



INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

**MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS
FARMACÊUTICAS**

**O PAPEL DO MICROBIOMA NO DESENVOLVIMENTO DE
DOENÇAS**

Trabalho submetido por
Ana Margarida Santos
para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

novembro de 2021



INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

**MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS
FARMACÊUTICAS**

**O PAPEL DO MICROBIOMA NO DESENVOLVIMENTO DE
DOENÇAS**

Trabalho submetido por
Ana Margarida Santos
para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Trabalho orientado por
Profª Doutora Helena Barroso

novembro de 2021

“É ótimo celebrar o sucesso, mas mais importante ainda é assimilar as lições trazidas pelos erros que cometemos.”

Bill Gates

Agradecimentos

Em primeiro lugar, gostaria de agradecer ao Instituto Universitário Egas Moniz, por me ter acolhido durante estes 5 anos. Foi como uma segunda casa, na qual cresci muito, me superei e retirei grandes memórias.

À minha orientadora, Prof^a. Doutora Helena Barroso, agradeço por ter aceitado ser minha orientadora, pela disponibilidade e dedicação ao longo da realização desta monografia, assim como pelo profissionalismo demonstrado durante estes 5 anos de curso.

Aos meus eternos amigos e companheiros de curso. Carolina, Camila, José, Gonçalo, Patrícia e Madalena, agradeço-vos por todos os bons e maus momentos que passámos juntos ao longo destes anos, por cada brincadeira, cada gargalhada, por cada hora de estudo, cada desespero e crise existencial. Obrigada por terem sido tão incríveis, por nos termos mantido sempre juntos, nos apoiarmos até ao fim e não permitir-mos que nenhum de nós desistisse. Sem dúvida que estou muito orgulhosa de todos e por completarmos este curso, exatamente como começámos, juntos.

Aos meus amigos, obrigada por toda a força, coragem, por fazerem parte deste percurso e pela compreensão das minhas ausências justificadas pelo estudo.

À minha Manana, por todo o amor incondicional em todos os momentos e decisões, companheirismo, paciência e motivação. Obrigada do fundo do coração por estares sempre presente e por me fazeres acreditar que sou capaz. O teu apoio foi e será sempre fundamental para mim.

À minha irmã Vanessa, ao meu sobrinho Santiago, mas em especial aos meus pais, sem os quais nada disto teria sido possível. Obrigada, do fundo do coração, por tudo aquilo que fazem e continuam a fazer por mim, por serem os melhores pais do mundo, por acreditarem em mim e não me deixarem desistir.

Aos restantes familiares, por terem sempre um gesto de carinho e uma palavra de incentivo.

Por fim, agradeço a todos os colegas e professores com quem tive o prazer de me cruzar ao longo deste percurso académico.

Obrigada a todos por estes 5 anos, foram absolutamente únicos e incríveis.

Resumo

O corpo humano tem sido referido como um superorganismo. Este é colonizado por trilhões de microrganismos, dos quais fazem parte várias espécies de bactérias, vírus, fungos e protozoários. O microbioma desenvolve-se desde o nascimento até às diversas fases da vida adulta, pelo que se considera o seu desenvolvimento um processo dinâmico, uma vez que este varia ao longo da vida, coexistindo com o seu hospedeiro e sendo parte ativa de diversos processos biológicos no nosso organismo.

Ocorre variação interpessoal e intrapessoal, isto é, este é diferente tanto de pessoa para pessoa, como nos diferentes locais anatómicos de cada pessoa, pelo que se considera que cada ser humano possui um microbioma único. Ao contrário do que acontece com o genoma humano, o microbioma apresenta alguma volatilidade, isto é, pode sofrer grandes alterações nos microrganismos presentes no hospedeiro, devido a diversos fatores, nomeadamente dieta, idade, fatores genéticos e geográficos e administração de antibióticos.

O trato gastrointestinal, mais precisamente o intestino, apresenta-se como o local do organismo humano que alberga o maior número e diversidade de microrganismos, exercendo uma maior influência sobre os mecanismos homeostáticos humanos. Desta forma, alterações que resultem num desequilíbrio hemostático na constituição do microbioma, poderão resultar em problemas para o hospedeiro, nomeadamente o desenvolvimento ou agravamento de diversas doenças, como diabetes *mellitus*, obesidade, doenças cardiovasculares, doenças neurodegenerativas e doenças metabólicas.

Ainda assim, as consequências resultantes destas disbioses podem ser reduzidas através da restauração ou modulação do microbioma, isto é, restabelecimento de um microbioma mais diverso e saudável, o que poderá ser alcançado através de bactérias que causam efeito benéfico (probióticos), por componentes da dieta (prebióticos), pela junção de ambos (simbióticos) ou ainda pelo método do transplante de microbioma fecal.

Palavras-chave: Microbioma humano; Microbioma gastrointestinal; desenvolvimento do microbioma; doença; saúde; dieta; terapêutica; probióticos; prebióticos; transplante microbiano fecal; antibióticos

Abstract

The human body has been referred to as a superorganism. It is colonized by trillions of microorganisms, which include several species of bacteria, viruses, fungi, and eukarya. The microbiome develops from birth to the various stages of adult life, being considered as a dynamic process, since it varies throughout life, coexisting with its host and being an active part of various biological processes in our body.

Interpersonal and intrapersonal variation occurs, i.e, it is different not only from person to person but also it is different anatomical locations of each person, therefore is considered that each human being has a unique microbiome. Unlike what happens with the human genome, the microbiome presents some volatility, that can undergo major changes in the microorganisms present in the host, due to several factors, including diet, age, genetic and geographic factors, and antibiotic administration.

The gastrointestinal tract, more precisely the intestine, presents itself as the place of the human organism that provides the highest number and diversity of microorganisms, exerting a higher influence on human homeostatic mechanisms. Thus, changes that result in a hemostatic imbalance in the constitution of the microbiome might result in problems for the host, namely the development or aggravation of various diseases, such as diabetes mellitus, obesity, cardiovascular diseases, neurodegenerative diseases, and metabolic diseases.

Nevertheless, the consequences resulting from these dysbioses can be reduced through the restoration or modulation of the microbiome, in other words, the reestablishment of a more diverse and healthier microbiome, which can be achieved through bacteria that cause a beneficial effect (probiotics), by components of the diet (prebiotics), by the combination of both (symbiotics), or even by the fecal microbiome transplantation method.

Keywords: Human microbiome; Gastrointestinal microbiome; Microbiome development; Illness; Health; Diet; Therapy; Probiotics; Prebiotics; Fecal microbial transplantation; Antibiotics.

