



**INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
EGAS MONIZ**

MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

MICROBIOMA HUMANO: IMPLICAÇÕES BIOMÉDICAS

Trabalho submetido por
Filipe André Saraiva Correia
para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Outubro de 2015



**INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
EGAS MONIZ**

MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

MICROBIOMA HUMANO: IMPLICAÇÕES BIOMÉDICAS

Trabalho submetido por
Filipe André Saraiva Correia
para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Trabalho orientado por
Professor Doutor Nuno Taveira

Outubro de 2015

Agradecimentos

Em primeiro lugar gostaria de agradecer aos meus pais, sem os quais eu não teria a oportunidade de concluir este curso, pelo apoio incessante e incondicional e por toda a paciência e compreensão ao longo destes cinco anos.

Em seguida, um especial obrigado a todos os amigos e colegas de turma que me acompanharam nesta reta final. O apoio mútuo e constante desde o início do curso até este último passo foram sem dúvida fulcrais para o término desta longa mas gratificante fase da minha vida.

Um especial obrigado também para todos os meus amigos da Tintuna, também presenças constantes ao longo de todas as fases do meu curso e sem dúvida importantes nesta última.

Ao meu orientador, Professor Doutor Nuno Taveira pelo acompanhamento, disponibilidade e atenção ao longo da elaboração da minha tese.

Por último, um agradecimento à pessoa que esteve presente em todas as fases da minha vida desde há oito anos, e que mais uma vez se mostrou a pessoa que mais se preocupa comigo. Que me soube sempre dizer o que eu precisava de ouvir, fosse bom ou mau, mas que foi sempre crucial para seguir em frente. Um enorme obrigado à minha namorada e melhor amiga, Ana.

Resumo

O microbioma humano é o conjunto dos microrganismos presentes no organismo, sendo estes microrganismos caracterizados através da análise qualitativa do seu genoma. O desenvolvimento de técnicas analíticas inovadoras permitiu a identificação e compreensão das funções do microbioma humano. Este desempenha importantes funções metabólicas e influencia o funcionamento do sistema imunitário. O microbioma tem uma grande diversidade interpessoal, dependendo de fatores como a dieta, a genética ou a localização geográfica. Existe também uma considerável diversidade intrapessoal, verificando-se uma forte influência da localização anatômica e uma variação associada à idade do indivíduo. O trato gastrointestinal, a pele e a vagina são os locais anatômicos mais bem estudados nesta área. A compreensão mais aprofundada do papel do microbioma permitiu criar ligações entre a sua disfunção e determinadas patologias. O cancro, infecção pelo VIH, doenças inflamatórias intestinais, (onde se incluem a doença de Crohn e a colite ulcerativa) obesidade e diabetes (tipo 1 e 2) são doenças com uma influência significativa dos microrganismos presentes no ser humano. A sua associação a estas patologias permitirá compreender melhor a sua patogénese e também a exploração de novas abordagens terapêuticas, tornando o microbioma um alvo terapêutico com crescente relevância.

Abstract

The human microbiome is the set of microorganisms present in the body, and the qualitative analysis of its genome. The development of innovative analytical techniques allowed the identification and understanding of the functions of the human microbiome. It plays important metabolic functions and influences the functioning of the immune system. The microbiome has great interpersonal diversity, depending on factors such as diet, genetics or geographic location. There is also considerable intrapersonal diversity, with a strong influence of anatomical location and variation associated with the age of the individual. The gastrointestinal tract, the skin and the vagina are the most studied anatomical sites in this area. A deeper understanding of the role of the microbiome allows to create links between its dysfunction and certain diseases. The cancer, HIV infection, inflammatory bowel diseases (which include Crohn's disease and ulcerative colitis), obesity and diabetes (type 1 and 2) are diseases with a significant influence of microorganisms present in the human organism. The association of the human microbiome with these pathologies allows a better understanding of the pathogenesis and the exploration of new therapeutical approaches..

Índice geral

Índice de figuras	13
Índice de tabelas	13
Lista de Abreviaturas	15
1 - Introdução.....	17
2 – O Human Microbiome Project (HMP)	19
2.1 – Metodologias de estudo	19
3 – Diversidade no microbioma: diferenças intrapessoais e interpessoais	23
3.1 – Microbioma do trato gastrointestinal.....	23
3.2 – Microbioma da pele	28
3.3 – Microbioma da vagina	31
4 – Função	33
4.1 - Trato Gastrointestinal	33
4.2 - Pele	34
4.3 – Vagina	36
5 – Microbioma e infecção por VIH	37
5.1 – Translocação de microrganismos.....	38
5.2 – Implicações clínicas da translocação de microrganismos	39
5.3 - Influência da infecção por VIH no microbioma	40
5.3.1 - Microbioma do trato gastrointestinal	40
5.3.2 – Microbioma oral	41
5.3.3 – Microbioma das vias aéreas.....	42
5.3.4 – Microbioma do pênis	42
5.3.5 – Microbioma do sémen	43
5.3.6 – Microbioma vaginal.....	43
5.4 – Probióticos e Prebióticos	44
6 - Obesidade	47
6.1 - Diferenças do microbioma na obesidade	47
6.2 – Efeitos do microbioma característico da obesidade no organismo.....	49
6.2.1 – Fasting-induced adipose factor	49
6.2.2 – AMP-Activated Protein Kinase	50
6.2.3 – Short chain fatty acids: interação com os recetores Gpr41/Gpr43	50
6.2.4 – Outras interações	51
6.3 - Possíveis intervenções terapêuticas.....	52
7 – Diabetes <i>mellitus</i>	54

Microbioma Humano: Implicações Biomédicas

7.1 - Diabetes tipo 1.....	54
7.2 - Diabetes tipo 2.....	55
7.2.1 - Endotoxemia metabólica na diabetes tipo 2.....	55
7.2.2 – Glucagon-like peptide 1 e 2.....	56
8 - Cancro	58
8.1 - Impacto do cancro no microbioma.....	58
8.1.1 - Superfície celular.....	58
8.1.2 – Alterações na relação entre o sistema imunitário e o microbioma	59
8.1.3 - Alterações anatómicas	60
8.2 - Microbioma e carcinogénese.....	60
8.3 Microbioma característico da obesidade e cancro.....	61
9 - Doenças inflamatórias intestinais.....	62
9.1 - Microbioma nas doenças inflamatórias intestinais.....	62
9.2 Complicações das doenças inflamatórias intestinais	62
9.3 - Bactérias específicas associadas às doenças inflamatórias intestinais	63
9.4 - Associações genéticas	63
9.5 - Abordagens terapêuticas.....	64
9.5.1 - Probióticos e antibióticos	64
9.5.2 - Dieta e prebióticos.....	65
9.5.4 - Utilização de parasitas.....	66
Conclusão	68
Bibliografia.....	70

Índice de figuras

Figura 1 Esquematização da sequenciação metagenômica..	21
Figura 2 Bactérias ao longo do trato gastrointestinal..	23
Figura 3 Variação de três filos de bactérias com representação importante na microbiota intestinal..	25
Figura 4 Análise metagenômica do material genético encontrado no mecônio e fezes do bebê.....	28
Figura 5 Variação do microbioma da pele dependendo da área anatômica.	29
Figura 6 Microorganismos presentes na vagina..	31
Figura 7 Diferença entre a microbiota característico da obesidade e o microbioma saudável.	48
Figura 8 Representação de uma célula do epitélio intestinal.....	59

Índice de tabelas

Tabela 1 Variação dos microrganismos no trato gastrointestinal desde o momento do nascimento até à introdução de comida sólida.....	26
Tabela 2 Exemplos de microrganismos que se podem encontrar presentes em indivíduos seropositivos e correspondentes consequências para a saúde.....	38
Tabela 3 Compostos com possível atividade nos recetores Gpr41 e Gpr43 e correspondente classe, agonista ou antagonista.....	51

Lista de Abreviaturas

AMPK - AMP-activated protein kinase

DC – Doença de Crohn

DII – Doença inflamatória intestinal

DNA – Deoxyribonucleic acid

DT1 – Diabetes tipo 1

DT2 – Diabetes tipo 2

Fiaf - fasting-induced adipose factor

HAART – Highly active antirretroviral therapy

LPS – Lipopolissacárido

MO – Microbioma oral

MP – Microbioma da pele

MTGI – Microbioma do trato gastrointestinal

MV – Microbioma vaginal

SCFA – Short-chain fatty acids

SIDA – Síndrome da imunodeficiência humana

TGI – Trato gastrointestinal

TFM – Transplante fecal de microrganismos

TLR – Toll-like receptor

TM – Translocação de microrganismos

VB – Vaginose bacteriana

VIH – Vírus da Imunodeficiência Humana

1 - Introdução

O termo microbioma pode ser definido como o conjunto dos microrganismos presentes num local sendo estes microrganismos caracterizados pela análise qualitativa dos genes e/ou genomas aí existentes. O microbioma humano inclui todos os microrganismos comensais do ser humano (bactérias, vírus, fungos e protozoários) incluindo aqueles que são isoláveis em cultura e os que não o são. Este termo difere de microbiota, que se refere aos microrganismos pertencentes ao organismo humano que são isoláveis em cultura e não inclui a sua análise genética (Khanna & Tosh, 2014).

Até ao momento do nascimento, o ser humano é composto apenas pelas suas células somáticas. Desde o momento que o recém-nascido contacta com a microbiota vaginal da mãe durante o parto, a pele, as mucosas e o trato gastrointestinal começam a ser colonizados por diversos microrganismos (Morgan, Segata, & Huttenhower, 2013).

Contudo, devido à dificuldade em analisar e diferenciar os diferentes microrganismos que compõem o microbioma (muitos destes são anaeróbios e fastidiosos), só recentemente se começou a investigar com mais profundidade a composição e implicações da presença desta comunidade para o organismo. Este avanço súbito deve-se ao crescimento de potentes técnicas moleculares, como a sequenciação dos genes que codificam para o rRNA 16S (Morgan et al., 2013).

O microbioma humano é composto por um número de células cerca de 10 vezes superior ao número de células de um ser humano. O cólon pode atingir uma concentração de 10^{12} células por grama de conteúdo luminal. Esta concentração é observada em cultura em condições ótimas de crescimento (Honda & Littman, 2012; Khanna & Tosh, 2014).

Existe variação intrapessoal na composição do microbioma/microbiota. Esta diferença foi registada pela primeira vez por Van Leeuwenhoek em 1677 observando amostras orais de outros indivíduos (De Kruif; Microbe Hunters, 1920).

Por exemplo, os microrganismos presentes na pele de um indivíduo são bastante diferentes dos presentes no cólon. Por outro lado, o microbioma varia com a idade e com estados de doença. Para além desta diversidade no indivíduo, a diversificação de microrganismos de pessoa para pessoa é bastante significativa. Fatores como a higiene, comportamentos sociais, dieta, localização geográfica e a genética determinam que cada pessoa tenha um microbioma individualizado (Khanna & Tosh, 2014; Yatsunenکو et al., 2012).

Microbioma Humano: Implicações Biomédicas

Ao contrário do genoma humano que raramente é influenciado por fatores externos, o microbioma humano caracteriza-se por ter alguma volatilidade: o uso de antibióticos, estados de infecção ou alterações da dieta influenciam profundamente os microrganismos presentes num indivíduo (Honda & Littman, 2012).

O microbioma desempenha funções fulcrais no organismo humano uma vez que, por exemplo: influencia a absorção de nutrientes, o desenvolvimento e funcionamento do sistema imunitário e impede a proliferação de bactérias patogénicas. O envolvimento do microbioma humano em diversas funções torna-o essencial na manutenção do equilíbrio do organismo e o seu comprometimento pode trazer problemas ao hospedeiro (Khanna & Tosh, 2014).

2 – O Human Microbiome Project (HMP)

A microbiota humana não é uma descoberta recente, a sua existência e características já são conhecidas desde os primórdios do estudo da microbiologia. O crescimento do conhecimento em relação a este tema deve-se ao desenvolvimento de novas tecnologias (Ursell et al., 2012).

O Human Microbiome Project (HMP) é um projeto fundado pelo National Institute of Health (NIH), e é uma extensão do Human Genome Project. O reconhecimento de que o genoma dos microrganismos tem um papel importante no correto funcionamento do organismo fez este projeto surgir como complemento natural ao anterior. O HMP surge com três objetivos essenciais: caracterização da população em vários locais anatómicos ao longo do corpo humano, averiguar a existência de um núcleo de microrganismos partilhado por todos os seres humanos e perceber a correlação entre o microbioma e doenças (Dave, Higgins, Middha, & Rioux, 2012). O projeto fornece os dados recolhidos de 242 indivíduos em vários pontos temporais com processamento em dois centros clínicos (Baylor College of Medicine e Washington University School of Medicine). Foram recolhidas amostras em 15 (sexo masculino) ou 18 (sexo feminino) locais anatómicos (onde se inclui, por exemplo, a cavidade oral, o trato genital ou o trato gastrointestinal). Os dados obtidos representam a maior base de dados que descreve a variedade e abundância do microbioma humano, e torna possível caracterizar um microbioma estável que serve como referência quando comparado com um microbioma associado a doenças (Methé et al., 2012).

O tamanho da amostra e a consistência na obtenção de dados permitiu pela primeira vez uma compreensão em larga escala não só da diversidade mas também da relação entre os microrganismos (Consortium, 2013).

2.1 – Metodologias de estudo

O estudo da comunidade microbiológica no ser humano avançou com o aparecimento de técnicas moleculares de alto rendimento. As técnicas convencionais, como a cultura de bactérias, falham devido à dificuldade em obter crescimento de várias bactérias associada à impossibilidade de grande parte da flora intestinal não se desenvolver em técnicas *in vitro* convencionais (Dave et al., 2012).

Um dos grandes impulsos ao melhoramento das técnicas moleculares foi a utilização da técnica de sequenciação dos genes que codificam o rRNA 16S, uma molécula presente em todas as bactérias mas diferente entre as espécies e estirpes, o que permite identificar todas as bactérias presentes com um grau de diferenciação satisfatório. Este marcador tem utilidade tanto taxonómica como filogenética (Dave et al., 2012; Methé et al., 2012).

Contudo, o estudo utilizando este método tem as suas limitações. O uso de um único marcador celular traz-lhe problemas inerentes: a diferenciação entre o gene em estirpes bastante relacionadas ou a transferência horizontal de genes (Poretsky et al., 2014).

A sequenciação metagenómica em shotgun é uma alternativa que aborda a análise do material genético de outra forma. Contrariamente à análise do gene rRNA 16s este método vai ter diversas sequências analisadas em vez de apenas uma. O DNA é cortado em pequenos fragmentos e sequenciado de forma independente. Enquanto algumas sequências vão dar informação taxonómica, outras vão fornecer dados relativos à função biológica dos correspondentes genes. Existe assim uma análise não só da identidade do microrganismo analisado, mas também do que esse microrganismo tem capacidade de fazer. Na figura 1 estão esquematizados os parâmetros analisados nesta técnica. Naturalmente também existem limitações a esta abordagem: vai ser gerada uma grande quantidade de dados que pode dificultar a análise informática, bem como a dificuldade em associar certos genes à espécie correspondente ou a impossibilidade de haver representação de todos os genes (Sharpton, 2014).

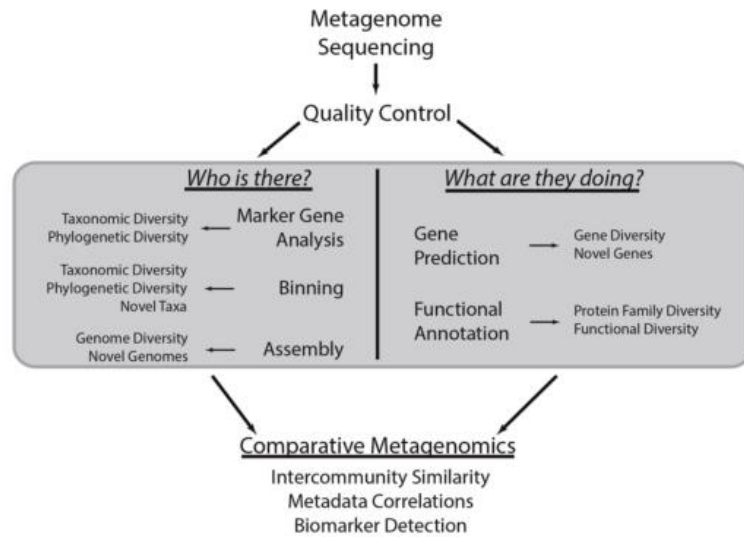


Figura 1 Esquemática da sequenciação metagenómica. Existem duas análises simultâneas: uma delas analisa “quem está”, procurando diversidade taxonómica e filogenética através da análise de genes marcadores e ligando-os a genes previamente desconhecidos; a outra análise verifica a função destes genes através de uma associação destes a famílias de proteínas funcionais (Sharpton, 2014).

3 – Diversidade no microbioma: diferenças intrapessoais e interpessoais

O microbioma tem uma relação de grande dinamismo com o hospedeiro, é diferente tanto de pessoa para pessoa, como nos diferentes locais anatómicos da mesma pessoa. No mesmo indivíduo vai existir uma grande diferença entre a população numa amostra oral e numa amostra da pele, e entre indivíduos também se pode esperar uma grande diferenciação. É necessária uma análise dos vários locais anatómicos que suportam a presença de microrganismos, uma análise temporal porque o mesmo indivíduo tem alterações no microbioma ao longo da vida e uma análise de indivíduos de diferentes culturas para abranger as diferenças de pessoa para pessoa quando sujeitas a ambientes diferentes. (Ursell et al., 2012).

3.1 – Microbioma do trato gastrointestinal

No trato gastrointestinal (TGI) o microbioma desempenha funções essenciais, nomeadamente funções relativas à digestão e absorção de nutrientes e ao funcionamento do sistema imunitário. (Ursell et al, 2012).

Ao longo do trato gastrointestinal há diferenciação dos microrganismos presentes. Os filos com maior representação são o Bacteroidetes e Firmicutes. Na figura 2 encontra-se um mapa dos microrganismos característicos de cada local.

