

**U**

**LISBOA**

UNIVERSIDADE  
DE LISBOA



FACULDADE DE  
**MEDICINA**  
LISBOA

# **TRABALHO FINAL**

## **MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA**

---

Laboratório de Nutrição

**Relação entre dieta, microbiota intestinal,  
permeabilidade intestinal e doença de Crohn**

Ana Filipa Canastra de Oliveira

---

**JULHO'2019**



LISBOA

UNIVERSIDADE  
DE LISBOA



FACULDADE DE  
**MEDICINA**  
LISBOA

# **TRABALHO FINAL**

## **MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA**

---

Laboratório de Nutrição

### **Relação entre dieta, microbiota intestinal, permeabilidade intestinal e doença de Crohn**

Ana Filipa Canastra de Oliveira

**Orientado por:**

Prof.ª Doutora Catarina Sousa Guerreiro

---

**JULHO'2019**

## Resumo

Juntamente com o importante papel da suscetibilidade não genética, o aumento da incidência da doença de Crohn (DC) em países recentemente industrializados tem evidenciado o forte impacto de fatores ambientais na sua patogênese. Dois potenciais fatores a ter em conta são a dieta e a microbiota intestinal. Os avanços científicos dos últimos anos têm demonstrado que a DC está associada a uma permeabilidade intestinal (PI) aumentada e a uma redução da diversidade da microbiota intestinal. Vários componentes alimentares podem influenciar a PI e a microbiota intestinal e, portanto, serem potencialmente benéficos ou prejudiciais na DC. Dietas com um elevado teor de alimentos processados, gorduras saturadas/trans e açúcares refinados, por exemplo, são ricas em vários componentes prejudiciais para a PI e para a microbiota intestinal sendo, assim, potencialmente prejudiciais para a DC. Por outro lado, dietas ricas em fruta e vegetais têm sido associadas a uma diminuição da PI e a um aumento da diversidade da microbiota intestinal, podendo ser benéficas na DC.

Várias dietas têm sido criadas com o intuito de induzir a remissão ou gerir a sintomatologia da DC, por exemplo, a dieta de hidratos de carbono específicos (DCE) e a FODMAP, entre outras. No entanto todas são bastante restritivas o que dificulta a sua utilização a longo prazo e, embora os doentes possam referir melhorias, ainda não há evidências de qualidade que comprovem a sua eficácia. Dado o potencial papel da microbiota intestinal na DC, também os probióticos e prebióticos têm vindo a ser estudados como uma potencial arma terapêutica, assim como o transplante fecal. Porém estamos apenas no início e mais e melhores estudos têm de ser feitos nesta área. Até lá, uma dieta rica em alimentos não processados, fruta e vegetais como a dieta Mediterrânea, parece ser uma boa opção para estes doentes.

**Palavras-chave:** doença de Crohn, microbiota intestinal, permeabilidade intestinal, dieta, probióticos.

## **Abstract**

Along with the important role of non-genetic susceptibility, the increase in the incidence of Crohn's disease (CD) in newly industrialized countries has shown that it has a strong environmental component. Two potential factors involved are diet and intestinal microbiota. The scientific progress of recent years has demonstrated that CD is associated with an increased intestinal permeability (IP) and a decreased diversity of the intestinal microbiota. Several dietary components may influence IP and intestinal microbiota and, therefore, may be beneficial or harmful in CD. Diets with a high content of processed foods, saturated/trans fats and refined sugars, for example, are full of components that are harmful for IP and the microbiota, thus, potentially damaging to CD. On the other hand, diets high in fruit and vegetables are associated with a reduction in IP and enhancement of the intestinal microbiota, and therefore may be beneficial in CD.

Several diets have been created with the purpose of inducing remission or managing CD symptoms, for example, the specific carbohydrate diet (DCE) and FODMAP, among others. However, all of these diets dictate nutritional restrictions that make their long term use difficult and, although patients may refer improvements, there's still no quality evidence of their effectiveness. Given the potential role of the intestinal microbiota in CD, probiotics and prebiotics have also been being studied as a potentially therapeutic weapon, as well as fecal transplantation. However, we're just in the beginning and more and better studies have to be done in this field. Until then, a diet mainly composed of unprocessed foods, fruit and vegetables, such as the Mediterranean diet, seems to be a good choice for these patients.

**Key-words:** Crohn disease, intestinal microbiota, intestinal permeability, diet, probiotics.

## Índice

<b>RESUMO</b> .....	<b>1</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>2</b>
<b>ÍNDICE</b> .....	<b>3</b>
<b>LISTA DE ABREVIATURAS</b> .....	<b>4</b>
<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>5</b>
<b>BARREIRA INTESTINAL VS PERMEABILIDADE INTESTINAL</b> .....	<b>7</b>
<b>MICROBIOTA INTESTINAL</b> .....	<b>8</b>
<b>DOENÇA DE CROHN, PERMEABILIDADE INTESTINAL E MICROBIOTA INTESTINAL</b> .....	<b>9</b>
<b>RELAÇÃO DA PERMEABILIDADE INTESTINAL COM A DOENÇA DE CROHN</b> .....	<b>9</b>
<b>RELAÇÃO DA MICROBIOTA INTESTINAL COM A DOENÇA DE CROHN</b> .....	<b>10</b>
<b>RELAÇÃO DA DIETA COM A MICROBIOTA INTESTINAL, A PERMEABILIDADE INTESTINAL E A DOENÇA DE CROHN</b> .....	<b>10</b>
<b>PROBIÓTICOS E PREBIÓTICOS NA DOENÇA DE CROHN</b> .....	<b>13</b>
<b>DIETAS UTILIZADAS NA DOENÇA DE CROHN</b> .....	<b>14</b>
<b>REFLEXÕES E PERSPETIVAS FUTURAS</b> .....	<b>15</b>
<b>CONCLUSÃO</b> .....	<b>17</b>
<b>AGRADECIMENTOS</b> .....	<b>18</b>
<b>BIBLIOGRAFIA</b> .....	<b>18</b>

## Lista de abreviaturas

AGCCs – ácidos gordos de cadeia curta

AGPI  $\Omega$ -3 – ácidos gordos polinsaturados ómega-3

AGPI  $\Omega$ -6 – ácidos gordos polinsaturados ómega-6

AINEs – anti-inflamatórios não esteroides

EUA – Estados Unidos da América

DC – doença de Crohn

DCE – dieta de hidratos de carbono específicos

DII – doença inflamatória intestinal

FODMAP – dieta de oligossacarídeos, dissacarídeos, monossacarídeos e polióis fermentáveis

