

Universidade de Lisboa

Faculdade de Farmácia



O Microbioma na Doença Inflamatória Intestinal

Joana Morais Rodrigues Ferreira da Silva

Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

2019

Universidade de Lisboa
Faculdade de Farmácia



O Microbioma na Doença Inflamatória Intestinal

Joana Morais Rodrigues Ferreira da Silva

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

**Orientador: Professora Doutora Maria Henriques Ribeiro,
Professora Associada**

2019

Resumo

A doença inflamatória intestinal é a terminologia que engloba patologias inflamatórias crônicas, idiopáticas, no trato gastro-intestinal inferior, nomeadamente, intestino delgado e grosso. Pode ser diferenciada em doença de Crohn e colite ulcerosa. Apesar de não existir um mecanismo fisiopatológico bem caracterizado nem uma causalidade definida, atualmente sabe-se que é uma patologia multifactorial. Assim sendo, a doença inflamatória intestinal resulta de complexos fatores como predisposição genética e ambiental, desregulação imunológica e um desequilíbrio dos microorganismos intestinais. Cada vez mais é reconhecida uma forte e estreita relação entre a microbiota intestinal e diversas patologias, inclusive esta.

A microbiota intestinal humana é o conjunto de diferentes microrganismos que constituem o ecossistema intestinal. A maioria desses são bactérias e sabe-se que a sua morte, sobrevivência e desenvolvimento são influenciados por fatores como dieta, antibióticos, probióticos e prebióticos. Uma vez que a microbiota intestinal é um dos factores propícios ao desenvolvimento destas doenças inflamatórias, é importante entender as diferenças do microbioma nos indivíduos saudáveis e comparar com os indivíduos que sofrem de doença inflamatória intestinal. Para isso recorre-se a análises metagenómicas, metataxonómicas, metabolômicas, etc. Conclui-se que existe uma relação entre uma maior biodiversidade do microbioma e a normal dinâmica imunológica no intestino, não existindo um só microorganismo específico que cause ou que possa por si só regularizar a flora, pelo contrário, associações de espécies identificam-se como desencadeadores de resposta se em concentrações propícias. Contudo, evidenciou-se que determinadas bactérias como *Faecalibacterium* e *Bacteroidetes* funcionam como auxiliares da regularização, diminuindo a inflamação devido, essencialmente, aos ácidos gordos de cadeia curta que inibem a progressão de mediadores inflamatórios. Numa época, onde há lacunas a nível das ferramentas farmacotecnológicas no combate a infecções, a área de desenvolvimento e conhecimento dos metabolitos sintetizados por microrganismos pode ser uma nova área de desenvolvimento.

Palavras-chave: Doença intestinal inflamatória, microbiota, imunidade, inflamação

Abstract

An inflammatory bowel disease is the terminology that includes chronic inflammatory conditions, idiopathic, in the lower gastrointestinal tract, namely, small and large intestine. It can be differentiated into Crohn's disease and ulcerative colitis. Although there is no well-characterized pathophysiological mechanism or definite causality, it is known to be multifactorial. Having said that, inflammatory bowel disease results from complex factors such as genetic and environmental predisposition, immune dysregulation and an imbalance of intestinal microorganisms. After all, the human intestinal microbiota is the set of different microorganisms that make up the intestinal ecosystem. And most of these are bacteria and their death, survival and development are known to be influenced by factors such as diet, antibiotics, probiotics and prebiotics. Since the intestinal microbiota is one of the most important factors to the development of these inflammatory diseases, it is important to understand the differences of the microbiome in healthy individuals and compare it with individuals suffering from inflammatory bowel disease. For that it is used metagenomic, metataxonomic, metabolomic analyzes, etc. We can conclude that there is a relationship between greater microbiome biodiversity and normal immune dynamics in the gut. Since there is not one specific microorganism that causes or can regulate on its own the flora. On the contrary, combinations of strains are identified as triggers if in favorable concentrations. However, it has been shown that certain bacteria such as *Faecalibacterium* and *Bacteroidetes* work as regularization aid by decreasing inflammation due to short chain fatty acids that inhibit the progression of inflammatory. In short, at a time when less pharmacotechnological tools exist to fight infections the development knowledge of metabolites synthesized by microorganisms may be a new area of development.

Keywords: Inflammatory bowel disease, microbiota, immunity, inflammation

Agradecimentos

A Deus, por tudo, desde sempre, para sempre.

Agradeço ao meu Pai que me proporcionou todo o conforto, a calma, a tolerância e o amor ao longo dos meus anos académicos. Por ser um exemplo para mim. Sem dúvida que o meu sucesso também é dele.

À minha Mãe e ao meu Irmão pela compreensão de nem sempre estar presente e de todos os ensinamentos que me deram ao longo da vida.

Ao Nuno, o meu motivador pessoal, que esteve comigo nos bons e maus momentos, que puxou por mim quando já não havia forças, que ralhou quando era preciso mas sempre me abraçava quando me estava a ir abaixo. A tua ajuda foi essencial. Obrigada por teres cuidado de mim, és o melhor do mundo.

À Farmácia Uruguai por ser um exemplo de excelência no atendimento e cuidado farmacêutico. Agradeço por me terem recebido tão simpaticamente e, posteriormente, me terem abraçado. A todos, sem exceção. À minha orientadora Marta, pela flexibilidade, auxílio e sorriso. À Dra. Paula e Helena pelo voto de confiança. A todos na receção pela simpatia e amizade. À Anette pelos abraços. E, a todos os restantes, sem exceção, pelas conversas, sorrisos, desabafos, mas, acima de tudo amor.

À Professora Doutora Maria Henriques Ribeiro pela sua presença e orientação, e por me ter aceitado neste tema que tanto me diz.

Por fim, à Faculdade de Farmácia da Universidade de Lisboa que não só me ensinou a nível intelectual e científico mas também pessoal: saio desta fábrica de farmacêuticos com a expectativa de ser melhor profissional mas certamente melhor pessoa e mais preparada para encarar as dificuldades e adversidades.

Abreviaturas

5-ASA	Ácido 5 – aminossalicílico
AB	Ácido biliar
Ag	Antigénio
AGCC	Ácidos gordos de cadeia curta
AIEC	<i>E.coli</i> invasiva aderente
CCR	Cancro do colón e reto
CD	Células dendríticas
CU	Colite Ulcerosa
DC	Doença de Crohn
DII	Doença inflamatória intestinal
FMT	Transporte de microbiota fecal
FOS	Fruto-oligossacarídeos
FXR	Farnesoid X receptor
GF	Germ free
HF	Alto teor de gordura
HSB	Hidrolase de sais biliares
ICD	Infeção por <i>Clostridium difficile</i>
IFN	Interferão
IgA	Imunoglobulina A
IL	Interleucina
Ly	Linfócito
MF	Microbiota fecal
MMP	Metaloproteinases da matriz
NF-KB	Fator nuclear Kappa B
NK	Células Natural killer
NLR	NOD like receptor
NOD	Nucleotide-binding and oligomerization domain
PAMP	Padrões moleculares associados a agentes patogénicos

PRR	Recetor de Reconhecimento de Padrões
PSA	Polisacarídeo A
sTNF	TNF solúvel
TNF	Factor de necrose tumoral
TGF	Transforming Growth Factor
TGI	Trato gastro-intestinal
TGR5	Transmembrane G-protein-coupled receptor
tmTNF	Percursor transmembranar TNF
Th	Células T helper

Índice

1	Introdução	1
2	Objectivo da Investigação	1
3	Métodos de Investigação.....	1
4	Doença inflamatória intestinal.....	2
4.1	Fisiopatologia e manifestações clínicas.....	2
4.1.1	Doença de Crohn.....	2
4.1.2	Colite Ulcerosa.....	2
4.2	Epidemiologia	3
4.3	Etiologia.....	4
4.3.1	Genética	4
4.3.2	Imunidade	5
4.3.3	Microbiota.....	7
4.4	Terapêutica farmacológica.....	7
4.4.1	Aminossalicilatos	7
4.4.2	Corticosteróides	8
4.4.3	Imunossupressores	8
4.4.4	Terapêutica biológica	9
5	Microbiota.....	10
5.1	Composição e diversidade	10
5.2	Evolução da microbiota intestinal	12
5.3	Importância da microbiota e dos seus metabolitos	13
5.3.1	Hidrolases de sais biliares.....	13
5.3.2	Bacteriocinas.....	14
5.3.3	Vitaminas.....	14
5.3.4	Ácidos gordos de cadeia curta	15
5.4	Microbiota na DII.....	15
5.5	Factores que alteram a microbiota	18
5.5.1	Antibióticos.....	18
5.5.2	Transporte fecal da microbiota	19

5.5.3	Alimentação	19
5.5.4	Probióticos e prébióticos	21
6	Conclusão	22
	Referências.....	23

1 Introdução

As Doenças Inflamatórias Intestinais (DII) incluem a Doença de Crohn (DC) e a Colite Ulcerosa (CU) que, apesar de não terem a sua etiologia e fisiopatologia bem conhecidas, é amplamente aceite que resultem de uma resposta imunológica desregulada num hospedeiro geneticamente susceptível. (1) (2)

Ao longo do tempo houve um crescente interesse por conhecer a microbiota intestinal e como esta influencia a DII. A diversidade e avanço de recursos científicos associados à avaliação da microbiota, nomeadamente a técnica de sequenciamento do ARN ribossómico 16S, permitiu amplificar e sequenciar genes e classificar microorganismos de modo a entender melhor a distribuição de bactérias, vírus e fungos na flora intestinal. Foi necessário um maior aprofundamento do entendimento da microbiota e por isso técnicas metagenómicas e metatranscriptómicas foram utilizadas visando entender quais os metabólitos e proteínas que os genes sintetizam e qual a sua importância para a disbiose e consequentemente para a DII. (1-3)

2 Objectivo da Investigação

O objectivo desta monografia foi abordar os aspectos etiológicos, fisiopatológicos e as terapias atuais da Doença inflamatória intestinal e entender a sua relação com a microbiota intestinal. Posteriormente, rever se essa relação é suficientemente forte e causal para servir de base a novas terapêuticas eficientes ou adjuvantes para a DII.

3 Métodos de Investigação

Esta monografia é um estudo descritivo de análise da literatura com base na revisão de artigos científicos e de manuais de farmacoterapia, farmacologia e imunologia médica. A análise bibliográfica dos artigos baseou-se na pesquisa e seleção de bases de dados internacionais como o Pubmed, Google Scholar, Nature, Gastroenterology Journal, Science Direct, Scientific Electronic Library Online (Scielo) e Frontiers in Microbiology.

Os principais termos pesquisados (tanto na língua portuguesa como na língua inglesa) foram os seguintes: “doença inflamatória intestinal”, “colite ulcerosa”, “doença de crohn”, “microbiota”, “microbioma”, “disbiose”, “transplante da microbiota fecal”, “terapêutica na DII”, “epidemiologia da DII” e “Microbiota e DII”.

Como critérios de inclusão dos artigos em análise considerou-se os artigos publicados depois de 2004 inclusive, quer em língua inglesa ou portuguesa. Contudo, deu-se preferência por artigos mais recentes com data superior ou igual a 2015.