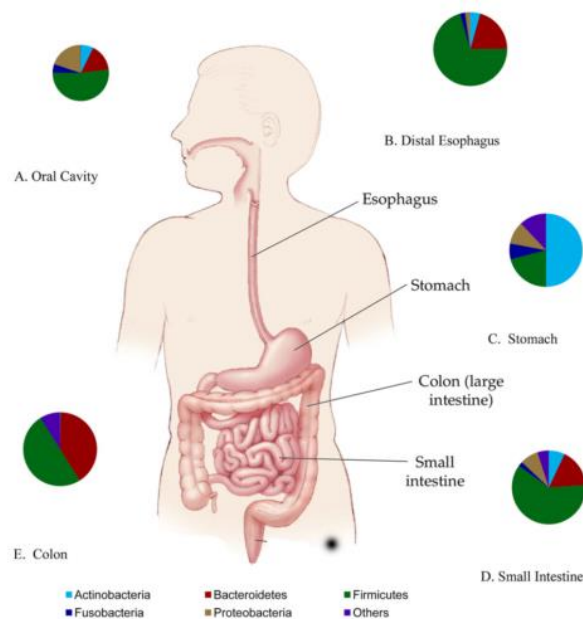


Figura 2 Bactérias ao longo do trato gastrointestinal. Existe uma presença mais significativa de Firmicutes em todo o trato gastrointestinal exceptuando no estômago. Os Firmicutes incluem géneros como a

Microbioma Humano: Implicações Biomédicas

Streptococcus, *Enterococcus*, *Clostridium* e *Mycoplasma*, entre outras. Os Bacteroidetes são o segundo filo de bactérias com maior representação. Nesta divisão entram gêneros como o *Bacteroides* e *Porphyromonas*. Os restantes gêneros com representação significativa são as Fusobacteria (*Fusobacterium*), Proteobacteria (*Salmonella*, *Escherichia*, *Helicobacter*) e Actinobacteria (*Streptomyces*) (Dave et al, 2012).

Existem vários fatores que modificam o microbioma do TGI (MTGI): a genética do hospedeiro, o uso de antibióticos, a higiene, entre outros. Contudo o fator com maior peso na plasticidade intrapessoal e na variação interpessoal do microbioma intestinal é a dieta (Voreades, Kozil, & Weir, 2014).

Um estudo envolvendo seres humanos e outros mamíferos onde se incluíam espécies carnívoras, omnívoras e herbívoras permitiram concluir que existem grandes diferenças entre a comunidade microbiológica conforme o tipo de alimento maioritariamente ingerido. O microbioma disponibiliza vias metabólicas que possibilitam a digestão de nutrientes e vitaminas que o genoma humano não tem capacidade de digerir com tanta eficácia (Ursell, Metcalf, et al., 2012)

O tipo de alimentação molda os microrganismos presentes no trato gastrointestinal. Uma alteração na alimentação de um indivíduo vai diferenciar o tipo de bactérias dominante no intestino. Um indivíduo obeso que inicie uma dieta com restrição calórica vai sofrer uma alteração no equilíbrio de microrganismos, principalmente nos dois filos mais significativos na colonização do intestino: Bacteroidetes e Firmicutes. O rácio de microrganismos vai ter influência na eficácia da extração de energia da dieta e influenciar, por exemplo, o ganho de peso. Num indivíduo obeso existe uma maior extração de energia, que ocorre devido ao metabolismo característico das bactérias dominantes nesta doença, neste caso, as bactérias do filo Firmicutes (Voreades et al., 2014).

A influência da genética também deve ser tida em conta. Um estudo realizado por Goodrich et al. (2014) verificou que em gémeos o microbioma está mais correlacionado, comparando com indivíduos sem relações de parentesco. O material genético pode explicar o porquê da colonização de certos microrganismos e como estes podem ser importantes na manutenção da saúde.

Existe ainda uma diferenciação ao longo do TGI. Um estudo realizado por Aguirre de Cárcer et al. (2011) em dez indivíduos saudáveis permitiu observar um gradiente: os gêneros *Streptococcus* e *Enterococcus* spp. revelaram uma diminuição em direção ao reto, e a família *Enterobacteriaceae* pelo contrário aumenta.

Davenport et al. (2014) realizaram um estudo que ajuda a compreender quão plástico o microbioma humano é. Este estudo foi realizado numa população peculiar devido ao estilo de vida comum, onde os mesmos alimentos são ingeridos por toda a comunidade e onde existe uma grande semelhança nos hábitos de toda a população. Nesta população foram recolhidas amostras de fezes de 60 indivíduos sem exposição prévia a antibióticos, durante os meses de verão e inverno correspondentes ao período de um ano e realizado um estudo sazonal do microbioma que permitiu concluir que dependendo da estação do ano e dos alimentos que correspondem à dieta típica dessa estação, o microbioma sofre flutuações para responder aos alimentos ingeridos. Existe mais abundância de produtos frescos no verão e uma alimentação mais restrita a alimentos conservados no inverno. Na figura 3 encontra-se o resultado deste estudo.

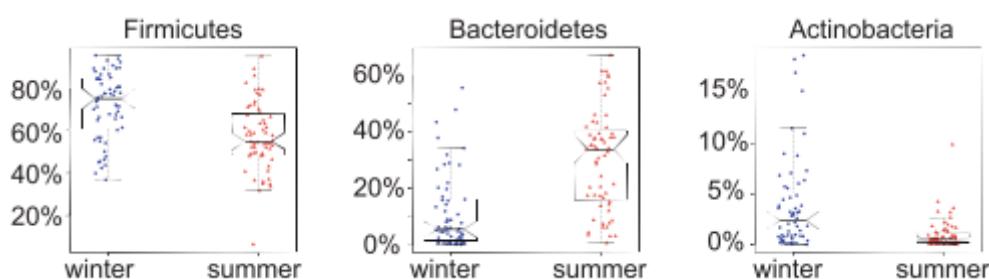


Figura 3 Variação de três filós de bactérias com representação importante na microbiota intestinal. Nos meses de verão existe uma presença mais significativa de Bacteroidetes. Nos meses de inverno é possível observar uma maior presença de Firmicutes e Actinobacteria. Estas diferenças devem-se às variações no consumo de fibras e gorduras (Davenport et al, 2012).

Segundo Yatsunenکو et al. (2012), existe variação no microbioma entre diferentes culturas. Ao analisar e comparar indivíduos residentes em áreas metropolitanas dos EUA, em zonas rurais do Malawi e aborígenes na Venezuela, foram detetados níveis diferentes de certas enzimas. Os residentes nos EUA possuem, por exemplo, um aumento significativo nas enzimas associadas ao catabolismo de açúcares (glucose-6-fosfato desidrogenase e 6-fosfofrutoquinase). Esta diferença reflete a dieta característica da cultura ocidental, em que uma das características é esta ser rica em açúcar. Os habitantes das zonas rurais do Malawi e os aborígenes têm uma maior representação de enzimas associadas à degradação do amido (α -amilase) devido ao seu maior consumo de trigo.

Apesar da existência de uma diversidade interpessoal bastante elevada, existem fatores comuns entre indivíduos. Determinadas vias metabólicas pertencentes a microrganismos estão presentes de uma forma mais consistente em diferentes pessoas, o

que sugere que apesar de não existir um microbioma nuclear presente em todos os indivíduos, existem vias metabólicas cuja presença é mais uniforme mesmo dentro da diversidade de espécies. Isto significa que a diferenciação dos microrganismos de indivíduo para indivíduo não implica uma diferença total na funcionalidade destes. Apesar de existir individualidade no trato gastrointestinal existe uma partilha de certas vias metabólicas que existem em microrganismos diferentes. Dentro destas vias pode referir-se, por exemplo, o metabolismo dos carboidratos e dos aminoácidos. Alterações neste conjunto de genes “nucleares” pode influenciar a saúde e gerar estados de doença. Na obesidade há uma maior recolha de energia da dieta que é dependente da eficácia dos microrganismos e do metabolismo destes. Estas conclusões foram retiradas através da sequenciação do gene que codifica para o rRNA 16s de indivíduos adultos obesos e sem excesso de peso (Dave et al., 2012; Turnbaugh & Gordon, 2009)

Em relação à modulação da dieta surgiu recentemente uma classificação para as diferenças interpessoais no MTGI: os enterótipos. Esta divisão não se baseia propriamente numa seleção de bactérias correspondente a cada enterótipo mas sim no gradiente de bactérias ao longo do TGI. Os três enterótipos pressupostos baseiam-se na predominância dos filos Bacteroidetes, Prevotella ou Ruminococcus (Bengmark, 2013).

É necessário considerar que para além das alterações proporcionadas por alterações na dieta, o microbioma do TGI também é sujeito a alterações ao longo da vida do indivíduo. Após atingir a idade adulta o microbioma vai sofrendo flutuações dependentes de doenças pontuais, variação da dieta ou uso de fármacos (por exemplo, antibióticos), sendo bastante maleável. Em fases extremas da vida (após o nascimento e em idade avançada) este encontra-se com alterações mais profundas.

A colonização microbiana do TGI na criança é alvo de muitas flutuações e tem um carácter bastante errático. Nos primeiros 20 minutos de vida, dependendo se o parto foi normal ou cesariana, a criança adquire bactérias diferentes em cada situação. Um bebé cujo parto foi normal tem uma colonização com número superior de *Bifidobacteria*, enquanto um bebé cujo parto foi através de cesariana tem uma maior prevalência de *Klebsiella*, *Clostridia*, e *Enterobacter*. Isto deve-se respetivamente a um primeiro contato com bactérias da microbiota vaginal da mãe ou características do meio hospitalar (Hajela et al., 2015; Ursell et al., 2012).

A diversidade de microrganismos no TGI do recém-nascido é bastante baixa. É diferente conforme a alimentação, através de amamentação ou de fórmulas. A diversidade

Diversidade no microbioma: diferenças intrapessoais e interpessoais

de microrganismos aumenta significativamente com a introdução de dieta sólida e alterações consequentes dessa dieta sólida (Hajela et al., 2015)

Na tabela 1 e na figura 4 encontra-se a evolução dos microrganismos no TGI desde o momento do nascimento.

0-9 meses		9-18 meses	18-36 meses
Características de bebês amamentados <ul style="list-style-type: none"> • Baixa diversidade de espécies • Maior representação de Actinobacteria e Firmicutes 	Características de bebês alimentados com fórmulas <ul style="list-style-type: none"> • Baixa diversidade de espécies • Maior representação de Actinobacteria e Bacteroidetes 	Desmame e introdução de alimentos sólidos <ul style="list-style-type: none"> • Aumento da diversidade de espécies • Maior representação de Bacteroidetes e Firmicutes 	Perfil do microbioma torna-se dependente da dieta <ul style="list-style-type: none"> • Formação de um microbioma estável • Aumento da diversidade • Influência da dieta na abundância de bactérias • Filos Maior representação de Bacteroidetes e Firmicutes

Tabela 1. Variação dos microrganismos no trato gastrointestinal desde o momento do nascimento até à introdução de comida sólida. A introdução de comida sólida é essencial na transição do microbioma característico de um bebê para um perfil de microrganismos característico de um adulto (Voreades et al., 2014).

Para além de diferir na diversidade, o sistema imunitário também tem diferenças funcionais no primeiro ano de vida conforme o tipo de parto. Uma criança que tenha nascido através de cesariana apresenta menos bactérias a nível fecal e um maior número de linfócitos B (Hajela et al., 2015).

O microbioma humano atinge uma situação semelhante à de um adulto num período de três anos após o nascimento (Yatsunencko et al., 2012).

Num trabalho de investigação onde se acompanhou a evolução dos microrganismos de uma criança desde o nascimento até ao momento em que se considerou ter um perfil microbiológico característico de um adulto, foi possível obter resultados concretos em relação à alteração de microrganismos e relação com mudanças na alimentação ou intervenções terapêuticas. O resultado deste estudo encontra-se na figura 4 (Koenig et al., 2011).

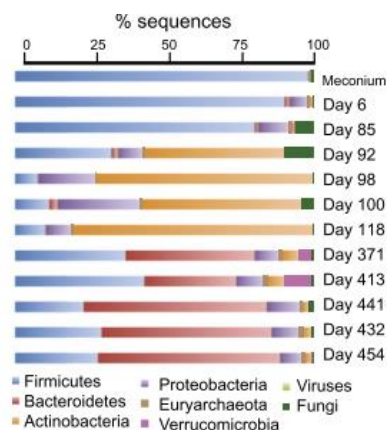


Figura 4 Análise metagenômica do material genético encontrado no meconium e fezes desde o momento do nascimento até ao dia 454 de vida de um bebé. No dia 92, o bebé teve um episódio de febre. No dia 118 foi utilizado um antibiótico. No dia 371, o bebé já estava com uma dieta sólida (Koenig et al., 2011).

Da mesma forma, no extremo da longevidade humana, existe uma diferenciação do microbioma consoante certas características. À medida que a pessoa envelhece e surgem problemas inerentes à idade, o microbioma vai evoluindo em paralelo com esses mesmos problemas. As causas mais comuns para que exista esta diferenciação são as alterações fisiológicas, dieta e malnutrição, situação habitacional (hospitalizado ou em constantes cuidados de saúde) e uso de antibióticos e outros fármacos. A diminuição da capacidade de mastigar ou a alteração da dieta para a de um local como um lar são fatores que por si só são capazes de alterar o microbioma de um indivíduo (Voreades et al., 2014).

As alterações no microbioma intestinal com a idade incluem uma redução na diversidade de espécies de grande parte dos grupos de bactérias, declínio dos microrganismos benevolentes com aumento de microrganismos oportunistas e patológicos, ou o aumento dos anaeróbicos facultativos, entre outras (Salazar et al., 2014).

3.2 – Microbioma da pele

O microbioma da pele é influenciado por fatores como a genética do hospedeiro e fatores ambientais. Existe variação deste microbioma entre os diferentes locais anatómicos da pele. Os avanços tecnológicos permitiram um maior esclarecimento em relação à função dos microrganismos que habitam a pele, nomeadamente para perceber que a pele não é só habitada por microrganismos patológicos e oportunistas (Schommer & Gallo, 2013).

Na figura 5 encontra-se uma ilustração do corpo humano dividido em três áreas conforme as características da pele: áreas sebáceas (assinalado a azul), áreas húmidas (assinalado a amarelo) e áreas secas (assinalado a verde). Cada uma destas áreas tem o predomínio de determinadas bactérias, sendo a presença destas influenciada pela sua capacidade de conseguir proliferar de acordo com as características correspondentes a cada área. Estes dados foram obtidos por sequenciação do gene que codifica para o rRNA 16s em adultos saudáveis (Y. E. Chen & Tsao, 2013)

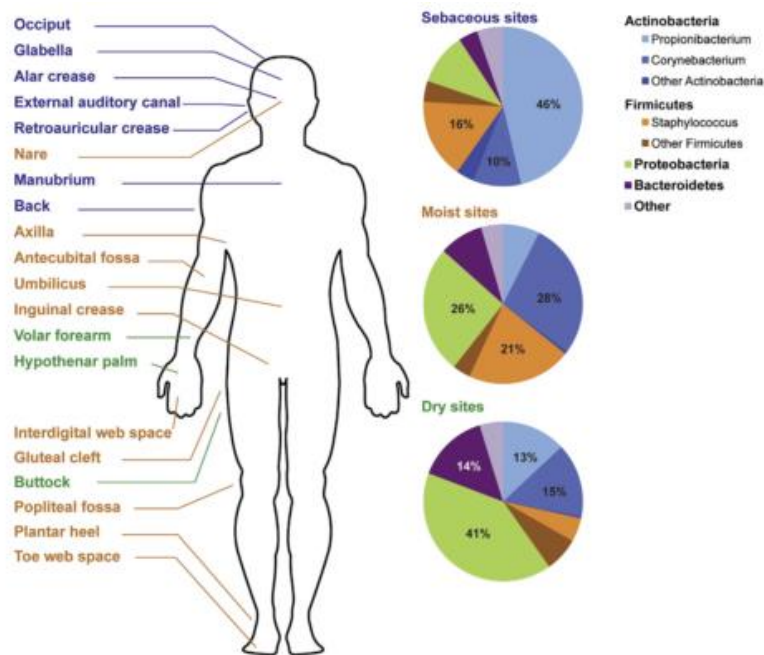


Figura 5 Variação do microbioma da pele dependendo da área anatómica Nas zonas sebáceas há um predomínio de *Propionibacterium*, seguido de uma representação menos significativa de *Staphylococcus* e *Corynebacterium*. Em zonas húmidas há uma maior equidade nos três géneros dominantes: *Corynebacterium*, *Staphylococcus* e Proteobacteria. Nas zonas secas existe uma clara prevalência de Proteobacteria, seguida de representações semelhantes de *Corynebacterium*, *Propionibacterium* e Bacteroidetes (Chen & Tsao, 2013).

Para além de uma população que se pode denominar comensal, onde se enquadram géneros como *Staphylococcus*, *Propionibacteria* ou *Corynebacterium*, é necessário ter em consideração que a pele também tem microrganismos associados a estados de doença. Bactérias como a *Pseudomonas aeruginosa* ou *Streptococcus pyogenes* consideram-se usualmente componentes do microbioma de carácter temporário e indutores de desequilíbrios na pele (Gao et al., 2007).

Os microrganismos da pele têm a necessidade de se adaptar às características do

local anatômico onde se encontram. A pele é o maior órgão humano, e as suas características variam de local para local. A título de exemplo, a pele da face tem uma grande densidade de glândulas sebáceas e esta está bastante exposta ao ambiente, enquanto a axila é um ambiente húmido e fechado e possui glândulas apócrinas e grande densidade de pêlo (Sanford & Gallo, 2013).

Segundo Schommer & Gallo (2013), a abundância de microrganismos em cada local da pele é bastante influenciada pelas características desse mesmo local. Fatores como o pH, a humidade e a temperatura vão ser fulcrais para determinar a composição microbiológica de cada “microambiente”. Os locais sebáceos na pele são maioritariamente colonizados pelos géneros *Corynebacterium* e *Staphylococcus*, enquanto locais com maior humidade caracterizam-se pela presença superior de *Corynebacterium* (apesar da presença de *Staphylococcus* este género destaca-se). Já em locais da pele com menor humidade, proliferam os géneros *b-Proteobacteria* e *Flavobacteriales*.