IFN- $\gamma$  – interferão- $\gamma$

IgA – imunoglobulina A

MAPK – proteína cinase ativada por mitogénios

PAMs – péptidos e proteínas antimicrobianos

PGAs – produtos finais de glicação avançada

PI – permeabilidade intestinal

PKC – proteína cinase C

POLs – produtos finais de oxidação lipídica

RTLs – recetores *toll-like*

SOs – solventes orgânicos

TGm – transglutaminase microbiana

TJ – *tight junctions*

TNF- $\alpha$  – fator de necrose tumoral alfa

Treg – linfócitos T reguladores

## Introdução

Desde o reconhecimento da doença de Crohn (DC) em 1932 que a sua incidência veio a aumentar substancialmente no mundo ocidental (EUA, Europa ocidental, Canadá, Austrália, Nova Zelândia). No entanto, na última década, temos vindo a observar uma mudança de paradigma com uma estabilização nalguns países ocidentais e um aumento da incidência em países recentemente industrializados (Ásia, América do Sul, África). Estes factos poderão ser explicados, pelo menos em parte, por medidas de saúde pública implementadas no Ocidente (por exemplo a diminuição do tabagismo, um fator de risco para DC) e, por outro lado, pela transição dos países em desenvolvimento para sociedades mais “ocidentalizadas”/industrializadas, com exposições ambientais e hábitos diferentes, assim como um melhor acesso aos cuidados de saúde e consequente diagnóstico [1–4]. Um exemplo surge das populações migrantes, nas quais filhos de indivíduos que emigraram de zonas com baixa incidência para zonas com alta incidência de DC, têm um maior risco de vir a desenvolver a doença quando comparados com os seus pais [1,2].

Apesar da incidência estar a estabilizar no mundo ocidental, a prevalência da DC continua a aumentar, indo, atualmente, até 0,5% da população destes países, o que poderá ser explicado por uma esperança média de vida cada vez maior nestes doentes, pelo aumento populacional e, possivelmente, pela imigração [4].

Em Portugal os estudos epidemiológicos sobre este tema são escassos mas, *Azevedo et al.*, deduziu que, em 2007, a prevalência rondaria os 73 casos por cada 100 000 pessoas, sendo mais prevalente entre os 17 e os 39 anos e ligeiramente mais prevalente nas mulheres [5].

A DC é uma doença crónica, progressiva e marcada pela inflamação de qualquer parte do trato gastrointestinal [6]. A doença pode estar sempre ativa, progredir por surtos ou entrar em remissão prolongada mas, até à data é, incurável [4,7,8]. Diarreia, dor abdominal, febre baixa e perda de peso não intencional são os sintomas mais comuns, podendo ter como achados endoscópicos úlceras, estenoses e granulomas [6,7,9]. Como complicações pode ter malnutrição; fístulas, melenas ou hematoquésias que por sua vez podem levar a anemia; abscessos; oclusões; megacólon tóxico e perfurações intestinais com consequente peritonite e choque tóxico [6,9]. Embora a DC seja primariamente uma doença com manifestações gastrointestinais esta é, na verdade, uma doença sistémica, podendo os seus doentes apresentar manifestações em quase todos os sistemas do corpo, nomeadamente a nível articular, dermatológico, cardíaco, pulmonar, renal ou mesmo

neurológico [6]. Ainda que possa ser diagnosticada em qualquer idade, a maioria dos diagnósticos são feitos em adolescentes e adultos jovens, com uma ligeira predominância no sexo feminino [10].

Até à data vários genes foram associados a uma suscetibilidade aumentada para DC. Os polimorfismos com associações mais fortes com esta doença ocorrem em genes relacionados com a deteção, defesa e tolerância (NOD2/CARD15), resposta inflamatória (IL23R) e autofagia (ATG16L1) de microrganismos [4,7,11]. Estes podem assim levar a alterações do sistema imune intestinal através, por exemplo, de disfunções da barreira intestinal no reconhecimento de antígenos. Recetores *toll-like* (RTLs) envolvidos na produção de IgA, manutenção das *tight junctions* (TJ) e expressão de péptidos e proteínas antimicrobianos (PAMs), podem ser encontrados ao longo do epitélio luminal, variando em tipo e concentração, e, têm a capacidade de distinguir microrganismos comensais dos patogénicos, reconhecendo a maioria da microbiota intestinal de um indivíduo saudável e eliminando apenas os microrganismos que possam ser nocivos. No entanto, na DC, há menos expressão de RTL-3 e 5, o que resulta numa hipersensibilidade à microbiota intestinal, originando uma resposta inflamatória em face destes microrganismos habitualmente inócuos [6,7,12]. Parece ainda haver uma incapacidade da mucosa intestinal em suprimir uma resposta imune inapropriada. Isto pode ocorrer, por exemplo, por desregulação da atividade de citocinas (TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  e várias interleucinas) e linfócitos T (Th1, Th17) devido ao reduzido número de células T reguladoras (Treg) encontrado nestes doentes [6,7,12,13].

Apesar desta associação, indivíduos com predisposição genética para DC (por exemplo, mutações NOD2/CARD15) têm um risco relativamente baixo de vir a desenvolver a doença, 3%, e, embora seja um número significativo, apenas 25% dos doentes com DC têm história familiar, mesmo em gémeos monozigóticos a concordância é inferior a 50% [11,14]. A par das mudanças na incidência de DC pelo mundo e na população emigrante para zonas endémicas, este facto suporta que existam outras causas para esta doença, muito possivelmente fatores ambientais como a dieta. As mudanças na agricultura e indústria alimentar que ocorreram nas últimas décadas permitiram aumentar a capacidade de providenciar comida perante um crescimento exponencial da população na Terra. O aumento do consumo também tem sido facilitado por uma melhoria das condições de vida e pelas estratégias de desenvolvimento e marketing da indústria alimentar, principalmente nos países mais desenvolvidos. Viver em países ocidentais tem, portanto, a benesse de uma quantidade e diversidade alimentar sem precedentes na nossa

história, mas o problema da transição para a chamada “dieta ocidental” frequentemente rica em ácidos gordos saturados e hidrogenados ou *trans*, colesterol, proteína, açúcares, sal, bem como o consumo frequente de alimentos processados e *fast food*. Esta transição nos padrões nutricionais está a começar a ocorrer um pouco por todo o Mundo, podendo ser, em parte, responsável pelo aumento da incidência de DC nos países recentemente industrializados [15].