4 Doença inflamatória intestinal

A Doença Inflamatória Intestinal (DII) é uma doença multifactorial do trato gastrointestinal (TGI) com apresentação inflamatória idiopática e crónica. Tanto a Doença de Crohn (DC) como a Colite Ulcerosa (CU) são consideradas doenças inflamatórias intestinais. Apesar de apresentarem características patológicas semelhantes, respostas positivas às mesmas classes farmacológicas assim como nos sintomas, existem diferenças entre si tanto a nível genético, imunológico como fisiopatológico. (4)

4.1 Fisiopatologia e manifestações clínicas

4.1.1 Doença de Crohn

A DC pode apresentar-se em diversas áreas do TGI, contudo, a região do íleo terminal é a mais frequente. As lesões são transmurais descontínuas. Nas zonas ativas da inflamação observam-se infiltrados de linfócitos e macrófagos. Encontram-se com frequência achados histológicos como ulceração, estenoses, abscessos e fístulas. (5) (6) (7)

Os sintomas na DC são dor, desconforto abdominal e perianal, perda de peso, febre e diarreia. A DC apresenta anticorpos anti-Saccaromyces cerevisiae como marcadores sorológicos. (5) (6) (7)

Apresenta resposta inflamatória marcada por Th1 e Th17 com produção exagerada de IL-12 e IFN- γ . (8) Adicionalmente, observa-se uma redução da atividade das Th reg. (9)

4.1.2 Colite Ulcerosa

Ao contrário da DC, a CU localiza-se mais frequentemente no reto e cólon com lesões intestinais contínuas. Restringe-se às camadas histológicas mais superficiais do cólon com infiltrados de linfócitos e neutrófilos. As características histológicas são edema, aumento da fragilidade da mucosa, ulceração, abscessos e alteração da estrutura das criptas. (5) (6) (7) Observa-se frequentemente a presença de anticorpos citoplasmáticos anti-neutrófilos. (7)

Os sintomas da CU são dor abdominal, diarreia, tenesmo assim como sangramento retal recorrente. Com o contínuo comprometimento do cólon pode desenvolver-se megacólon tóxico. A probabilidade de desenvolver cancro do cólon e reto (CCR) em doentes com CU é maior do que em indivíduos sem esta patologia. (8)

Na CU verifica-se uma resposta inflamatória exacerbada mediada por Th2 com produção de IL-5. Paralelamente, um aumento de IL-13, produzida pelas NK, e IL-4. (8)

A intensidade dos sintomas varia consoante a gravidade da doença. Associado a estas patologias, muitas vezes observa-se manifestações extra-intestinais como artrite, doença inflamatória ocular, doenças de pele, osteoporose, fraturas e doença tromboembólica venosa idênticas tanto na CU quanto na DC. (4) Adicionalmente, para diagnóstico diferenciado, complementa-se a história clínica e a sintomatologia com as análises bioquímicas, endoscopias e colonoscopias com biópsias. (5)

4.2 Epidemiologia

A DII é atualmente uma doença mundial. Observa-se uma incidência continuamente acelerada associada à industrialização. (10) (13) (17) Ainda hoje os países com maior prevalência da DII são os mais industrializados, nomeadamente o norte da Europa e América do Norte, em comparação com os em vias de desenvolvimento. (10) (11) (12) (14)

A DC e a CU são importantes problemas de saúde a nível mundial. Com uma maior incidência e prevalência na Europa. A incidência europeia para a DC e CU é de 12,7 e 24,3 por 100.000 pessoas/ano, respectivamente, e prevalência de 322 por 100.000 europeus/ano para DC e 505 por 100.000 europeus/ano para a CU. (19)

A DII pode atingir todas as idades. Contudo, a DC mostra dois picos etários dos 15 aos 20 anos e dos 50 aos 70 anos, enquanto na CU nota-se um maior pico de diagnóstico na juventude. (14)

Os dados epidemiológicos da DII em Portugal são escassos. No entanto, sabe-se que a prevalência desta doença aumentou de 86 casos em 100.000 pessoas em 2003 para 146 em 100.000 pessoas em 2007. As regiões mais afectadas foram Lisboa e Porto (173 e 163 por 100.000 em 2007, respectivamente). A prevalência aumentou de 42 e 43 por 100.000 em 2003 para 71 e 73 em 2007, respectivamente para CU e DC. Em 2007, a prevalência foi maior no estrato de 40-64 anos para CU (99 por 100.000) e no estrato de 17-39 para DC. (15) (16) A prevalência e incidência são semelhantes tanto nos homens quanto nas mulheres. (10) (14) Em 2018 foi estimado o valor anual de US \$1.28 biliões em custos médicos no Canadá para a DII, o equivalente a US \$ 4371 por pessoa num ano. (10)

Estimando os custos para os sistemas de saúde juntamente com os valores de incidência e prevalência, existe a necessidade da rápida procura de mais informação sobre a prevenção e o tratamento das DII. (10) (13)

4.3 Etiologia

Apesar de não se conhecer exatamente a origem da DII, é aceite que a doença é caracterizada por processos inflamatórios exacerbados num hospedeiro geneticamente suscetível e praticante de hábitos de risco que promovam a disbiose intestinal. (18) (24)

4.3.1 Genética

A componente genética é amplamente reconhecida como um dos pilares da DII. Estudos genéticos com famílias e sobretudo com gémeos fazem parte dessas evidências. (20) (24)

Um indivíduo com parentes já diagnosticados com uma das DII tem um risco de 8 a 10 vezes maior de desenvolver CU ou DC. E, mais importante, existe de facto uma concordância entre gémeos. (18)

Em 2008 observou-se que gémeos monozigóticos com DC têm uma concordância de 30-35%, enquanto aqueles com CU têm um de apenas 10-15%. (21)

Devido ao rápido desenvolvimento dos testes genéticos, existe hoje a possibilidade de entender um pouco melhor a associação destes com o aparecimento da doença. Um dos grandes estudos genéticos identificou 163 locais de susceptibilidade genética para DII. Observou-se 110 locais genéticos aumentados para o risco de desenvolvimento de ambas as patologias enquanto apenas 30 e 23 locais eram exclusivos de DC e CU respectivamente. (20) (24)

Alguns genes relacionados com a DII são o NOD2 que auxilia na detecção de antígenos e genes IL23R da via IL-23 intimamente relacionados com a diferenciação dos linfócitos Th17. Adicionalmente, há ainda os ATG16L1 e IRGM, considerados genes da autofagia. (22)

Com relação à predisposição genética do paciente, existem evidências sugerindo que indivíduos que apresentam mutações em alguns dos genes envolvidos na resposta imune podem ser mais propensos à ativação via NF- κ B levando à superprodução de citocinas pró-inflamatórias como IL-1b, IL- 6, IL-8 e TNF. (23)

Apesar destes estudos genéticos nos darem bastante informação, também nos esclarecem que os factores genéticos são apenas uma parte da etiologia da DII. Podendo, por isso, afirmar que um indivíduo que apresente estes locais genéticos têm maior suscetibilidade de sofrer de DII mas que também outros fatores condicionam o desenvolvimento para a patologia. (24)

4.3.2 Imunidade

Dentro da resposta imunológica intestinal pode-se distinguir a Inata e a Adquirida. (25) A primeira é mais rápida e é mediada por macrófagos, neutrófilos, células dendríticas (CD) e células *Natural Killer* (NK). O processo inflamatório que ocorre no intestino é mediado por PRRs (receptores de reconhecimento de padrão) presentes em diversas células como macrófagos, neutrófilos, Células Dendríticas (CD) e enterócitos. Os PRRs são por exemplo os TLR (*toll-like receptors*) assim como os NLR (*nod-like receptors*) que reconhecem PAMPs (Padrões Moleculares Associados a Patógenos). Estas estruturas de reconhecimento da imunidade inata são importantíssimas pois podem discriminar entre bactérias comensais e patogênicas para além de apresentarem os antígenos (Ag) aos LyT0 que, por conseguinte, iniciam a resposta adquirida, levando à diferenciação dos LyT e estimulação dos LyB com a produção de IgA. (26) (27) (28)

Em pacientes com DII, tanto as CD da mucosa quanto os macrófagos apresentam uma expressão aumentada de recetores como TLR2, TLR4, CD40 os quais contribuem e promovem a inflamação, induzindo a maior produção de citocinas pró-inflamatórias, como TNF, IL-1 β , IL- 6 e IL-18. (29)

A apresentação de Ag aos LyT0 leva à produção de mediadores como citocinas que medeiam a diferenciação em subpopulações celulares com diferentes funções. (29)

Os LyT Helper Th1, Th2 e Th17 são pró-inflamatórias enquanto os Ly Th reg com fenótipo CD4+ e CD25+ Foxp3+ são anti-inflamatórios. Enquanto as pró-inflamatórias levam à estimulação da resposta imunológica, aumentando a inflamação, as anti-inflamatórias visam a tolerância imunológica. Esta última é fundamental para que não seja despoletado uma resposta inflamatória contra partículas provenientes da alimentação ou bactérias comensais. (30)

A sinalização PRR-PAMP é também responsável por processos de ativação de vias de produção de substâncias que reforçam a barreira da mucosa como mucinas, AMPs(proteínas antimicrobianas) e IgA. (28)

Entre as citocinas pró-inflamatórias, o TNF, secretado por várias populações de células, incluindo macrófagos, LyT, CD e fibroblastos, tem sido um dos focos principais. Essa citocina amplifica e mantém a cronicidade da DII por induzir neoangiogénese, ativar macrófagos para produzir citocinas pró-inflamatórias, aumenta a apoptose das células epiteliais intestinais, regula a apoptose de células T e reduz a produção de inibidor tecidual de metaloproteinases da matriz (MMPs) por fibroblastos para mediar a lesão tecidual via MMPs ativadas. (25) (32)

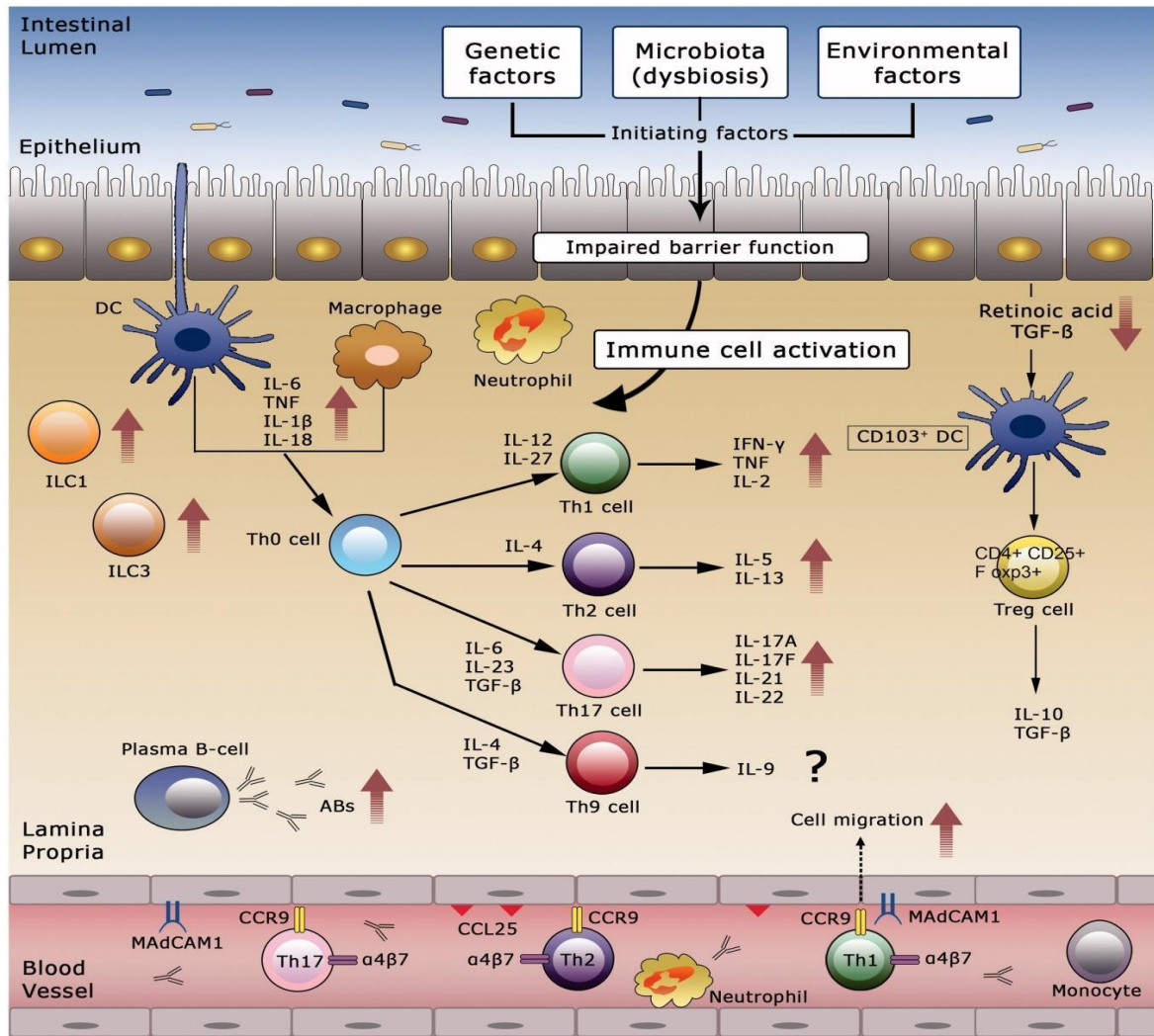


Figura I - Imunopatogênese na DII: Mediadores celulares e moleculares da inflamação no Intestino (25)