Contrariamente ao microbioma do TGI, que se altera com relativa facilidade, o microbioma na pele tende a ser estável e perturbações associadas a este normalmente sugerem um estado de doença. (Schommer & Gallo, 2013).

O MP não é tão sensível a alterações como o MTGI. Enquanto no MTGI a dieta pode por si só ser um fator de diferenciação importante, visto que determinado tipo de alimentação pode originar uma prevalência de microrganismos com vias metabólicas mais indicadas para essa dieta, na pele os fatores de diferenciação são: as características da área anatômica, que são estáveis ao longo da vida; a interação com o meio ambiente; a genética do hospedeiro no que diz respeito à relação do sistema imunitário com os microrganismos da pele. A diferença de estímulos causadores de diferença entre o MTGI e o MP conferem aos microrganismos da pele uma maior estabilidade.

Similarmente ao MTGI, após o nascimento a primeira colonização da pele está associada ao parto, adquirindo o recém-nascido um microbioma similar à vagina da mãe se o parto tiver sido normal ou um microbioma com bactérias características de um ambiente hospitalar, se o parto tiver sido por cesariana. Após o parto a interação com o ambiente, a dieta e a exposição a outras pessoas e animais vão determinar a composição microbiológica da pele na criança (Sanford & Gallo, 2013).

3.3 – Microbioma da vagina

O microbioma vaginal, comparado com os restantes locais analisados, difere no facto de ter uma diversidade menor. O género mais relevante no microbioma da vagina é a *Lactobacillus*. A composição do microbioma vaginal é influenciada por fatores genéticos, a atividade sexual, a higiene ou o método de contraceção. Podem considerar-se dois critérios essenciais na diversidade do microbioma vaginal: se este é ou não dominado por *Lactobacillus*, e, em segundo, quais as espécies de *Lactobacillus* presentes. Entre as espécies comuns podem considerar-se, por exemplo: *L. crispatus*, *L. gasseri*, *L. iners*, e *L. jensenii*. (Ravel et al., 2011).

Na figura 5 encontra-se um gráfico com a prevalência de cada bactéria do trato urogenital na mulher.

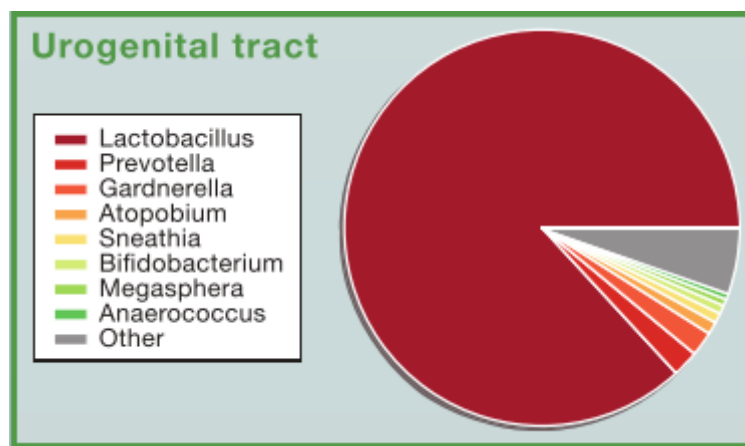


Figura 6 Microorganismos presentes na vagina. O género *Lactobacillus* encontra-se em superioridade, seguido dos géneros *Prevotella* e *Gardnerella*. . (Knight, 2014).

Para além da baixa diversidade, este microbioma atinge uma grande estabilidade durante a gravidez. Segundo Walther-António et al. (2014), esta estabilidade pode ser explicada por uma série de fatores que são característicos da gravidez, onde se incluem a falta de fluxo menstrual, a ausência de alterações nas secreções vaginais características do período fértil, alterações na vida sexual e a ausência de flutuações hormonais.

A deposição de glicogénio resultante do aumento dos níveis de estrogénio também torna a vagina um ambiente favorável à proliferação de *Lactobacillus*. Durante a gravidez as espécies que não sejam desta família são detetadas em menor número (Witkin, 2015).

Um estudo em 31 indivíduos saudáveis do sexo feminino previamente ao início

Microbioma Humano: Implicações Biomédicas

da menstruação (idades compreendidas entre os 10 e os 12 anos) através da sequenciação do gene que codifica para o rRNA 16s revelou que mesmo antes das alterações hormonais características da puberdade, o microbioma vaginal juvenil tem semelhança com o microbioma adulto. Foi revelado um predomínio de *Lactobacillus* spp. (Hickey et al., 2015).

4 – Função

4.1 - Trato Gastrointestinal

O microbioma humano providencia ao organismo vias metabólicas que não estão explicitamente presentes no genoma humano. As bactérias intestinais têm um grande impacto na digestão e nutrição por fornecerem vias alternativas de digestão de certos compostos. A influência do microbioma pode ser observada na obesidade, por exemplo. Uma determinada configuração da flora intestinal pode ter como consequência uma maior facilidade em ganhar peso e desenvolver obesidade (Ursell et al., 2012).

O microbioma tem a capacidade de hidrolisar carboidratos, tornando desnecessária a presença de um arsenal enzimático no hospedeiro para o fazer. Para além do benefício ao hospedeiro, esta simbiose é útil aos microrganismos que se encontram num meio com fontes de carbono abundantes para fermentar. Os Bacteroidetes possuem a capacidade de degradar e fermentar polisacáridos como o amido. Para além da degradação desta molécula, a degradação dos glicanos (onde se inclui a celulose) também tem uma influência importante da parte dos microrganismos. Os produtos provenientes da fermentação das bactérias podem ser utilizados pelo hospedeiro. Os principais produtos utilizados são SCFA (short-chain fatty acids), onde se incluem o butirato, acetato e propionato. Estas moléculas vão ser posteriormente utilizadas como fonte de energia das células epiteliais do cólon (butirato), na gluconeogénese (propionato) e na lipogénese (acetato). Os níveis de bactérias com enzimas que degradam cada um dos SCFA em cada tecido vão determinar onde cada um deles vai ser metabolizado. O MTGI também influencia as vias metabólicas ativadas pelos ácidos biliares. As bactérias têm a capacidade de converter estes ácidos em ácidos biliares secundários, afetando a solubilização e absorção de lípidos no intestino. O microbioma também é importante no metabolismo do CLA (conjugated linoleic acid). Um isómero desta molécula que pode ser obtido pela ação das bactérias no TGI tem ação contra a patogénese da diabetes, obesidade, hipercolesterolemia entre outras, através do aumento do gasto de energia do organismo e aumento do metabolismo dos lípidos (Feitoza et al., 2009; Musso, Gambino, & Cassader, 2011).

Contudo, não é só na digestão que o MTGI contribui para a homeostasia, também existe uma função de defesa. Uma das funções mais importantes é a proteção do intestino

contra os microrganismos patogênicos por um mecanismo de competição. Estas vão competir pelos nutrientes e pelo espaço e assim impedir a colonização por microrganismos patogênicos. As bactérias intestinais também têm utilidade no que diz respeito ao sistema imunitário. Espécies diferentes induzem respostas diferentes das células do sistema imunitário, podendo até influenciar a colonização do intestino ao induzir alterações no sistema imunitário para promover ou inibir o crescimento de certas bactérias (Caballero & Pamer, 2014).

Segundo Morgan et al. (2013), é possível observar o papel determinante da flora intestinal no sistema imunitário olhando para um estudo realizado em ratos gnotobióticos: estes apresentam nódulos linfáticos menores, níveis mais baixos de imunoglobulinas e deficiência em células CD4+.

Segundo Hajela et al. (2015), a exposição da criança a microrganismos é um fator determinante no desenvolvimento do sistema imunitário. Uma exposição deficiente vai causar um atraso na maturação do sistema imunitário na mucosa, e conseqüentemente poderão existir respostas inflamatórias anormais. Esta teoria consolida a importância do MTGI como apoio ao desenvolvimento do sistema imunitário.

Os microrganismos no MTGI influenciam a imunidade adquirida e inata, provocando respostas de inflamação ou tolerância tendo como objetivo criar uma relação de equilíbrio benéfica tanto para os microrganismos como para o hospedeiro. O linfócito T-helper 17 constitui um bom exemplo desta relação. Este linfócito exerce a sua ação em infecções extracelulares, mas um nível exacerbado também é problemático para a saúde. A colonização com bactérias filamentosas segmentadas permite um controle dos níveis de T-helper 17 (Yurist-Doutsch et al., 2014).

Os linfócitos T reguladores (Treg) também têm influência do MTGI. Certas bactérias pertencentes ao filo *Bacteroidetes* estimulam a diferenciação destes linfócitos, que desempenham a importante função de impedir reações inflamatórias desnecessárias no intestino. É importante que este controle exista devido ao grande número de substâncias que entram em contacto com o epitélio intestinal que podem despoletar uma reação inflamatória (Round & Mazmanian, 2009).

4.2 - Pele

Os microrganismos têm um papel crucial na manutenção da saúde da pele. Apesar

de os mecanismos pelos quais o MP influencia a saúde não serem ainda totalmente conhecidos, especula-se que estes microrganismos tenham como função a inibição direta do crescimento de outras bactérias, educar e aperfeiçoar a imunidade adquirida e melhorar a imunidade inata (Sanford & Gallo, 2013).

O hospedeiro pode ter implicações positivas ou negativas na relação com o microrganismo. O microbioma inclui dois tipos de relação positiva: o comensalismo, em que apenas um dos intervenientes sai beneficiado e o mutualismo, em que ambos os participantes da relação têm vantagens. Existe uma relação negativa quando existe colonização por bactérias patogénicas (Schommer & Gallo, 2013).

A simples presença das bactérias já é por si só um mecanismo de defesa. Para além do papel ativo que existe contra bactérias com a produção de compostos bactericidas, a competição por local e pelos nutrientes é um fator decisivo para impedir a colonização por outras bactérias.

Um exemplo de uma relação benéfica pode ser observada com a bactéria *S. epidermidis*. Esta bactéria modula mediadores inflamatórios de forma a suprimir a reação de inflamação e manter a barreira de microrganismos presentes na epiderme. Para além desta função, também exerce um papel de proteção ao expressar péptidos com propriedades inibitórias do crescimento de bactérias patogénicas (Schommer & Gallo, 2013). Segundo Sanford & Gallo (2013), um exemplo da utilidade desta espécie é a prevenção do crescimento de biofilmes de *S. aureus*.

A presença das bactérias é significativa na proteção da pele, mas estas exercem também a função de influenciar as células do hospedeiro. Utilizando novamente o exemplo do *S. epidermidis*, a interação desta espécie com queratinócitos vai estimulá-los a produzir péptidos que atuam contra o *S. aureus* (Schommer & Gallo, 2013).

Outro exemplo de fortalecimento do sistema imunitário envolve novamente a mesma bactéria. Wang, MacLeod, & Di Nardo (2013) demonstraram que os mastócitos, células que têm a capacidade de libertar péptidos como a catelicidina (que exercem atividade contra bactérias), são influenciadas pelas bactérias comensais da pele. A expressão da catelicidina é induzida pela activação de um recetor TLR2, e este recetor é estimulado por produtos vindos de bactérias na superfície da pele.

Pode afirmar-se então que a sinalização que as bactérias fazem a vários tipos de células do hospedeiro constitui uma importante ferramenta na amplificação da resposta imunitária (Sanford & Gallo, 2013)

4.3 – Vagina

O MV constitui uma barreira de defesa de grande importância contra infeções (Ursell et al. 2012).

A vagina do ser humano caracteriza-se por ser diferente da dos restantes mamíferos. Estas diferenças residem no facto de o pH ser mais baixo (inferior a 4,5), de haver abundância de ácido láctico produzido por bactérias e de haver um domínio claro do género *Lactobacillus* (Witkin, 2015).

Segundo Witkin (2015) a presença do ácido láctico produzido pelas bactérias dominantes na vagina tem como função impedir a colonização por bactérias relacionadas com a vaginose bacteriana (uma desregulação do MV). Exemplos destas bactérias são a *Gardnerella vaginalis*, *Mycoplasma hominis*, *Bacteroides* spp. e *Prevotella* spp. O pH baixo que o ácido láctico confere à vagina converte-a num ambiente altamente seletivo ao crescimento de bactérias que não pertençam à comunidade. Para além desta função também é importante referir a indução da produção de interferão- γ , estimulação da maturação de células dendríticas, entre outras funções desempenhadas pelo ácido láctico que salvaguardam a integridade da comunidade microbiológica vaginal.

Como referido anteriormente, uma das características do MV é a estabilidade que este adquire durante a gravidez, com um aumento dos *Lactobacillus*. Esta estabilidade é um mecanismo de defesa (Walther-António et al., 2014).

Uma das maiores causas de partos prematuros é a presença de uma desregulação do microbioma vaginal, que torna possível a infeção do feto. Quando o feto é exposto a bactérias, a sua expulsão é um mecanismo de defesa tanto para o próprio como para a progenitora. Quando existe um declínio de *Lactobacillus* existe uma associação com maior probabilidade de parto prematuro. A estabilidade adquirida na gravidez é justificada como fator protetor para que não haja perigo para o feto (Witkin, 2015)

5 – Microbioma e infecção por VIH

O VIH é um vírus que infeta os linfócitos T CD4+. A doença que lhe está associada, a síndrome de imunodeficiência humana (SIDA) é uma patologia mais letal que as imunodeficiências associadas a outras infeções (virais ou não), doenças autoimunes ou desequilíbrios endócrinos. As formas de transmissão envolvem a prática sexual com um parceiro infetado, a partilha de seringas, a transmissão vertical da mãe para o filho e o uso de derivados do sangue de alguém infetado, como no caso de uma transfusão (Moss, 2013).

O ciclo de replicação do VIH começa pela ligação do vírus ao hospedeiro. Após se ligar, o vírus penetra a célula CD4+. Após a entrada na célula, a enzima transcriptase-reversa vai sintetizar uma dupla cadeia de DNA a partir do RNA do vírus, e esta cadeia de DNA vai integrar o material genético no núcleo da célula CD4+. Com o seu próprio material genético integrado no núcleo da célula que infeta, o vírus recorre ao mecanismo de transcrição do hospedeiro para fazer cópias. Estas cópias do vírus saem da célula e passam por um processo de maturação. Este processo ocorre pela atividade da enzima protease que separa as cadeias de proteínas do vírus em cadeias individuais e funcionais. Após o processo de maturação o vírus está preparado para infetar novamente outra célula e recomeçar o ciclo (Moss, 2013).

O microbioma sofre alterações significativas em pessoas infetadas pelo VIH-1. O comprometimento do sistema imunitário pelo VIH pode levar a mudança na composição microbiológica do hospedeiro e promover o aparecimento de doenças causadas por microrganismos oportunistas. (Saxena et al, 2012).

Na tabela 2 encontram-se exemplificadas algumas manifestações típicas na infecção pelo VIH associadas aos microrganismos que as causam.

Local	Microrganismo	Manifestação
Boca	<i>Porphyromonas gingivalis</i> , <i>Fusobacterium</i> , <i>Candida</i>	Cáries, candidíase, periodontite ulcerativa
Pulmão	<i>Haemophilus influenzae</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Infeções do trato respiratório superior, pneumonia, tuberculose
Trato gastrointestinal	<i>Salmonella</i> , <i>Shigella</i> , <i>Mycobacterium avium</i> , <i>Cryptosporidium</i>	Diarreia aguda ou crónica, esofagite
Pênis	<i>Treponema pallidum</i> , <i>Neisseria gonorrhoeae</i> , <i>Chlamydia trachomatis</i>	Doenças sexualmente transmissíveis
Vagina	<i>Gardnerella vaginalis</i> , <i>Mycoplasma hominis</i> , <i>Prevotella</i> , <i>Bifidobacterium</i> , <i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Vaginose bacteriana, doenças sexualmente transmissíveis

Tabela 2. Exemplos de microrganismos que se podem encontrar presentes em indivíduos seropositivos e correspondentes consequências para a saúde (Saxena et al., 2012)

5.1 – Translocação de microrganismos

Um indivíduo infetado com o VIH terá uma ativação subjacente do sistema imunitário e mais marcadores de inflamação em circulação. Apesar da terapêutica HAART atenuar a resposta inflamatória, existe sempre um aumento em comparação com um indivíduo saudável (Salas & Chang, 2014).

Segundo Paiardini & Müller-Trutwin (2013), esta ativação crónica é um fator essencial na depleção de células T CD4+ e desenvolvimento de SIDA. Pode ser explicada por mecanismos como a resposta do sistema imunitário à replicação do vírus, resposta a infeções oportunistas, entre outras.

Apesar de existirem justificações para a ativação crónica num indivíduo infetado, pode existir um envolvimento do microbioma, através da translocação de microrganismos

(TM).

A TM pode definir-se como a entrada de microrganismos do MTGI na circulação sistémica sem desenvolver septicémia, e ocorre após a quebra da integridade do intestino, mais precisamente quando há ruptura da mucosa e deterioração das células do sistema imunitário localizadas na mucosa intestinal. As bactérias patológicas usualmente seriam neutralizadas pelas células imunitárias do intestino, mas o comprometimento da mucosa permite que componentes da flora intestinal consigam subsistir em locais fora do TGI. A ativação crónica do sistema imunitário pode ser causada pela TM apesar da relação causa-efeito entre estas ocorrências ainda ser debatida. A presença destas bactérias na circulação pode causar um estado de inflamação crónico e exaustão das células imunes (Salas & Chang, 2014).

Segundo Marchetti, Tincati, & Silvestri (2013), os mecanismos pelos quais a translocação de microrganismos ocorre são a depleção precoce de células CD4+ na mucosa, a inflamação persistente da mucosa, danos ao epitélio intestinal devido à apoptose de enterócitos e a mudança do microbioma intestinal com predomínio de bactérias oportunistas (*Salmonella*, *Shigella*, *Clostridium*, entre outras).