Discutir todos os fatores de risco ou protetores na DC vai para além do objetivo deste trabalho mas discutiremos como a dieta, a microbiota e a permeabilidade intestinal (PI) podem afetar esta doença.

### **Barreira intestinal vs Permeabilidade intestinal**

O intestino é revestido por uma mucosa altamente complexa e especializada capaz de digerir e absorver os nutrientes necessários enquanto mantém uma relação de simbiose com triliões de microrganismos comensais, e, protege o corpo de entidades potencialmente nocivas como microrganismos patogénicos ou antigénios alimentares [11,12,16–18]. A parede intestinal representa assim a primeira linha de defesa intestinal, sendo bastante eficiente em evitar que o conteúdo luminal nocivo contacte com endotélio vascularizado e, potencialmente, o resto do corpo [15,19].

Embora sejam muitas vezes utilizados como sinónimos, “barreira intestinal” e “permeabilidade intestinal” são conceitos distintos. A barreira intestinal é um termo utilizado para descrever os componentes protetores do intestino contra infeções e toxinas. Esta é composta por uma barreira física que inclui o endotélio vascularizado; o epitélio intestinal, composto por uma única camada de células epiteliais (enterócitos – 80% –, células enteroendócrinas, células de Paneth, células caliciformes, células estaminais e a lâmina própria [16–18]) e uma camada de muco que reveste este epitélio. Existe ainda uma barreira química composta de secreções digestivas, PAMs e outros produtos celulares (como citocinas e outros mediadores inflamatórios). O sistema imune e o peristaltismo do trato gastrointestinal também contribuem para esta barreira [17]. A permeabilidade intestinal (PI), por sua vez, é uma função da barreira intestinal fortemente relacionada com a microbiota intestinal assim como com os elementos do sistema imune da mucosa [17]. Esta é definida como “a facilidade com que o epitélio intestinal permite a passagem de moléculas por difusão passiva não mediada”, e pode ser feita transcelularmente ou paracelularmente [16]. A via transcelular ocorre através de

endo/exocitose mediadas ou não por recetores membranares [11,16]. A via paracelular é, maioritariamente, controlada por uma estrutura chave dos espaços intercelulares do epitélio intestinal, as *tight junctions* (TJ) [11,12,16–18,20]. Pesquisas realizadas na última década demonstraram que as TJ são estruturas dinâmicas constituídas por um complexo conjunto de proteínas (claudinas, ocludina, moléculas de adesão juncional, tricelulina, zonulinas e cingulina) que interagem entre si e com o citoesqueleto das células epiteliais [12,15–18,20,21], estando em constante remodelamento devido a interações com estímulos externos, como resíduos alimentares e microrganismos comensais ou patogénicos [18]. A composição/estrutura das TJ varia ainda ao longo do trato intestinal [12,15,17,20].

Quando a PI aumenta, substâncias que normalmente seriam incapazes de atravessar a barreira intestinal, ou o fariam em pequenas quantidades toleradas pelo sistema imune, como microrganismos, toxinas e antigénios alimentares, ganham acesso aos recetores de antigénios da lâmina própria, originando uma resposta inflamatória imune que pode levar a dano tecidual e, se prolongada, a um síndrome inflamatório intestinal crónico [6,7,12,15–17,19,20]. Estas substâncias podem ainda ganhar acesso à circulação sistémica, sendo concebível que sejam também, em parte, responsáveis por patologias sistémicas [12,19,20]. Assegurar um correto funcionamento desta barreira é, portanto, fundamental [12].

Muitos fatores podem alterar a permeabilidade intestinal: alterações da composição da microbiota/probióticos, alterações na camada de muco que reveste a barreira intestinal, danos epiteliais (infecções ou redução da perfusão da mucosa, por exemplo), alguns fármacos como os AINEs e fatores ambientais relacionados com o estilo de vida como a dieta e o consumo de álcool, entre outros [16,17,21].

## **Microbiota intestinal**

A microbiota intestinal é composta por triliões de microrganismos, maioritariamente bactérias mas também fungos, archaea, leveduras, vírus e protozoários [7,21]. Estes têm uma relação de simbiose entre si e com o hospedeiro, auxiliando o organismo a digerir e produzir nutrientes, como vitaminas, aminoácidos e ácidos gordos de cadeia curta (AGCCs), por exemplo o butirato [16,17,21,22]. O metabolismo epitelial destes AGCCs é fundamental para o hospedeiro, sendo o butirato o substrato metabólico preferencial das células epiteliais intestinais [7,22]. Extensa literatura suporta que o butirato é protetor da

barreira intestinal, aumentando a produção de mucinas e PAMs e diminuindo a PI através do seu efeito anti-inflamatório e aumento da expressão das proteínas das TJ [7,9,12,17,22]. Os AGCCs estimulam ainda a tolerância imune através do aumento da produção de células Treg [23]. A microbiota comensal é ainda um antagonista direto de microrganismos patogénicos devido à competição por nutrientes [12,21], é reguladora da síntese e degradação do muco intestinal [17] e pode mesmo influenciar a expressão genética do hospedeiro [1].

A composição da microbiota intestinal é dinâmica, sendo modificada por fatores ambientais, como por exemplo a dieta e a localização geográfica, e outros não modificáveis como a idade ou a genética [12,17,21,24,25].

Uma disrupção da coexistência pacífica existente entre a microbiota intestinal e o hospedeiro pode assim levar a danos na integridade da barreira intestinal, que por sua vez podem levar a imunodeficiências severas e risco acrescido de doença [17].

### **Doença de Crohn, permeabilidade intestinal e microbiota intestinal**

A teoria mais popular para explicar a patogénese da DC considera que esta é consequência de uma resposta inflamatória imunomediada descontrolada, em indivíduos geneticamente predispostos, a um estímulo ambiental desconhecido que interage com a microbiota intestinal do indivíduo [8,11,17].