Tal como se observa na Figura I, os Ly Th1 diferenciam-se a partir dos Ly T0 por estimulação de IL-12 e IL-27, com subsequente indução de fatores de transcrição de superfície como T-bet e STAT-4, e são caracterizadas pela secreção de IFN- γ , TNF e IL-2. Os Ly Th2, por outro lado, diferenciam-se sob a influência de IL-4 e expressam fatores de transcrição como proteína 3 de ligação a GATA (GATA-3) e STAT6. Os Ly Th2 são caracterizados pela secreção de IL-4, IL-5 e IL-13. Os Ly Th1 e Th2 são linhagens terminais estáveis e diferenciadas que se regulam cruzadamente pela secreção de citocinas. O IFN- γ secretado pelos LyTh1 reprime a proliferação dos Ly Th2, enquanto o IL-4 secretado pelas Ly Th2 antagoniza a diferenciação celular Th1. O desequilíbrio imunológico dos subconjuntos Th1 e Th2 demonstrou desempenhar um papel importante no desenvolvimento da DII. (25)

Fundamentalmente, é essencial que haja um equilíbrio entre Th reg e Th-1/Th-2/Th-17 de modo a impedir a cronicidade da inflamação mas que esta resposta seja efectiva quando necessário.

4.3.3 Microbiota

Sendo o intestino humano amplamente colonizado por bactérias comensais é importante que haja um equilíbrio entre os mecanismos inflamatórios e os de tolerância mediados por células e citocinas pró-inflamatórias e anti-inflamatórias, respetivamente. Processos de tolerância são também intrínsecos ao próprio intestino, uma vez que os macrófagos intestinais, contrariamente aos periféricos, não libertam citocinas pró-inflamatórias. A sua ação bacteriostática baseia-se no reconhecimento e fagocitose. (25) (33)

Paralelamente, a própria microbiota têm a capacidade de influenciar este balanço através da estimulação da diferenciação dos LyT helper em Th17 ou Threg. Isto é, diferentes bactérias são capazes de estimular a síntese de diferentes células o que, mais uma vez, reflete a importância da diversidade e equilíbrio microbiano. (34) (35)

Alguns microrganismos patogénicos como *Bacteroides fragilis* conseguem aliviar a inflamação intestinal através da estimulação da produção de LyT reg como estratégia para sobreviver e proliferar. (36)

A bactéria gram negativa *B. fragilis* apresenta na sua cápsula um polissacarídeo A(PSA). Este, quando reconhecido pelos LyT CD4+ induz a diferenciação em Th reg Foxp3+, estimulando a produção de IL-10 (citocina anti-inflamatória) suprimindo a resposta pró-inflamatória do Th17. (36) (37) (38)

Observou-se que o tratamento com PSA pode prevenir e melhorar bastante a colite. (36)

4.4 Terapêutica farmacológica

Uma vez que a fisiopatologia da DII ainda não está totalmente esclarecida, é normal que não haja uma cura concreta.

O tratamento atual da DII foca-se na redução da inflamação, diminuindo a proliferação e atividade de células pró-inflamatória. Fundamentalmente, o arsenal terapêutico moderno compreende aminossalicilatos, corticosteróides, imunossuppressores/imunomoduladores como tiopurinas e metotrexato e anticorpos monoclonais. (40)

Este trabalho foca-se principalmente na relação da DII com a microbiota, pelo que apenas se focará nas capacidades dos medicamentos inibirem mecanismos de inflamação ou estimularem regulação imunológica.

4.4.1 Aminossalicilatos

Vários mecanismos de ação para os 5-ASA (ácido 5-aminossalicílico) foram propostos, incluindo inibição do efeito pró-inflamatório do TNF- α nas células imunológicas da mucosa com redução da produção local de prostaglandinas e leucotrienos, supressão da produção de citocinas pró-inflamatórias e radicais livres de oxigénio, bloqueio da quimiotaxia de neutrófilos, ativação de mastócitos e comprometimento da função nuclear por ativação do fator κ B (NF- κ B) nas células imunes. (32) (41)

Foi observada, com a utilização 5 - ASA, uma redução na produção local de citocinas na mucosa intestinal, incluindo a redução de IL - 1 β , IL - 2 e IFN - γ . (32) (42) Mais recentemente, foi relatado que o 5 - ASA é um forte agonista da família de receptores PPAR - γ , inibindo a expressão de IL - 1 β e TNF - α , além de várias quimiocinas e moléculas de adesão envolvidas no processo inflamatório. Além disso, o PPAR - γ reduz a proliferação mucosa de células inflamatórias provavelmente induzindo apoptose. (32) (42)

4.4.2 Corticosteróides

Os corticosteróides ligam-se a um receptor citosólico específico, seguido da translocação do complexo para o núcleo, para ativar ou reprimir a transcrição de genes. Além disso, o complexo receptor pode inativar fatores de transcrição pró-inflamatória, como NF- κ B e proteína ativadora 1, por meio de interações proteína-proteína, impedindo a ativação de mediadores inflamatórios (por exemplo, leucotrienos e citocinas como IL-1 e IL-6). (32) (42)

O complexo corticosteróide / receptor também inibe competitivamente os co-ativadores pró-inflamatórios no núcleo celular. Todos esses mecanismos de regulação negativa levam à expressão reduzida de citocinas, como IFN- γ e TNF- α . (32) (42)

4.4.3 Imunossupressores

Os medicamentos imunossupressores clássicos incluem a azatioprina, metotrexato, ciclosporina A e tacrolimus.

Tiopurinas

O efeito das tiopurinas (azatioprina e 6-mercaptopurina) é atribuído às ações do metabolito 6-tioguanina, que substitui a guanina no ADN das células em proliferação, suprimindo a proliferação de leucócitos e linfócitos tanto na medula óssea quanto no tecido linfático.

O metabolito 6-tioguanina-trifosfato (6-TGTP) bloqueia a sinalização Racl mediada pelo CD28 dos Ly, levando à apoptose dos Ly T especificamente ativados por um Ag, enquanto Ly T inativos sem Ag não são afetadas. (32) (42)

Metotrexato

O principal mecanismo do metotrexato é a inibição intracelular do metabolismo do ácido fólico levando a uma redução da conversão de homocisteína em metionina, suprimindo assim a replicação do DNA. (42)

Além disso, o metotrexato afeta a sobrevivência dos Ly T por inibir a proliferação celular e indução da apoptose. Esse medicamento também aumenta a liberação endógena de adenosina, altera a expressão das moléculas de adesão celular e suprime a produção de citocinas pró-inflamatórias. (42)

Ainda há a hipótese do metotrexato bloquear o metabolismo do aminoimidazol carboxamida ribonucleotídeo (AICAR), levando à diminuição da síntese de purinas e aumento da adenosina anti-inflamatória. (42) Tal desencadeará diminuição do TNF- α com diminuição da IL 2 e aumento da citocina anti-inflamatória IL-10. (32) (42)

Ciclosporina-A e o tacrolímus

A ciclosporina-A e o tacrolímus ligam-se a receptores intracelulares específicos (imunofilinas) e atuam bloqueando a ativação do fator de transcrição fator nuclear das células T ativadas (NFAT) que controla a transcrição genética de citocinas e a resistência à apoptose dos linfócitos. (42)

4.4.4 Terapêutica biológica

Como muitos pacientes com DII são intolerantes ao tratamento com os agentes clássicos já discutidos, houve uma necessidade urgente de desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas mais específicas como a terapia biológica baseada em anticorpos monoclonais. (43)

Anticorpos monoclonais direcionados contra TNF- α

A base da terapia com anticorpos monoclonais na DII é a inibição do TNF- α , uma citocina chave na inflamação intestinal.

O TNF- α é expresso pelas células como um precursor transmembranar (tmTNF), que é convertido pela enzima de conversão do TNF- α em TNF- α solúvel (sTNF). Os monócitos / macrófagos são os principais produtores de TNF- α , mas as células T, granulócitos também são fontes importantes desta citocina. Tanto o TNF- α ligado à membrana quanto o solúvel são ligandos dos receptores I e II do TNF. Os anticorpos monoclonais neutralizam o TNF- α solúvel, reduzindo assim a capacidade pró-inflamatória do sistema imunológica inato. (42) (44)

Os anticorpos anti-TNF ligam-se ao TNF- α transmembranar. Isso resultará em citotoxicidade mediada por células com receptores, como macrófagos, células DC e Natural Killer (NK). Os anti-corpos monoclonais ligados à superfície também ativam a cascata do complemento, afetando uma lise geral das células T. Um mecanismo adicional proposto é a chamada sinalização reversa, o que significa que anticorpos monoclonais como um ligando para o tmTNF, iniciando um sinal de fosforilação reversa de volta à célula hospedeira que ativa a apoptose. Esta sinalização reversa também demonstrou suprimir a liberação de citocinas de TNF- α , IL-1 β , IL-10 e IL-12. (42)

Anticorpos monoclonais direcionados contra a integrina $\alpha 4\beta 7$

As integrinas são moléculas heterodímeras que se encontram na superfície das células para mediar o tráfego linfocitário para o tecido inflamado. A interação entre a integrina $\alpha 4\beta 7$ e o seu ligando endotelial intestinal MAdCAM-1, é crucial para a adesão e diapedese dos leucócitos. Estes anticorpos têm como alvo a integrina $\alpha 4\beta 7$ expressa por células B e T restringindo o extravasamento de linfócitos para o local inflamado e mantendo a especificidade intestinal. (25) (32) (42) (43)

Anticorpos monoclonais direcionados contra IL-12 e IL- 23

Este anticorpo é um tratamento que se baseia no reconhecimento da subunidade p40 comum das citocinas pró-inflamatórias IL-12 e IL- 23. Pode ser usado para o tratamento da DC, regulando a inflamação, por inibir que as interleucinas se liguem à cadeia IL-12R β 1 dos recetores de superfície dos Ly T e NK neutralizando as vias inflamatórias das citocinas responsáveis pela resposta Th1 e Th17, observadas na DII. (42)

5 Microbiota

Microbiota é o termo do conjunto de microrganismos que habitam um determinado ecossistema. Este conjunto pode ser constituído por bactérias, fungos, vírus e parasitas. A sua caracterização é estabelecida através de métodos moleculares que se baseiam na análise de genes 16S rRNA, 18S rRNA ou outros genes/regiões genéticas que são amplificados e sequenciados a partir de amostras biológicas. (45)

Microbioma é o termo referido para o genoma dos microrganismos da microbiota. (46)

Inúmeros locais são colonizados pela microbiota humana. Nomeadamente, pele, vagina, boca, vias respiratória e também, TGI. A distribuição, proliferação, sobrevivência e morte dependem de diversos fatores como humidade, acidez, temperatura, dieta, imunidade do hospedeiro e também alguns fármacos. (47) (48)

5.1 Composição e diversidade

A microbiota intestinal é constituída por mais de mil espécies de microrganismos incluindo bactérias, vírus, fungos e parasitas e 100 vezes mais genes do que o encontrado no genoma humano. Estes microrganismos formam um ecossistema com comunidades comensais e simbióticas que interagem com o hospedeiro. Este ecossistema varia ao longo do TGI ao nível de variedade e densidade. (49) (50)

Apesar da microbiota ser constituída por diferentes Reinos iremos abordar apenas as bactérias uma vez que constituem a maior parcela.