Índice Geral

Índice de Figuras.....	5
Índice de Tabelas	6
Lista de Abreviaturas e Siglas	7
1. Introdução	9
2. Microbioma Humano.....	11
3. Projeto do Microbioma Humano (HMP- Human Microbiome Project).....	15
4. Funções do microbioma.....	19
5. Evolução do Microbioma ao longo da vida.....	21
6. Tipos de Microbioma.....	25
6.1. Microbioma intestinal	25
6.2. Microbioma oral.....	29
6.3. Microbioma da pele	33
6.4. Microbioma pulmonar.....	34
6.5. Microbioma do trato urogenital	35
7. Fatores que afetam a composição do Microbioma Humano	37
7.1. Dieta.....	37
7.1.1. Proteína na dieta	39
7.1.2. Gordura na dieta	40
7.1.3. Açúcares na dieta.....	41
7.2 Idade.....	43
7.3. Genética do Hospedeiro	43
7.4. Fatores Geográficos	43
7.5. Estilo de vida.....	44
7.6. Antibióticos.....	44
8. Relação do Microbioma com doença	47
8.1. Cárie Dentária e Periodontite.....	48

8.2. Síndrome do intestino irritável e Doença inflamatória intestinal	51
8.3. Doença hepática	52
8.4. Obesidade e Aterosclerose	52
8.5. Diabetes.....	53
8.6. Doenças na infância	55
8.7. Cancro	56
8.8. Doenças neurológicas e psiquiátricas	57
8.8.1. Doença de Alzheimer	59
8.8.2. Autismo	61
8.9. COVID-19.....	61
9. O Microbioma como um Alvo Terapêutico.....	65
9.1. Probióticos	65
9.2. Prebióticos.....	67
9.3. Transplante Bacteriano Fecal.....	68
9.4. Antibióticos	69
9.5. Outras terapêuticas em estudo.....	69
10. Conclusão e Perspetivas futuras	71
11. Referências Bibliográficas	73

Índice de Figuras

Figura 1: Composição do microbioma humano: variabilidade de acordo com a localização

Figura 2: Mapa ilustrativo da caracterização do microbioma nos vários locais anatómicos

Figura 3: Principais grupos taxonómicos do microbioma do trato gastrointestinal e o respetivo nível de Domínio/Reino

Figura 4: Eventos no início de vida e desenvolvimento do microbioma intestinal infantil

Figura 5: Desenvolvimento do microbioma oral na 1ª infância

Figura 6: Impacto da dieta no microbioma intestinal e na saúde humana

Figura 7: Impacto da dieta no microbioma intestinal e no metabolismo do hospedeiro

Figura 8: Impacto da proteína da dieta no microbioma intestinal e resultados na saúde

Figura 9: Impacto de gorduras da dieta no microbioma intestinal e no metabolismo do hospedeiro

Figura 10: Efeito da disbiose intestinal causada pela administração de antibióticos

Figura 11: Algumas características taxonómicas e funcionais microbianas intestinais relacionadas com distúrbios metabólicos comuns

Figura 12: As 5 vias de comunicação possíveis do sistema de comunicação intestino-cérebro

Figura 13: Microbiota intestinal e comensais específicos como potenciais agentes preventivos ou terapêuticos

Índice de Tabelas

Tabela 1: Efeitos da proteína da dieta no microbioma intestinal

Tabela 2: Efeitos dos açúcares naturais e artificiais da dieta no microbioma intestinal

Tabela 3: Efeitos dos carboidratos não digeríveis no microbioma intestinal

Tabela 4: Impacto de diferentes classes de antibióticos no microbioma intestinal e na imunidade do hospedeiro

Tabela 5: Espécies bacterianas relacionadas com o aparecimento de resistência à insulina e Diabetes *mellitus* tipo 2

Tabela 6: Implicações do microbioma oral em doenças infantis

Lista de Abreviaturas e Siglas

- AAA:** Aminoácido aromático
- BCAA:** Aminoácido de cadeia ramificada
- BMAA:** β -N-metilamino-L-alanina
- BSH:** Enzima hidrólase de sais biliares
- CRC:** Cancro colorretal
- CU:** Colite Ulcerosa
- CVD:** Doença cardiovascular
- DA:** Doença de Alzheimer
- DC:** Doença de Crohn
- DII:** Doença inflamatória intestinal
- DMT1:** Diabetes *Mellitus* tipo 1
- DMT2:** Diabetes *Mellitus* tipo 2
- DNA:** Ácido desoxirribonucleico
- DPOC:** Doença pulmonar obstrutiva crónica
- EBV:** Vírus Epstein-Barr
- EUA:** Estados Unidos da América
- FMT:** Transplante de microbioma fecal
- FOS:** frutooligossacaridos
- G-CSF:** Fator estimulador de colónias de granulócitos
- GOS:** galactooligossacaridos
- HCMV:** Citomegalovírus humano
- HDL:** Lipoproteína de elevada densidade
- HGC:** Alta contagem de genes
- HIV:** Vírus imunodeficiência humana
- HMP:** Projeto do Microbioma Humano
- HSV:** Vírus do herpes simplex
- IgA:** Imunoglobulina G
- IgG:** Imunoglobulina G
- IL:** Interleucina
- LDL:** Lipoproteínas de baixa densidade
- LGC:** Baixa contagem de genes
- LPS:** Lipopolissacarídeo

NIH: Instituto Nacional de Saúde
NMDA: Glutamato N-metil -D-aspartato
pH: Potencial de hidrogénio
SCFAs: Ácidos gordos de cadeia curta
SII: Síndrome do intestino irritável
SNC: Sistema nervoso central
TEA: Transtorno do espectro de autismo
TLR: Recetores do tipo Toll
TMA: Trimetilamina
TMAO: N-óxido de trimetilamina
TM7: Saccharibacteria
TNF: Fator de necrose tumoral
Treg: Linfócito T regulador
UCI: Unidade de cuidados intensivos
5-HT: Serotonina

1. Introdução

O corpo humano tem sido referido como um superorganismo (Dominguez-Bello, Godoy-Vitorino, Knight, & Blaser, 2019), constituído pelas suas próprias células como também por células microbianas. O número de microrganismos que residem no corpo humano é cerca de dez vezes superior ao número de células do próprio corpo (Zhang et al., 2018), o que significa que cada indivíduo apresenta entre 10 a 100 biliões de células microbianas que estabelecem uma relação de simbiose com o hospedeiro (Salvucci, 2019).

O corpo humano apresenta-se colonizado por triliões de microrganismos que podem incluir várias espécies diferentes de fungos, vírus, bactérias e protozoários, isoláveis ou não em cultura (Ruan, Engevik, Spinler, & Versalovic, 2020; Salvucci, 2019). Desta forma, o conjunto destes microrganismos com os seus genes, constitui uma dinâmica comunidade microbiana que se encontra presente em diversas áreas do organismo, desempenhando um papel fundamental no crescimento, desenvolvimento, saúde geral, bem-estar e doença do seu hospedeiro (Cresci & Bawden, 2015).

O termo microbioma define-se como a comunidade de microrganismos existentes numa certa parte anatómica do corpo humano (cavidade oral, pele, intestino, pulmões, etc.), designados pela análise qualitativa dos genes e/ou genoma existentes (Salvucci, 2019).

Determinados autores, consideram o termo microbioma sinónimo de microbiota, todavia outros estimam que este último se atribui aos microrganismos pertencentes ao nosso organismo que são isoláveis em cultura e que não integra a sua análise genética (Salvucci, 2019).

A grande maioria destes microrganismos (>99%) encontra-se localizada nos segmentos distais do Trato Gastrointestinal (Barko, McMichael, Swanson, & Williams, 2018). Estes formam complexas redes de interação bioquímica entre si e com o hospedeiro, pelo que se torna essencial a presença de um equilíbrio dinâmico do microbioma intestinal para a fisiologia normal do hospedeiro (Shkoporov & Hill, 2019).

Os microrganismos que juntos constituem o microbioma humano podem coexistir em relações de mutualismo, quando a sua interação com o hospedeiro é benéfica, não sendo condição obrigatória viverem juntos para a sobrevivência de ambos, ou em relações de comensalismo, quando não são identificados benefícios nem prejuízos para nenhum

deles e por essa razão a sua interação é, aparentemente, considerada neutra (Meisel & Grice, 2017).