Paradoxalmente, pode haver uma resposta insuficiente da mucosa intestinal face a certos estímulos bacterianos levando a uma resposta imune insuficiente contra potenciais microrganismos patogénicos [17].

#### [Relação da permeabilidade intestinal com a doença de Crohn](#)

A permeabilidade intestinal aumentada tem sido cada vez mais associada à DC [7,11,12,17–19,21,26–28]. Apesar de encontrado principalmente nos doentes com doença ativa, este defeito pode preceder ou suceder os achados endoscópicos, podendo ser encontrado em indivíduos saudáveis com risco familiar [6,11,21,29] e em doentes em remissão sintomáticos. *Chang J. et al*, realizaram um estudo em doentes com DC em remissão, sintomáticos e assintomáticos, e identificaram que a PI era significativamente maior nos pacientes sintomáticos. Este estudo verificou ainda que não existiam diferenças da PI entre doentes com DC assintomática e o grupo de controlo [27], evidenciado que este defeito pode ser, pelo menos em parte, responsável pela sintomatologia desta doença.

Está ainda em debate o reconhecimento da inflamação como causa ou consequência do aumento da PI, não existindo no entanto dúvidas sobre o elo importante entre o aumento da permeabilidade intestinal e a DC [7,11,21,29]. Na verdade, as mutações genéticas e consequentes disfunções do sistema imune referidas acima acabam por também estar associadas a um aumento da PI, devido à inflamação e dano tecidual que originam [7,13].

#### Relação da microbiota intestinal com a doença de Crohn

Estudos que investigam a disbiose em casos de DC identificaram uma reduzida diversidade de microbiota intestinal nestes doentes quando comparados com indivíduos saudáveis [7–9,12,17]. Esta redução pode ser um dos mecanismos da doença devido a um aumento de espécies proinflamatórias (como a *Escherichia coli Aderente-Invasiva*) e a uma diminuição das filós *Firmicutes* e *Bacteroidetes* que são protetoras da doença (através, por exemplo, da produção de butirato) [1,7,8,12,17,22,24,26,29]. Eeckhaut V. et al, demonstraram que o género *Butyricoccus* (da filo *Firmicutes*) está reduzido na microbiota fecal de doentes com DC quando comparados com indivíduos saudáveis e, mais importante, este género está também diminuído em doentes com a doença ativa em relação aos doentes em remissão [9]. No entanto, continua a não ser claro se a disbiose observada é uma causa ou consequência da DC [7,30].

#### **Relação da dieta com a microbiota intestinal, a permeabilidade intestinal e a doença de Crohn**

Os doentes atribuem frequentemente os sintomas clínicos da DC à sua dieta e isto levou a que, nos últimos anos, surgissem vários estudos sobre a importância da dieta como causa e/ou tratamento da DC [23,24]. Embora o estudo da dieta seja dificultado por inúmeras limitações metodológicas, esta tem demonstrado ter um papel fundamental na homeostase intestinal, interagindo com a barreira, a microbiota e o sistema imune intestinais e mesmo com a epigenética e expressão genética do indivíduo, podendo ter um papel importante a desempenhar na patogénese da DC [1,2,30].

Como já foi exposto atrás, o aumento da PI tem sido cada vez mais associado à DC. Ora, os antígenos alimentares podem regular a PI alterando a atividade de transportadores (via transcelular) ou a permeabilidade das TJ (via paracelular) [16]. No entanto, o efeito da dieta na PI pode ser dependente de fatores individuais como a

microbiota intestinal. Por exemplo, o aumento da PI durante a adaptação metabólica a uma dieta rica em gordura, como a “dieta ocidental”, está associada a uma redução da diversidade da microbiota intestinal, contrariamente a dietas ricas em fruta e vegetais [17,25,30,31]. A dieta afeta também a produção de metabolitos, nomeadamente o butirato, pela microbiota intestinal. Dietas à base de produtos animais e ricas em gordura, açúcar e alimentos processados reduzem a produção de butirato [30–32]. Por outro lado, dietas ricas em fibra e amidos alimentares, por exemplo, levam a uma maior produção de butirato e outros AGCCs [7,9,22,30,31], razão pela qual mostraram ser protetoras em casos de colite experimentais [22]. Parece assim impossível dissociar a microbiota intestinal e alterações da PI quando estamos a falar da associação entre dieta e DC, parecendo haver uma associação entre estes 3 fatores - microbiota intestinal, PI e dieta – nesta doença.

Para além de afetar a PI e a composição e produção de metabolitos pela microbiota intestinal, a dieta pode afetar a barreira intestinal através de outros mecanismos. Os antigénios alimentares podem estimular ou suprimir uma resposta imune através da imunonutrição [1]: os RTLs 2 e 4, por exemplo, podem ser ativados por ácidos gordos saturados, mas parecem ser inibidos por AGPI  $\Omega$ -3 [23,33]. A dieta pode também ter um impacto direto na camada de muco que reveste e protege o trato gastrointestinal. Por exemplo, a treonina, um aminoácido essencial presente em vários alimentos, tem a capacidade de melhorar a função da barreira intestinal aumentando a produção de muco [23].

A glutamina, a fonte primária de aminoácidos da mucosa intestinal, é, atualmente, o composto mais conhecido por manter a integridade da barreira intestinal, reduzindo a PI ao proteger a integridade das TJ e diminuir a inflamação intestinal [12,15,16,18,19,33]. O triptofano, outro aminoácido, também mostrou reduzir a PI em modelos experimentais [16]. A taurina demonstrou efeitos anti-inflamatórios tanto *in vitro* como *in vivo* [16]. Péptidos derivados do queijo e leite como a  $\beta$ -caseína e  $\beta$ -lactoglobulina, também têm mostrado reduzir a PI [16]. Polifenóis como a quercetina, miricetina, kaempferol, genisteína ou a curcumina têm igualmente vindo a ser estudados devido ao seu potencial anti-inflamatório capaz de proteger, indiretamente, a integridade das TJ [15–18,23]. Vários polifenóis têm ainda mostrado inibir os transportadores de glucose do intestino delgado e podem influenciar a composição da microbiota intestinal [16]. A vitamina D e A, o zinco, AGPI  $\Omega$ -3, fibra alimentar e hidratos de carbono de

absorção lenta, como amidos, também estão associados a uma diminuição da permeabilidade intestinal e melhoria da saúde intestinal [8,9,16,18,21,23,33].