As condições desfavoráveis da porção distal do TGI tais como a acidez gástrica, movimento intestinal mais rápido, libertação de bÍlis e enzimas pancreáticas ditam a

reduzida sobrevivência bacteriana, observando-se um reduzido número de bactérias no estômago e intestino delgado. Contrariamente, quanto mais próximo do cólon mais diversidade e quantidade de bactérias se observa. (51)

Nomeadamente, ao longo do TGI observa-se uma contínua diminuição de aeróbios e com a entrada no cólon a grande diversidade de anaeróbios. (51)

Tabela I - Diversidade bacteriana ao longo do TGI (53): O número de bactérias por grama e predominância bacteriana de acordo com o local anatómico

Região do TGI	Nº células bacterianas/ grama	Espécies predominantes
Estômago	0-10 ²	Lactobacillus Candida Streptococcus Helicobacter Pylori Peptostreptococcus
Duodeno	10 ²	Streptococcus Lactobacillus
Jejuno	10 ²	Lactobacillus Streptococcus
Íleo proximal	10 ³	Lactobacillus Streptococcus
Íleo distal	10 ⁸	Clostridium Streptococcus Bacteroides Actinomycinae Coryneabacteria
Cólon	10 ¹¹ -10 ¹²	Bacteroides Clostridium IV e XIV Bifidobacterium Enterobacteriaceae



De acordo com a Tabela I, verifica-se uma relação entre as regiões anatómicas do TGI e as bactérias aí predominantes. Com a proximidade do cólon distal, observa-se a quantidade de espécies gram-positivas e anaeróbias facultativas a diminuir contrariamente ao aumento de gram-negativas e anaeróbias obrigatórias. Estas diferenças podem ocorrer em parte devido à utilização do oxigénio pelas anaeróbias facultativas levando a uma selectividade natural para a proliferação de bactérias anaeróbias estritas no fim TGI. (1) (52) (53) (54)

Resumidamente, o TGI é colonizado principalmente por 2 filos: Bacteroidetes (cerca de 60%) e Firmicutes (cerca de 30%). O primeiro inclui as bacterias Gram-negativas com os

gêneros *Bacteroides*, *Alisipetes* e *Prevotella*. Já o segundo filo apresenta classes como Bacilli e Clostridia de bactérias gram-positivas e gêneros como *Clostridium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus* e *Ruminococcus*. Os restantes filios na microbiota bacteriana intestinal num indivíduo saudável são Proteobacteria, Verrucomicrobia, Actinobacteria entre outros. (1) (52) (53) (54)

Embora a microbiota esteja geralmente assim representada, há sempre variações específicas interpessoais constantes ao longo do tempo. (55)

5.2 Evolução da microbiota intestinal

O desenvolvimento da microbiota inicia-se e distingue-se conforme o tipo de parto. O parto vaginal predispõe a microbiota do recém-nascido a ser um reflexo da microbiota vaginal que é rica em lactobacilos. Paralelamente, os partos por cesariana provocam um atraso na colonização microbiana nomeadamente do gênero *Bacteroides* sendo colonizada por anaeróbios facultativos, como as espécies de *Clostridium*. (28) (56)

Enquanto os recém-nascidos por parto normal apresentam uma microbiota fecal (MF) semelhante à MF da mãe em 72%, os por cesariana têm apenas 41%. (28) (56)

Contudo, no início de vida, a microbiota têm baixa diversidade. É proposto que as primeiras bactérias a ser colonizadas no intestino sejam as anaeróbias facultativas, incluindo *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Escherichia coli* e *Enterobacteria*, de modo a consumir oxigénio e, por consequente, criar um ambiente para os anaeróbios estritos obrigados a prosperar. (54) (56)

A alimentação dos bebés modula a microbiota dos mesmos. No leite materno existe a presença considerável de fruto-oligossacarídeos (FOS) que são prébióticos e podem ser utilizados pelos *Bifidobacterium longum* e *Bacteroides* competindo com bactérias patogénias como *E. coli* e *Clostridium perfringens*. Contrariamente, ao bebés que consomem fórmulas artificiais para além de apresentam uma menor concentração de *Bifidobacterium spp* também apresentam níveis aumentados de *E. Coli*, *Clostridium difficile*, *Bacteroides fragilis* e *lactobacilos*. (28) (54) (56)

A microbiota da criança com idade inferior a dois anos e meio é bastante instável. Com o início da dieta alimentar sólida variada começa a assemelhar-se cada vez mais como a Microbiota do adulto. (28) (54) (56)

Observa-se a manutenção da microbiota até à terceira idade. Realmente, a partir dos 65-70 anos, começa-se novamente a observar uma alteração da microbiota. Nos mais idosos ocorre um aumento dos filios *Bacteroidetes* e *Clostridium* grupo IV assim como com os anaeróbios facultativos (*Escherichia Coli*) e diminuição das bactérias produtoras de AGCC.

Esta mudança pode ser explicada por fatores como a alteração e empobrecimento da diversidade nutricional e até possível desnutrição assim como aumento da toma de medicamentos. (28) (54) (56)

5.3 Importância da microbiota e dos seus metabolitos

A microbiota intestinal tem diversas funções fundamentais tais como a maturação do sistema imunológico e da mucosa intestinal, regulação do metabolismo energético, defesa contra microrganismos patogénicos por competição, digestão de alimentos não-digeríveis pelo hospedeiro, produção de vitaminas e de muitos metabolitos. (52)

A importância da microbiota para a DII observa-se nos estudos feitos com ratinhos Germ free (GF), ou seja, ratinhos que cresceram em ambiente estéril sem contacto prévio com microrganismos. Ao comparar ratinhos colonizados com os GF, verificou-se que estes últimos apresentavam as vilosidades intestinais menos desenvolvidas e menos espessas, capacidade reduzida de induzir apoptose assim como uma maior excreção renal de calorías e quantidades inferiores de AGCC. Contudo, quando os colocaram em contacto com micróbios comensais estas funções foram regularizadas. (57) (58)

Adicionalmente, ao induzir quimicamente ratinhos para CU, o fenótipo é mais grave em GF do que em os criados convencionalmente. Os micróbios comensais protegem o hospedeiro via competição à colonização. (59)

5.3.1 Hidrolases de sais biliares

Os ácidos biliares (AB) são produzidos pelo fígado e libertados pela vesícula biliar no duodeno onde ocorre a absorção de lípidos e vitaminas lipossolúveis provenientes da dieta. É importante entender que os ácidos biliares são bactericidas e, por isso mesmo, os mecanismos associados a estes são interessantes para recentes terapias na DII. (60) (61)

Os AB primários são metabolizados em secundários por alguns microrganismos intestinais com hidrolases do sal biliar (HSB). Exemplo destes são *Bacteroides intestinalis*, *Bacteroides fragilis* e *Escherichia coli*. (62) (63)

Os AB primários ligam-se a recetores celulares como o FXR (Recetor Farnesoid X) que funciona como fator de transcrição induzindo a conjugação, transporte e excreção de ácidos biliares. FXR inibe citocina pró-inflamatórias e tem efeitos de proteção contra tumores. Já os secundários ligam-se a recetores celulares como TGR5 que desencadeiam diversos efeitos metabólicos protetores, nomeadamente resistência tanto ao aumento de peso, como ao desenvolvimento de esteatose hepática. O metabolismo tanto dos lípidios quanto da glicose é regulada por AB secundários no intestino. (60) (61) (64)

Ainda não está claro como é que a expressão de FXR é exatamente regulada, no entanto, a expressão de FXR intestinal parece ser regulada pela presença de microbiota. (61)

Os AB têm também influência nos esporos de *C. difficile*. Enquanto os primários estimulam a germinação dos esporos de *C. difficile*, os secundários inibem-a. Tal é demonstrado nas amostras de fezes pré-TMF de indivíduos com infeção recorrente por *C. difficile* que apresentam reduzidos níveis de ácidos biliares secundários revertido após o TMF. (65)

Altos níveis de AB secundários estão também ligados a doenças gastrointestinais, cancro do cólon e reto (CCR) e cálculos biliares. Uma alta ingestão de gorduras saturadas leva a uma maior abundância de clusters de *Clostridium XI* e *XIVa* e bactérias redutoras de sulfato ou sulfito, que estão ligadas a um aumento de AB produzidos pela microbiota. (60)

Assim sendo, deve existir um equilíbrio remetendo, mais uma vez, para a importância das hidrolases de sais biliares provenientes da microbiota.

5.3.2 Bacteriocinas

As bacteriocinas são proteínas antimicrobianas que podem ser ativadas contra diversas bactérias patogênicas. E, inclusive, possuem mecanismos específicos de tolerância para as bactérias que as produzem. As bacteriocinas foram encontradas em todas as principais linhagens de bactérias e em alguns membros da comunidade archaeal. Contudo, as mais comuns são as bactérias do ácido lático. (66) Como a parede celular é idêntica entre as bactérias e inexistente nas células dos animais, é considerada um alvo para inibir a infecção por patógenos. (67)

A substância antibacteriana nisina A é uma bacteriocina, produzida por *Lactococcus lactis* que se liga ao lipídio II (precursor do peptidoglicano). Esta ligação induz a formação de poros e, em seguida, mata rapidamente as células devido à inibição da formação da parede celular e destruição da sua integridade. Os efeitos sinérgicos da camada superficial de *Lactobacillus acidophilus* e da nisina A inibem bactérias nocivas como *Salmonella enterica* gram-negativa e bactérias *Staphylococcus aureus* e *Bacillus cereus* gram-positivas. (66) (67)

A espécie H22 de *E. coli* inibiu muitos membros de *Enterobacteriaceae in vitro*. Quanto *in vivo*, 6 dias após a inoculação oral em ratinhos GF, a *E. coli* H22 diminuiu a população fecal de *Shigella flexneri* para níveis indetectáveis. Estudos adicionais revelaram que a *E. coli* H22 produz uma variedade de bacteriocinas para prevenir patógenos, incluindo microcina C7, colicina E1 e colicina. (66) (67) (68) (69)

Atualmente, a maioria dos estudos concentra-se na descoberta de novas bacteriocinas produzidas por bactérias. Numa época onde as infecções multi-resistentes são uma realidade, o uso sinérgico de bacteriocinas e antibióticos parece ser abordagem interessante. (68)

5.3.3 Vitaminas

A microbiota intestinal é fundamental para a *síntese* de vitaminas essenciais que o hospedeiro é incapaz de produzir. São elas vitamina K, B12, B9, riboflavina, biotina, ácido nicotínico, ácido pantotênico, piridoxina e tiamina. As bactérias do ácido lático são os responsáveis pela produção de vitamina B12, que não podem ser sintetizadas por animais, plantas ou fungos. As *bifidobactérias* são os principais produtores de folato (vit. B9), envolvida nos processos metabólicos vitais do hospedeiro, incluindo síntese e reparo de ADN. (28)

A sua importância é visível em estudos com ratinhos GF que, se criados sem um suplemento de vitamina K, apresentam baixos níveis de protrombina e desenvolvem hemorragias. Contrariamente, os colonizados apresentam níveis normais de protrombina e atividade normal de coagulação. Além disso, indivíduos humanos em dietas com baixa vitamina K por 3 a 4 semanas não desenvolveram deficiência de vitamina, mas aqueles tratados com um antibiótico de amplo espectro para suprimir a microbiota mostraram uma diminuição significativa nos níveis plasmáticos de protrombina. (70)

5.3.4 Ácidos gordos de cadeia curta

Nem todos os hidratos de carbono, principalmente as fibras, são digeríveis pelas enzimas do hospedeiro. A microbiota anaeróbica no cólon fermenta essas fibras que chegam ao cólon e produz Ácidos gordos de cadeia curta (AGCC). Os AGCC são fisiologicamente importantes no intestino pois regulam a absorção de iões e a motilidade intestinal, são usados como a principal fonte de energia para as células epiteliais do cólon e regulam a expressão, proliferação, diferenciação e apoptose genética. Uma vez que os AGCC promovem a produção de mucina e peptídeo gastrointestinal, são também importantes para a função da barreira intestinal, afetando indiretamente as infecções patogénias. (71)

Enquanto o acetato é produzido principalmente por anaeróbios, o butirato e propionato são produzidos essencialmente por Firmicutes e Bacteroidetes, respetivamente. (28)

