes-da-dgs/.../norma-n-0682011-de-30122011-jpg.aspx>
62. Gomollón F, Dignass A, Annese V, Tilg H, Van Assche G, Lindsay JO, et al. 3rd European evidence-based consensus on the diagnosis and management of Crohn's disease 2016: Part 1: Diagnosis and medical management. *J Crohn's Colitis*. 2017;11(1):3–25.
63. Buttó LF. Dysbiosis in intestinal inflammation: Cause or consequence. *Int J Med Microbiol [Internet]*. 2016 Aug 1 [cited 2019 Jun 19];306(5):302–9. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1438422116300157>
64. Sartor RB, Wu GD. Roles for Intestinal Bacteria, Viruses, and Fungi in Pathogenesis of Inflammatory Bowel Diseases and Therapeutic Approaches. *Gastroenterology [Internet]*. 2017 Jan 1 [cited 2019 Jul 3];152(2):327–39. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0016508516352350>
65. Tamboli CP. Dysbiosis in inflammatory bowel disease. *Gut*. 2003;53(1):1–4.
66. Lopez-siles M, Martinez-medina M, Abellà C, Busquets D, Sabat-mir M, Duncan SH, et al. Mucosa-Associated Faecalibacterium prausnitzii Phylotype Richness Is Reduced in Patients with Inflammatory Bowel Disease *Mireia*. 2015;81(21):7582–92.
67. Eckburg PB, Bik EM, Bernstein CN, Purdom E, Dethlefsen L, Sargent M, et al. Diversity of the Human Intestinal Microbial Flora. 2005;(June):1635–9.
68. Matsuoka K, Kanai T. The gut microbiota and inflammatory bowel disease. *Semin Immunopathol*. 2015;37(1):47–55.
69. Jostins L, Ripke S, Weersma RK, Duerr RH, McGovern DP, Hui KY, et al. Host–microbe interactions have shaped the genetic architecture of inflammatory bowel disease. *Nature [Internet]*. 2012 Oct 31;491:119. Available from: <https://doi.org/10.1038/nature11582>
70. Lees CW, Barrett JC, Parkes M, Satsangi J. New IBD genetics: Common pathways with other diseases. *Gut*. 2011;60(12):1739–53.

71. Hoarau G, Mukherjee PK, Gower-Rousseau C, Hager C, Chandra J, Retuerto MA, et al. Bacteriome and Mycobiome Interactions Underscore Microbial Dysbiosis in Familial Crohn's Disease. Bonomo RA, editor. MBio [Internet]. 2016 Nov 2;7(5):e01250-16. Available from: <http://mbio.asm.org/content/7/5/e01250-16.abstract>
72. Norman JM, Handley S a, Parkes M, Virgin HW, Norman JM, Handley S a, et al. Disease-Specific Alterations in the Enteric Virome. Cell [Internet]. 2015;160(3):447–60. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2015.01.002>
73. Knox NC, Forbes JD, Van Domselaar G, Bernstein CN. The Gut Microbiome as a Target for IBD Treatment: Are We There Yet? Curr Treat Options Gastroenterol. 2019;17(1):115–26.
74. Bernstein C, Eliakim A, Fedail S, Fried M, Geary R, Goh K-L, et al. Doença inflamatória intestinal. World Gastroenterol Organ Pract Guidel [Internet]. 2015;21(6):38. Available from: <http://www.worldgastroenterology.org/UserFiles/file/guidelines/inflammatory-bowel-disease-portuguese-2015.pdf>
75. Guandalini S. Update on the role of probiotics in the therapy of pediatric inflammatory bowel disease. Expert Rev Clin Immunol [Internet]. 2010 Jan [cited 2019 Jul 1];6(1):47–54. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20383890>
76. Albenberg LG, Wu GD. Diet and the intestinal microbiome: associations, functions, and implications for health and disease. Gastroenterology [Internet]. 2014;146(6):1564–72. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24503132>
<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC4216184>
77. Yu ZT, Chen C, Kling DE, Liu B, McCoy JM, Merighi M, et al. The principal fucosylated oligosaccharides of human milk exhibit prebiotic properties on cultured infant microbiota. Glycobiology. 2013;23(2):169–77.
78. Bezirtzoglou E, Tsiotsias A, Welling GW. Microbiota profile in feces of breast- and formula-fed newborns by using fluorescence in situ hybridization (FISH). Anaerobe. 2011;17(6):478–82.
79. David LA, Maurice CF, Carmody RN, Gootenberg DB, Button JE, Wolfe BE, et al. Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome. Nature

- [Internet]. 2014;505(7484):559–63. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24336217><http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC3957428>
80. De Filippo C, Cavalieri D, Di Paola M, Ramazzotti M, Poullet JB, Massart S, et al. Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 2010;107(33):14691–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20679230><http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC2930426>
 81. Tomasello G, Abruzzo A, Sinagra E, Damiani P, Damiani F, Traina G, et al. Nutrition in IBD patient's: What are the prospects? *Prog Nutr*. 2015;17:79–86.
 82. Guarner F, Sanders ME, Eliakim R, Fedorak R, Gangl A, James G, et al. Probióticos e prebióticos - Diretrizes Mundiais da Organização Mundial de Gastroenterologia. *World Gastroenterol Organ*. 2017;35.
 83. Fooks LJ, Gibson GR. Probiotics as modulators of the gut flora. *Br J Nutr*. 2002;88(S1):s39–49.
 84. Joseph J, Saha S, Greenberg-Worisek AJ. Fecal Microbiota Transplantation: An Ambiguous Translational Pathway for a Promising Treatment. *Clin Transl Sci*. 2019;12(3):206–8.
 85. Wei Y, Zhu W, Gong J, Guo D, Gu L, Li N, et al. Fecal Microbiota Transplantation Improves the Quality of Life in Patients with Inflammatory Bowel Disease. *Gastroenterol Res Pract*. 2015;2015(September 2013):1–5.
 86. Chehoud C, Dryga A, Hwang Y, Nagy-Szakal D, Hollister EB, Luna RA, et al. Transfer of Viral Communities between Human Individuals during. *MBio* [Internet]. 2016;7(2):1–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27025251><http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC4817255>
 87. Important Safety Alert Regarding Use of Fecal Microbiota for Transplantation and Risk of Serious Adverse Reactions Due to Transmission of Multi-Drug Resistant Organisms | FDA [Internet]. FDA - Safety & Availability (Biologics). 2019 [cited 2019 Jul 3]. Available from: <https://www.fda.gov/vaccines-blood-biologics/safety-availability-biologics/important-safety-alert-regarding-use-fecal-microbiota-transplantation-and-risk-serious-adverse>