Por outro lado, dietas ricas em alimentos processados, hidratos de carbono e gordura, apresentam vários compostos que podem ter um impacto negativo na nossa saúde. Alimentos altamente processados como pastelaria doce e salgada, cereais, *fast-food*, refrigerantes, molhos, manteigas e margarinas entre outros, são ricos em vários ingredientes como açúcares ou edulcorantes, sal, emulsionantes ou nanoemulsões, solventes orgânicos e enzimas como a TGM, que aumentam a PI através de alterações nas TJ, nas membranas ou transportadores de membrana das células epiteliais, na camada de muco intestinal ou através de mudanças na composição da microbiota intestinal [15,18,23]. A gliadina presente no glúten pode induzir um aumento da PI. O caprato de sódio, um ácido gordo de cadeia média constituinte da gordura do leite, também tem mostrado aumentar a PI devido a alterações nas TJ [34]. Inibidores da tripsina e amilase- $\alpha$ , encontrados no trigo, podem levar a um aumento da inflamação intestinal [30] e o álcool e respetivos metabolitos também podem danificar a barreira intestinal aumentando a PI [16]. Para além da composição dos alimentos, a própria forma como estes são confeccionados ou processados pode levá-los a ter um efeito nocivo na barreira intestinal. A utilização de altas temperaturas na conservação e aromatização industriais dos alimentos assim como para confeccionar, pode levar à formação de PGAs e POLs que por sua vez podem induzir ou exacerbar inflamação intestinal e alterar a microbiota intestinal. Estes compostos representam um importante componente de dietas ricas em gordura e alimentos processados, refrigerantes entre muitos outros alimentos, têm um elevado teor de PGAs assim como de outros dos componentes nocivos já enumerados acima. Fritar parece gerar mais PGAs que assar e cozer parece ser o método que gera menos. O método mais seguro para confeccionar parece assim ser cozedura lenta a baixas temperaturas [19].

Tendo em conta o seu papel na PI e/ou microbiota intestinal todos os alimentos/componentes alimentares aqui referidos podem ter um papel a desempenhar na DC e vários estudos têm vindo a demonstrar esta associação. O papel da dieta na patogénese da DC pode iniciar-se logo na 1ª infância, sendo o aleitamento materno um fator protetor [10] e as fórmulas de leite infantis um fator de risco, dado poderem ter componentes como emulsionantes na sua composição [15]. A curcumina já demonstrou melhorias dos parâmetros clínicos na colite induzida em modelos animais, assim como a glutamina, a taurina, a arginina e a histidina [16,18,19,23]. Um baixo nível de zinco tem sido associado a hospitalização, cirurgia e outras complicações da DC [34]. A deficiência

de vitamina D, uma característica da DC, está correlacionada com o risco para e com a severidade da doença. Em contraste, a suplementação com vitamina D melhorou os sintomas, reduziu a inflamação e melhorou os parâmetros histológicos e a mortalidade em modelos animais de DC [17,35]. Por outro lado, um consumo elevado de gorduras (AGPI  $\Omega$ -6, gorduras saturadas e hidrogenadas/*trans*), hidratos de carbono de absorção rápida (por exemplo, açúcares refinados) e carnes vermelhas têm sido associados a um risco aumentado de DC [21,23,30,36], embora existam discordâncias entre a associação de alguns tipos de gordura [16] e hidratos de carbono [30]. *Niewiadomski O. et al*, demonstraram que o consumo de *fast-food*, por exemplo, está associado a um aumento do risco para esta doença [2]. Há ainda evidência que o consumo de emulsionantes através da alimentação também possa contribuir para um risco aumentado de DC [14,15,23]. PGAs e POLs poderão induzir ou exacerbar a inflamação típica desta doença [19]. O glúten induziu ileíte em modelos animais, sendo um potencial fator de recaída na DC [30] e o caprato de sódio também tem demonstrado poder exacerbar a PI nestes doentes [34].

#### Probióticos e prebióticos na doença de Crohn

Os probióticos são definidos pela Organização Mundial da Saúde como “organismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios para a saúde do hospedeiro”. Estes são, basicamente, bactérias não patogénicas derivadas do trato alimentar que contribuem para a saúde intestinal do hospedeiro, protegendo-o de microrganismos patogénicos, contribuindo para a integridade da barreira epitelial e, na teoria, podendo mesmo ter um papel na regulação da resposta imune descontrolada que ocorre na DC [33]. Por outro lado, os prebióticos são componentes alimentares, não digeríveis, que contribuem para a saúde do hospedeiro ao induzir mudanças específicas na composição e atividade da microbiota intestinal [16,33]. Dietas ricas em fibra/prebióticos estimulam o crescimento de microbiota produtora de AGCCs que, por sua vez, protegem a barreira intestinal pelos mecanismos já explicados [1,16]. Na realidade, tanto os probióticos como os prebióticos estão associados a uma diminuição da permeabilidade intestinal, tendo mostrado ser promotores da integridade da barreira intestinal tanto *in vitro* como *in vivo*. [18,21].

*Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Escherichia coli* Nissle 1917 e *Bifidobacterium infantis* Y1 parecem utilizar vias de sinalização associadas à regulação das TJ, como GTPases, PKC ou MAPK, para melhorar a integridade da barreira intestinal contra estirpes de *E.Coli* enteroinvasivas [17,18], já tendo sido demonstrado

que protegem a barreira intestinal em modelos de colite experimental [7]. *Bacteroides thetaiotaomicron* ATCC29184, *Lactobacillus rhamnosus* GG, *Bifidobacterium longum* SP 07/3, *S. thermophilus* ATCC19258 e *L. acidophilus* ATCC4356 podem reduzir os efeitos nocivos de citocinas como IFN- $\gamma$  e TNF- $\alpha$  (as mais associadas à DC), sobre a barreira intestinal [18]. Várias estirpes do *Lactobacillus plantarum* mostraram proteger contra a ruptura do citoesqueleto das células intestinais epiteliais e das TJ por estirpes de *E.Coli* enteroinvasivas, impedindo a aderência destas ao epitélio [12,18]. Anderson R. C. et al, demonstraram ainda que o *Lactobacillus plantarum* MB452 melhora a função da barreira intestinal através do aumento dos níveis de expressão de genes associados às TJ [28].