Ao contrário do que sucede com o genoma humano, que raramente é influenciado por fatores externos, o microbioma humano é caracterizado por ter alguma volatilidade, isto é, podem ocorrer grandes alterações nos microrganismos presentes no hospedeiro devido a uma grande diversidade de fatores (Gomaa, 2020), o que poderá levar ao aparecimento de algumas doenças.

No entanto, existem ainda fatores que permitem uma vida mais saudável, dificultando o desenvolvimento e prevalência de diversas doenças, dos quais se destaca o uso de prebióticos e probióticos, a dieta mediterrânea e ainda o transplante bacteriano fecal (Honda & Littman, 2016).

Desta forma, esta dissertação tem como objetivo apresentar uma visão geral da relação estabelecida entre o microbioma e várias doenças resultantes de alterações a nível da composição do microbioma humano.

Para a realização da mesma foram utilizados artigos publicados e disponíveis em várias bases de dados, nomeadamente Pubmed, Cochrane, Library, Science Direct e B-ON. O critério de seleção dos artigos, obedece ao limite temporal, no qual são principalmente considerados os artigos publicados nos últimos 5 anos.

2. Microbioma Humano

O desenvolvimento do microbioma humano tem início no nascimento e prevalece até às inúmeras fases da vida adulta, promovendo comunidades bacterianas estáveis (Ruan et al., 2020).

Considera-se assim, o desenvolvimento do mesmo um processo dinâmico, uma vez que este varia ao longo da vida, coexistindo com o seu hospedeiro, sendo parte ativa de diversos processos biológicos no organismo humano (Khanna & Tosh, 2014). Este envolvimento do microbioma em diversas funções no nosso organismo faz com que este seja essencial na manutenção do equilíbrio hemostático, e por essa razão, o seu comprometimento pode resultar em problemas para o hospedeiro, como por exemplo o desenvolvimento de doenças (Khanna & Tosh, 2014).

Nos humanos considerados saudáveis, parte dos microrganismos que colonizam o corpo humano não provoca doenças, contudo acarretam importantes funções para o hospedeiro, como por exemplo, induzir a produção de vitaminas, favorecer a digestão de alimentos, assim como proteger o hospedeiro de microrganismos patogénicos (Dominguez-Bello et al., 2019).

Desta forma, constata-se que atualmente o microbioma humano assume uma grande importância no nosso organismo, devido ao seu reconhecido impacto na fisiologia, nomeadamente no sistema imunitário, absorção de nutrientes e metabolismo (Ogunrinola, Oyewale, Oshamika, & Olasehinde, 2020).

Apesar de alguns indivíduos compartilharem mais de 99% do genoma humano, existem entre 70 a 90% de diferenças no microbioma. Ocorre variação intrapessoal e interpessoal, isto é, este é diferente tanto de pessoa para pessoa, como nos diferentes locais anatómicos de cada pessoa, pelo que cada ser humano contém um microbioma único (Meisel & Grice, 2017). Tem-se conhecimento que os microrganismos existentes na pele de um indivíduo são diferentes dos microrganismos que existem no cólon do mesmo indivíduo (figura 1). Por outro lado, sabe-se ainda que, a diversificação de microrganismos que ocorre de pessoa para pessoa é bastante significativa (Peñalver Bernabé, Cralle, & Gilbert, 2018).

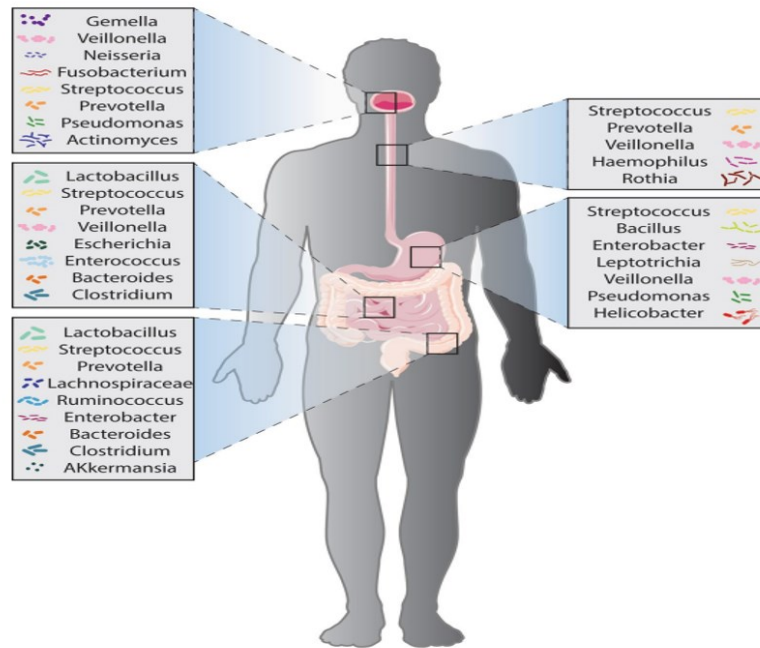


Figura 1: Composição do microbioma humano: variabilidade de acordo com a localização (Adaptado de Ruan et al., 2020).

Geralmente, este é estável ao longo do tempo, sendo resistente a perturbações. No entanto, pode ser alvo de alterações com o tempo e de acordo com a região corporal, na mesma pessoa, assim como de pessoa para pessoa (Gilbert et al., 2018). Esta grande diversidade deve-se a vários fatores, tais como a exposição aos microrganismos após o nascimento, a genética (fator intrínseco), a idade, a dieta, intervenções terapêuticas e estímulos ambientais (fatores extrínsecos), estilos de vida, exposição prematura a microrganismos, bem como à regularidade do uso de antibióticos ou probióticos (Gilbert et al., 2018).

Devido à sua relação com a saúde e as doenças humanas, o microbioma humano tem recebido especial atenção e é provavelmente considerado o biomarcador mais valioso na prevenção e tratamento de doenças (Cong & Zhang, 2018).

Sabe-se que disbioses, isto é, alterações na composição do microbioma têm sido implicadas numa grande variedade de doenças, como diabetes, obesidade, distúrbios bacterianos da pele e vaginais, entre outras, e até doenças potencialmente fatais (Cresci & Bawden, 2015; Dominguez-Bello et al., 2019).

Desta forma, a composição do microbioma pode ser manipulada para melhorar a saúde ou para causar doença, pelo que a caracterização e percepção da sua complexidade é extremamente importante, dado que poderá fornecer uma ferramenta de diagnóstico,

criando oportunidades de melhoria da qualidade de vida dos hospedeiros, através da manipulação do mesmo, uma vez que este é mais suscetível de sofrer alterações que o genoma humano (Gomaa, 2020).

3. Projeto do Microbioma Humano (HMP- Human Microbiome Project)

Em 2008 foi criado o Projeto Microbioma Humano (HMP) pelo Instituto Nacional de Saúde Americano (National Health Institute), em conjunto com 4 centros de sequenciação: a Faculdade de Medicina de Washington (Washington, EUA), a Faculdade de Medicina de Baylor (Texas, EUA), o instituto de Broad (Cambridge, EUA) e por fim, o instituto J. Craig Venter (Maryland, EUA), para além de inúmeros investigadores (Peterson et al., 2009). Este projeto integra instituições de diversas partes do mundo para além dos EUA, como a Ásia e União Europeia (Turnbaugh et al., 2007). Este projeto trata-se de uma extensão do Human Genome Project (Dave, Higgins, Middha, & Rioux, 2012).

O Instituto Nacional de Saúde (NIH) dos Estados Unidos (EUA) iniciou o Projeto do Microbioma Humano (HMP) de maneira a caracterizar o microbioma de forma mais pormenorizada e determinar possíveis associações entre alterações do microbioma e a saúde (Peterson et al., 2009; Turnbaugh et al., 2007).