A presença de concentrações elevadas de LPS (lipopolissacárido presente na membrana de bactérias gram negativas) na corrente sanguínea de indivíduos infetados com VIH apoia a teoria da influência da TM na inflamação crónica. Outro fator importante para consolidar esta teoria é o facto de a análise de símios da espécie *Rhesus* portadores do SIV assintomáticos (estirpe do vírus característica de primatas) não exibirem níveis elevados de LPS na corrente sanguínea. A falta de translocação relacionada com a ausência de sintomas de inflamação crónica sugere um papel determinante da TM na inflamação crónica detetada nos doentes infetados por VIH (Marchetti et al, 2013).

5.2 – Implicações clínicas da translocação de microrganismos

A teoria de que existe uma relação entre a TM e a patogénese do VIH levanta a possibilidade de obter dados em relação à progressão da doença. A análise de marcadores da TM pode permitir inovações na avaliação da progressão da doença. Estes dados podem influenciar o processo de decisão da manutenção/mudança de terapêutica ou providenciar informações sobre o nível de comprometimento da mucosa do TGI (Marchetti et al, 2013).

Apesar da possível utilização positiva, é necessário ter em conta as comorbilidades que surgem associadas à TM. O VIH aumenta a incidência de doenças degenerativas, e no que diz respeito às doenças passíveis de surgir pela presença de microrganismos na circulação é necessário ter em atenção dois tipos de patologias: doenças hepáticas e cardiovasculares (Deeks, 2011).

O fígado tem um papel importante na *clearance* de LPS do sangue. Os produtos gerados pela atividade de bactérias passam do intestino para a veia porta e seguidamente para o fígado, onde são processados pelas células de Kupffer (Jirillo et al., 2002).

Um aumento da presença de LPS na corrente sanguínea causado por situações como a TM vai levar a uma maior sensibilidade das células hepáticas a estímulos inflamatórios que pode culminar com uma doença hepática. Sendo assim pensa-se que o VIH e conseqüente TM vai aumentar o risco deste tipo de patologias (Balagopal et al., 2008).

Segundo Kiechl et al (2001), a infeção crónica tem influência no risco de aterosclerose. Uma molécula como o LPS tem um grande potencial pro-inflamatório e a sua presença pode ser tida como uma possível causa de risco cardiovascular acrescido.

É importante referir que a associação entre a TM e as comorbilidades típicas do VIH são apenas hipóteses que necessitam de estudos mais aprofundados que as comprovem devidamente (Marchetti et al, 2013).

5.3 - Influência da infeção por VIH no microbioma

5.3.1 - Microbioma do trato gastrointestinal

Indivíduos seropositivos apresentam a mesma carga bacteriana que indivíduos saudáveis. A diferença essencial entre os dois é a composição. Enquanto o microbioma normal contribui para a homeostasia, um microbioma alterado vai induzir respostas inflamatórias que prejudicam os tecidos epiteliais. Microrganismos oportunistas como a *P. aeruginosa* ou a *C. albicans* têm uma presença mais significativa num indivíduo infetado e não medicado em comparação com indivíduos saudáveis (Salas & Chang, 2014).

A rápida depleção de células CD4+ está associada à depleção de células dendríticas (que têm um papel relevante na tolerância do sistema imunitário aos microrganismos comensais) e conseqüente mudança da população de microrganismos

(Hummelen et al., 2010)

Apesar da eficácia da terapia HAART, esta não resolve totalmente o problema da mudança no microbioma. Em indivíduos sem terapia, foi encontrada uma depleção dos microrganismos considerados comensais, e em indivíduos tratados apesar de ser com uma magnitude menor, sucede o mesmo. A terapia antiretroviral tem influência no problema não o resolve na totalidade (McHardy et al., 2013).

Apesar de ser uma consequência do VIH, esta alteração no MTGI também vai contribuir para a degeneração do sistema imunitário. Ao interromper o metabolismo normal do TGI certas células pertencentes ao sistema imunitário vão ser prejudicadas, visto que os estímulos de que beneficiam por parte do microbioma cessam. A título de exemplo, o enriquecimento de bactérias que metabolizam o triptofano, como a *Pseudomonas Fluorescens*, vai inibir a maturação das células Th17. Estas células são cruciais na manutenção da homeostasia do intestino, visto que também gerem a resposta contra microrganismos estranhos e promovem a integridade da mucosa (Salas & Chang, 2014.)

5.3.2 – Microbioma oral

As lesões orais são um indicador da progressão da doença, apesar do seu maior controlo desde que surgiu a terapia HAART. Esta comorbilidade traz um grande desconforto aos indivíduos infetados (Saxena et al, 2012).

Certos géneros são encontradas em indivíduos seropositivos em maior quantidade que em indivíduos saudáveis. Dentro destes géneros enquadram-se por exemplo *Lactobacillus* e *Candida spp.*, que apesar de serem comensais têm uma presença mais significativa em doentes infetados com VIH. Apesar de esta disbiose estar comprovada e ter efeitos nocivos a terapia com antiretrovirais controlou este problema (Salas & Chang).

Num estudo em crianças infetadas com VIH (42 crianças infetadas e 36 crianças saudáveis como controlo), foi comprovado que existe uma menor prevalência de lesões orais em indivíduos medicados. Esta melhoria pode dever-se ao uso de inibidores da protease, que já foi comprovado diminuir a virulência do género *Candida* (um dos principais causadores de lesões orais oportunistas). Também neste estudo foi demonstrado que há uma maior prevalência de bactérias relacionadas com a patogénese de cáries dentárias (*S. mutans*, *L. acidophilus*, entre outras) (Santos & Braga-Silva, 2013; Silva-Boghossia et al., 2008).

5.3.3 – Microbioma das vias aéreas

Os dados relativos ao microbioma pulmonar de um indivíduo saudável são escassos. Contudo pode-se assumir que a imunossupressão permite a proliferação de bactérias oportunistas devido à grande incidência de pneumonia em indivíduos infectados por VIH. As complicações causadas por doenças pulmonares são bastante significativas (Saxena et al., 2012)

As características do microbioma pulmonar quando existe infeção por VIH são dependentes da exposição ao meio ambiente, genética, uso de antibióticos entre outros. A colonização pulmonar é diferente entre diferentes coortes de indivíduos (Salas & Chang, 2014).

Segundo Iwai et al. (2014), o microbioma pulmonar tem uma composição e funcionalidade diferentes entre indivíduos no Uganda e em São Francisco. Num estudo realizado em 60 indivíduos infectados por VIH e com pneumonia aguda e numa coorte semelhante em São Francisco, foi revelado que os indivíduos do Uganda têm uma maior presença dos géneros *Lachnospiraceae*, *Desulfovibrionaceae* e *Desulfuromonadaceae*. A bactéria patogénica mais comum na população africana é a *P. aeruginosa*, contrariamente a países da cultura oeste em que a *S. pneumoniae* é a principal etiologia da pneumonia. Este estudo revela a suscetibilidade deste microbioma ao ambiente.

5.3.4 – Microbioma do pénis

O pénis fornece um ambiente com características ideais para o crescimento de bactérias. O tecido epitelial mucoso húmido do prepúcio pode conter bactérias anaeróbias pro-inflamatórias que mobilizam células imunes, as células alvo do VIH. No ato sexual o prepúcio retrai, e o pénis é exposto a secreções vaginais ou rectais que após o o término do ato e restituição do prepúcio à sua posição normal pode aprisionar viriões do VIH. A presença de células alvo e as características do pénis aumentam a probabilidade de contrair a infeção. O prepúcio é um dos locais alvos mais característicos para adquirir a infeção (Anderson, Politch, & Pudney, 2011).

A circuncisão pode causar uma diminuição na probabilidade de adquirir a infeção pelo VIH. Na circuncisão é retirado o prepúcio, deixando uma superfície com epitélio queratinizado. Este tecido é menos susceptível à infeção, visto haver um declínio nas espécies de microrganismos características de homens não circuncidados que não são

capazes de sobreviver neste ambiente. Pode concluir-se que a redução de bactérias pode ter papel importante na proteção contra a infecção (Price et al., 2010).

A circuncisão protege contra a transmissão do VIH como também de outros microrganismos sexualmente transmissíveis, nomeadamente *Treponema pallidum*, *Haemophilus ducreyi*, e *Neisseria gonorrhoea*. Estes microrganismos causam doenças que facilitam a transmissão do VIH, dando ênfase ao papel do microbioma na transmissão do vírus (Saxena et al., 2012).

5.3.5 – Microbioma do sémen

O sémen é um vetor importante na transmissão do VIH. A sua carga viral correlaciona-se moderadamente com a carga viral no sangue. Tem ainda o seu microbioma característico, abrindo a hipótese de o microbioma do sémen ter influência na carga viral do VIH e assim influenciar a sua transmissão. Os géneros *Ralstonia*, *Peptoniphilis*, *Anaerococcus*, *Streptococcus*, *Corynebacterium* (entre outros) são característicos do microbioma seminal. Nos indivíduos infetados por VIH, existe um aumento do género *Mycoplasma* (Hou et al., 2013; Liu et al., 2014).

Segundo Liu et al (2014), ao comparar o microbioma do sémen de indivíduos saudáveis com indivíduos infetados por VIH-1 foram encontradas diferenças. Nos indivíduos infetados existe menos diversidade e riqueza de espécies. Para além da diferença de espécies foram detetadas sete citocinas pro-inflamatórias relacionadas com a carga viral, tendo a IL-1b em particular uma associação à transmissão do vírus. Estas citocinas surgem devido à alteração entre a relação do sistema imunitário e as bactérias presentes no sémen causada pela infecção por VIH. Foi também detetado que a terapia com HAART restabelece o microbioma do sémen em 6 meses, mostrando que a flutuação de microrganismos no sémen se deve à desregulação do sistema imunitário (que sofre melhoria quando o indivíduo infetado é sujeito a terapia antirretroviral).

5.3.6 – Microbioma vaginal

O MV tem um papel importante na transmissão do VIH-1 tanto no ato sexual como na transmissão aos recém-nascidos (Saxena et al, 2012).

A disbiose na vagina (ou vaginose bacteriana) vai alterar a espécie dominante no microbioma vaginal e prejudicar as defesas naturais, e é considerada um fator de risco na

transmissão e aquisição do VIH. O género dominante *Lactobacillus* perde a sua dominância e é substituída por outros microrganismos. As bactérias envolvidas na vaginose bacteriana, como por exemplo a espécie *Prevotella*, vão causar uma inflamação do tecido epitelial. Esta inflamação é justificada pela perda de *Lactobacillus* que vai influenciar um dos mecanismos de defesa da vagina, o seu pH ácido causado pela produção de ácido láctico. As bactérias não comensais à vagina quando presentes vão despoletar uma inflamação através da ativação da produção de citocinas pró-inflamatórias nas células epiteliais. Além deste estado inflamatório, a perda de espécies como a *Lactobacillus acidophilus* que é produtora de peróxido de oxigénio, também é prejudicial devido ao seu efeito adverso contra o VIH (Atashili et al., 2008; Salas & Chang, 2014).

De acordo com Salas & Chang (2014), a VB aumenta o número de células-alvo para o VIH, promove a produção de citocinas pro-inflamatórias e afeta a integridade da mucosa, fatores que podem aumentar a disseminação do vírus.

Um estudo realizado por Cohen et al. (2012) em 2.236 mulheres infetadas com VIH-1 e os seus parceiros em sete países africanos permitiu chegar à conclusão que a transmissão do vírus em mulheres infetadas com VIH e com VB é três vezes mais provável que em mulheres infetadas sem VB. Este estudo permitiu ver a grande correlação que existe entre o desequilíbrio dos microrganismos vaginais e a possível transmissão do vírus, revelando que um microbioma saudável é essencial.

É importante que para evitar a disseminação do vírus a VB seja controlada através de antibioterapia, sendo necessário detetar o perfil de bactérias causadoras da doença e utilizar o antibiótico mais eficaz (Hummelen et al., 2010).

Segundo (Mehta et al., 2015), uma comparação do MV entre 64 mulheres (22 sem qualquer infeção, 22 com infeção por VIH e sem disbiose na vagina e 24 com infeção por VIH com vaginose bacteriana num intervalo de tempo entre 8 e 10 anos revelou uma melhoria da comunidade microbiológica a longo prazo nas mulheres em que as vaginoses bacterianas foram detetadas e tratadas, ou seja, é possível manter estabilidade no microbioma vaginal desde que as disbioses sejam controladas. Isto significa que o tratamento com antibiótico é uma importante componente no controlo do microbioma da vagina quando em infeção por VIH-1.

5.4 – Probióticos e Prebióticos

É seguro assumir que o microbioma alterado de um indivíduo seropositivo é um

fator de peso na patogénese da infecção por VIH. Os probióticos, que têm como função inerente impedir a colonização por microrganismos patogénicos, podem ter um papel importante para evitar a colonização por microrganismos patogénicos. Um probiótico contém microrganismos vivos que quando administrados, em princípio conduzem a uma melhoria na situação do indivíduo. Estes induzem a secreção de IgA específicas e de β -defensinas e proteínas bactericidas contra os microrganismos prejudiciais (Hummelen et al., 2011)

Um estudo realizado por D'Etorre et al. (2015) em 20 indivíduos infetados por VIH, em terapia HAART e suplementados com probióticos revelou que o uso continuado de probióticos causa uma redução dos marcadores inflamatórios da translocação de microrganismos numa análise ao sangue periférico (onde se inclui por exemplo a redução da ativação crónica de CD4+). O resultado obtido sugere que o uso desta terapia em associação à terapia HAART pode trazer resultados positivos. Em relação às melhorias referidas pelos indivíduos no estudo, estes afirmaram sentir efeitos positivos na digestão, redução de episódios agudos de diarreia, entre outros.

Os prebióticos, que se podem definir como componentes da dieta não digeríveis pelo hospedeiro que vão influenciar o metabolismo dos microrganismos no trato gastrointestinal (estimulando determinados microrganismos em detrimento de outros), permitem modular os microrganismos que estão presentes no intestino. Ao contrário dos probióticos que contêm microrganismos, os prebióticos contêm, por exemplo, carboidratos não digeríveis com destino à metabolização de microrganismos específicos. Estes têm a capacidade estimular o crescimento de bactérias benéficas (as consideradas comensais) através de fermentação seletiva. Os prebióticos, contudo, não têm estudos suficientes que comprovem a sua eficácia em doentes com VIH. Estas informações são úteis para chamar a atenção para a utilidade que os probióticos e prebióticos podem eventualmente ter, visto que este assunto precisa de ser analisado com mais profundidade (D'Etorre et al., 2015; Hummelen, Vos, et al., 2010)

6 - Obesidade

A obesidade é um problema de saúde cada vez mais recorrente. O excesso de peso pode trazer complicações como problemas do foro cardíaco, diabetes ou influenciar o sistema imunitário (Tilg, Moschen, & Kaser, 2009).

O microbioma humano fornece um conjunto de genes muito maior que o genoma humano. Este irá permitir ao hospedeiro reações metabólicas e bioquímicas que não estariam disponíveis sem a presença de microrganismos. A composição do microbioma vai influenciar a absorção e metabolismo dos alimentos, sendo possível que uma determinada seleção de microrganismos possa predispor um indivíduo a doenças como a obesidade, ao afetar processos como a duração da digestão, a maior absorção de nutrientes, a redução da oxidação de ácidos gordos, entre outros (Musso et al., 2011).

Segundo Tilg et al (2009), experiências em ratos demonstraram que a obesidade vem acompanhada de uma redução da diversidade de espécies e um conjunto de processos metabólicos alterado. Além das mudanças na interação com os alimentos provenientes da dieta, o microbioma e os produtos associados à actividade de microrganismos regulam a expressão de genes, sendo a comunidade microbiológica residente no TGI um fator importante nesta patologia.

6.1 - Diferenças do microbioma na obesidade

Um dos dois filos comensais dominantes no intestino (*Bacteroidetes* e *Firmicutes*) está em maioria num indivíduo obeso: o *Firmicutes*. Dentro deste grupo estão bactérias como a *Lactobacillus*, *Clostridium* ou *Mycoplasma*. Num estudo que englobou indivíduos obesos e controlos sem excesso de peso sujeitos a uma terapia de dieta, foi observada uma prevalência de *Firmicutes* nos indivíduos obesos, com um decréscimo destes ao longo de um ano, podendo ser possível concluir que o MTGI é dependente da dieta. Os processos metabólicos associados à superioridade de um género de bactérias, que neste caso vão tornar mais eficiente a recolha de energia na dieta vão resultar numa alteração nos adipócitos. Um exemplo de um destes processos metabólicos é o metabolismo da bactéria *Methanobrevibacter smithii*, que tem uma melhor capacidade de metabolizar a frutose em “short chain fatty acids” (SCFA) e assim extrair mais energia da dieta (Ley et al., 2006; Sweeney & Morton, 2013)

Na figura 7 é possível observar a diferença na microbiota intestinal em dois ratos, um obeso e um sem excesso de peso. A comunidade microbiana nos dois exemplos reflete as alterações nos humanos, visto que a alteração é semelhante (Ley et al., 2006; Tilg et al., 2009).

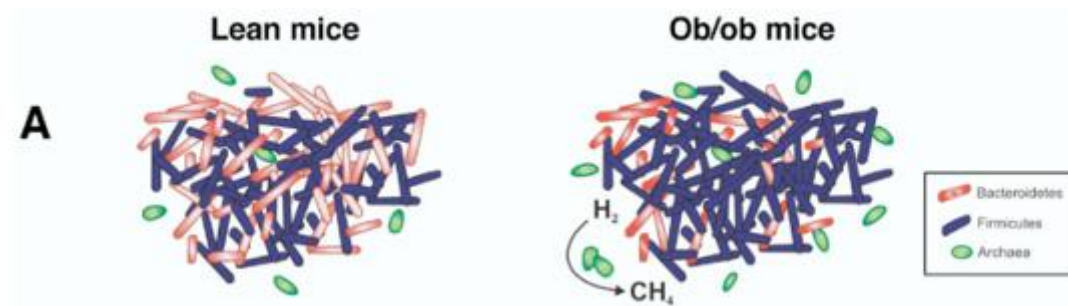


Figura 7 Diferença entre o microbioma característico da obesidade e o microbioma considerado saudável (no que diz respeito ao excesso de peso) em ratos. É possível observar uma maior representação do gênero Firmicutes com uma diminuição acentuada de Bacteroidetes (Tilg et al, 2009).