O tratamento apenas com metabolitos de probióticos também pode ser protetor contra danos da barreira intestinal infligidos por microorganismos patogênicos. Metabolitos do *Bifidobacterium lactis* 420 parecem conferir proteção contra microorganismos patogênicos, como estirpes de *E.Coli* enterohemorrágicas, mesmo na ausência do *Bifidobacterium lactis* 420. No entanto é necessário que o tratamento seja prévio ao contacto com o estímulo agressor [18].

O Beta-glucano, um prebiótico, mostrou-se eficaz em reduzir a PI induzida por mastócitos na DC, sugerindo que os prebióticos podem beneficiar a barreira intestinal não só através da indução da colonização de microbiota intestinal mas também através de efeitos diretos na mucosa intestinal [7].

#### [Dietas utilizadas na doença de Crohn](#)

Nos últimos anos várias dietas têm tentado induzir/manter a remissão e/ou reduzir a sintomatologia da DC, por exemplo: dietas de exclusão, a dieta de hidratos de carbono específicos (DCE), a dieta de oligossacarídeos, dissacarídeos, monossacarídeos e polióis fermentáveis (FODMAP) e a dieta anti-inflamatória.

A dieta de exclusão da DC foi desenvolvida de acordo com a teoria que a DC é causada pela associação e translocação de bactérias através da mucosa e, portanto, exclui os alimentos que têm sido associados a alterações da barreira intestinal e disbiose. É assim baixa em alimentos processados, emulsionantes, glúten, laticínios e gordura animal entre outros, e rica em hidratos de carbono complexos e fibra. Estudos retrospectivos, embora com limitações metodológicas, mostraram que esta tem uma alta taxa de remissão em doentes em ambos os espectros da doença, desde doença leve a refratária ao tratamento farmacológico convencional [30,37].

A DCE é uma dieta bastante restritiva que aconselha os seus seguidores a excluir alimentos processados e evitar hidratos de carbono complexos (di e polissacarídeos), optando apenas por monossacarídeos (glucose, frutose, galactose) encontrados na fruta e vegetais, de forma a diminuir o consumo de hidratos de carbono mais difíceis de digerir que, portanto, fiquem disponíveis para as bactérias e leveduras intestinais que acredita serem responsáveis pela sintomatologia observada na DC. Estudos retrospectivos têm mostrado que esta pode ser eficaz na redução da sintomatologia da DC [23,33,34,37].

A FODMAP é uma dieta que surgiu devido à demonstração que a restrição de certos grupos de hidratos de carbono fermentáveis como oligossacarídeos, dissacarídeos, monossacarídeos e polióis, era eficaz a gerir a sintomatologia da síndrome do intestino irritável que é também prevalente na DC. A teoria desta é parcialmente semelhante à anterior passando pela exclusão de hidratos de carbono que sejam dificilmente absorvidos e, portanto, fermentados por bactérias intestinais resultando em flatulência, distensão e dores abdominais. Há, no entanto, a preocupação que esta dieta possa exacerbar a disbiose já existente na DC, por reduzir o consumo de compostos prebióticos e, portanto, não é aconselhável a longo prazo [30,34].

A dieta anti-inflamatória da DC é baseada na DCE mas aconselha também a suplementação com AGPI  $\Omega$ -3, pre e probióticos e utiliza uma abordagem à reintrodução alimentar baseada na textura dos alimentos. Inclui ainda alguns alimentos proibidos na DCE como papas de aveia, leite de soja, sementes de linhaça e chia, fenacho e húmus [34].

## **Reflexões e perspetivas futuras**

O estudo da dieta na patogénese da DC é complicado por múltiplos fatores. Muitos estudos são retrospectivos o que em si tem várias limitações, por exemplo, os doentes podem ter mudado o seu padrão alimentar inconscientemente antes do diagnóstico, devido a sintomas que já pudessem ter. Outros estudos estão dependentes de modelos experimentais animais que tornam complicado fazer a extrapolação para humanos, ou, de linhagens celulares que não conseguem simular a complexidade de interações entre os componentes alimentares entre si, com a microbiota e a barreira intestinal. É difícil perceber, por exemplo, se uma dieta rica em *fast-food* é prejudicial devido ao teor de gordura, açúcar, sal ou componentes sintéticos como emulsionantes ou porque uma dieta rica nestes alimentos é, habitualmente, pobre em fibra por exemplo. Isto leva a que muitos

estudos tenham vieses e limitações importantes e exista uma discordância importante entre muitos. Como tal, até que consigamos descobrir exatamente de que forma e até que ponto a dieta está envolvida na DC e, portanto, qual a melhor dieta para estes doentes, uma forma de os orientar pode ser considerar as características comuns que as dietas referidas anteriormente têm. Por exemplo, todas requerem a preparação da comida a partir de ingredientes frescos, podendo assim uma boa opção ser aconselhar os doentes a seguir uma dieta semelhante à Mediterrânea, evitando alimentos processados e a maioria dos alimentos que acreditem piorar os seus sintomas. A dieta Mediterrânea é um padrão alimentar caracterizado por um elevado consumo de fruta, vegetais, legumes, cereais integrais e frutos secos; consumo moderado de carnes brancas (peixe e aves) e laticínios (principalmente queijo e iogurte), baixo consumo de carnes vermelhas e consumo regular, mas moderado, de vinho. O principal óleo alimentar utilizado nesta dieta é o azeite [32]. Esta é assim uma dieta rica em todos os componentes alimentares potencialmente benéficos na DC referidos ao longo deste trabalho, e baixa nos potencialmente prejudiciais. Esta dieta é ainda conhecida por reduzir a morbilidade e mortalidade de várias doenças [32,38], já tendo sido demonstrado que pode ajudar a reduzir os parâmetros inflamatórios e normalizar a microbiota intestinal na DC [24,31,32]. Em relação aos alimentos que os doentes acreditem piorar os seus sintomas e, portanto, decidam evitar, é importante monitorizar quais são. Isto porque é possível que os doentes sintam um agravamento da sintomatologia não só com alimentos prejudiciais mas também com certos alimentos potencialmente protetores, por exemplo, alimentos ricos em fibra (o que faz sentido dado estes terem uma reduzida microbiota capaz de metabolizar estes componentes) e que portanto os evitem [32,39]. No entanto, a não ser que os doentes estejam em risco de obstrução, a restrição de fibra não é necessária [40] pelo que é importante que os doentes vão reintroduzindo estes alimentos lentamente, de acordo com a sua tolerância. É assim fundamental, no acompanhamento de um doente com DC, monitorizar não só as intervenções farmacológicas mas também a sua dieta e respetivas intervenções nutricionais, explicando-lhes o papel que a alimentação pode ter na sua doença.