Os principais objetivos deste importante projeto é retirar proveito das novas tecnologias de alto rendimento de forma a reproduzir bases de pesquisa que permitam caracterizar de forma extensiva o microbioma, assim como a analisar o seu papel na saúde e na doença, conhecendo, desta forma, todos os microrganismos que fazem parte do nosso organismo (Peterson et al., 2009; Turnbaugh et al., 2007). Assim como, a partir do microbioma obter conhecimento relativamente à sua constituição quando este habita hospedeiros saudáveis e de que forma sofre alterações em situações patológicas (Peterson et al., 2009).

Desta forma, o objetivo final do projeto é provar que através da manipulação ou monitorização do microbioma humano, a qualidade de vida da população pode ser melhorada (Peterson et al., 2009).

A figura 2 representa um mapa que reflete a enorme diversidade de microrganismos constituintes do microbioma do ser humano. Analisando a figura, verifica-se que existem 4 filos principais representadas por cores diferentes de forma a melhor se conseguirem distinguir: a amarelo, Actinobacteria (géneros *Actinomyces*, *Bifidobacterium* e *Corynebacterium*), a azul, Bacteroidetes (géneros *Bacteroides*, *Prevotella* e *Porphyromonas*), a verde, Firmicutes (géneros *Streptococcus*, *Ruminococcus*, *Clostridium*, *Staphylococcus*), e por fim, a laranja, Proteobacteria

(gêneros *Eschirichia*, *Salmonella*, *Vibrio*, *Campylobacter* e *Helicobacter*) (Morgan, Segata, & Huttenhower, 2013).

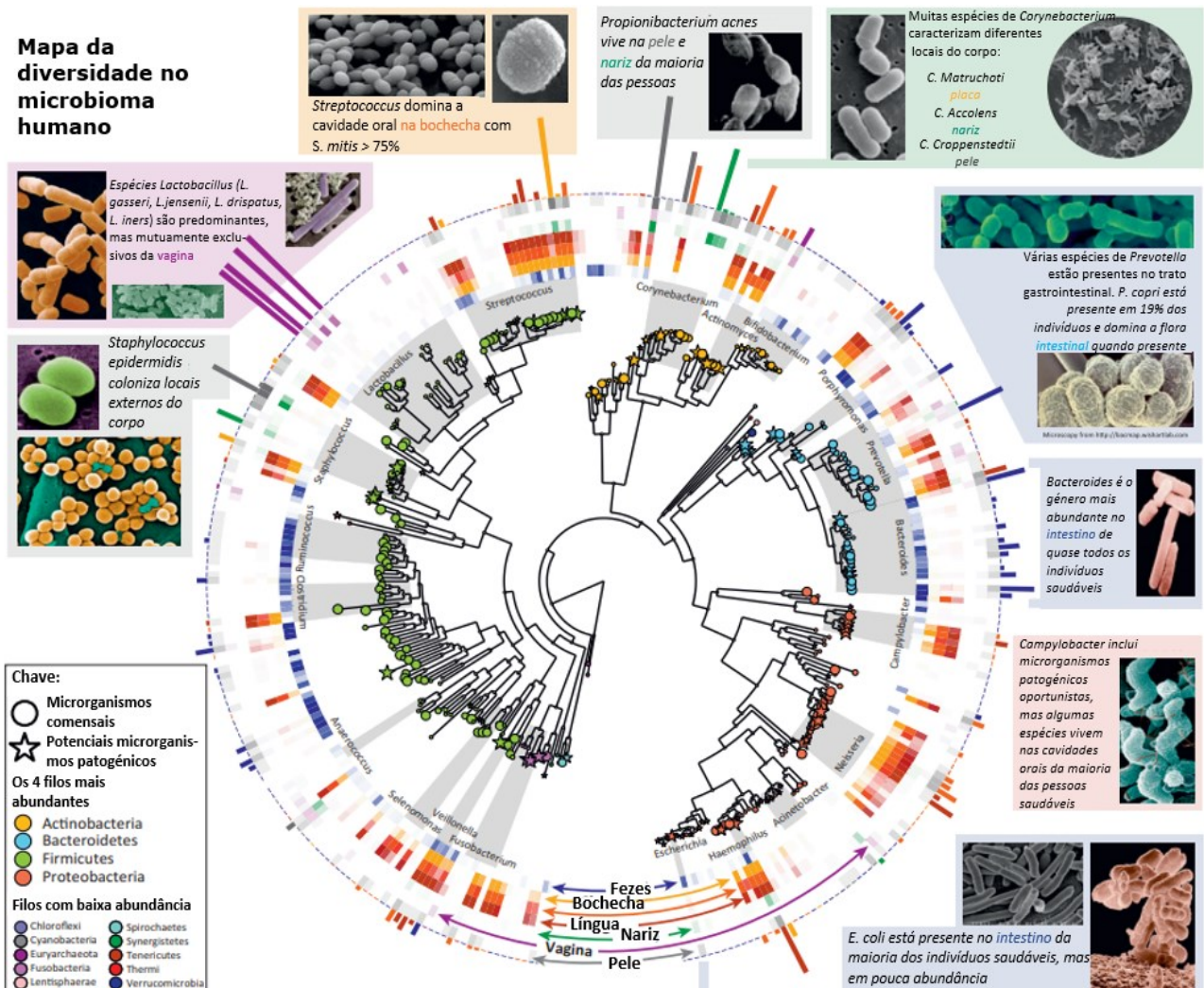


Figura 2: Mapa ilustrativo da caracterização do microbioma nos vários locais anatómicos (Adaptado de Morgan et al., 2013).

É possível verificar que ao centro se encontra uma árvore filogenética referente aos microrganismos mais prevalentes no microbioma humano, na qual conseguimos diferenciar os microrganismos comensais, representados por círculos, dos microrganismos patogênicos representados por estrelas (Morgan et al., 2013).

Para além disso, na parte externa do círculo é ainda possível observar diversas barras coloridas, no qual cada cor reflete uma região do corpo (por exemplo pele, vagina, intestino). Assim, quanto maior for a barra, maior o número de microrganismos presentes nessa região anatómica. Por exemplo, o intestino representado pela cor azul confirma uma

maior abundância de gêneros como *Prevotella*, enquanto que a vagina, representada a purpura, evidência uma grande abundância de *Lactobacillus* (Morgan et al., 2013).

Com efeito, a análise do mapa é extremamente vantajosa, uma vez que permite conhecer quais são os microrganismos mais prevalentes no microbioma humano, assim como qual o local preferencial para a sua colonização nas diferentes partes anatómicas do corpo humano.

4. Funções do microbioma

O microbioma humano é extremamente importante para o organismo, uma vez que é parte integrante de processos fundamentais para a vida humana, desempenhando um papel essencial na manutenção e desenvolvimento do corpo humano (Ogunrinola et al., 2020). Como principais funções encontram-se a manutenção da hemóstase, nutrição do hospedeiro, síntese de vitaminas, influência a absorção de nutrientes, funcionamento e desenvolvimento do sistema imunitário do hospedeiro, desenvolvimento e manutenção da barreira epitelial intestinal, estimulação da angiogénese e proteção contra a proliferação de microrganismos patogénicos (Dominguez-Bello et al., 2019; Honda & Littman, 2016).

Dada a sua envolvimento em vários processos fisiológicos, este é primordial na manutenção do equilíbrio do organismo, pelo que o seu comprometimento pode traduzir-se em adversidades graves para o hospedeiro (Clemente, Manasson, & Scher, 2018).