O propionato e butirato demonstram ser equipotentes, enquanto o acetato demonstram menos eficácia na supressão da atividade do NF- κ B assim como na expressão genética relacionada com a liberação de citocinas *in vitro*. (72)

Os AGCC demonstraram aumentar a função reguladora dos Ly Treg através da ativação de recetores acoplados à proteína G. (73)

Estes metabolitos para além de ter capacidade de inibir as desacetilases das histonas que afetam transcrição genética também inibem o factor de transcrição nuclear kappa B (NF-KB) levando à diminuição da produção de citocinas pró-inflamatórias. Além disso, têm ainda a capacidade de promover a produção de muco, indução de IgA. (58)

5.4 Microbiota na DII

A disbiose tem sido uma hipótese para a causa da DII. Os indivíduos com DII apresentam composição, diversidade e riqueza microbiana reduzida comparativamente com indivíduos saudáveis. (49)

Observa-se na DII um aumento no número de microrganismos patogénicos como bactérias do filo Proteobacteria, espécies de *Fusobacteria* e *Ruminococcus gnavus* (Firmicutes). E, em contrapartida, o número reduzido de microrganismos benéficos, como *Lachnospiraceae* (Firmicutes), espécies de *Bifidobacterium* (Actinobacteria), *Roseburia* (Firmicutes), *Sutterella* (Proteobacteria) e *Faecalibacterium prausnitzii* (Firmicutes). (49)

Esta última é sugerida como um dos principais componentes microbianos da microbiota intestinal saudável humana, representando quase 5% da população bacteriana total. (49) (75)

Tabela II - Alterações na DII comparativamente com indivíduo saudável (1): Bactérias e metabolitos presentes na DII em excesso e em déficit comparativamente a indivíduos saudáveis

	Diminuídos na DII	Aumentados na DII
Composição microbiana	<i>Bifidobacterium sp.</i> Clusters IV E XIVa <i>Clostridium</i> <i>Roseburia sp.</i> <i>Suterella sp.</i> Bacteroides <i>F. prausnitzii</i>	Proteobacteria <i>E.coli</i> aderente <i>Fusobacterium sp.</i> <i>Ruminococcus gravusa</i>
Função microbiana	AGCC Biossíntese de aminoácidos	Autotrofia Transporte de aminoácidos Transporte de sulfato Stress oxidativo Secreção de toxinas

Diferentes espécies de *Clostridium* (por exemplo, IV, XIVa e XVIII), que não possuem toxinas nem fatores de virulência, demonstram uma atividade imunossupressora induzida pelos Ly Treg no intestino de maneira dependente de TGF- β , IL-10 ou butirato. Contudo apresentam-se diminuídos na DII como se verifica na Tabela II. (1) (49)

Uma grande variedade de espécies bacterianas, principalmente os gêneros *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* e *Faecalibacterium*, protegem o hospedeiro da inflamação pela estimulação da citocina anti-inflamatória IL-10 e regulação negativa de citocinas inflamatórias. (59)

Foi demonstrado que *F. prausnitzii*, *Blautia faecis*, *Roseburia inulinivorans*, *Ruminococcus* e *Clostridium lavalense* estão diminuídos em pacientes com DC quando comparados a indivíduos saudáveis. Foi observado que a redução de *F. prausnitzii* está correlacionado com a recidiva de CU. Contudo, após esta, quando há recuperação da quantidade da população de *F. prausnitzii* observa-se a manutenção da remissão clínica. Além disso, mostraram que *F. prausnitzii* induzem a produção de IL-10 e inibem a produção de citocinas inflamatórias, como IL-12 e IFN- γ . (76)

As bactérias *enterobacteriaceae* são aumentadas tanto em pacientes com DII quanto em ratinhos. (59)

Noutro estudo foi verificado que um ambiente menos disbiótico é observado em áreas não afetadas de indivíduos doentes. (49)

A abundância de *E. Coli* é aumentada nas biópsias ileais de amostras de DC. (59) A análise da microbiota em pacientes com DC mostrou que a presença de espécies de *E. Coli* era anormalmente prevalente, constituindo entre 50% a 100% do número total de bactérias nas lesões ileais precoces e crônicas. (92) A espécie de *E. Coli predominante* é *E. Coli* aderente invasiva (AIEC) caracterizada pela capacidade de aderir e invadir células epiteliais usando microfilamentos de actina e recrutamento de microtúbulos. Estas podem invadir os macrófagos sem induzir a morte celular, permitindo que se repliquem e ativem, continuamente, as células imunes, desencadeando a liberação de TNF- α e a formação de granuloma, que são características da doença de Crohn.

A redução de anaeróbios estritos (por exemplo, grupos *Clostridium* IV e XIVa), juntamente com a expansão de bactérias aeróbicas ou anaeróbicas facultativas, pode aumentar a concentração local de oxigênio, levando a uma maior permeabilidade vascular promovendo inflamação intestinal. Por outro lado, a inflamação *per si* também contribui para o aparecimento de um ambiente disbiótico. (49)

De acordo com a hipótese do oxigênio, a disbiose pode ter origem no aumento da pressão de oxigênio no intestino que ocorre durante estados inflamatórios. Este gradiente de oxigênio leva à alteração das condições anaeróbicas fisiológicas. Assim, o enriquecimento em oxigênio colocaria em vantagem as espécies anaeróbicas facultativas, explicando o aumento observado neste tipo de bactérias (Proteobacteria e Espécies microbianas potencialmente inflamatórias) e diminuição quantitativa e qualitativa de bactérias anaeróbicas obrigatórias, nomeadamente *Bacteroides thetaiotaomicron* e *Faecalibacterium prausnitzii*. (77) (78)

Embora se verifique que as alterações à oxigenação influenciam a composição da microbiota, há falta de estudos que confirmem a hipótese do oxigênio. (77) (78)

A análise da microbiota de pacientes com DII indica uma diminuição geral da biodiversidade, com uma diminuição específica de bactérias do filo *Bacteroidetes* e *Firmicutes*. Entre outros mecanismos potenciais, essas alterações nas populações microbianas podem levar a alterações no metabolismo do AB. A maior parte da atividade da HSB no trato GI é proveniente de bactérias pertencentes ao filo *Firmicutes* (30%), *Bacteroidetes* (14,4%) e *Actinobacteria* (8,9%). Assim, uma diminuição nos *bacteriodes* e *Firmicutes* pode estar subjacente às alterações no metabolismo dos AB observadas em pacientes com DII. Em pacientes com DII, a análise metagenômica da abundância de genes bacterianos metabolizadores do AB indica uma perda significativa de genes HSB. Além disso, uma atividade enzimática reduzida foi observada nestes doentes, resultando em desconjugação, desidroxilação e dessulfatação de AB deficientes. Conseqüentemente, uma

redução de AB secundários pode ser observada no soro e nas fezes, enquanto os AB primários nas fezes foram aumentados. A perda de AB secundários pode levar a uma ativação reduzida de FXR e TGR5 e, portanto, a uma perda de ações anti-inflamatórias e efeitos de proteção da integridade intestinal, o que contribui para a patogênese da DII. (59) (61)

Esses dados sugerem que o desequilíbrio microbiano na DII favorece o desenvolvimento da inflamação, reduzindo os agentes anti-inflamatórios cruciais, além de favorecer o aparecimento de mecanismos pró-inflamatórios.

Independentemente de a inflamação levar à disbiose ou vice-versa, elas têm uma forte interação que deve ser direcionada para o desenvolvimento de estratégias terapêuticas aprimoradas.

Em suma, as bactérias benéficas apresentam-se em parte diminuídas na DII e as patogênicas, com capacidade de estimular a resposta inflamatória, encontram-se aumentadas, tal como se observa na Tabela II.

5.5 Factores que alteram a microbiota

A possibilidade da DII ser causada pela microbiota intestinal levou a várias abordagens clínicas destinadas a corrigir a disbiose. Como exemplos incluem o uso de probióticos, antibióticos, dieta e transplante de microbiota fecal (FMT). (73)

5.5.1 Antibióticos

A exposição de antibiótico em crianças aumentou significativamente o risco de DC. (79) Antibióticos podem aliviar a inflamação em vários modelos animais de colite. Já na DII humana o uso destes fármacos tem sido limitado. Duas metanálises de ensaios clínicos mostraram um benefício estatisticamente significativo dos antibióticos no tratamento da DC e da CU. Os antibióticos de largo espectro inibem sem padrão tanto os microorganismos benéficos como os patogênicos, com consequências imprevisíveis. (73)

A administração de certos antibióticos como clindamicina, cefalosporinas, penicilinas e fluoroquinolonas permitem a proliferação de patógenos, incluindo *Clostridium difficile*. Isto porque os antibióticos provocam uma disbiose na microflora intestinal provocando um aumento de ácido siálico nas mucosas do intestino. As bactérias *C.difficile* aproveitam a oportunidade de consumir o ácido siálico e proliferam mais rapidamente. (80) (81) (82)

Existem grandes mudanças no metabolismo microbiano com uso de antibióticos. Nomeadamente, observa-se um aumento dos AGCC. Foi ainda demonstrado que a rifaximina reverte e normaliza uma vasta gama de citocinas inflamatórias, incluindo IL-17, IL-1 β e TNF- α , e normaliza a expressão genética de proteínas da tight junction. Em suma, os efeitos dos antibióticos no microbiota e no metaboloma precisam ser melhor elucidados. (83)

5.5.2 Transporte fecal da microbiota

O transplante de microbiota fecal (FMT) é a administração de uma solução de matéria fecal de um doador no trato intestinal de um receptor, a fim de alterar diretamente a composição microbiana do receptor e conferir um benefício à saúde como por exemplo restaurar a disbiose induzida por antibióticos. (81) O sucesso da FMT para o tratamento da infecção por *Clostridium difficile* (ICD) gerou tanto interesse que se tentou usar a técnica para regularizar a DII. Dois estudos aleatórios, controlados por placebo, para o tratamento da CU mostraram que a FMT foi marcadamente mais eficaz na indução da remissão clínica e endoscópica em adultos. Relativamente à DC recorrente, um estudo piloto de FMT em adultos resultou em altas taxas de remissão clínica e melhora clínica. Em crianças, a FMT demonstrou benefício clínico em alguns pacientes com DC. No geral, os dados referentes à FMT são escassos e permanecem dúvidas quanto à segurança e durabilidade dessa abordagem. Adicionalmente, os resultados clínicos até agora têm sido díspares, possivelmente refletindo a maior complexidade da DII em comparação à colite *por C. difficile*. (73)

Adicionalmente, e completando a seção anterior relativa aos antibióticos e *C. difficile*, a FMT pode exercer seu efeito terapêutico aumentando a utilização de ácido siálico por bactérias comensais, privando assim *C. difficile* de uma fonte de energia vital. (81)

Vários estudos relataram o potencial da FMT para o tratamento da DC e, especula-se que pode ser útil selecionar doadores com alta abundância de bactérias benéficas, que são deficientes em pacientes para melhorar a eficácia terapêutica. (84)

Outros estudos indicaram que a eficácia de um FMT é, inclusive, influenciada pelos doadores de transplante. Essas observações deram origem ao conceito de super doadores e destacam a importância de uma cuidadosa seleção de doadores relativamente à microbiota fecal do mesmo.