Em relação a outras abordagens nutricionais como suplementação com probióticos e prebióticos, embora alguns estudos apontem que estas possam ser benéficas na DC, os seus efeitos têm uma evidência limitada (devido à falta de ensaios clínicos randomizados de qualidade) e têm sido mais associados a Colite Ulcerosa do que a DC

[17,18,33,40]. É possível, também, que estes tratamentos não sejam adequados para todos os doentes, dependendo da microbiota intestinal de cada indivíduo. No entanto, como estes se estão a tornar uma potencial opção terapêutica é preciso continuar a investir no seu estudo e determinar se e quais as estirpes e/ou combinações mais eficazes. É possível, por exemplo, que uma combinação de probióticos e prebióticos – terapia simbiótica – seja mais eficaz do que estes por si só [16].

Tendo em conta o importante papel da microbiota intestinal na DC, outra nova opção de tratamento tem ganho interesse, o transplante fecal. Este trata-se do transplante de fezes de um dador saudável e foi bastante bem sucedido no tratamento da colite a *C. difficile* refratária. No entanto, muitas barreiras têm limitado o seu uso generalizado e ainda há um longo caminho a percorrer antes da sua utilização na DC [16].

Compreender a complexa relação entre a barreira intestinal, a microbiota intestinal e a dieta irá, assim, contribuir não só para o desenvolvimento de melhores intervenções nutricionais mas também de novas abordagens terapêuticas e/ou preventivas na DC.

## **Conclusão**

Sendo a dieta e a microbiota intestinal dois importantes fatores associados ao paradigma atual da epidemiologia da DC faz sentido que estas possam ser fulcrais em reverter esta situação. É maravilhosa a hipótese de que, num futuro não longínquo, possa ser possível induzir e manter a remissão da DC apenas com intervenções nutricionais, por exemplo, evitando os potenciais efeitos adversos da terapia farmacológica convencional. No entanto, embora os doentes possam referir melhorias sintomáticas, atualmente, não há estudos clínicos randomizados de qualidade que validem a eficácia das medidas aqui referidas. Falta, portanto, provar que estas levem a uma redução da inflamação intestinal ou se a sua eficácia se deve apenas à natureza cíclica da DC ou ao tratamento farmacológico que muitos doentes fazem aquando destas intervenções.

## Agradecimentos

Quero agradecer à Prof.<sup>a</sup> Doutora Catarina por ter aceitado ser minha orientadora e ter-se mostrado sempre disponível para mim numa altura em que eu estava completamente perdida.

Quero ainda agradecer à minha família, namorado e amigos a paciência que tiveram nos últimos anos... não foi fácil mas conseguimos... viva a resiliência!

## Bibliografia

[1] Aleksandrova, K., Romero-Mosquera, B., e Hernandez, V. (2017) Diet, gut microbiome and epigenetics: Emerging links with inflammatory bowel diseases and prospects for management and prevention. *Nutrients*. 9 (9), 1–13

[2] Niewiadomski, O., Studd, C., Wilson, J., Williams, J., Hair, C., Knight, R., et al. (2016) Influence of food and lifestyle on the risk of developing inflammatory bowel disease. *Internal Medicine Journal*. 46 (6), 669–676

[3] Ng, S.C., Shi, H.Y., Hamidi, N., Underwood, F.E., Tang, W., Benchimol, E.I., et al. (2017) Worldwide incidence and prevalence of inflammatory bowel disease in the 21st century: a systematic review of population-based studies. *The Lancet*. 390 (10114), 2769–2778

[4] Kaplan, G.G. (2015) The global burden of IBD: From 2015 to 2025. *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology*. 12 (12), 720–727

[5] Azevedo, L.F., Magro, F., e Portela, F. (2010) Estimating the prevalence of inflammatory bowel disease in Portugal using a pharmaco-epidemiological approach. *Pharmacoepidemiology and drug safety*. 19(5), 499–510

[6] Mazal, J. (2014) Crohn Disease: Pathophysiology, Diagnosis, and Treatment. *Radiologic technology*. 85(3), 297-320

- [7] Schoultz, I. e Keita, Å. (2019) Cellular and Molecular Therapeutic Targets in Inflammatory Bowel Disease - Focusing on Intestinal Barrier Function. *Cells*. 8 (2), 193
- [8] Malik, T.A. (2015) Inflammatory Bowel Disease. Historical Perspective, Epidemiology, and Risk Factors. *Surg Clin N Am*. 95(6), 1105-1122
- [9] Eeckhaut, V., Machiels, K., Perrier, C., Romero, C., Maes, S., Flahou, B., et al. (2013) Butyricococcus pullicaecorum in inflammatory bowel disease. *Gut*. 62(12), 1745–1752
- [10] Loftus, E. V (2004) Clinical epidemiology of inflammatory bowel disease: Incidence, prevalence, and environmental influences. *Gastroenterology*. 126(6), 1504–1517
- [11] Teshima, C.W., Dieleman, L.A., e Meddings, J.B. (2012) Abnormal intestinal permeability in Crohn’s disease pathogenesis. *Annals of the New York academy of sciences*. 1258, 159-165
- [12] Wells, J.M., Brummer, R.J., Derrien, M., MacDonald, T.T., Troost, F., Cani, P.D., et al. (2017) Homeostasis of the gut barrier and potential biomarkers. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 312, 171-193
- [13] Vojdani, A. (2014) A potential link between environmental triggers and autoimmunity. *Autoimmune Diseases*.
- [14] Roberts, C.L., Rushworth, S.L., Richman, E., e Rhodes, J.M. (2013) Hypothesis: Increased consumption of emulsifiers as an explanation for the rising incidence of Crohn’s disease. *Journal of Crohn’s and Colitis*. 7(4), 338–341
- [15] Lerner, A. e Matthias, T. (2015) Changes in intestinal tight junction permeability associated with industrial food additives explain the rising incidence of autoimmune disease. *Autoimmunity reviews*. 14(6), 479-489