Bactérias intestinais como *Bifidobacterium* spp, *Bacteroides* spp e Enterobactérias são responsáveis pela produção de vitaminas (Ferrie, Webster, Wu, Tan, & Carey, 2021; Ogunrinola et al., 2020).

O microbioma intestinal contribui significativamente para as necessidades nutricionais do seu hospedeiro (Hills et al., 2019). Os microrganismos em questão decompõem ativamente os constituintes da dieta que são indigeríveis (carboidratos complexos) tornando-os em moléculas prontas para serem absorvidas (Morrison & Preston, 2016; Ogunrinola et al., 2020). No trato gastrointestinal, os principais produtos finais dos carboidratos e aminoácidos são os ácidos gordos de cadeia curta (SCFAs), que abrangem o ácido propiónico, acético e butirato (Morrison & Preston, 2016; Ogunrinola et al., 2020).

Atualmente, estes 3 constituintes da dieta, são considerados os metabolitos microbianos benéficos à saúde humana melhor estudados (Marco, 2021). Ao serem absorvidos servem como fonte de energia e precursores para a síntese de lípidos, regulam a hemóstase da glicose hepática e estimulam o crescimento celular epitelial, resultando assim na manutenção da integridade da barreira intestinal (Morrison & Preston, 2016; Ogunrinola et al., 2020).

5. Evolução do Microbioma ao longo da vida

O desenvolvimento do microbioma humano é um processo dinâmico que abrange divergentes etapas e que reflete diferenças evidentes em termos de variedade e diversidade de microrganismos (Schwartz, Langdon, & Dantas, 2020).

Como já foi referido anteriormente, devido ao seu dinamismo, o microbioma apresenta diferenças de indivíduo para indivíduo, assim como nas diversas partes anatómicas de um mesmo indivíduo (Meisel & Grice, 2017), visto que cada local do corpo é caracterizado por uma comunidade ecológica única de microrganismos, o que faz com que cada microbioma seja único, comprovando a grande variedade e diversidade a nível do microbioma humano (Schwartz et al., 2020),

Assim, este é específico de cada pessoa, excedendo o genoma humano que é cerca de 99,5% idêntico entre pessoas, sugerindo que apenas 0,5% é único de um indivíduo (Schwartz et al., 2020). Com base nos dados atuais, dois indivíduos podem mesmo não mostrar nenhuma sobreposição nas espécies microbianas que constituem o seu microbioma.

Devido ao grau de personalização ser tão elevado, alguns investigadores defendem que o microbioma poderá ser utilizado em análises forenses (Gilbert et al., 2018).

Sabe-se que os microrganismos constituintes do microbioma se encontram profundamente relacionados com a manutenção da homeostasia nos respetivos locais que colonizam (Lloyd-Price, Abu-Ali, & Huttenhower, 2016).

Os microrganismos que compreendem o microbioma humano são adquiridos preponderantemente durante o nascimento e nos primeiros anos de vida (Gilbert et al., 2018). A grande parte dos estudos realizados em bebés sugere que os primeiros colonizadores do intestino são adquiridos pelo contato com os microrganismos maternos e ambientais (Barko et al., 2018), pelo que durante e logo após o nascimento, com a exposição a estes microrganismos maternos e ambientais, inicia-se o estabelecimento do microbioma intestinal (Gilbert et al., 2018).

Considera-se o trato gastrointestinal do feto estéril até ao nascimento, após o qual é colonizado por milhões de bactérias, devido à passagem do mesmo pelo trato geniturinário da progenitora, pele e trato respiratório daqueles que o manuseiam, predominando assim os microrganismos que melhor se adaptam (Barko et al., 2018).

Ao fim de duas semanas de vida, o recém-nascido adquire quase a totalidade de microrganismos que irão fazer parte de si na vida adulta, no entanto serão precisos cerca de 3 anos até a sua flora ser considerada estável (Robertson, Manges, Finlay, & Prendergast, 2019).

As primeiras bactérias colonizadoras são as anaeróbias facultativas, como *Escherichia coli* e *Streptococcus* spp. que forçam as espécies anaeróbias a colonizar o intestino apenas à medida que a quantidade de oxigénio diminui (Barko et al., 2018), ou seja, estas consomem o oxigénio, criando um ambiente onde as espécies anaeróbias se podem desenvolver. Posteriormente são estes microrganismos anaeróbios que vão reger o trato gastrointestinal. É principalmente devido à introdução de leite, materno ou artificial que se deve esta mudança (Lloyd-Price et al., 2016). Seguem-se os anaeróbios obrigatórios, como *Bifidobacterium*, *Bacteroides* e *Clostridium* durante os 6 meses seguintes (Robertson et al., 2019).

Uma vez estabelecidos, estes são os produtores de ácidos gordos de cadeia curta principais, importantes fontes de energia de carboidratos não digeríveis, inibem microrganismos patogénicos comuns e possuem propriedades supressoras de tumor (Lloyd-Price et al., 2016).

Existem vários fatores, específicos do primeiro ano de vida, que influenciam o microbioma do trato gastrointestinal, nomeadamente o tipo de parto (parto normal ou cesariana) e a natureza da alimentação (leite materno ou leite artificial). No parto normal, o microbioma adquirido é o da vagina da mãe, ao passo que no parto por cesariana é o da pele (Lloyd-Price et al., 2016).

Existem estudos que relatam que bebés nascidos por parto normal, apresentam comunidades microbianas denominadas por *Bifidobacterium* spp. e *Lactobacillus* spp, que são semelhantes ao canal vaginal da mãe (Barko et al., 2018). Enquanto que bebés nascidos por cesariana exibem um atraso de aproximadamente 30 dias na colonização de bactérias benéficas como *Bifidobacterium* e *Lactobacillus* em comparação com os recém-nascidos por parto normal, apresentando comunidades microbianas compostas por microrganismos cutâneos comuns como é o caso de *Staphylococcus* (Barko et al., 2018).

As diferenças começam a tornar-se impercetíveis apenas a partir do sétimo ano de vida (Robertson et al., 2019).

A análise do microbioma de mães em vários locais do corpo, sugere que a composição deste se diferencia do das mulheres não grávidas e altera-se durante a gravidez (Robertson et al., 2019).

Alguns estudos relataram que durante a gravidez, a microbiota da mulher é dominada por uma de 4 espécies de *Lactobacillus*, nomeadamente *L. iners*, *L. jensenii*, *L. gasseri* e *L. crispatus*. (Robertson et al., 2019). Assim, o microbioma vaginal desempenha um papel fulcral na colonização do bebé (Robertson et al., 2019).

Pensa-se que 25 a 30% do microbioma bacteriano infantil tenha origem no leite materno, este leva ao desenvolvimento de um microbioma mais diversificado, e com um menor número de bactérias patogénicas (como *Escherichia coli* e *Clostridium perfringens*), devido à produção de acetato e lactato (Lloyd-Price et al., 2016). Este é mais comumente caracterizado por *Staphylococcus*, *Streptococcus* e *Proteobacteria* (maioritariamente *Pseudomonas*).

Vários estudos comprovam que o leite materno apresenta superior complexidade, diversidade e abundância de nutrientes em relação a outros tipos de leites (Robertson et al., 2019). O alimento preferencial de *Bifidobacterium*, que se encontram no intestino saudável, são os oligossacáridos presentes no leite materno (Robertson et al., 2019). Este género de bactérias é o que aparece em maior número no intestino de um recém-nascido, pelo que, se no primeiro ano de vida, o bebé não apresentar bactérias deste tipo em quantidade suficiente, este terá uma maior probabilidade de no futuro sofrer de excesso de peso (Robertson et al., 2019).