Segundo Sweeney & Morton (2013), usando como modelo ratos gnotobióticos, o simples transplante de microbioma a partir de um rato com uma dieta semelhante à da cultura ocidental faz com que outro rato (sujeito a uma dieta sem os excessos de açúcar e gordura da dieta ocidental) tenha um ganho de peso, dando ênfase ao papel do microbioma no fenótipo do seu hospedeiro.

A mudança de peso de uma mulher grávida é um bom modelo para analisar a variação do microbioma. Mulheres com ganho de peso substancial durante a gravidez revelam uma variação no microbioma para o característico no excesso de peso. O MTGI característico da obesidade pode chegar inclusive a perpetuar a doença para gerações posteriores. Um estudo em amostras fecais de 77 crianças com idades compreendidas entre os 18 e os 27 meses nascidas de mães obesas e sem excesso de peso demonstrou a existência de diferenças ao nível do microbioma entre os dois grupos. Existe diferença na presença de *Faecalibacterium* spp. e *Eubacterium* spp., por exemplo; estes géneros estão ligados ao microbioma característico da obesidade. Este estudo demonstra que um fator tão prematuro como o microbioma intestinal da mãe pode influenciar o microbioma

intestinal da criança nos seus primeiros anos de vida. (Collado et al., 2008; Galley et al., 2014).

Apesar de haver uma clara associação de um rácio maior de *Firmicutes* em relação a *Bacteroidetes* no excesso de peso, este desequilíbrio é reversível. Num trabalho de investigação realizado por Santacruz et al. (2009), foi demonstrado num grupo de adolescentes obesos que através de dieta com baixo teor calórico e exercício, há uma variação ao nível microbiológico, nomeadamente com aumento de espécies como *Bacteroides fragilis* e diminuição de *Cryptosporidium coccoides*. Este estudo foi efetuado ao longo de 10 semanas, revelando como o aporte calórico e o gasto de energia podem influenciar o microbioma. Contudo, os adolescentes que já revelavam um menor rácio de *Firmicutes* em relação aos *Bacteroidetes*, em comparação aos outros indivíduos obesos, revelaram uma perda de peso maior, indiciando que a composição prévia do microbioma também vai determinar a maior ou menor perda de peso quando se começa uma mudança no estilo de vida.

6.2 – Efeitos do microbioma característico da obesidade no organismo

A causa primária da obesidade é o excesso de aporte calórico com um deficiente gasto da energia. Contudo, um MTGI mais eficiente a extrair energia da dieta e com influência na expressão genética e metabolismo do indivíduo podem predispor para a doença (Turnbaugh & Gordon, 2009).

6.2.1 – Fasting-induced adipose factor

Existem mecanismos definidos através dos quais se pode observar uma influência do MTGI na utilização da energia proveniente da dieta. Um destes mecanismos é a supressão do fasting-induced adipose factor (Fiaf). Esta proteína é produzida pelos enterócitos, hepatócitos, miócitos e adipócitos e é uma resposta ao jejum. Tem como função principal limitar a captação de lípidos e triglicéridos e consequente acumulação, inibindo a lipoproteína lipase (LPL). É um mediador importante no balanço energético, com uma intervenção na recolha de energia da dieta, no armazenamento e gasto desta energia. A atividade aumentada de LPL vai contribuir para o ganho de peso (Giovanni Musso et al., 2011).

Segundo Bäckhed et al. (2004), a supressão do Fiaf vai permitir uma maior deposição de triglicéridos ao influenciar a atividade das bactérias no intestino.

É possível que o microbioma característico da obesidade tenha uma maior ação supressora deste mediador, contribuindo para o ganho de peso. Esta influência foi demonstrada em ratos, em que a convencionalização (o contacto com microrganismos) de ratos livres de microrganismos causou um aumento de peso substancial e uma supressão significativa do Fiaf (Zak-Goląb et al., 2014)

6.2.2 – AMP-Activated Protein Kinase

Outra via metabólica que protege contra a obesidade é a da enzima AMP-Activated Protein Kinase (AMPK). Esta enzima tem como função ativar vias catabólicas que geram ATP no fígado e no músculo esquelético. Esta ação é devida à oxidação de ácidos gordos na mitocôndria e reduz a síntese hepática de glicogénio. A atividade da AMPK encontra-se suprimida pelo microbioma intestinal, fato demonstrado através do estudo em ratos gnotobióticos. Estes ratos quando num estado livre de microrganismos encontravam-se protegidos do aumento de peso mesmo apesar de uma dieta rica em açúcares e lípidos, já que a AMPK nesta situação não se encontra suprimida (Musso et al, 2011).

A supressão da AMPK pelo microbioma pode causar uma génese e acumulação anormal de glicogénio, tendo como resultado final um excesso de energia armazenada e consequente aumento de peso (Tilg et al, 2009).

6.2.3 – Short chain fatty acids: interação com os recetores Gpr41/Gpr43

A atividade dos SCFA, produtos da atividade de bactérias, também tem um importante papel não só na contribuição para a energia do organismos mas também como moléculas sinalizadoras. O propionato e o acetato são ligandos dos recetores Gpr41 e Gpr43, presentes no intestino com capacidade de modular a forma como se processa a recolha de energia a partir da dieta e o metabolismo do hospedeiro (Musso et al, 2011).

O recetor Gpr41 quando ligado com um SCFA vai induzir a expressão da proteína YY (PYY). Esta proteína está associada à inibição da motilidade intestinal e aumento do tempo de digestão. Em ratos colonizados com bactérias típicas do MTGI humano mas sem os recetores Gpr1, apesar da existência dos SCFA, não vai existir libertação da PYY

porque não existe recetor Gpr41 para ser estimulado, resultando numa motilidade intestinal normal e diminuição do tempo de digestão, e consequente ausência de excesso de peso (Samuel et al., 2008).

O MTGI tem uma influência significativa no recetor Gpr41, visto este ser ativado pelos produtos das bactérias do intestino. A ativação e regulação deste depende do microbioma e dos SCFA que este produz (Inoue, Tsujimoto, & Kimura, 2014).

O recetor Gpr43 regula a homeostase energética no intestino e nos tecidos adiposos. Este recetor, também ativado por SCFAs bacterianos, regula o apetite, a motilidade gastrointestinal, processos inflamatórios e o perfil lipídico do plasma, tendo um papel no controlo do peso (Cornall et al., 2013; Kimura et al., 2014).

Os recetores Gpr41 e Gpr43 estão implicados na patogénese da obesidade devido à sua regulação do tecido adiposo. O microbioma, como indutor destes, revela-se mais uma vez um fator crucial, visto ser a origem da sinalização causada por este mecanismo (Kim et al., 2014).

6.2.4 – Outras interações

O MTGI exerce também efeito na colina, essencial na secreção das VLDL. Esta molécula pode ser metabolizada por bactérias associadas ao fenótipo da obesidade em metabolitos hepatotóxicos, tendo como consequência uma secreção deficiente de VLDL e acumulação hepática de triglicéridos. A transformação em metabolitos induz um efeito semelhante a uma dieta deficiente em colina (Musso et al, 2011).

O sistema nervoso está envolvido na regulação do apetite, controlo motor e de secreção do TGI. Os metabolitos resultantes do MTGI (nomeadamente os SCFA) induzem a neoglucogénese intestinal, que comunica com o sistema nervoso através do sensor de glucose na veia porta e afeta o metabolismo da glucose e da absorção de nutrientes (Moran & Shanahan, 2014).

A inflamação crónica causada por toxinas bacterianas é associada à obesidade, resistência à insulina e intolerância à glucose. Uma dieta rica em lípidos promove um aumento de bactérias produtoras de LPS (enterobactérias) em relação à sua presença num indivíduo saudável. Certas dietas podem induzir a maior expressão de LPS, causando uma endotoxemia metabólica (termo utilizado para distinguir da endotoxemia característica da sépsis) que tem como consequência um estado de inflamação (Tilg et al, 2009).

Este estado de inflamação vai causar uma maior permeabilidade da mucosa intestinal. Tem como consequências um contributo no desenvolvimento da obesidade e nas complicações inerentes a esta doença (Moran & Shanahan, 2014).

Segundo Tilg et al (2009), perfis microbiológicos diferentes no MTGI têm metabolismos diferentes, e o microbioma de um indivíduo é um fator que pode ou não contribuir para o excesso de peso. É possível concluir que o microbioma tem um efeito direto na expressão dos genes do hospedeiro, e que determinados microbiomas podem por si só induzir a uma maior predisposição ao ganho de peso excessivo.

6.3 - Possíveis intervenções terapêuticas

A compreensão do impacto do MTGI na obesidade, uma doença com cada vez mais incidência, abre a possibilidade de investigar novas abordagens terapêuticas.

A utilização de prebióticos e probióticos é uma aproximação ao tratamento da obesidade que já se revelou útil. Este tratamento consiste em estimular o crescimento de determinadas bactérias e alterar o equilíbrio do MTGI (Geurts et al, 2014).

A administração de oligofructose revelou uma restauração do número de bactérias convenientes, como a *Bifidobacteria* e *Lactobacillus*. O uso deste prebiótico pode ser uma intervenção útil no tratamento da obesidade. Em consequência do aumento das espécies benéficas, os prebióticos aumentam a secreção de hormonas características da saciedade (GLP-1 e proteína YY). O uso de probióticos, que consiste na inserção de uma estirpe bacteriana no MTGI, também é uma alternativa bastante viável, dependendo da estirpe. A *Lactobacillus gasseri* está associada com uma redução de peso quando usada continuamente, mostrando que o uso de probióticos é uma abordagem terapêutica viável. (Moran & Shanahan, 2014; Tehrani et al., 2012).

O transplante de microrganismos fecais de um dador saudável para um indivíduo obeso é também importante no tratamento da obesidade. Como demonstrado em ratos, o transplante de bactérias de um rato com excesso de peso para um rato livre de microrganismos induz o metabolismo do dador no recetor. O reverso também acontece. Num espaço de seis semanas, o transplante causou uma maior sensibilidade à insulina (Vrieze et al., 2012).

Uma outra abordagem consiste na utilização de bactérias manipuladas que produzam fatores úteis à homeostasia do TGI. Um exemplo, como demonstrado por Chen et al. (2014), é a utilização de *E. coli* geneticamente manipulada para secretar NAPes (N-

acilfosfatidiletanolaminases), precursor da família de lípidos N-aciletanolamida. Tendo os NAPEs como função reduzir a absorção de nutrientes provenientes da dieta, a administração desta bactéria através de água durante 8 semanas reduziu o peso em ratos sujeitos a uma dieta rica em gordura, e inclusive existiu uma proteção do excesso de absorção de gordura durante 4 semanas após parar de administrar a bactéria.

Segundo Kim et al. (2014), os recetores de SCFAs Gpr41 e Gpr43 cujos efeitos são significativos no funcionamento do metabolismo do intestino, são um alvo terapêutico a ser investigado. A sua modulação pode trazer benefícios favoráveis à perda de peso. Contudo, é necessário fazer uma investigação mais profunda ao funcionamento destes recetores, e a descoberta de princípios ativos que possam influenciar a sua atividade ainda está numa fase muito prematura. Os estudos realizados encontram-se ainda numa fase em que não é possível saber se é mais proveitosa a utilização de agonistas ou antagonistas destes recetores. Estão representados na tabela 3 alguns compostos descobertos com possível atividade nos recetores de SCFAs com os correspondentes alvos e classe (agonista ou antagonista).

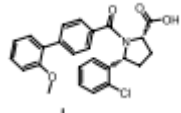
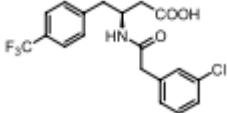
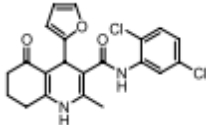
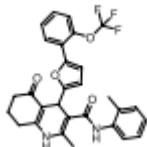
Composto	Alvo	Classe
	Gpr43	Agonista
	Gpr43	Antagonista
	Gpr41	Agonista
	Gpr41	Antagonista

Tabela 3 Compostos com possível atividade nos recetores Gpr41 e Gpr43 e correspondente classe, agonista ou antagonista. Adaptado de Kim et al. (2014).

7 – Diabetes *mellitus*

A diabetes mellitus é uma doença onde existe um defeito na secreção de insulina, causando hiperglicémia e dislipidémia. Pode dividir-se em diabetes tipo 1 (DT1), em que há destruição das células que secretam insulina devido a uma resposta autoimune, e diabetes tipo 2 (DT2) em que existe uma gradual resistência à insulina. O microbioma, com os seus importantes contributos metabólicos e inflamatórios, pode ser determinante no desenvolvimento da doença (Ray & Ray, 2013).

7.1 - Diabetes tipo 1

A diabetes tipo 1 resulta de uma destruição das células pancreáticas devido a uma resposta imunitária, e deve-se à predisposição genética do indivíduo. Existem dois mecanismos pelos quais é possível o microbioma influenciar o início e continuidade da destruição das células β produtoras de insulina. O primeiro mecanismo diz respeito à configuração do microbioma. Um microbioma desviante do normal pode causar um defeito na imunoregulação e induzir a destruição destas células. O segundo mecanismo pode ser codependente do primeiro e envolve a saída de microrganismos do intestino causando um estado inflamatório. Ambos os mecanismos vão causar libertação de citocinas com consequente inflamação do pâncreas e destruição das células secretoras de insulina (Dunne et al., 2014).

Um estudo realizado em Espanha por Murri et al. (2013) permitiu observar diferenças pronunciadas entre crianças saudáveis e crianças com DT1. As crianças doentes apresentaram uma maior quantidade de *Clostridium*, *Bacteroides* e *Veillonella* e um decréscimo de *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* e *Prevotella*. Foi também possível concluir que o rácio entre *Firmicutes* e *Bacteroidetes* tem uma correlação negativa com a glicémia.

As bactérias produtoras de ácido láctico (*Lactobacillus*, entre outras) beneficiam da presença de produtores do SCFA butirato. Este produto de metabolismo aumenta a síntese de mucina, que promove a integridade do intestino. Na presença de outras bactérias (*Veillonela*, *Bacteroides*) que estão em maior número num microbioma característico da DT1, há produção de outros SCFA como o propionato e o acetato, que diminui esta síntese e torna o intestino mais permeável, fator que pode contribuir na reação autoimune que caracteriza a DT1 (Brown et al., 2011).

Estes estudos criam uma ligação entre a composição do microbioma e a DT1 com uma associação da doença a um decréscimo de bactérias que promovem a integridade do TGI, permite considerar a possibilidade de controlar o desenvolvimento da DT1 através da manipulação do microbioma.

Segundo Ray & Ray (2013), uma dieta rica em carboidratos e com menos gorduras saturadas e açúcares pode ser uma importante ajuda para prevenir a patogénese da diabetes, visto que vai afetar a composição do microbioma.

Um estudo realizado por Wen et al. (2008) sugere que existem bactérias com a capacidade de contribuir na patogénese da DT1. Neste estudo foram analisados ratos sem o fator mielóide de diferenciação 88 (MyD88), que serve como mediador das vias de sinalização dos Toll-like receptors (TLR). Sem este fator o nódulo linfático pancreático torna-se menos reativo e existe uma proteção da resposta autoimune. Nos nódulos linfáticos mesentérico e do baço não houve diferença, realçando o poder especificamente antidiabetogénico da falta do MyD88, visto que este não causou uma proteção da DT1 devido ao seu efeito imunossupressor geral. O nódulo linfático pancreático faz a drenagem do intestino e do pâncreas, e com a atividade deste comprometida juntamente com uma menor incidência da DT1 é possível que a DT1 seja causada por sinalização de microrganismos do microbioma intestinal, que com um nódulo linfático pancreático normal seriam detetadas e exerceriam o seu efeito sinalizador.

O estudo dos microrganismos que possam estar envolvidos na patogénese e prevenção da DT1, com um reconhecimento das suas vias metabólicas relacionadas com a imunidade do hospedeiro pode tornar o microbioma um alvo terapêutico viável (Dunne et al, 2014).

7.2 - Diabetes tipo 2

A DT2 é o resultado de interações entre o meio ambiente e as características do indivíduo. Tem uma componente genética e uma componente dependente de fatores externos, como a alimentação. Fatores como a idade, dieta, estilo de vida, obesidade e história da doença na família são fatores de risco conhecidos. O microbioma, sendo um fator moldável pelos fatores externos, está ligado a doenças metabólicas onde a DT2 se inclui (Karlsson et al., 2013).

Dado o papel do microbioma no funcionamento do sistema imunitário inato, a modulação deste pode ser um tratamento plausível de ter efeitos positivos (Kinross, Darzi, & Nicholson, 2011).

7.2.1 - Endotoxémia metabólica na diabetes tipo 2

Como referido anteriormente no contexto da obesidade, a endotoxémia metabólica está associada a doenças onde está presente um desequilíbrio do metabolismo. A inflamação crónica causada pela atividade do microbioma (através da exposição sistémica de produtos de metabolismo

pró-inflamatórios) é importante no desenvolvimento de doenças de caráter metabólico (Geurts et al., 2014).

O baixo nível de bactérias como a *Bifidobacterium* leva a uma maior permeabilidade na mucosa intestinal, permitindo a passagem de LPS (proveniente das bactérias gram negativas presentes no TGI) para o sangue. O LPS é reconhecido como toxina e pode causar resistência à insulina através da inflamação das células β do pâncreas. A inflamação destas células pode levar à sua perda de sensibilidade e apoptose (Ray & Ray, 2013).

7.2.2 – Glucagon-like peptide 1 e 2

Uma forma de combater a endotoxemia metabólica é abordar o GLP-2 (glucagon-like peptide 2), um péptido que tem a capacidade de modular a integridade da barreira no intestino (Musso et al, 2010).

Num estudo realizado por Cani et al (2009) em ratos obesos, estes foram tratados com prebióticos para estimular a secreção de GLP-2. Foi possível concluir que os ratos tratados com prebiótico e com aumento na secreção de GLP-2 em relação aos ratos sem prebiótico apresentaram uma menor carga de LPS na corrente sanguínea e diminuição nos marcadores de inflamação.

O péptido GLP-1 (glucagon-like peptide 1) também tem interesse como alvo terapêutico. Este péptido, libertado quando há absorção de nutrientes, tem efeito no controlo da glucose na corrente sanguínea ao estimular a secreção de insulina (Cani et al., 2006; Musso et al., 2010).