- [16] Santis, S. D., Cavalcanti, E., Mastronardi, M. et al (2015) Nutritional keys for intestinal barrier modulation. *Frontiers in Immunology*. 6, 612
- [17] Bischoff, S.C., Barbara, G., Buurman, W., Ockhuizen, T., Schulzke, J.-D., Serino, M., et al. (2014) Intestinal permeability – a new target for disease prevention and therapy. *BMC Gastroenterology*. 14(189)
- [18] Ulluwishewa, D., Anderson, R.C., McNabb, W.C., Moughan, P.J., Wells, J.M., e Roy, N.C. (2011) Regulation of Tight Junction Permeability by Intestinal Bacteria and Dietary Components. *The Journal of Nutrition*. 141(5), 769-776
- [19] Rapin, J. R., Wiernsperger, N. (2010) Possible links between intestinal permeability and food processing: a potential therapeutic niche for glutamine. *Clinics*. 65(6), 635-643
- [20] Lee, S.H. (2015) Intestinal Permeability Regulation by Tight Junction: Implication on Inflammatory Bowel Diseases. *Intestinal research*. 13(1), 11-18
- [21] Graziani, C., Talocco, C., Sire, R.D.E., Petito, V., Lopetuso, L.R., e Gervasoni, J. (2019) Intestinal permeability in physiological and pathological conditions: major determinants and assessment modalities. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 23, 795-810
- [22] Kelly, C.J., Zheng, L., Campbell, E.L., Saeedi, B., Scholz, C.C., Bayless, A.J., et al. (2015) Crosstalk between microbiota-derived short-chain fatty acids and intestinal epithelial HIF augments tissue barrier function. *Cell Host and Microbe*. 17 (5), 662–671
- [23] Shivashankar, R. e Lewis, J.D. (2017) The Role of Diet in Inflammatory Bowel Disease. *Current Gastroenterology Reports*. 19(5), 22
- [24] Marlow, G., Ellett, S., Ferguson, I.R., Zhu, S., Karunasinghe, N., Jesuthasan, A.C., et al. (2013) Transcriptomics to study the effect of a Mediterranean-inspired diet on inflammation in Crohn's disease patients. *Human Genomics*. 7 (1), 24
- [25] De Souza, H.S.P. (2017) Etiopathogenesis of inflammatory bowel disease: Today and tomorrow. *Current opinion in gastroenterology*. 33(4), 222-29

- [26] Leech, B., Schloss, J., e Steel, A. (2019) Association between increased intestinal permeability and disease: A systematic review. *Advances in Integrative Medicine*. 6, 23-34
- [27] Chang, J., Leong, R.W., Wasinger, V.C., Ip, M., Yang, M., e Phan, T.G. (2017) Impaired Intestinal Permeability Contributes to Ongoing Bowel Symptoms in Patients With Inflammatory Bowel Disease and Mucosal Healing. *Gastroenterology*. 153, 723-731
- [28] Anderson, R.C., Cookson, A.L., McNabb, W.C., Park, Z., McCann, M.J., Kelly, W.J., et al. (2010) Lactobacillus plantarum MB452 enhances the function of the intestinal barrier by increasing the expression levels of genes involved in tight junction formation. *BMC Microbiology*. 10 (1), 316
- [29] Von Martels, J.Z.H., Bourgonje, A.R., Harmsen, H.J.M., Faber, K.N., e Dijkstra, G. (2019) Assessing intestinal permeability in Crohn's disease patients using orally administered 52 Cr-EDTA. *Plos one*. 14(2)
- [30] Levine, A., Sigall Boneh, R., e Wine, E. (2018) Evolving role of diet in the pathogenesis and treatment of inflammatory bowel diseases. *Gut*. 67 (9), 1726– 1738
- [31] De Filippis, F., Pellegrini, N., Vannini, L., Jeffery, I.B., La Stora, A., Laghi, L., et al. (2015) High-level adherence to a Mediterranean diet beneficially impacts the gut microbiota and associated metabolome. *Gut*. 65 (11), 1–10
- [32] Mitsou, E.K., Kakali, A., Antonopoulou, S., Mountzouris, K.C., Yannakoulia, M., Panagiotakos, D.B., et al. (2017) Adherence to the Mediterranean diet is associated with the gut microbiota pattern and gastrointestinal characteristics in an adult population. *British Journal of Nutrition*. 117 (12), 1645–1655
- [33] Yamamoto, T., Shimoyama, T., e Kuriyama, M. (2017) Dietary and enteral interventions for Crohn's disease. *Current Opinion in Biotechnology*. 44, 69-73

- [34] Kakodkar, S. e Mutlu, E.A. (2017) Diet as a Therapeutic Option for Adult Inflammatory Bowel Disease. *Gastroenterol Clin North Am.* 46(4), 745-767
- [35] Ulitsky, A., Ananthakrishnan, A.N., Naik, A., Skaros, S., Zadvornova, Y., Binion, D.G., et al. (2011) Vitamin D deficiency in patients with inflammatory bowel disease: Association with disease activity and quality of life. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition.* 35 (3), 308–316
- [36] Hou, J.K., Abraham, B., e El-Serag, H. (2011) Dietary intake and risk of developing inflammatory bowel disease: A systematic review of the literature. *American Journal of Gastroenterology.* 106 (4), 563–573
- [37] Green, N., Miller, T., Suskind, D., e Lee, D. (2019) A Review of Dietary Therapy for IBD and a Vision for the Future. *Nutrients.* 11(5), 947
- [38] Dinu, M., Pagliai, G., Casini, A., e Sofi, F. (2018) Mediterranean diet and multiple health outcomes: An umbrella review of meta-analyses of observational studies and randomised trials. *European Journal of Clinical Nutrition.* 72 (1), 30–43
- [39] Zallot, C., Quilliot, D., Chevaux, J.B., Peyrin-Biroulet, C., Guéant-Rodriguez, R.M., Freling, E., et al. (2013) Dietary beliefs and behavior among inflammatory bowel disease patients. *Inflammatory Bowel Diseases.* 19 (1), 66–72
- [40] Wedlake, L., Slack, N., Andreyev, H.J.N., e Whelan, K. (2014) Fiber in the treatment and maintenance of inflammatory bowel disease: A systematic review of randomized controlled trials. *Inflammatory Bowel Diseases.* 20 (3), 576–586