Os recém-nascidos prematuros também são mais suscetíveis a sofrer de problemas de saúde no futuro, uma vez que têm uma maior tendência para ter uma menor colonização intestinal, para além do qual as bactérias propendem a ser mais patogénicas (Robertson et al., 2019).

Uma das razões pelo qual se introduz os alimentos sólidos de forma gradual é pelo simples facto do microbioma intestinal estar preparado para digerir estes novos compostos, aumentando assim, a diversidade de microrganismos (Lloyd-Price et al., 2016). Desta forma, a introdução na dieta de alimentos sólidos, após a amamentação traduz-se num rápido aumento da diversidade estrutural e funcional do microbioma da criança, sendo que a partir do terceiro ano de vida, o microbioma já é considerado adulto (Lloyd-Price et al., 2016).

Assim, para além da presença de Bacteroidetes e Firmicutes, existem outros filos de igual relevância, entre os quais estão Verrucomicrobiota, Proteobacteria, Actinobacteria e Euryarchacota (Robertson et al., 2019). Alguns estudos sugerem que as espécies dos filos Bacteroidetes e Actinobacteria são menos vulneráveis a perturbações, em comparação com as espécies de outras filos (Lloyd-Price et al., 2016). Para além disso,

sugerem que, apesar do microbioma diversificar com o tempo, aproximadamente 60% das nossas estirpes bacterianas mantêm-se inalteráveis por um período de 5 anos (Robertson et al., 2019).

É expectável que com o envelhecimento o microbioma intestinal se modifique, uma vez que surgem profundas alterações em todo o organismo humano (Robertson et al., 2019). Assim, com o decorrer da idade, a diversidade e, conseqüentemente, a estabilidade do nosso microbioma propende a diminuir, o que poderá resultar em inflamações (Schwartz et al., 2020). Este facto leva a uma atenuação do número de bactérias anaeróbias (que costumam estar presentes no intestino adulto em grande quantidade) e a um incremento significativo de Enterobactérias e espécies de *Clostridium*, que poderão ser consideradas bactérias patogénicas (Lloyd-Price et al., 2016). Para além disso, o envelhecimento leva ainda a uma diminuição do número de *Bifidobacterium*, consideradas protetoras do trato gastrointestinal (Schwartz et al., 2020).

Existem fatores fisiológicos a nível da saúde do idoso que podem influenciar o microbioma, no entanto pode-se alegar que se um indivíduo se permanecer saudável, estas alterações no microbioma podem não ser relevantes (Robertson et al., 2019).

6. Tipos de Microbioma

6.1. Microbioma intestinal

O trato gastrointestinal, mais concretamente o intestino, é o local do organismo humano que possui o maior número e diversidade de microrganismos, exercendo uma maior influência sobre os mecanismos homeostáticos humanos (Salvucci, 2019; Shkoporov & Hill, 2019).

Os microrganismos que constituem o microbioma intestinal participam nos processos metabólicos do hospedeiro, estimulam o desenvolvimento normal da imunidade, constituem uma barreira para a potencial entrada de microrganismos patogénicos e equilibram as respostas imunológicas para toda a vida (Dinan & Cryan, 2017).

O intestino humano inclui um elevado número de microrganismos, comensais, simbioses e patogénicos oportunistas (Heintz-Buschart & Wilmes, 2018). Este microbioma contém todos os 3 domínios da vida celular, Bacteria, Eukarya e Archaea, assim como vírus, embora em concentrações menores (Shkoporov & Hill, 2019) (figura 3).

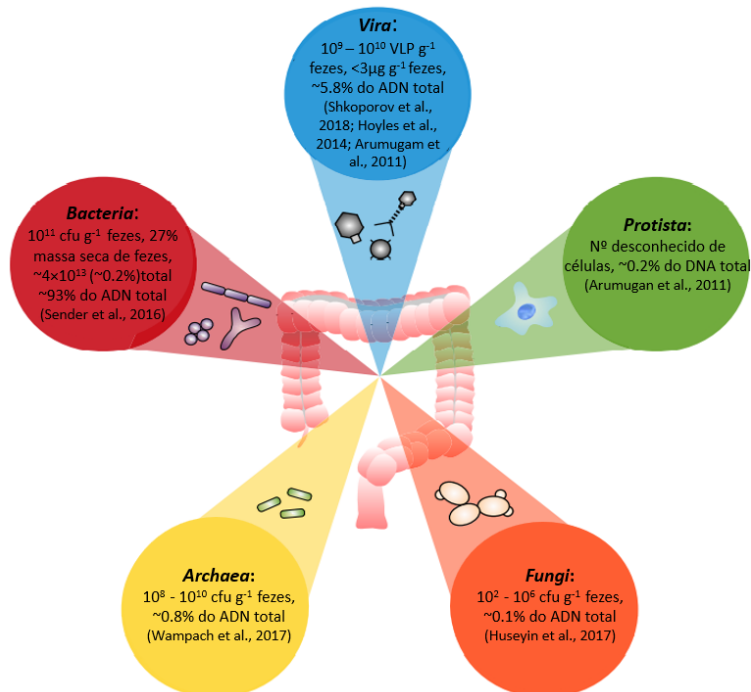


Figura 3: Principais grupos taxonómicos do microbioma do Trato Gastrointestinal e o respetivo nível de Domínio/Reino (Adaptado de Shkoporov & Hill, 2019).

Bacteria e Archaea são responsáveis por mais de 99% dos microrganismos que constituem o microbioma intestinal (Shkoporov & Hill, 2019).

Estudos recentes destacam ainda o papel dos fungos e protozoários, eucariotas microbianos, que constituem uma parte menor, mas potencialmente importante do microbioma intestinal (Huseyin, O’Toole, Cotter, & Scanlan, 2017; Laforest-Lapointe & Arrieta, 2018).

Devido ao seu elevado número e diversidade de microrganismos que abriga, o microbioma intestinal representa um complexo ecossistema que contribui com funções importantes para o hospedeiro (Heintz-Buschart & Wilmes, 2018; Sidhu & Van Der Poorten, 2017).

A composição do microbioma intestinal varia ao longo do trato gastrointestinal, de indivíduo para indivíduo e ao longo da vida (Heintz-Buschart & Wilmes, 2018), sendo influenciado por vários fatores endógenos e exógenos, como a natureza do parto do recém-nascido, as características genéticas do hospedeiro, idade, fatores geográficos, dieta, administração de medicamentos, nomeadamente antibióticos e estado imunológico do hospedeiro (figura 4) (Ibáñez, Rouleau, Wakkach, & Blin-Wakkach, 2019; Lynch & Pedersen, 2016).