8 - Cancro

O cancro é um estado patológico que causa uma grande mudança na fisiologia. Sendo o microbioma um componente do organismo humano, também sofre alterações quando confrontado com esta patologia. Não só o microbioma é alterado pela doença, como a atividade dos microrganismos pode ser um fator importante na etiologia do cancro. Um problema no equilíbrio da comunidade de microrganismos com a presença de bactérias patogénicas pode contribuir para certos cancros gastrointestinais, como o cancro colorectal (Weir et al., 2013).

Alterações no microbioma através de alterações na dieta ou infeções podem prejudicar a relação de simbiose entre os microrganismos e o hospedeiro. A disbiose pode causar genotoxicidade e uma mudança na relação do sistema imunitário com os microrganismos: por exemplo, certos microrganismos oportunistas podem causar uma inflamação persistente no trato gastrointestinal com consequências negativas para o hospedeiro. Estas mudanças podem ter um papel na carcinogénese. Para além da possibilidade de as alterações no microbioma poderem ter como consequência a formação de um cancro, pode acontecer o reverso: uma alteração do microbioma pode ser consequência das alterações fisiológicas promovidas neste estado de doença. A análise do microbioma de um doente com cancro colorectal, por exemplo, revela uma população microbiológica com vantagens competitivas neste ambiente, dando ênfase à volatilidade do microbioma (Marchesi et al., 2011; Schwabe & Jobin, 2013).

8.1 - Impacto do cancro no microbioma

8.1.1 - Superfície celular

Um dos mecanismos pelos quais o microbioma é alterado pelo cancro é a modificação das superfícies celulares. Todos os microrganismos se ligam às células de uma maneira seletiva, com envolvimento de proteínas da superfície do microrganismos e recetores nas superfícies celulares. Um exemplo é o uso da integrina, uma glicoproteína, pela bactéria *Treponema pallidum* e da glicoproteína CR3 pelo parasita *Leishmania* para a ligação destes microrganismos às células do hospedeiro. Esta relação é seletiva e é possível distinguir as diferentes espécies de modo a não prejudicar a sinergia do microrganismo com o hospedeiro. As células tumorais têm diferentes glicoproteínas na superfície, resultando na inibição da ligação de alguns microrganismos em detrimento da promoção da ligação de outros que não conseguiriam ligar-se numa célula saudável. Estas alterações podem ser causadas por mudanças químicas devido à incompleta síntese dos

carboidratos normalmente presentes ou à ativação de enzimas específicas nas células tumorais. Para além dos recetores, existe outra alteração na superfície das células que pode ter um contributo na alteração do microbioma: a carga elétrica. As diferenças na expressão das células podem causar uma acumulação de carga negativa, e a interação com microrganismos pode ficar alterada com esta mudança (Khan et al, 2012).

8.1.2 – Alterações na relação entre o sistema imunitário e o microbioma

Através dos TLR (Toll-like receptors), o organismo reconhece os microrganismos patogénicos e não patogénicos. Através destes recetores desenvolve-se uma tolerância imunológica que permite a relação simbiótica (Round & Mazmanian, 2009).

Existem vários mecanismos pelos quais pode existir tolerância às bactérias comensais. Na figura 8 encontra-se um dos mecanismos pelos quais os TLR permitem esta tolerância.

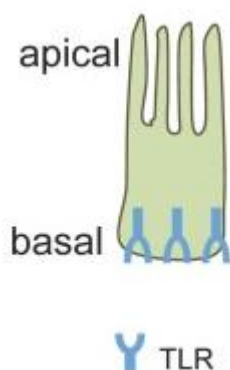


Figura 8 Representação de uma célula do epitélio intestinal. Um dos mecanismos que permite evitar reações inflamatórias contra os microrganismos comensais é o sequestro dos TLR para a base da célula epitelial. Este mecanismo tem como consequência a reação inflamatória apenas quando se dá invasão da célula, não interferindo com os microrganismos na superfície da mucosa. Adaptado de Kubinak & Round (2012).

No cancro, a expressão de TLR aumenta. A título de exemplo, foi demonstrado por Sheyhidin (2011) que o carcinoma esofágico está associado a uma expressão aumentada de TLR3, TLR4, TLR7 e TLR9 e que este aumento está relacionado com a carcinogénese.

Para além do papel na relação entre o hospedeiro e o microrganismo, os TLR também têm um papel na manutenção da homeostasia da mucosa intestinal, atuando na reparação de danos causados por inflamação e reparação de tecidos. Vão ter ação na proliferação de células epiteliais, entre outras,

e é nesta função que o seu potencial carcinogénico surge. Um estado de inflamação crónica vai induzir uma constante reparação do epitélio e pode levar a uma neoplasia no cólon. Para além de os microrganismos não comensais poderem induzir lesões na mucosa que possam levar à formação de uma neoplasia, o reverso também acontece: o cancro também altera o microbioma utilizando os mesmos recetores. Um grande aumento no número de TLR faz com que seja necessário um maior número de fatores simbióticos, que são produzidos pelas bactérias para criar imunotolerância, e esta necessidade torna a imunotolerância mais difícil de obter originando um estado de inflamação crónica. Tanto o efeito na carcinogénese como a alteração no microbioma estão relacionados e podem servir de causa um ao outro (Khan et al, 2012).

8.1.3 - Alterações anatómicas

Quando o tumor está num estado de progressão avançado e forma uma massa sólida, esta massa pode ter características que favoreçam a hipoxia. Numa situação assim, o défice de oxigénio pode criar uma mudança no microbioma estimulando as bactérias anaeróbias. Apesar de fazerem parte da flora, os anaeróbios (por exemplo, *Bacteroides*, *Clostridium* e *Fusobacterium*) quando em quantidade superior à normal podem causar danos ao organismo (Khan, et al., 2012; Vedantam & Hecht, 2003).

8.2 - Microbioma e carcinogénese

Existem certas bactérias que podem direta ou indiretamente ajudar no processo da carcinogénese (Arthur et al., 2012).

A bactéria *Bacteroides fragilis*, comensal no intestino, pode ser toxigénica ou não toxigénica. No primeiro caso, secreta uma toxina, a BFT (*B. fragilis* toxin). Esta toxina é um forte indutor neoplásico no intestino, como foi demonstrado em ratos (Wu et al., 2009).

A *Helicobacter pylori* é uma bactéria patogénica que coloniza o estômago humano. A esta bactéria está associado um efeito negativo no DNA: induz quebras na cadeia, sendo um dos fatores mais relevantes na formação de uma neoplasia gástrica (Toller et al., 2011).

Outro exemplo é a *E. coli* NC101, uma bactéria oportunista que coloniza o intestino após um estado inflamatório e causa danos no material genético através da secreção de uma toxina (Arthur et al, 2012).

Os metabolitos originários da atividade dos microrganismos, nomeadamente os SCFA, também têm um papel importante. Os SCFA têm funções anti-inflamatórias importantes, que vão influenciar a formação de tumores. O butirato isolado ou conjuntamente com o propionato tem capacidade de diminuir a proliferação e induzir apoptose nas células cancerígenas, e a depleção de bactérias produtoras destes SCFA (*Ruminococcus* spp. e *Pseudobutyrvibrio ruminis*, por exemplo) está relacionada a existência de neoplasias (Weir et al., 2013).

Não são só bactérias específicas ou produtos de metabolismo que prejudicam a relação entre o microbioma e o hospedeiro com consequências negativas. Um microbioma em estado de disbiose ou uma falha nos mecanismos de controlo das interações entre o microbioma e o organismo também podem induzir a doença. A falha da barreira entre o microbioma e o epitélio pode levar à proliferação de bactérias patogénicas que numa situação regular seriam impedidas de colonizar o intestino (Schwabe & Jobin, 2013).

Apesar de existirem diversas ligações entre o microbioma humano e o desenvolvimento de cancro, é necessário realizar mais estudos em humanos: muitos destes são realizados em modelos animais. Um estudo mais profundo da relação entre os microrganismos comensais aos humanos e estados patológicos é importante dado o papel que estes podem ter na identificação e no tratamento de certos tumores (Deweerd, 2015).

8.3 Microbioma característico da obesidade e cancro

Existe uma ligação entre outra doença com forte influência do microbioma e o desenvolvimento de tumores. A obesidade é uma das condições mais estudadas no que diz respeito a patologias que influenciem o microbioma, e é também um importante fator que predispõe a carcinogénese. Várias condições subjacentes à obesidade, como a diminuição na diversidade de microrganismos, desequilíbrio hormonal, perturbações metabólicas e inflamação crónica podem promover o aparecimento de tumores e exacerbar o seu crescimento (O'Flanagan, Bowers, & Hursting, 2015).

No carcinoma hepatocelular pode observar-se o papel carcinogénico da atividade do microbioma da obesidade. No MTGI de um hospedeiro obeso existe uma promoção da produção de ácido desoxicólico, um ácido biliar secundário. Estes níveis elevados de ácido desoxicólico, que entram na circulação enterohepática através da veia porta, vão causar uma maior secreção de fatores associados à senescência das células, e têm uma ação promotora de tumores no fígado (Ohtani, 2015).

9 - Doenças inflamatórias intestinais

As doenças inflamatórias intestinais são um grupo de doenças com sintomas como a diarreia e dor abdominal, e caracterizam-se pela presença de uma inflamação crónica. Neste grupo incluem-se a doença de Crohn e a colite ulcerativa, entre outras, sendo no entanto estas duas as mais relevantes e com maior prevalência. Está associada a estas doenças uma resposta desadequada do sistema imunitário da mucosa intestinal, e o microbioma é cada vez mais apontado como um possível fator importante no desenvolvimento e progressão destas doenças (Lee et al., 2015; Sartor & Mazmanian, 2012).

9.1 - Microbioma nas doenças inflamatórias intestinais

A função do microbioma encontra-se perturbada nas doenças inflamatórias intestinais (DII). Um estudo realizado por Morgan et al. (2012) em biópsias intestinais e amostras de fezes revelou que 12% das vias metabólicas se encontra alterada em indivíduos doentes. O metabolismo de carboidratos e a biosíntese de aminoácidos, por exemplo, encontram-se diminuídos.

No MTGI de um doente com DII, é expectável encontrar uma maior abundância de Actinobacteria e Proteobacteria em relação aos controlos saudáveis, e uma diminuição nos Firmicutes (Sartor & Mazmanian, 2012).

A diminuição nos *Firmicutes* produtores de SCFA com consequente nível reduzido destes e a mudança para um ambiente favorável a outros microrganismos (bactérias que beneficiam do estado inflamatório ao obter nutrientes nos tecidos lesados) também são fatores fulcrais nesta doença. O microbioma característico da DII promove a perpetuação da doença ao criar um microbioma promotor da inflamação (Kostic, Xavier, & Gevers, 2014).

9.2 Complicações das doenças inflamatórias intestinais

O microbioma alterado na DII pode trazer complicações tanto sistémicas como locais. Na doença de Crohn, caso as úlceras mucosas quando em contacto com os microrganismos podem surgir complicações como fístulas ou abscessos, ou podem surgir com menos frequência complicações sistémicas, nas quais se incluem sépsis ou endocardite. Para além das complicações causadas pelas bactérias o tratamento de DIIs com imunossupressores (corticosteróides, entre outros) aumentam o

risco de infecções oportunistas. O risco de infecção com *Clostridium difficile* ou infecções virais está bastante aumentado (Sartor & Mazmanian, 2012).

9.3 - Bactérias específicas associadas às doenças inflamatórias intestinais

Existem bactérias que estão associadas à incidência de DII, onde se incluem a *Mycobacterium avium paratuberculosis* (MAP) e a *E. coli* aderente-invasiva (AIEC), uma estirpe da bactéria *E. coli* com a capacidade de colonizar a mucosa na DC devido ao seu poder de aderir e invadir as células do epitélio (Matsuoka & Kanai, 2015).

A bactéria MAP não tem uma relação causal definida. Existe uma associação desta à DC, como comprovado por Feller et al. (2007), em que foi demonstrada uma maior quantidade de anticorpos contra a MAP em indivíduos doentes. Contudo, um trabalho de investigação que consistiu em administrar três antibióticos específicos para esta bactéria não mostrou resultados positivos em relação aos sintomas da doença. A única relação entre a bactéria e a DC é a sua presença aumentada.

A bactéria AIEC está associada às lesões da mucosa em doentes com DC. Para além de ter poder de aderir às células do epitélio e invadi-las, pode sobreviver e replicar-se dentro de macrófagos. Esta espécie pode encontrar-se no trato gastrointestinal de indivíduos saudáveis, contudo, nesta situação, não adere às células. Outras bactérias estão associadas à DII, como a *Helicobacter* ou *Bacteroides fragilis* enterotoxigénica. No entanto não existe uma identificação concreta do papel destas bactérias na etiologia das DII. (Liang, Sha, & Wu, 2014).

9.4 - Associações genéticas

A existência de mais de 160 loci genéticos associados à DII revela que a predisposição genética é um fator de grande peso na etiologia da doença. Uma grande parte destes loci dizem respeito à relação entre o microbioma do trato gastrointestinal e o hospedeiro. Os genes NOD2, ATG16L e IL23R contribuem para relação com os microrganismos (Major & Spiller, 2014).

O gene NOD2 está associado ao risco de doença de Crohn. Este gene expressa um recetor intracelular de um péptido característico da parede celular de bactérias gram positivas. Quando existe uma mutação no NOD2 existe uma maior resposta aos antígenos provenientes de microrganismos com um maior risco de inflamação, podendo criar um problema no balanço entre a comunidade de microrganismos e o sistema imunitário (Liang et al, 2014; Matsuoka & Kanai, 2015).

A mutação do gene ATG16L, importante na indução da autofagia, também está associada à doença de Crohn. A autofagia é um processo em que as bactérias intracelulares ou respetivos componentes são degradados e reciclados através dos autofagossomas, e o gene ATG16L está envolvido na formação destes. A falha neste gene implica uma errada manutenção dos antígenos dentro das células, que pode originar uma deficiente produção de péptidos anti-bacterianos (Matsuoka & Kanai, 2015).

O gene IL23R é essencial na resposta do hospedeiro a antígenos devido ao seu papel na diferenciação dos linfócitos Th17. Defeitos neste gene prejudicam a abordagem do sistema imunitário aos microrganismos (Liang et al, 2014).

Os fatores genéticos têm um papel importante nas DII: a sua presença está associada a uma alteração do microbioma para um que é característica desta patologia. Tendo em conta a influência da genética na aquisição e manutenção do microbioma, pode-se concluir que o genoma do hospedeiro é de grande importância (Matsuoka & Kanai, 2015).

9.5 - Abordagens terapêuticas

9.5.1 - Probióticos e antibióticos

Os probióticos e prebióticos têm a capacidade de promover a homeostase no intestino e influenciar a barreira epitelial ao bloquear o local de ligação das bactérias patogénicas. Para além de influenciar as bactérias presentes no TGI, também influenciam o sistema imunitário do hospedeiro ao estimular as respostas inatas e restabelecer o equilíbrio da produção de citocinas pró-inflamatórias. Este tratamento é promissor nas DII (Liang et al, 2014).

A mistura VSL#3, que contém *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium infantis* e *Streptococcus salivarius* revelou-se promissora no tratamento da colite ulcerativa (Liang et al, 2014).

Dois ensaios clínicos randomizados demonstraram uma remissão elevada em pacientes com colite ulcerativa ativa. Este probiótico pode justificar esta resposta pela sua ação no aumento das células T regulatórias (Matsuoka & Kanai, 2015).

A bactéria Nissle 1917 é uma estirpe não patogénica da espécie *E. coli*, que também revelou a capacidade de manter a remissão da colite ulcerativa. Esta bactéria inibe a produção do mediador inflamatório IL-8 (Matsuoka & Kanai, 2015).

O uso de antibióticos causa uma perturbação na homeostase do microbioma, podendo ser também útil no tratamento de DII. Num estudo de duas semanas com antibioterapia direcionada à bactéria *Fusobacterium varium*, houve uma acentuada redução nas contagens histológicas e endoscópicas após o fim do tratamento (Sartor & Mazmanian, 2012).

9.5.2 - Dieta e prebióticos

A dieta é um fator crucial na composição do microbioma. Quando sujeito a uma intervenção extrema, como a EEN (exclusive enteral nutrition), o microbioma muda substancialmente. Esta dieta, com uma grande alteração na composição de carboidratos, é um método de eleição para obter a remissão da DC (Lee et al., 2015; Wall, Day, & Gearry, 2013).

O uso de prebióticos como a inulina, que atinge o cólon e é utilizada pelas bactérias do intestino por não ser digerida pelas enzimas do hospedeiro, também tem um efeito positivo na doença e causa um aumento do nível de *Bifidobacterium* nas fezes de doentes com doença de Crohn (o aumento desta bactéria reflete uma substituição dos microrganismos patogénicos da doença de Crohn por um microrganismo comensal importante no equilíbrio da mucosa intestinal) (Liang et al., 2014).

É necessário ter em conta que é prejudicial administrar prebióticos em quantidade excessiva, pois a fermentação vai causar gases e diarreia. Os efeitos positivos da alimentação com prebióticos e dos SCFAs que dela resulta vai ajudar na absorção do sódio, no metabolismo dos carboidratos e no controlo dos lípidos, para além de também contribuir no desenvolvimento de linfócitos Treg. A suplementação com inulina causa um aumento na concentração da bactéria *F. prauznitzii*, que tem efeitos anti-inflamatórios. No entanto, na dieta EEN referida previamente, esta bactéria tem uma contagem reduzida, facto do qual se pode retirar a conclusão de que a dieta vai provavelmente influenciar não a composição da flora intestinal mas sim os metabolitos produzidos na digestão. Apesar de ser um campo pouco estudado, começam a surgir mais associações entre a dieta, o microbioma e as DII (Lee et al, 2015).

9.5.3 - Transplante fecal

O transplante fecal de microrganismos consiste em transplantar matéria fecal de um indivíduo saudável para um indivíduo com o microbioma comprometido, e apesar de ser indicado na infeção por *C. difficile* existe a possibilidade de ser utilizado nas DII (Liang et al, 2014).