Adicionalmente, foi demonstrado recentemente que a abundância de espécies específicas de Bacteroides (*B. fragilis* e *B. finegoldii*) nas fezes dos doadores estava associado à remissão em pacientes recebendo FMT, enquanto o *Streptococcus* foi associado a nenhuma resposta à FMT. Além disso, um aumento dos níveis de AGCC e ácidos biliares secundários nas fezes foi consistentemente associado a pacientes em remissão após FMT. (85)(86)(87)

Mais ensaios clínicos aleatórios de grandes dimensões são necessários para definir melhor o papel da FMT no tratamento da DII.(73)

5.5.3 Alimentação

A microbiota intestinal co-evoluiu com a dieta rica em polissacarídeos. Tal ocorre, uma vez que os microrganismos permitem a extração de energia proveniente de fibra dietética. A falta de ingestão de fibra alimentar tem sido associada ao desenvolvimento de DII e a uma baixa concentração de AGCC. (1)

Foi demonstrada que uma dieta ocidental predispõe indivíduos a doenças, incluindo DII, diabetes, obesidade, etc., assim como está associada a uma diminuição na proporção de *Bacteroides* para *Firmicutes* e maior suscetibilidade a uma maior presença de infecção por AIEC. Para complementar, uma recente revisão evidenciou a correlação significativa entre o aumento da incidência de DC e o aumento dos consumos de produtos de origem animal, cerveja, mel, gordura animal e ghee. Assim como o aumento da café e abacaxi na CU. Como é que estes produtos dietéticos influenciam a microbiota intestinal e predispõem os indivíduos à DII ainda não se determinou. (1)

A microbiota do intestino delgado é diferente quando se compara ratinhos com dietas com baixo teor de gordura e alto teor de gordura (HF). Uma dieta HF induz uma abundância de *Clostridia*, enquanto reduz *Bifidobacteria* e *Bacteroides*, criando um perfil microbiano com uma capacidade aumentada para induzir genes envolvidos no transporte lipídico epitelial do intestino delgado. De fato, quando uma microbiota de dieta de HF foi transplantada em ratinhos GF, a absorção de lipídios melhorou. Investigações futuras devem considerar fatores como o estado de saturação de gordura na resposta da microbiota intestinal, onde uma intervenção dietética será necessária. (51)

De particular relevância para o estudo da interação entre a digestão microbiana e a gordura é a influência das HSB microbianas que metabolizam AB primários em secundários. Sabe-se que os AB afetam o crescimento bacteriano, particularmente gram-positivas, e exercem efeitos fisiológicos de amplo espectro por meio da ativação do receptor FXR e da proteína G acoplada receptor TGR5. Há ainda evidências de que os AB podem contribuir para diarreia e inflamação, sintomas da DII. (51)

A deficiência de micronutrientes (zinco, vitaminas D e A, folato) pode influenciar a maturação do microbiota intestinal e a sua interação com o hospedeiro, tendo efeitos na adolescência e na vida adulta. (54)

A dieta demonstrou ter um efeito importante na composição da microbiota intestinal, alterando sua funcionalidade e metabolismo ao nível genético. A modificação da dieta é utilizada como terapia para a doença de Crohn através de ENT (terapia de nutrição entérica) com fórmulas elementares, semi-elementares ou poliméricas que funcionam como terapia de primeira linha para a indução de remissão na doença de Crohn e, inclusive, têm sido associadas à melhoria clínica e à cicatrização da mucosa. Essas observações destacam a necessidade de explorar ainda mais os efeitos da dieta na composição microbiana e na atividade da doença, além de apontar para a complexa relação entre disbiose e DII. (73)

5.5.4 Probióticos e prébióticos

Probióticos

Probióticos são misturas de microrganismos vivos com efeitos benéficos à saúde do hospedeiro, como restaurar o equilíbrio microbiano intestinal. (73)

Os efeitos benéficos dos probióticos podem incluir a ativação de macrófagos locais, aumento na produção de imunoglobulina, a modulação do perfil de citocinas e a indução de hipo-resposta a Ag alimentares. Paralelamente, os benefícios não imunológicos incluem o processo de digestão, competição por nutrientes contra patógenos, alterações de pH e produção de bacteriocinas. (54)

Os probióticos usados atualmente incluem bactérias do ácido lático, bifidobactérias, enterococos, levedura *Saccharomyces boulardii*, propionibactérias lácteas, *Bacillus* spp. e *Escherichia coli* Nissle 1917. (54)

Os melhores resultados com probióticos vêm de pacientes pós-cirúrgicos com CU que foram submetidos à anastomose ileal da bolsa-anal. Esses pacientes estão predispostos à inflamação da bolsa ileal e os probióticos demonstraram ser eficazes na prevenção dessa complicação após o sucesso do tratamento com antibióticos. (73)

A mistura VSL #3 (composta por quatro estirpes de lactobacilos: *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus bulgaricus* e *Lactobacillus acidophilus*; três das bifidobactérias: *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium breve* e *Bifidobacterium*) mostrou efeitos positivos no tratamento da UC. (54)

O VSL #3 demonstrou ser eficaz na indução da remissão na CU ativa. Inclusive estes probióticos podem ser tão eficazes quanto a terapia 5-ASA na prevenção da recidiva da CU. A eficácia do VSL #3 na DC permanece incerta e são necessárias mais evidências dos ensaios clínicos.(88) Um estudo recente indicou que um tratamento de 21 dias com a mistura probiótica VSL #3 em ratinhos foi suficiente para induzir mudanças significativas na composição da microbiota e na homeostase dos ácidos biliares sem alterações na expressão da FXR. (61)

Prebióticos

Os prebióticos são substâncias ingeridas pelo hospedeiro humano mas não digeríveis, atingindo o cólon, onde são fermentados seletivamente por microbiota comensal. Quando ingeridas em quantidades adequadas, produzem efeitos fisiológicos benéficos ao hospedeiro, estimulando, de maneira seletiva, o crescimento e a atividade metabólica de um hospedeiro. (89) (90)

Os prebióticos mais comumente usados são os FOS, beta-frutanos, inulina e a oligofrutose Alimentos ricos em prébióticos são o Trigo, chicória, banana, cebola, alcachofra, aspargo e alho. (90)

A inulina aumenta a crescimento de lactobacilos e/ou bifidobactérias induzindo a produção AGCC com propriedades de diminuição das lesões nas mucosas e diminuição da inflamação da mucosa. (91)

6 Conclusão

A DII é uma doença inflamatória crónica onde a genética está inerente mas apenas aumenta a suscetibilidade dos indivíduos. Apesar de ainda não se saber ao certo se é a microbiota que condiciona a inflamação ou vice-versa, é clara a existência de uma relação entre as duas. Tanto pelas evidências da disbiose presente na DII, como na remissão de sintomas quando a flora bacteriana começa a ficar mais semelhante à dos indivíduos saudáveis e com metabolitos anti-inflamatórios excretados por essas, verifica-se a existência da relação entre doença e a disbiose.

Mediante as evidências de que algumas espécies bacterianas quando presentes no doente levam ao retrocesso da doença, juntamente com as conclusões para a pouca efetividade dos probióticos, mas melhor com o FMT, questiona-se a importância das substâncias sintetizadas pelas bactérias. Será que mais do que a microbiota em si, a relação com a DII deve-se ao défice de metabolitos?

Cada vez mais se entende que o relevante não são propriamente os filos presentes mas sim a capacidade das bactérias de produzir determinados metabolitos – como AGCC, bacteriocinas, moléculas como PSA, enzimas capazes de mediar citocinas anti-inflamatórias –, reverter substratos e modular o ambiente inflamatório para que possam sobreviver e proliferar.

As terapias farmacológicas atuais atuam por inibição de alguns recetores ou cascatas de citocinas pro-inflamatórias. No entanto, observa-se que para alguns doentes tal não é suficiente.

Seria interessante aumentar o aporte de informação sobre o tipo e funções dos metabolitos relativamente à sua relação com fatores nucleares. Deste modo, poder-se-ia abrir mais uma via para novas terapêuticas. Com estas informações consolidadas poder-se-ia tentar converter os metabolitos em agonistas de recetores nucleares de modo a modular a microbiota e, conseqüentemente, melhorar os padrões sintomáticos desta doença e subsequentes manifestações extra-intestinais.

Referências

- 1 Zuo T, Ng SC. The Gut Microbiota in the Pathogenesis and Therapeutics of Inflammatory Bowel Disease. *Front Microbiol.* [Internet] 2018 Sep 25; 9(2247). Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6167487/>
- 2 Pizarro, T. T., Stappenbeck, T. S., Rieder, F., Rosen, et al. Challenges in IBD Research: Preclinical Human IBD Mechanisms. *Inflammatory Bowel Diseases*, 2[Internet].2019;5(2), S5–S12. doi:10.1093/ibd/izz075 Available from: https://academic.oup.com/ibdjournal/article/25/Supplement_2/S5/5490498
- 3 Durack J, Lynch SV. The gut microbiome: Relationships with disease and opportunities for therapy: *J Exp Med.* [Internet]2019;216(1):20–40. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30322864>
- 4 Bernstein, C. N., Fried, M., Krabshuis, J. H., et al. G.World Gastroenterology Organization Practice Guidelines for the Diagnosis and Management of IBD in 2010. *Inflammatory Bowel Diseases.* [Internet] 2010 16(1), 112–124. doi:10.1002/ibd.21048. Available From: <https://onlineibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/ibd.21048>
- 5 Maaser, C., Sturm, A., Vavricka, S. R., Kucharzik, T., Fiorino, G., et al. ECCO-ESGAR Guideline for Diagnostic Assessment in Inflammatory Bowel Disease. *Journal of Crohn's and Colitis.* [Internet] 2019 fev; 13 (2) doi:10.1093/ecco-jcc/jjy113 Available From: <https://academic.oup.com/ecco-jcc/article/13/2/144/5078195#130780179>
- 6 De Souza, H. S. P., & Fiocchi, C. Immunopathogenesis of IBD: current state of the art. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology.*1[Internet] 2015; 3(1), 13–27. doi:10.1038/nrgastro.2015.186 Available From: <https://www.nature.com/articles/nrgastro.2015.186>
- 7 De Lange, K. M., & Barrett, J. C.. Understanding inflammatory bowel disease via immunogenetics. *Journal of Autoimmunity,* [Internet] 2015; 64, 91–100. doi:10.1016/j.jaut.2015.07.013 Available From: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0896841115300147>
- 8 Hirahara K, Nakayama T. CD4+ T-cell subsets in inflammatory diseases: beyond the Th1/Th2 paradigm. *Int Immunol.* [Internet] 2016;28(4):163–171. doi:10.1093/intimm/dxw006 Available From: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26874355>
- 9 Izcue A, Coombes JL, Powrie F. Regulatory T cells suppress systemic and mucosal immune activation to control intestinal inflammation. *Immunol Rev* ;[Internet] 2006; 212:256-71.) Available From: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26874355>
- 10 Windsor, J. W., & Kaplan, G. G. Evolving Epidemiology of IBD. *Current Gastroenterology Reports,* [Internet] 2019; 21(8). doi:10.1007/s11894-019-0705-6 Available From: <https://europepmc.org/abstract/med/31338613>

- 11 Gasparetto, M., & Guariso, G. Highlights in IBD Epidemiology and Its Natural History in the Paediatric Age. *Gastroenterology Research and Practice*, [Internet] 2013, 1–12. doi:10.1155/2013/829040 Available From: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24454343>
- 12 HEMSTREET, B.A. - Inflammatory Bowel Disease. In: DIPIRO, J.T. - *Pharmacotherapy. A Patophysiologic Approach*. 9^aed. New York: Mc Graw-Hill, 2014. ISBN 978-0-07-180053-2. Cap21:497-513.
- 13 Ng, S. C., Shi, H. Y., Hamidi, N., Underwood, F. E., Tang, W., Benchimol, E. I., ... Kaplan, G. G.. Worldwide incidence and prevalence of inflammatory bowel disease in the 21st century: a systematic review of population-based studies. *The Lancet*, [Internet] 2017;390(10114), 2769–2778. doi:10.1016/s0140-6736(17)32448-0 Available From: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29050646>
- 14 Sturm, A., & White, L. (Eds.). (2019). *Inflammatory Bowel Disease Nursing Manual*. doi:10.1007/978-3-319-75022-4
- 15 Azevedo, L. F., Magro, F., Portela, F., Lago, P., Deus, J., et al. Estimating the prevalence of inflammatory bowel disease in Portugal using a pharmaco-epidemiological approach. *Pharmacoepidemiology and Drug Safety* [Internet] 2007 doi:10.1002/pds.1930 Available From: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20306455>
- 16 MAGRO, F. *Terapêutica Farmacológica na Doença Inflamatória Intestinal*. GEDII - Grupo de Estudos da Doença Inflamatória Intestinal. 2007; 1^oed. PT
- 17 Ho, S.-M., Lewis, J. D., Mayer, E. A., Plevy, S. E., Chuang, E., Rappaport, et al. Challenges in IBD Research: Environmental Triggers. *Inflammatory Bowel Diseases*. [Internet] 2019 junho; 25(2), S13–S23. doi:10.1093/ibd/izz076 Available From: https://academic.oup.com/ibdjournal/article/25/Supplement_2/S13/5490492
- 18 Alagón Fernández del Campo, P., De Orta Pando, A., Straface, et al. The Use of Probiotic Therapy to Modulate the Gut Microbiota and Dendritic Cell Responses in Inflammatory Bowel Diseases. *Medical Sciences*, [Internet] 2019 ;7(2), 33. doi:10.3390/medsci7020033 Available From: <https://www.mdpi.com/2076-3271/7/2/33/html>
- 19 Molodecky, N. A., Soon, I. S., Rabi, D. M., Ghali, W. A., Ferris, M., et al. Increasing Incidence and Prevalence of the Inflammatory Bowel Diseases With Time, Based on Systematic Review. *Gastroenterology*, [Internet] 2012; 142(1), 46–54.e42. doi:10.1053/j.gastro.2011.10.001 Available From: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22001864>
- 20 Ye BD, McGovern DP. Genetic variation in IBD: progress, clues to pathogenesis and possible clinical utility. *Expert Rev Clin Immunol*. [Internet] 2016;12(10):1091–1107. doi:10.1080/1744666X.2016.1184972 Available From: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5083126/>
- 21 Khor B, Gardet A, Xavier RJ. Genetics and pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Nature*. [Internet] 2011 Jun 15;474(7351):307–317. doi:10.1038/nature10209 Available From: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3204665/>