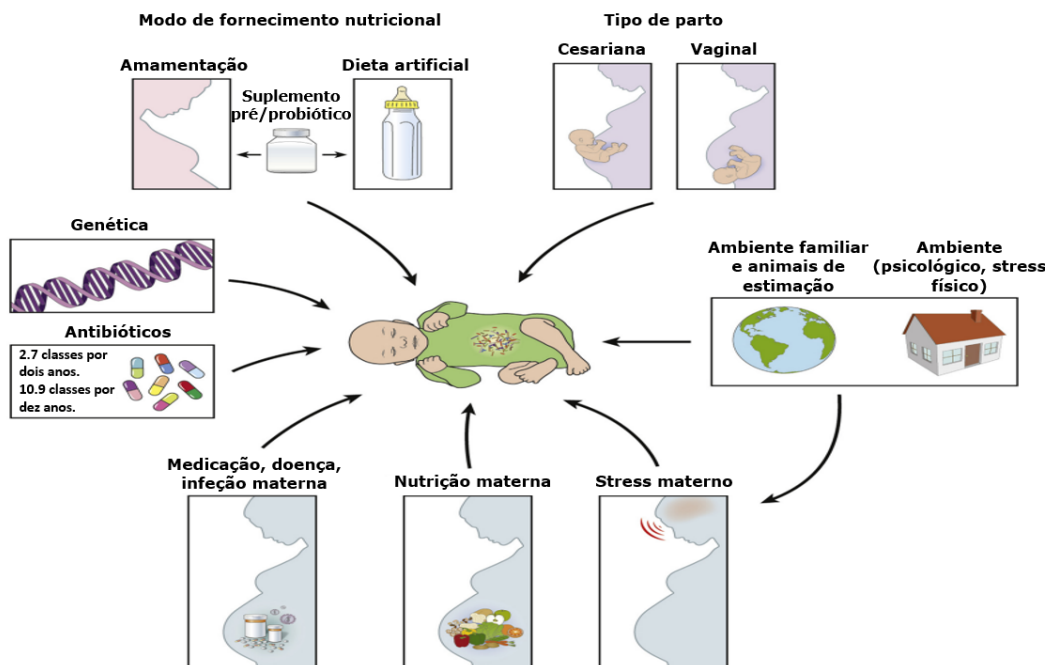


Figura 4: Eventos no início de vida e desenvolvimento do microbioma intestinal infantil (Adaptado de Osadchiy, Martin, & Mayer, 2019).

O microbioma intestinal inclui mais de 1500 espécies distribuídas por mais de 50 Filos diferentes (Lynch & Pedersen, 2016). Os filios mais prevalentes são Bacteroidetes e Firmicutes, seguidos por Proteobacteria, Fusobacteria, Tenericutes, Actinobacteria e Verrucomicrobia, constituindo até 90% da população microbiana total em humanos (Gomaa, 2020; Lynch & Pedersen, 2016). Enquanto que os géneros mais comuns são *Bacteroides*, *Clostridium*, *Peptococcus*, *Bifidobacterium*, *Eubacterium*, *Ruminococcus* e *Faecalibacterium* (Gomaa, 2020). Dos géneros supra mencionados, o mais prevalente é *Bacteroides*, sendo que as espécies deste género compreendem cerca de 30% das bactérias no intestino (Gomaa, 2020).

Devido ao conteúdo ácido e à presença de bilis e suco pancreático, no estômago e no intestino delgado encontram-se um pequeno número de espécies de bactérias (Gomaa, 2020), enquanto que o cólon é o local do trato gastrointestinal que apresenta maior densidade microbiana, no qual Firmicutes, Bacteroidetes, Proteobacteria e Actinobacteria são os microrganismos mais predominantes, constituindo aproximadamente 64%, 23%, 8% e 3% da população respetivamente (Hasan Mohajeri, La Fata, Steinert, & Weber, 2018). Desta forma, é no colon que a grande maioria dos microrganismos habita e interage com o hospedeiro (Salvucci, 2019; Sidhu & Van Der Poorten, 2017).

Como um sistema complexo, o microbioma intestinal tem sido associado (induzindo ou agravando) a várias doenças, como é o caso da obesidade, doença inflamatória intestinal, cancro colo retal, artrite reumatoide e doença hepática (Cong & Zhang, 2018).

As várias funções essenciais conferidas pelo microbioma intestinal ao seu hospedeiro humano atestam a sua importância, nomeadamente a síntese de vitaminas essenciais, digestão de polissacáridos complexos indigeríveis e produção de ácidos gordos de cadeia curta, a fermentação de componentes alimentares não digeríveis em metabolitos absorvíveis, síntese de aminoácidos essenciais, biotransformação da bilis para ajudar na glicose, metabolismo do colesterol, a remoção de compostos tóxicos, o fortalecimento da barreira intestinal e a estimulação e regulação do sistema imunitário (Heintz-Buschart & Wilmes, 2018; Sidhu & Van Der Poorten, 2017). Para além disso, o microbioma intestinal em conjunto com o sistema imunitário do hospedeiro, protege o nosso organismo contra a entrada de microrganismos patogénicos e toxinas e consequentemente doenças (Heintz-Buschart & Wilmes, 2018).

De forma geral, o microbioma intestinal é responsável por metabolizar os vários elementos da dieta em componentes alimentares ativos (Heintz-Buschart & Wilmes,

2018; Sidhu & Van Der Poorten, 2017). As bactérias que constituem o microbioma intestinal metabolizam os carboidratos indigeríveis, como a celulose, hemicelulose, pectina entre outros em ácidos gordos de cadeia curta (SCFAs), como acetato, butirato e propionato que atuam como uma fonte de energia muito importante para as células epiteliais intestinais, fortalecendo a barreira da mucosa (Gomaa, 2020; Singh et al., 2017).

Assim, a perturbação da biossíntese destes ácidos gordos pode acarretar consequências para a saúde humana (Perry et al., 2016).

Constatou-se ainda que os SCFAs possuem propriedades anti-inflamatórias e quimio preventivas promissoras, sendo considerados supressores de tumores, tendo sido confirmados os efeitos anticancerígenos e anti-inflamatórios do propionato e butirato (Morrison & Preston, 2016). Desta forma, verificou-se que os microrganismos produtores de butirato se encontram em menor proporção em pacientes com cancro do cólon quando comparados com pacientes saudáveis (Singh et al., 2017).

Tal como já referido anteriormente, o microbioma também pode provocar efeitos benéficos para a saúde do hospedeiro, uma vez que desempenha um papel crucial na síntese de vitaminas, como a tiamina, biotina, cobalamina, riboflavina, nicotina, bem como vitamina B e K (Gomaa, 2020).

O microbioma intestinal também possui um papel importante no crescimento e desenvolvimento ósseo (Ibáñez et al., 2019). Esta relação, entre o microbioma e os ossos é bastante complexa e inclui vários mecanismos, como a regulação da absorção de nutrientes da dieta, a translocação de produtos microbianos através do endotélio intestinal e a regulação do sistema imunitário (Ibáñez et al., 2019). Assim, alterações no microbioma intestinal apresentam um grande impacto na doença inflamatória das articulações acompanhada de perda óssea (Ibáñez et al., 2019).

Estudos relataram que o impacto do microbioma intestinal no desenvolvimento ósseo se deve aos ácidos gordos de cadeia curta (SCFAs), sendo que uma maior absorção de cálcio é obtida através da fermentação destes ácidos gordos pelos microrganismos que constituem o microbioma do intestino (Yan et al., 2016). Desta forma, conclui-se que um aumento da fermentação de ácidos gordos e consequentemente da absorção de cálcio e outros minerais permite melhorar o crescimento e desenvolvimento ósseo (Ibáñez et al., 2019; Yan et al., 2016).

Para além de efeitos protetores contra o cancro gastrointestinal, o microbioma intestinal também apresenta associação com cancros de outros órgãos, como a pele (Palareti et al., 2016).

O excessivo crescimento de bactérias no intestino delgado, aumenta o risco de surgir acne vulgar, aumentando a resposta imunológica a algumas espécies de bactérias intestinais (Palareti et al., 2016).