Uma análise a 18 estudos onde existiu tratamento de indivíduos com DII (79 doentes com colite ulcerativa, 39 doentes com DC e 4 doentes com uma DII não classificada) através de transplante

fecal realizada por Colman & Rubin (2014) permitiu concluir que em 45% dos pacientes estudados existiu uma remissão da doença. A eficácia do tratamento pode-se considerar bastante variável, mas pode ser uma abordagem promissora apesar de ainda precisar de mais investigação. Para além da eficácia também foi analisada a segurança desta técnica, que se mostrou tolerável e segura. Surgiram eventos de febre auto-limitada após o tratamento, que foi atribuída não ao transplante mas sim ao procedimento em si. Este estudo é severamente limitado e não permite tirar conclusões gerais, mas é um primeiro passo numa técnica que começa a ganhar espaço nas abordagens terapêuticas de DII.

Para realizar um transplante fecal, é necessário ter em conta fatores como a seleção do doador e a forma de administração do transplante. O transplante é normalmente feito a partir de membros da família do doente ou de doadores voluntários. Ainda não existe uma ligação entre a eficácia de um doador que seja parente do doente. O doador tem de ser analisado (sangue e fezes) para verificar a existência de possíveis agentes patogénicos. O transplante é seguidamente administrado via uma suspensão em soro fisiológico (veículo mais comum, apesar de existirem outros). A administração pode ser feita por sonda nasogástrica, colonoscopia, endoscopia, entre outros. A via de administração vai depender do tipo de DII (Liang et al, 2014).

9.5.4 - Utilização de parasitas

Um trabalho de investigação conduzido por Garg et al. (2014) abordou a utilização de parasitas como tratamento das doenças inflamatórias intestinais. Os helmintas são parasitas com um ciclo de vida complexo dentro do intestino do ser humano. A infeção crónica causada pela presença destes é usualmente assintomática, devido à sua modulação do sistema imunitário. Esta modulação levanta a hipótese de o parasita ter um efeito imunossupressor noutras doenças, onde se incluem as DII. Contudo, não foi possível tirar conclusões em relação à segurança e eficácia desta abordagem. O uso de *Trichuris suis* neste estudo revelou remissão numa pequena percentagem de doentes mas é necessário encarar esta possibilidade com estudos mais específicos e alargados.

Apesar da relação entre o microbioma e as DII sugerir que é possível uma abordagem terapêutica orientada para a manipulação dos microrganismos a relação causal não está definitivamente estabelecida. É necessário indentificar o mecanismo pelo qual o microbioma pode desencadear a doença, uma análise mais profunda à resposta terapêutica do microbioma e a identificação da associação entre a composição do microbioma e o risco de desenvolver DII. Existem cada vez mais evidências da ligação, mas falta encontrar o mecanismo que justifique uma relação de causalidade (Kostic et al, 2014).

Conclusão

O microbioma humano revelou-se recentemente um componente do organismo com grande relevância na saúde. As técnicas de análise que existem abriram a possibilidade de realizar uma identificação detalhada e compreensão dos microrganismos pertencentes ao microbioma humano, surgindo a possibilidade de considerar o microbioma um alvo terapêutico importante.

A sua caracterização em locais chave como o trato gastrointestinal, a vagina e a pele e a ligação da disbiose com estados patológicos são o ponto essencial no estudo do microbioma humano.

Estão demonstradas diversas implicações do microbioma para a saúde. A população de microrganismos comensais ao ser humano desempenha papéis importantes na saúde, nas quais se incluem a disponibilização de vias metabólicas que apoiam o arsenal enzimático do hospedeiro tornando a digestão e absorção de nutrientes mais eficiente, a maturação do sistema imunitário e a competição com microrganismos oportunistas impedindo a colonização destes. Em troca o organismo, cujo sistema imunitário se encontra tolerante à presença destes microrganismos, fornece um ambiente ideal ao crescimento destes microrganismos e os nutrientes que estes necessitam.

A alteração do microbioma pode estar diretamente relacionada com a evolução de certas patologias. A obesidade, a diabetes e as doenças inflamatórias intestinais são doenças cuja alteração no microbioma é essencial. Nestas doenças existe um microbioma característico que está implicado nos seus desenvolvimentos. Nas doenças inflamatórias intestinais, a propensão a estas doenças conferida pela genética do hospedeiro aliada a alterações no microbioma também torna esta doença bastante dependente dos microrganismos que ocupam o organismo humano. Na infeção por VIH, a alteração no microbioma causada pela deficiente resposta do sistema imunitário dá origem a alterações nos microrganismos comensais e conseqüentemente pode originar complicações, incluindo, por exemplo, a mais fácil propagação do vírus. No cancro, a alteração de certos microrganismos face a alterações fisiológicas podem causar desequilíbrios que trazem complicações à doença, e os próprios microrganismos presentes podem ser fatores indutores de determinadas neoplasias.

A investigação das implicações biomédicas do microbioma humano torna possível a sua abordagem como alvo terapêutico. O uso de probióticos e prebióticos é útil em diversas patologias, como exemplo, no alívio de sintomas característicos da infeção por VIH causados por desequilíbrios ao nível do trato gastrointestinal. A antibioterapia direcionada a microrganismos específicos permite a eliminação de microrganismos oportunistas e reocupação dos microrganismos benevolentes. O

estudo do microbioma humano abriu inclusive a hipótese de formular novos fármacos direcionados a recetores do hospedeiro dependentes da atividade deste (onde se incluem os recetores Gpr41 e Gpr43).

Contudo, aliado ao estudo aprofundado do microbioma ser recente, surge a realidade de que é necessário realizar mais investigação e perceber melhor como o microbioma pode influenciar a saúde. Muitos estudos sobre o microbioma são realizados em ratos ou em populações reduzidas, faltando estudos alargados e que permitam criar relações mais definitivas entre o microbioma e as suas implicações biomédicas.

É possível concluir que num futuro recente, dado o rápido crescimento do conhecimento acerca deste tema, o microbioma humano pode tornar-se um alvo terapêutico para a resolução de diversos problemas de saúde.

Bibliografia

- Aguirre de Cárcer, D., Cuív, P. O., Wang, T., Kang, S., Worthley, D., Whitehall, V., ... Morrison, M. (2011). Numerical ecology validates a biogeographical distribution and gender-based effect on mucosa-associated bacteria along the human colon. *The ISME Journal*, 5(5), 801–9. <http://doi.org/10.1038/ismej.2010.177>
- Anderson, D., Politch, J. a., & Pudney, J. (2011). VIH Infection and Immune Defense of the Penis. *American Journal of Reproductive Immunology*, 65(3), 220–229. <http://doi.org/10.1111/j.1600-0897.2010.00941.x>
- Arthur, J. C., Perez-Chanona, E., Muhlbauer, M., Tomkovich, S., Uronis, J. M., Fan, T.-J., ... Jobin, C. (2012). Intestinal Inflammation Targets Cancer-Inducing Activity of the Microbiota. *Science*, 338(6103), 120–123. <http://doi.org/10.1126/science.1224820>
- Atashili, J., Poole, C., Ndumbe, P. M., Adimora, A. a, & Smith, J. S. (2008). Bacterial vaginosis and VIH acquisition: a meta-analysis of published studies. *AIDS (London, England)*, 22(12), 1493–501. <http://doi.org/10.1097/QAD.0b013e3283021a37>
- Bäckhed, F., Ding, H., Wang, T., Hooper, L. V, Koh, G. Y., Nagy, A., ... Gordon, J. I. (2004). The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(44), 15718–15723. <http://doi.org/10.1073/pnas.0407076101>
- Baddini Feitoza, A., Fernandes Pereira, A., Ferreira da Costa, N., & Gonçalves Ribeiro, B. (2009). Conjugated linoleic acid (CLA): effect modulation of body composition and lipid profile. *Nutrición Hospitalaria : Organo Oficial de La Sociedad Española de Nutrición Parenteral Y Enteral*, 24(4), 422–8. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19721921>
- Balagopal, A., Philp, F. H., Astemborski, J., Block, T. M., Mehta, A., Long, R., ... Ray, S. C. (2008). Human immunodeficiency virus-related microbial translocation and progression of hepatitis C. *Gastroenterology*, 135(1), 226–33. <http://doi.org/10.1053/j.gastro.2008.03.022>
- Bengmark, S. (2013). Gut microbiota, immune development and function. *Pharmacological Research*, 69(1), 87–113. <http://doi.org/10.1016/j.phrs.2012.09.002>
- Brown, C. T., Davis-Richardson, A. G., Giongo, A., Gano, K. A., Crabb, D. B., Mukherjee, N., ... Triplett, E. W. (2011). Gut Microbiome Metagenomics Analysis Suggests a Functional Model for the Development of Autoimmunity for Type 1 Diabetes. *PLoS ONE*, 6(10), e25792. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0025792>
- Caballero, S., & Pamer, E. G. (2014). Microbiota-Mediated Inflammation and Antimicrobial Defense in the Intestine. *Annual Review of Immunology*, 33(1), 150112145816002. <http://doi.org/10.1146/annurev-immunol-032713-120238>
- Cani, P. D., Knauf, C., Iglesias, M. a., Drucker, D. J., Delzenne, N. M., & Burcelin, R. (2006). Improvement of glucose tolerance and hepatic insulin sensitivity by oligofructose requires a

- functional glucagon-like peptide 1 receptor. *Diabetes*, 55(5), 1484–1490.
<http://doi.org/10.2337/db05-1360>
- Chen, Y. E., & Tsao, H. (2013). The skin microbiome: Current perspectives and future challenges. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 69(1), 143–155.
<http://doi.org/10.1016/j.jaad.2013.01.016>
- Chen, Z., Guo, L., Zhang, Y., Walzem, R. L., Pendergast, J. S., Printz, R. L., ... Davies, S. S. (2014). Incorporation of therapeutically modified bacteria into Gut microbiota inhibits obesity. *Journal of Clinical Investigation*, 124, 3391–3406. <http://doi.org/10.1172/JCI72517>
- Cohen, C. R., Lingappa, J. R., Baeten, J. M., Ngayo, M. O., Spiegel, C. A., Hong, T., ... Bukusi, E. A. (2012). Bacterial vaginosis associated with increased risk of female-to-male VIH-1 transmission: a prospective cohort analysis among African couples. *PLoS Medicine*, 9(6), e1001251. <http://doi.org/10.1371/journal.pmed.1001251>
- Collado, M. C., Isolauri, E., Laitinen, K., & Salminen, S. (2008). Distinct composition of gut microbiota during pregnancy in overweight and normal-weight women. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 88(4), 894–9. Retrieved from <http://ajcn.nutrition.org/content/88/4/894.abstract>
- Colman, R. J., & Rubin, D. T. (2014). Fecal microbiota transplantation as therapy for inflammatory bowel disease: a systematic review and meta-analysis. *Journal of Crohn's & Colitis*, 8(12), 1569–81. <http://doi.org/10.1016/j.crohns.2014.08.006>
- Consortium, T. H. M. P. (2013). Structure, Function and Diversity of the Healthy Human Microbiome. *Nature*, 486(7402), 207–214. <http://doi.org/10.1038/nature11234>.Structure
- Cornall, L. M., Mathai, M. L., Hryciw, D. H., & McAinch, A. J. (2013). The therapeutic potential of GPR43: a novel role in modulating metabolic health. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 70(24), 4759–4770. <http://doi.org/10.1007/s00018-013-1419-9>
- D’Ettorre, G., Ceccarelli, G., Giustini, N., Serafino, S., Calantone, N., De Girolamo, G., ... Vullo, V. (2015). Probiotics Reduce Inflammation in Antiretroviral Treated, VIH-Infected Individuals: Results of the “Probio-VIH” Clinical Trial. *Plos One*, 10(9), e0137200. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0137200>
- Dave, M., Higgins, P. D., Middha, S., & Rioux, K. P. (2012). The human gut microbiome: Current knowledge, challenges, and future directions. *Translational Research*, 160(4), 246–257. <http://doi.org/10.1016/j.trsl.2012.05.003>
- Davenport, E. R., Mizrahi-Man, O., Michelini, K., Barreiro, L. B., Ober, C., & Gilad, Y. (2014). Seasonal variation in human gut microbiome composition. *PloS One*, 9(3), e90731. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0090731>
- De Kruif, P. (1920). *Microbe Hunters*. Harcourt Brace. Retrieved from <https://books.google.pt/books?id=pH24vLpivRgC>
- Deeks, S. G. (2011). VIH Infection, Inflammation, Immunosenescence, and Aging. *Annual Review of Medicine*, 62, 141–155. <http://doi.org/10.1146/annurev-med-042909-093756>.VIH

- Deweerd, S. (2015). Microbial mystery. *Nature*, 521, S10–11. <http://doi.org/10.1038/521S10a>
- Dunne, J. L., Triplett, E. W., Gevers, D., Xavier, R., Insel, R., Danska, J., & Atkinson, M. a. (2014). The intestinal microbiome in type 1 diabetes. *Clinical and Experimental Immunology*, 177(1), 30–37. <http://doi.org/10.1111/cei.12321>
- Feller, M., Huwiler, K., Stephan, R., Altpeter, E., Shang, A., Furrer, H., ... Egger, M. (2007). *Mycobacterium avium* subspecies paratuberculosis and Crohn's disease: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet Infectious Diseases*, 7(9), 607–613. [http://doi.org/10.1016/S1473-3099\(07\)70211-6](http://doi.org/10.1016/S1473-3099(07)70211-6)
- Galley, J. D., Bailey, M., Kamp Dush, C., Schoppe-Sullivan, S., & Christian, L. M. (2014). Maternal obesity is associated with alterations in the gut microbiome in toddlers. *PloS One*, 9(11), e113026. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0113026>
- Gao, Z., Tseng, C., Pei, Z., & Blaser, M. J. (2007). Molecular analysis of human forearm superficial skin bacterial biota. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104(8), 2927–2932. <http://doi.org/10.1073/pnas.0607077104>
- Garg, S. K., Croft, A. M., & Bager, P. (2014). Helminth therapy (worms) for induction of remission in inflammatory bowel disease. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, 1, CD009400. <http://doi.org/10.1002/14651858.CD009400.pub2>
- Geurts, L., Neyrinck, A. M., Delzenne, N. M., Knauf, C., & Cani, P. D. (2014). Gut microbiota controls adipose tissue expansion, gut barrier and glucose metabolism: novel insights into molecular targets and interventions using prebiotics. *Beneficial Microbes*, 5(1), 3–17. <http://doi.org/10.3920/BM2012.0065>
- Goodrich, J. K., Waters, J. L., Poole, A. C., Sutter, J. L., Koren, O., Blekhman, R., ... Ley, R. E. (2014). Human Genetics Shape the Gut Microbiome. *Cell*, 789–799. <http://doi.org/10.1016/j.cell.2014.09.053>
- Hajela, N., Ramakrishna, B. S., Nair, G. B., Abraham, P., Gopalan, S., & Ganguly, N. K. (2015). Gut microbiome, gut function, and probiotics: Implications for health. *Indian Journal of Gastroenterology*, 34(2), 93–107. <http://doi.org/10.1007/s12664-015-0547-6>
- Hickey, R. J., Zhou, X., Settles, M. L., Erb, J., Malone, K., Hansmann, M. a., ... Forney, J. (2015). Vaginal Microbiota of Adolescent Girls Prior to the Onset of Menarche Resemble Those of Reproductive-Age Women. *mBio*, 6(2), 1–14. <http://doi.org/10.1128/mBio.00097-15>.Editor
- Honda, K., & Littman, D. R. (2012). The Microbiome in Infectious Disease and Inflammation. *Annual Review of Immunology*, 30, 759–795. <http://doi.org/10.1146/annurev-immunol-020711-074937>
- Hou, D., Zhou, X., Zhong, X., Settles, M. L., Herring, J., Wang, L., ... Xu, C. (2013). Microbiota of the seminal fluid from healthy and infertile men. *Fertility and Sterility*, 100(5), 1261–1269.e3. <http://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2013.07.1991>
- Hummelen, R., Chandalucha, J., Butamanya, N. L., Koyama, T. E., Cook, A., Habbema, J. D. F., &

- Reid, G. (2011). Effect of 25 weeks probiotic supplementation on immune function of VIH patients. *Gut Microbes*, 2(2), 80–85. <http://doi.org/10.4161/gmic.2.2.15787>
- Hummelen, R., Fernandes, A. D., Macklaim, J. M., Dickson, R. J., Changalucha, J., Gloor, G. B., & Reid, G. (2010). Deep Sequencing of the Vaginal Microbiota of Women with VIH. *PLoS ONE*, 5(8), e12078. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0012078>
- Hummelen, R., Vos, A. P., Land, B. V., Norren, K. Van, & Reid, G. (2010). Altered Host-Microbe Interaction in VIH: A Target for Intervention with Pro- and Prebiotics. *International Reviews of Immunology*, 29(5), 485–513. <http://doi.org/10.3109/08830185.2010.505310>
- Inoue, D., Tsujimoto, G., & Kimura, I. (2014). Regulation of Energy Homeostasis by GPR41. *Frontiers in Endocrinology*, 5(May), 5–7. <http://doi.org/10.3389/fendo.2014.00081>
- Iwai, S., Huang, D., Fong, S., Jarlsberg, L. G., Worodria, W., Yoo, S., ... Lynch, S. V. (2014). The Lung Microbiome of Ugandan VIH-Infected Pneumonia Patients Is Compositionally and Functionally Distinct from That of San Franciscan Patients. *PLoS ONE*, 9(4), e95726. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0095726>
- Jirillo, E., Caccavo, D., Magrone, T., Piccigallo, E., Amati, L., Lembo, A., ... Gumenscheimer, M. (2002). The role of the liver in the response to LPS: experimental and clinical findings. *Journal of Endotoxin Research*, 8(5), 319–327. <http://doi.org/10.1179/096805102125000641>
- Karlsson, F. H., Tremaroli, V., Nookaew, I., Bergström, G., Behre, C. J., Fagerberg, B., ... Bäckhed, F. (2013). Gut metagenome in European women with normal, impaired and diabetic glucose control. *Nature*, 498, 99–103. <http://doi.org/10.1038/nature12198>
- Khan, A. A., Shrivastava, A., & Khurshid, M. (2012). Normal to cancer microbiome transformation and its implication in cancer diagnosis. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Cancer*, 1826(2), 331–337. <http://doi.org/10.1016/j.bbcan.2012.05.005>
- Khanna, S., & Tosh, P. K. (2014). A clinician's primer on the role of the microbiome in human health and disease. *Mayo Clinic Proceedings*, 89(1), 107–114. <http://doi.org/10.1016/j.mayocp.2013.10.011>
- Kim, S., Kim, J.-H., Park, B. O., & Kwak, Y. S. (2014). Perspectives on the therapeutic potential of short-chain fatty acid receptors. *BMB Reports*, 47(3), 173–8. <http://doi.org/10.5483/BMBRep.2014.47.3.272>
- Kimura, I., Inoue, D., Hirano, K., & Tsujimoto, G. (2014). The SCFA Receptor GPR43 and Energy Metabolism. *Frontiers in Endocrinology*, 5(June), 3–5. <http://doi.org/10.3389/fendo.2014.00085>
- Kinross, J. M., Darzi, A. W., & Nicholson, J. K. (2011). Gut microbiome-host interactions in health and disease. *Genome Medicine*, 3(3), 14. <http://doi.org/10.1186/gm228>
- Knight, R. (2014). SnapShot : The Human Microbiome SnapShot : The Human Microbiome, 1, 1–2.
- Koenig, J. E., Spor, A., Scalfone, N., Fricker, A. D., Stombaugh, J., Knight, R., ... Ley, R. E. (2011). Succession of microbial consortia in the developing infant gut microbiome. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108 Suppl ,