- 22 Gazouli M, Pachoula I, Panayotou I, et al. NOD2/CARD15, ATG16L1 and IL23R gene polymorphisms and childhood-onset of Crohn's disease. *World J Gastroenterol*. [Internet] 2010;16(14):1753–1758. doi:10.3748/wjg.v16.i14.1753 Available From: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2852824/>
- 23 Flaksman, J, Konnikova, A. Pahomov, E. and Porter A. NOD2 Investigating IBD with Autophagy and Interleukins [Internet] 2010 março, vol 6 Available From: <https://pdfs.semanticscholar.org/c4ae/e8abb8e73773ecb4e660b0717037bd837ee1.pdf>
- 24 Loddo I, Romano C. Inflammatory. Bowel Disease: Genetics, Epigenetics, and Pathogenesis. *Front Immunol*. [Internet] 2015 Nov 2;6:551. doi:10.3389/fimmu.2015.00551 Available From: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4629465/>
- 25 Ahluwalia, B., Moraes, L., Magnusson, MK, & Öhman, L. Immunopathogenesis of inflammatory bowel disease and mechanisms of biological therapies. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 53 (4), 379-389. doi: 10.1080 / 00365521.2018.1447597 Available From: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/00365521.2018.1447597?scroll=top&needAccess=true>
- 26 Corridoni, D., Arseneau, K. O., Cifone, M. G., & Cominelli, F. The Dual Role of Nod-Like Receptors in Mucosal Innate Immunity and Chronic Intestinal Inflammation. *Frontiers in Immunology*, [Internet] 2014; 5. doi:10.3389/fimmu.2014.00317 Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4090755/>
- 27 Hevia A., Delgado S., Sánchez B. and Margolles A. Molecular players involved in the interaction between beneficial bacteria and the immune system. *Front Microbiol*. [Internet] 2015; 6, 1285 doi:10.3389/fmicb.2015.01285 Available From: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2015.01285/full>
- 28 Thursby E, Juge N. Introduction to the human gut microbiota. *Biochem J*. [Internet] 2017;474(11):1823-36. Available From: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5433529/>
- 29 Magrone, T. e Jirillo, E. The interaction between gut microbiota and age-related changes in immune function and inflammation. *Immunity & Ageing*, [Internet] 2013; vol.10, pp. 1-6. Available From: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23915308>
- 30 Plitas, G., & Rudensky, A. Y. Regulatory T Cells: Differentiation and Function. *Cancer Immunology Research*, [Internet] 2016; 4(9), 721–725. doi:10.1158/2326-6066.cir-16-0193 Available From: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5026325/>
- 31 Hoeppli, R. E., Wu, D., Cook, L., & Levings, M. K. The Environment of Regulatory T Cell Biology: Cytokines, Metabolites, and the Microbiome. *Frontiers in Immunology*, 6. doi:10.3389/fimmu.2015.00061 [Internet] Available From: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4332351/>
- 32 Neurath, M. F. (2017). Current and emerging therapeutic targets for IBD. *Nature*

Reviews Gastroenterology & Hepatology, 14(5), 269–278.
doi:10.1038/nrgastro.2016.208 [Internet] Available From:
<https://www.nature.com/articles/nrgastro.2016.20>

- 33 RUTELLA, Sergio; LOCATELLI, Franco - Intestinal dendritic cells in the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *World Journal of Gastroenterology*. 17:33 (2011) 3761–3775. [Internet] Available From:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3181437/>
- 34 Pennock, N. D., White, J. T., Cross, E. W., Cheney, E. E., Tamburini, B. A., & Kedl, R. M. T cell responses: naïve to memory and everything in between. *Advances in Physiology Education*. [Internet] 2013; 37(4), 273–283.
doi:10.1152/advan.00066.2013 Available From:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4089090/>
- 35 Cruz-Adalia, A., Ramirez-Santiago, G., Osuna-Pérez, J., Torres-Torresano, M., Zorita, et al. Conventional CD4+ T cells present bacterial antigens to induce cytotoxic and memory CD8+ T cell responses. *Nature Communications*, [Internet]2017; 8(1).
doi:10.1038/s41467-017-01661-7 Available From:
<https://www.nature.com/articles/s41467-017-01661-7>
- 36 OMENETTI, Sara; PIZARRO, Theresa T. - The Treg/Th17 axis: A dynamic balance regulated by the gut microbiome. *Frontiers in Immunology*. [Internet] 2015, 6 dez 639.
<https://dx.doi.org/10.3389/fimmu.2015.00639> Available From:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4681807/>
- 37 Cerf-Bensussan, N. e Gaboriau-Routhiau, V.. The immune system and the gut microbiota: friends or foes?. *Nature Reviews Microbiology*, [Internet] 2010. 10, pp.735-744.
Available From: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20865020>
- 38 Sommer, F. e Bäckhed, F.. The gut microbiota - masters of host development and physiology. *Nature Reviews Microbiology*, [Internet] 2013; 11, pp. 227-238.
Available From: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23435359>
- 39 Yan F, Polk DB. Disruption of NF-kappaB signalling by ancient microbial molecules: novel therapies of the future?. *Gut*. [Internet] 2010;59(4):421–426.
doi:10.1136/gut.2009.179614 Available From:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3036986/>
- 40 Paramsothy S, Rosenstein AK, Mehandru S, Colombel JF. The current state of the art for biological therapies and new small molecules in inflammatory bowel disease. *Mucosal Immunol*. [Internet] 2018;11(6):1558–1570. doi:10.1038/s41385-018-0050-3
Available From: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6279599/>
- 41 Williams C, Panaccione R, Ghosh S, Rioux K. Optimizing clinical use of mesalazine (5-aminosalicylic acid) in inflammatory bowel disease. *Therap Adv Gastroenterol*. [Internet] 2011;4(4):237–248. doi:10.1177/1756283X11405250
Available From: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3131170/>
- 42 Eberhardson, M., Hedin, C., Carlson, M., Tarnawski, L., Levine, Y. A., & Olofsson, P. S. Toward Improved Control of Inflammatory Bowel Disease. *Scandinavian Journal of*

- Immunology,[Internet]2018; doi:10.1111/sji.12745 Available From:
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/sji.12745#sji12745-bib-0090>
- 43 Lee HS, Park SK, Park DI. Novel treatments for inflammatory bowel disease. *Korean J Intern Med.* [Internet] 2018 ;33(1):20–27. doi:10.3904/kjim.2017.393 Available From:<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5768553/>
 - 44 Hemperly, A., & Vande Casteele, N. Clinical Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Infliximab in the Treatment of Inflammatory Bowel Disease. *Clinical Pharmacokinetics.*[Internet] 2018; 57(8), 929–942. doi:10.1007/s40262-017-0627-0 Available From: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29330783>
 - 45 Marchesi, J. R., & Ravel, J. The vocabulary of microbiome research: a proposal. *Microbiome,* [Internet] 2015;3(1). doi:10.1186/s40168-015-0094-5 Available From: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4520061/>
 - 46 Turnbaugh, P. J., Ley, R. E., Hamady, M., Fraser-Liggett, C. M., Knight, R., & Gordon, J. I. The Human Microbiome Project. *Nature.* [Internet] 2007; 449(7164), 804–810. doi:10.1038/nature06244 Available From: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3709439/>
 - 47 Ilhan ZE, Marcus AK, Kang DW, Rittmann BE, Krajmalnik-Brown R. pH-Mediated Microbial and Metabolic Interactions in Fecal Enrichment Cultures. *mSphere.* [Internet] 2017,30 maio; 2(3) doi:10.1128/mSphere.00047-17. Available From: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5415631/>
 - 48 Manichanh, C., Borruel, N., Casellas, F., & Guarner, F. The gut microbiota in IBD. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology* [Internet] 2012, 21agost;9, 599–608 <https://doi.org/10.7554/eLife.40553.001> Available From:<https://cdn.elifesciences.org/articles/40553/elifesciences-40553-v1.pdf>
 - 49 Basso PJ, Camara NO and Sales-campos H. Microbial-based therapies in the treatment of Inflammatory Bowel Disease – an overview of human studies. *Front. Pharmacol.* [Internet] 2019; 9:1571. doi:10.3389/fphar.2018.01571 Available From: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphar.2018.01571/full>
 - 50 Sommer F, Backhed F. The gut microbiota-masters of host development and physiology. *Nat Rev Microbiol.* [Internet] 2013;11(4):227-38. DOI: 10.1038 / nrmicro2974 Available From:<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23435359>
 - 51 Kastl, A. J., Terry, N. A., Albenberg, L. G., & Wu, G. D. The structure and function of the human small intestinal microbiota: Current understanding and future directions. *Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology.* [Internet] 2019; doi:10.1016/j.jcmgh.2019.07.006 Available From: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2352345X19300943>
 - 52 Manichanh, C., Borruel, N., Casellas, F., & Guarner, F. The gut microbiota in IBD. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology,*[Internet] 2012; 9(10), 599–608. doi:10.1038/nrgastro.2012.152 Available From: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22907164>

- 53 Sartor, R. Microbial Influences in Inflammatory Bowel Diseases: *Gastroenterology* [Internet] 2008, fev; 134, (2), 577 - 594. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2007.11.059> Available From: [https://www.gastrojournal.org/article/S0016-5085\(07\)02157-9/fulltext?referrer=https%3A%2F%2Fwww.ncbi.nlm.nih.gov%2F](https://www.gastrojournal.org/article/S0016-5085(07)02157-9/fulltext?referrer=https%3A%2F%2Fwww.ncbi.nlm.nih.gov%2F)
- 54 Gagliardi, A., Totino, V., Cacciotti, F., Iebba, V., Neroni, B., Bonfiglio, G, et al. Rebuilding the Gut Microbiota Ecosystem. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, [Internet] 2018; 15(8), 1679. doi:10.3390/ijerph15081679 Available From: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6121872/>
- 55 Cammarota, G., Ianiro, G., Cianci, R., Bibbò, S., Gasbarrini, A., & Currò, D. The involvement of gut microbiota in inflammatory bowel disease pathogenesis: Potential for therapy. *Pharmacology & Therapeutics*, [Internet] 2015;149, 191–212. doi:10.1016/j.pharmthera.2014.12.006 Available From: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25561343>
- 56 Voreades, N., Kozil, A., & Weir, T. L. Diet and the development of the human intestinal microbiome. *Frontiers in Microbiology*, [Internet] 2014, 5. doi:10.3389/fmicb.2014.00494 Available From: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4170138/>
- 57 Reinhardt, C. et al. Tissue factor and PAR1 promote microbiota-induced intestinal vascular remodelling: *Nature*. [Internet] 2012 , 483,627-631. <https://doi.org/10.1038/nature10893> Available From: <https://www.nature.com/articles/nature10893>
- 58 Van den Elsen, L. W., Poyntz, H. C., Weyrich, L. S., Young, W., & Forbes-Blom, E. E. Embracing the gut microbiota: the new frontier for inflammatory and infectious diseases. *Clinical & Translational Immunology*, [Internet] 2017; 6(1), e125. doi:10.1038/cti.2016.91 Available From: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5292562/>
- 59 Becker, C., Neurath, M. F., & Wirtz, S. The Intestinal Microbiota in Inflammatory Bowel Disease. *ILAR Journal*. [Internet] 2015, 56(2), 192–204. doi:10.1093/ilar/ilv030 Available From: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26323629>
- 60 Vázquez-Baeza, Y., Callewaert, C., Debelius, J., Hyde, E., Marotz, C., et al. Impacts of the Human Gut Microbiome on Therapeutics. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, [Internet] 2018; 58(1), 253–270. doi:10.1146/annurev-pharmtox-042017-031849 Available From: <https://www.annualreviews.org/doi/full/10.1146/annurev-pharmtox-042017-031849>
- 61 Baars, A., Oosting, A., Knol, J., Garssen, J., & van Bergenhenegouwen, J. The Gut Microbiota as a Therapeutic Target in IBD and Metabolic Disease: A Role for the Bile Acid Receptors FXR and TGR5. *Microorganisms*, [Internet] 2015; 3(4), 641–666. doi:10.3390/microorganisms3040641 Available From: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5023267/>
- 62 Ogilvie, L. A., & Jones, B. V. Dysbiosis modulates capacity for bile acid modification in the gut microbiomes of patients with inflammatory bowel disease: a mechanism and marker of disease?: 6 [Internet] 2012 ;1(11), 1642–1643. doi:10.1136/gutjnl-2012-

302137 Available From:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3463861/>

- 63 Jandhyala, S. M. Role of the normal gut microbiota. *World Journal of Gastroenterology*, [Internet] 2015; 21(29), 8787. doi:10.3748/wjg.v21.i29.8787 Available From: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4528021/>
- 64 Claudel, T. The Farnesoid X Receptor: A Molecular Link Between Bile Acid and Lipid and Glucose Metabolism. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 2[Internet] 2005, 5(10), 2020–2030. doi:10.1161/01.atv.0000178994.21828.a Available From: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16037564>
- 65 Weingarden, A. R., Chen, C., Bobr, A., Yao, D., Lu, Y., Nelson, V. M., et al. Microbiota transplantation restores normal fecal bile acid composition in recurrent *Clostridium difficile* infection. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, [Internet] 2014 306(4), G310–G319. doi:10.1152/ajpgi.00282.2013 Available From: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24284963>
- 66 Henning, C., Vijayakumar, P., Adhikari, R., Jagannathan, B., Gautam, D., & Muriana, P. Isolation and Taxonomic Identity of Bacteriocin-Producing Lactic Acid Bacteria from Retail Foods and Animal Sources. *Microorganisms*, [Internet] 2015 3(1), 80–93. doi:10.3390/microorganisms3010080 Available From: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5023227/>
- 67 Prado-Acosta, M., Ruzal, S. M., Allievi, M. C., Palomino, M. M., & Sanchez Rivas, C. Synergistic Effects of the *Lactobacillus acidophilus* Surface Layer and Nisin on Bacterial Growth. *Applied and Environmental Microbiology*, [Internet] 2009;76(3), 974–977. doi:10.1128/aem.01427-09 Available From: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19948852>
- 68 Li, Z., Quan, G., Jiang, X., Yang, Y., Ding, X., Zhang, D., et al. Effects of Metabolites Derived From Gut Microbiota and Hosts on Pathogens. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, [Internet] 2018; 8. doi:10.3389/fcimb.2018.00314 Available From: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6152485>
- 69 Cursino, L., Smajs, D., Smarda, J., Nardi, R. M. D., Nicoli, J. R., et al. Exoproducts of the *Escherichia coli* strain H22 inhibiting some enteric pathogens both in vitro and in vivo. *Journal of Applied Microbiology*, [Internet] 2006; 100(4), 821–829. doi:10.1111/j.1365-2672.2006.02834.x Available From: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1365-2672.2006.02834.x>
- 70 Rowland, I., Gibson, G., Heinken, A., Scott, K., Swann, J., et al. Gut microbiota functions: metabolism of nutrients and other food components. *European Journal of Nutrition*, [Internet] 2017; 57(1), 1–24. doi:10.1007/s00394-017-1445-8 Available From: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5847071/>
- 71 Kim, C. H., Park, J., & Kim, M. Gut Microbiota-Derived Short-Chain Fatty Acids, T Cells, and Inflammation. *Immune Network*, [Internet] 2014; 14(6), 277. doi:10.4110/in.2014.14.6.277 Available From: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4275385/>

- 72 Tedelind, S., Westberg, F., Kjerrulf, M., & Vidal, A. Anti-inflammatory properties of the short-chain fatty acids acetate and propionate: A study with relevance to inflammatory bowel disease. *World Journal of Gastroenterology*, [Internet] 2007; 13(20), 2826. doi:10.3748/wjg.v13.i20.2826 Available From: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4395634/>
- 73 Ni, J., Wu, G. D., Albenberg, L., & Tomov, V. T. Gut microbiota and IBD: causation or correlation? *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*. [Internet] 2017; doi:10.1038/nrgastro.2017.88 Available From: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5880536/>
- 74 Mirsepasi-Lauridsen, H. C., Vrankx, K., Engberg, J., Friis-Møller, A., Brynskov, J., et al. Disease-Specific Enteric Microbiome Dysbiosis in Inflammatory Bowel Disease. *Frontiers in Medicine*, [Internet] 2018; 5. doi:10.3389/fmed.2018.00304 Available From: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmed.2018.00304/full>
- 75 Chakraborti, C. K. New-found link between microbiota and obesity. *World Journal of Gastrointestinal Pathophysiology*, [Internet] 2015; 6(4), 110. doi:10.4291/wjgp.v6.i4.110 Available From: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4644874/>
- 76 Nishida, A., Inoue, R., Inatomi, O., Bamba, S., Naito, Y., & Andoh, A. Gut microbiota in the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Clinical Journal of Gastroenterology*, [Internet] 2017; 11(1), 1–10. doi:10.1007/s12328-017-0813-5 Available From: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs12328-017-0813-5#CR58>
- 77 Henson, M. A., & Phalak, P. Microbiota dysbiosis in inflammatory bowel diseases: in silico investigation of the oxygen hypothesis. *BMC Systems Biology*, [Internet] 2017; 11(1). doi:10.1186/s12918-017-0522-1 Available From: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5745886/>
- 78 Rigottier-Gois, L. Dysbiosis in inflammatory bowel diseases: the oxygen hypothesis. *The ISME Journal*, [Internet] 2013; 7(7), 1256–1261. doi:10.1038/ismej.2013.80 Available From: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23677008>
- 79 Ungaro, R., Bernstein, C. N., Geary, R., Hviid, A., et al. Antibiotics Associated With Increased Risk of New-Onset Crohn’s Disease But Not Ulcerative Colitis: A Meta-Analysis. *The American Journal of Gastroenterology*, [Internet] 2014; 109(11), 1728–1738. doi:10.1038/ajg.2014.246 Available From: <https://europepmc.org/abstract/med/25223575>
- 80 Millan, B., Park, H., Hotte, N., Mathieu, O., Burguiere, et al. Fecal Microbial Transplants Reduce Antibiotic-resistant Genes in Patients With Recurrent *Clostridium difficile* Infection. *Clinical Infectious Diseases*, [Internet] 2016; 62(12), 1479–1486. doi:10.1093/cid/ciw185 Available From: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4885654/>

- 81 Gupta, S., Allen-Vercoe, E., & Petrof, E. O. Fecal microbiota transplantation: in perspective. *Therapeutic Advances in Gastroenterology*, [Internet] 2015; 9(2), 229–239. doi:10.1177/1756283x15607414 Available From: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4749851/>
- 82 Moore, S. C. Clostridium difficile. *Critical Care Nursing Clinics of North America*, [Internet] 2018; 30(1), 41–53. doi:10.1016/j.cnc.2017.10.004 Available From: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29413214>
- 83 Ledder, O. Antibiotics in inflammatory bowel diseases: do we know what we're doing?. *Transl Pediatr.* [Internet] 2019;8(1):42–55. doi:10.21037/tp.2018.11.02 Available From: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6382505>
- 84 He C, Wang H, Liao WD, Peng C, Shu X, Zhu X, Zhu ZH. Characteristics of mucosa-associated gut microbiota during treatment in Crohn's disease. *World J Gastroenterol* [Internet] 2019; 25(18): 2204-2216; DOI: <https://dx.doi.org/10.3748/wjg.v25.i18.2204> Available From: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6526154/>
- 85 Levy AN, Allegretti JR. Insights into the role of fecal microbiota transplantation for the treatment of inflammatory bowel disease. *Therap Adv Gastroenterol.* [Internet] 2019 14 março;12:1756284819836893.doi:10.1177/1756284819836893 Available From: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30906424>
- 86 Parada Venegas D, De la Fuente MK, Landskron G, et al. Short Chain Fatty Acids (SCFAs)-Mediated Gut Epithelial and Immune Regulation and Its Relevance for Inflammatory Bowel Diseases [published correction appears in *Front Immunol.* 2019 Jun 28;10:1486]. *Front Immunol.* [Internet] 2019,11março;10:277. doi:10.3389/fimmu.2019.00277 Available From: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6421268/>
- 87 Seekatz, A. M., Theriot, C. M., Rao, K., Chang, Y.-M., Freeman, A. E., Kao, J. Y., & Young, V. B. Restoration of short chain fatty acid and bile acid metabolism following fecal microbiota transplantation in patients with recurrent Clostridium difficile infection. *Anaerobe.* [Internet] 2018 doi:10.1016/j.anaerobe.2018.04.001 [Internet] Available From: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29654837>
- 88 Derwa, Y., Gracie, D. J., Hamlin, P. J., & Ford, A. C. Systematic review with meta-analysis: the efficacy of probiotics in inflammatory bowel disease. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics.* [Internet] 2017 46(4), 389–400. doi:10.1111/apt.14203 Available From: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/apt.14203>
- 89 Davani-Davari D, Negahdaripour M, Karimzadeh I, et al. Prebiotics: Definition, Types, Sources, Mechanisms, and Clinical Applications. *Foods.* [Internet] 2019 Mar 9.;8(3):92. doi:10.3390/foods8030092 Available From: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6463098/>
- 90 Looijer–Van Langen, M. A. C., & Dieleman, L. A. Prebiotics in Chronic Intestinal Inflammation. *Inflammatory Bowel Diseases.* [Internet] 2009, 15(3), 454–462.

doi:10.1002/ibd.20737 Available From:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5148622/>

- 91 Akram, W., Garud, N., & Joshi, R. Role of inulin as prebiotics on inflammatory bowel disease. *Drug Discoveries & Therapeutics*. [Internet] 2019, 13(1), 1–8.
doi:10.5582/ddt.2019.01000 Available From:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30880316>
- 92 Darfeuille-Michaud, A., Boudeau, J., Bulois, P., et al. High prevalence of adherent-invasive *Escherichia coli* associated with ileal mucosa in Crohn's disease. *Gastroenterology*. [Internet] 2004 127(2), 412–421. doi:10.1053/j.gastro.2004.04.061
Available From: [https://www.gastrojournal.org/article/S0016-5085\(04\)00771-1/fulltext?referrer=https%3A%2F%2Fwww.ncbi.nlm.nih.gov%2F](https://www.gastrojournal.org/article/S0016-5085(04)00771-1/fulltext?referrer=https%3A%2F%2Fwww.ncbi.nlm.nih.gov%2F)
- 93 Hold, G. L. Role of the gut microbiota in inflammatory bowel disease pathogenesis: What have we learnt in the past 10 years? *World Journal of Gastroenterology*. [Internet] 2014, 20(5), 1192. doi:10.3748/wjg.v20.i5.1192
Available From: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3921503/>