4578–4585. <http://doi.org/10.1073/pnas.1000081107>

- Kostic, A. D., Xavier, R. J., & Gevers, D. (2014). The microbiome in inflammatory bowel disease: Current status and the future ahead. *Gastroenterology*, *146*(6), 1489–1499. <http://doi.org/10.1053/j.gastro.2014.02.009>
- Kubinak, J. L., & Round, J. L. (2012). Toll-like receptors promote mutually beneficial commensal-host interactions. *PLoS Pathogens*, *8*(7), 1. <http://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002785>
- Lee, D., Albenberg, L., Compher, C., Baldassano, R., Piccoli, D., Lewis, J. D., & Wu, G. D. (2015). Diet in the Pathogenesis and Treatment of Inflammatory Bowel Diseases. *Gastroenterology*, *148*(6), 1087–1106. <http://doi.org/10.1053/j.gastro.2015.01.007>
- Ley, R., Turnbaugh, P., Klein, S., & Gordon, J. (2006). Microbial ecology: human gut microbes associated with obesity. *Nature*, *444*(7122), 1022–3. <http://doi.org/10.1038/nature4441021a>
- Liang, J., Sha, S. M., & Wu, K. C. (2014). Role of the intestinal microbiota and fecal transplantation in inflammatory bowel diseases. *Journal of Digestive Diseases*, *15*(12), 641–646. <http://doi.org/10.1111/1751-2980.12211>
- Liu, C. M., Osborne, B. J. W., Hungate, B. a., Shahabi, K., Huibner, S., Lester, R., ... Kaul, R. (2014). The Semen Microbiome and Its Relationship with Local Immunology and Viral Load in VIH Infection. *PLoS Pathogens*, *10*(7). <http://doi.org/10.1371/journal.ppat.1004262>
- Major, G., & Spiller, R. (2014). Irritable bowel syndrome, inflammatory bowel disease and the microbiome. *Current Opinion in Endocrinology & Diabetes and Obesity*, *21*(1), 15–21. <http://doi.org/10.1097/MED.0000000000000032>
- Marchesi, J. R., Dutilh, B. E., Hall, N., Peters, W. H. M., Roelofs, R., Boleij, A., & Tjalsma, H. (2011). Towards the Human Colorectal Cancer Microbiome. *PLoS ONE*, *6*(5), e20447. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0020447>
- Marchetti, G., Tincati, C., & Silvestri, G. (2013). Microbial Translocation in the Pathogenesis of VIH Infection and AIDS. *Clinical Microbiology Reviews*, *26*(1), 2–18. <http://doi.org/10.1128/CMR.00050-12>
- Matsuoka, K., & Kanai, T. (2015). The gut microbiota and inflammatory bowel disease. *Seminars in Immunopathology*, *37*(1), 47–55. <http://doi.org/10.1007/s00281-014-0454-4>
- McHardy, I. H., Li, X., Tong, M., Ruegger, P., Jacobs, J., Borneman, J., ... Braun, J. (2013). VIH Infection is associated with compositional and functional shifts in the rectal mucosal microbiota. *Microbiome*, *1*(1), 26. <http://doi.org/10.1186/2049-2618-1-26>
- Mehta, S. D., Donovan, B., Weber, K. M., Cohen, M., Ravel, J., Gajer, P., ... Spear, G. T. (2015). The Vaginal Microbiota over an 8- to 10-Year Period in a Cohort of VIH-Infected and VIH-Uninfected Women. *Plos One*, *10*(2), e0116894. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0116894>
- Methé, B. a., Nelson, K. E., Pop, M., Creasy, H. H., Giglio, M. G., Huttenhower, C., ... White, O. (2012). A framework for human microbiome research. *Nature*, *486*(7402), 215–221. <http://doi.org/10.1038/nature11209>

- Moran, C. P., & Shanahan, F. (2014). Gut microbiota and obesity: Role in aetiology and potential therapeutic target. *Bailliere's Best Practice and Research in Clinical Gastroenterology*, 28(4), 585–597. <http://doi.org/10.1016/j.bpg.2014.07.005>
- Morgan, X. C., Segata, N., & Huttenhower, C. (2013). Biodiversity and functional genomics in the human microbiome. *Trends in Genetics : TIG*, 29(1), 51–8. <http://doi.org/10.1016/j.tig.2012.09.005>
- Morgan, X. C., Tickle, T. L., Sokol, H., Gevers, D., Devaney, K. L., Ward, D. V., ... Huttenhower, C. (2012). Dysfunction of the intestinal microbiome in inflammatory bowel disease and treatment. *Genome Biology*, 13(9), R79. <http://doi.org/10.1186/gb-2012-13-9-r79>
- Moss, J. A. (2013). *VIH/AIDS Review*, 84(3), 1–25.
- Murri, M., Leiva, I., Gomez-Zumaquero, J. M., Tinahones, F. J., Cardona, F., Soriguer, F., & Queipo-Ortuño, M. I. (2013). Gut microbiota in children with type 1 diabetes differs from that in healthy children: a case-control study. *BMC Medicine*, 11(1), 46. <http://doi.org/10.1186/1741-7015-11-46>
- Musso, G., Gambino, R., & Cassader, M. (2010). Obesity, Diabetes, and Gut Microbiota: The hygiene hypothesis expanded? *Diabetes Care*, 33(10), 2277–2284. <http://doi.org/10.2337/dc10-0556>
- Musso, G., Gambino, R., & Cassader, M. (2011). Interactions between gut microbiota and host metabolism predisposing to obesity and diabetes. *Annual Review of Medicine*, 62, 361–380. <http://doi.org/10.1146/annurev-med-012510-175505>
- O'Flanagan, C. H., Bowers, L. W., & Hursting, S. D. (2015). A weighty problem: metabolic perturbations and the obesity-cancer link. *Hormone Molecular Biology and Clinical Investigation*, 23(2). <http://doi.org/10.1515/hmbci-2015-0022>
- Paiardini, M., & Müller-Trutwin, M. (2013). VIH-associated chronic immune activation. *Immunological Reviews*, 254(1), 78–101. <http://doi.org/10.1111/imr.12079>
- Poretzky, R., Rodriguez-R, L. M., Luo, C., Tsementzi, D., & Konstantinidis, K. T. (2014). Strengths and limitations of 16S rRNA gene amplicon sequencing in revealing temporal microbial community dynamics. *PLoS One*, 9(4), e93827. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0093827>
- Price, L. B., Liu, C. M., Johnson, K. E., Aziz, M., Lau, M. K., Bowers, J., ... Gray, R. H. (2010). The Effects of Circumcision on the Penis Microbiome. *PLoS ONE*, 5(1), e8422. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0008422>
- Ravel, J., Gajer, P., Abdo, Z., Schneider, G. M., Koenig, S. S. K., McCulle, S. L., ... Forney, L. J. (2011). Vaginal microbiome of reproductive-age women. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108 Suppl , 4680–4687. <http://doi.org/10.1073/pnas.1002611107>
- Ray, M., & Ray, S. (2013). Can modification of the gut microbiome with diet affect the onset and pathogenesis of diabetes. *African Journal of Diabetes Medicine*, 21(1), 7–10.
- Round, J. L., & Mazmanian, S. K. (2009). The gut microbiota shapes intestinal immune responses

- during health and disease. *Nature Reviews. Immunology*, 9(5), 313–23.
<http://doi.org/10.1038/nri2515>
- Salas, J. T., & Chang, T. L. (2014). Microbiome in Human Immunodeficiency Virus Infection. *Clinics in Laboratory Medicine*, 34(4), 733–745. <http://doi.org/10.1016/j.cll.2014.08.005>
- Salazar, N., Arboleya, S., Valdés, L., Stanton, C., Ross, P., Ruiz, L., ... de Los Reyes-Gavilán, C. G. (2014). The human intestinal microbiome at extreme ages of life. Dietary intervention as a way to counteract alterations. *Frontiers in Genetics*, 5, 406.
<http://doi.org/10.3389/fgene.2014.00406>
- Samuel, B. S., Shaito, A., Motoike, T., Rey, F. E., Backhed, F., Manchester, J. K., ... Gordon, J. I. (2008). Effects of the gut microbiota on host adiposity are modulated by the short-chain fatty-acid binding G protein-coupled receptor, Gpr41. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(43), 16767–16772.
<http://doi.org/10.1073/pnas.0808567105>
- Sanford, J. a., & Gallo, R. L. (2013). Functions of the skin microbiota in health and disease. *Seminars in Immunology*, 25(5), 370–377. <http://doi.org/10.1016/j.smim.2013.09.005>
- Santacruz, A., Marcos, A., Wärnberg, J., Martí, A., Martín-Matillas, M., Campoy, C., ... Sanz, Y. (2009). Interplay between weight loss and gut microbiota composition in overweight adolescents. *Obesity (Silver Spring, Md.)*, 17(10), 1906–1915.
<http://doi.org/10.1038/oby.2009.112>
- Santos, A. L. S., & Braga-Silva, L. a. (2013). Aspartic protease inhibitors: effective drugs against the human fungal pathogen *Candida albicans*. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*, 13(1), 155–62. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23256485>
- Sartor, R. B., & Mazmanian, S. K. (2012). Intestinal Microbes in Inflammatory Bowel Diseases. *The American Journal of Gastroenterology Supplements*, 1(1), 15–21.
<http://doi.org/10.1038/ajgsup.2012.4>
- Saxena, D., Li, Y., Yang, L., Pei, Z., Poles, M., Abrams, W. R., & Malamud, D. (2012). Human Microbiome and VIH/AIDS. *Current VIH/AIDS Reports*, 9(1), 44–51.
<http://doi.org/10.1007/s11904-011-0103-7>
- Schommer, N. N., & Gallo, R. L. (2013). Structure and function of the human skin microbiome. *Trends in Microbiology*, 21(12), 660–668. <http://doi.org/10.1016/j.tim.2013.10.001>
- Schwabe, R. F., & Jobin, C. (2013). The microbiome and cancer. *Nature Reviews. Cancer*, 13(11), 800–12. <http://doi.org/10.1038/nrc3610>
- Sharpton, T. J. (2014). An introduction to the analysis of shotgun metagenomic data. *Frontiers in Plant Science*, 5(June), 209. <http://doi.org/10.3389/fpls.2014.00209>
- Sheyhidin, I. (2011). Overexpression of TLR3, TLR4, TLR7 and TLR9 in esophageal squamous cell carcinoma. *World Journal of Gastroenterology*, 17(32), 3745.
<http://doi.org/10.3748/wjg.v17.i32.3745>

- Silva-Boghossian, C., Castro, G. F., Teles, R. P., De Souza, I. P. R., & Colombo, A. P. V. (2008). Salivary microbiota of VIH-positive children and its correlation with VIH status, oral diseases, and total secretory IgA. *International Journal of Paediatric Dentistry*, *18*(3), 205–216. <http://doi.org/10.1111/j.1365-263X.2007.00864.x>
- Sweeney, T. E., & Morton, J. M. (2013). The Human Gut Microbiome: A Review of the Effect of Obesity and Surgically Induced Weight Loss. *American Medical Association*, *148*(6), 1–7. <http://doi.org/10.1001/jamasurg.2013.5>
- Tehrani, A. B., Nezami, B. G., Gewirtz, A., & Srinivasan, S. (2012). Obesity and its associated disease: a role for microbiota? *Neurogastroenterology and Motility : The Official Journal of the European Gastrointestinal Motility Society*, *24*(4), 305–11. <http://doi.org/10.1111/j.1365-2982.2012.01895.x>
- Tilg, H., Moschen, A. R., & Kaser, A. (2009). Obesity and the Microbiota. *Gastroenterology*, *136*(5), 1476–1483. <http://doi.org/10.1053/j.gastro.2009.03.030>
- Toller, I. M., Neelsen, K. J., Steger, M., Hartung, M. L., Hottiger, M. O., Stucki, M., ... Müller, A. (2011). Carcinogenic bacterial pathogen *Helicobacter pylori* triggers DNA double-strand breaks and a DNA damage response in its host cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *108*(36), 14944–9. <http://doi.org/10.1073/pnas.1100959108>
- Turnbaugh, P. J., & Gordon, J. I. (2009). The core gut microbiome, energy balance and obesity. *The Journal of Physiology*, *587*(17), 4153–4158. <http://doi.org/10.1113/jphysiol.2009.174136>
- Ursell, L. K., Clemente, J. C., Rideout, J. R., Gevers, D., Caporaso, J. G., & Knight, R. (2012). The interpersonal and intrapersonal diversity of human-associated microbiota in key body sites. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, *129*(5), 1204–1208. <http://doi.org/10.1016/j.jaci.2012.03.010>
- Ursell, L. K., Metcalf, J. L., Parfrey, L. W., & Knight, R. (2012). Defining the human microbiome. *Nutrition Reviews*. <http://doi.org/10.1111/j.1753-4887.2012.00493.x>
- Vedantam, G., & Hecht, D. W. (2003). Antibiotics and anaerobes of gut origin. *Current Opinion in Microbiology*, *6*(5), 457–61. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14572537>
- Voreades, N., Kozil, A., & Weir, T. L. (2014). Diet and the development of the human intestinal microbiome. *Frontiers in Microbiology*, *5*, 494. <http://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00494>
- Vrieze, A., Van Nood, E., Holleman, F., Salojärvi, J., Kootte, R. S., Bartelsman, J. F. W. M., ... Nieuwdorp, M. (2012). Transfer of Intestinal Microbiota From Lean Donors Increases Insulin Sensitivity in Individuals With Metabolic Syndrome. *Gastroenterology*, *143*(4), 913–916.e7. <http://doi.org/10.1053/j.gastro.2012.06.031>
- Wall, C. L., Day, A. S., & Geary, R. B. (2013). Use of exclusive enteral nutrition in adults with Crohn's disease: A review. *World Journal of Gastroenterology*, *19*(43), 7652–7660. <http://doi.org/10.3748/wjg.v19.i43.7652>
- Walther-Antônio, M. R. S., Jeraldo, P., Berg Miller, M. E., Yeoman, C. J., Nelson, K. E., Wilson, B.

- a., ... Creedon, D. J. (2014). Pregnancy's Stronghold on the Vaginal Microbiome. *PLoS ONE*, 9(6), e98514. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0098514>
- Wang, Z., MacLeod, D., & Di Nardo, A. (2013). Commensal-bacteria LTA increases Skin Mast cell antimicrobial activity against Vaccinia viruses, *I8(9)*, 1199–1216. <http://doi.org/10.4049/jimmunol.1200471>.Commensal-bacteria
- Weir, T. L., Manter, D. K., Sheflin, A. M., Barnett, B. A., Heuberger, A. L., & Ryan, E. P. (2013). Stool Microbiome and Metabolome Differences between Colorectal Cancer Patients and Healthy Adults. *PLoS ONE*, 8(8), e70803. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0070803>
- Wen, L., Ley, R. E., Volchkov, P. Y., Stranges, P. B., Avanesyan, L., Stonebraker, A. C., ... Chervonsky, A. V. (2008). Innate immunity and intestinal microbiota in the development of Type 1 diabetes. *Nature*, 455(7216), 1109–1113. <http://doi.org/10.1038/nature07336>
- Witkin, S. (2015). The vaginal microbiome, vaginal anti-microbial defence mechanisms and the clinical challenge of reducing infection-related preterm birth. *BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology*, 122(2), 213–218. <http://doi.org/10.1111/1471-0528.13115>
- Wu, S., Rhee, K.-J., Albesiano, E., Rabizadeh, S., Wu, X., Yen, H.-R., ... Sears, C. L. (2009). A human colonic commensal promotes colon tumorigenesis via activation of T helper type 17 T cell responses. *Nature Medicine*, 15(9), 1016–1022. <http://doi.org/10.1038/nm.2015>
- Yatsunenکو, T., Rey, F. E., Manary, M. J., Trehan, I., Dominguez-Bello, M. G., Contreras, M., ... Gordon, J. I. (2012). Human gut microbiome viewed across age and geography. *Nature*, (Ivic). <http://doi.org/10.1038/nature11053>
- Yurist-Doutsch, S., Arrieta, M.-C., Vogt, S. L., & Finlay, B. B. (2014). Gastrointestinal Microbiota–Mediated Control of Enteric Pathogens. *Annual Review of Genetics*, 48, 361–382. <http://doi.org/10.1146/annurev-genet-120213-092421>
- Zak-Gołęb, A., Olszanecka-Glinianowicz, M., Kocełak, P., & Chudek, J. (2014). The role of gut microbiota in the pathogenesis of obesity. *Postępy Higieny I Medycyny Doświadczalnej (Online)*, 68, 84–90. <http://doi.org/10.5604/17322693.1086419>