Estes factos sugerem que o microbioma intestinal modula a função imunológica na pele e constitui um papel crítico no desenvolvimento e prevenção do cancro da pele (Palareti et al., 2016).

Alguns estudos efetuados, ao examinar a composição e o papel deste microbioma em diferentes estados de doença, descobriram a existência de associação com várias doenças, como doenças inflamatórias intestinais, da pele, como por exemplo psoríase e dermatite atópica, obesidade, diabetes e aterosclerose (Shin, Preidis, Shulman, & Kashyap, 2019; Singh et al., 2017). Por exemplo, verificou-se que pacientes com Doença inflamatória intestinal tendem a apresentar menor diversidade bacteriana, assim como um menor número de Firmicutes e Bacteroides, o que poderá contribuir para quantidades diminuídas de ácidos gordos de cadeia curta derivados de microrganismos, que se acredita que tenham efeito anti-inflamatório direto no intestino (Singh et al., 2017).

Existem várias abordagens disponíveis que permitem modular a composição e funções do microbioma intestinal, como por exemplo a aplicação de probióticos, prebióticos e ainda técnicas de transplante bacteriano fecal (FMT) (Gomaa, 2020).

6.2. Microbioma oral

O microbioma oral apresenta uma complexidade semelhante à do microbioma intestinal (Meisel & Grice, 2017), sendo considerado o segundo microbioma mais complexo (Cong & Zhang, 2018).

Este microbioma é um dos mais importantes, referindo-se especificamente aos microrganismos que residem na cavidade oral do ser humano (Xiao, Fiscella, & Gill, 2020; Zhang et al., 2018).

Considera-se o mesmo altamente diverso, sendo constituído por bactérias, fungos, vírus, arqueias e protozoários (Cong & Zhang, 2018). Atualmente pensa-se que estejam presentes cerca de 700 espécies na cavidade oral (Zhang et al., 2018).

As bactérias são os principais microrganismos constituintes deste microbioma. A comunidade bacteriana oral é principalmente dominada pelos filos Firmicutes, Proteobacteria, Bacteroidetes, Actinobacteria, Fusobacteria e Spirochaetes, correspondendo a cerca de 94% dos táxons detetados (Zhang et al., 2018).

Os restantes 6% correspondem aos filos Saccharibacteria, SR1, Synergistetes, Gracilibacteria, Chlamydia, Chloroflexi, Tenericutes e Chlorobi (Zhang et al., 2018).

Apesar da compreensão dos microrganismos constituintes do microbioma oral tenha vindo a evoluir nos últimos anos, ainda existe uma grande quantidade de bactérias orais que não podem ser isoladas em laboratório, devido principalmente ao facto de que as condições às quais esses microrganismos estão habituados *in vivo* não são mimetizados e reprodutíveis completamente em laboratório, isto porque grande parte dos microrganismos apresentam requisitos únicos de sobrevivência, como temperatura e pH específicos, nutrientes e interações necessárias com outros microrganismos da sua comunidade (Zhang et al., 2018).

Os fungos, tal como as bactérias também se encontram amplamente presentes na cavidade oral (Kaan, Kahharova, & Zaura, 2021). Não residem apenas como microrganismos patogénicos oportunistas na cavidade oral de idosos e imunocomprometidos, mas também na cavidade oral de indivíduos saudáveis (Kaan et al., 2021).

Verificou-se que o número de espécies de fungos presentes neste local anatómico varia entre 9 e 23, sendo que as espécies de *Candida* são as mais comuns, seguindo-se *Cladosporium*, *Aureobasidium*, *Saccharomyces*, *Aspergillus*, *Fusarium* e *Cryptococcus* (Zhang et al., 2018).

Apesar de constituir uma parte muito reduzida deste microbioma, algumas espécies de Archea como *Thermoplasmatales*, *Methanobrevibacter*, *Methanobacterium*, *Methanosarcina* e *Methanosphaera* fazem parte do mesmo e podem ser encontrados em número mais elevado em indivíduos com periodontite (Zhang et al., 2018).

A maioria dos vírus presentes na boca encontram-se associados a doenças (Kaan et al., 2021; Xiao et al., 2020). O vírus do herpes simplex causa gengivoestomatite herpética primária, doença mucocutânea orofacial e ainda lesões recorrentes na face e lábios. Para além disso, a infeção por HIV (Vírus da imunodeficiência humana) também pode causar indiretamente vários sintomas orais, como candidíase oral, eritema gengival linear, periodontite ulcerativa necrosante e sarcoma de Kaposi (Zhang et al., 2018).

Alguns estudos revelaram que existe maior diversidade no microbioma subgengival em indivíduos doentes com implantes dentários do que em indivíduos saudáveis com implantes, sugerindo assim que os microrganismos patogénicos periodontais podem desempenhar papéis importantes na progressão do estado do implante saudável para a doença peri-implantar (Meisel & Grice, 2017).

A cavidade oral apresenta-se como um ponto de partida para a colonização pelo microbioma oral e intestinal, sendo um local de fácil acesso para avaliação da comunidade microbiana e marcadores biológicos, utilizados para diagnosticar e monitorizar doenças orais e sistêmicas (Xiao et al., 2020).

Logo após o nascimento, o contato inevitável com o exterior, por meio da respiração e alimentação resulta na colonização por microrganismos da cavidade oral (Xiao et al., 2020), pelo que se considera que a colonização microbiana oral ocorre após o nascimento, apesar de alguns estudos recentes sugerirem que esta tem início ainda antes deste. Estudos constataram a presença de microrganismos no líquido amniótico em cerca de 70% das gestantes (Xiao et al., 2020).

Investigadores estudaram a maturação e a evolução temporal do ecossistema microbiano oral na primeira infância e na infância utilizando uma amostra oral colhida longitudinalmente em 90 crianças (Xiao et al., 2020). É de referir que estas crianças tiveram acompanhamento desde o seu nascimento até aos 7 anos de idade (Xiao et al., 2020).

Antes da erupção dos dentes, as superfícies mucosas servem como locais iniciais para a colonização bacteriana (Kaan et al., 2021). Os microrganismos que colonizam mais frequentemente, de forma precoce a cavidade oral são *Streptococcus* (*Streptococcus epidermidis* e *salivarius*), *Staphylococcus* Spp e *Fusobacterium* (Xiao et al., 2020).

Existe uma grande abundância de microrganismos do género *Streptococcus* na cavidade oral porque estes para além de serem capazes de aderir às células epiteliais, são um dos grupos bacterianos mais comumente encontrados no leite materno (Xiao et al., 2020).

Entre as várias espécies de *Streptococcus*, *Streptococcus salivarius* é a espécie mais abundante na cavidade oral do recém-nascido, sendo que a sua abundância atinge o máximo aos 3 meses de idade, representando cerca de 10 a 15% do total de espécies de *Streptococcus*. A partir dos 3 meses, a abundância de *Streptococcus salivarius* diminui constantemente, provavelmente devido ao surgimento dos dentes (Xiao et al., 2020).

Para além destes primeiros colonizadores referidos, os géneros bacterianos *Granulicatella*, *Gemella*, *Haemophilus* e *Rothia* surgem entre os 3 e os 6 meses de idade com mais de 1% de abundância e esta aumenta com o tempo (Xiao et al., 2020).

Nos primeiros meses de vida de um bebê, ainda antes da erupção dos primeiros dentes, microrganismos como *Escherichia coli*, *Staphylococcus*, *Pseudomonas*, bactérias produtoras de ácido lático como *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus crispatus* e *Streptococcus* são altamente prevalentes (figura 5) (Xiao et al., 2020).

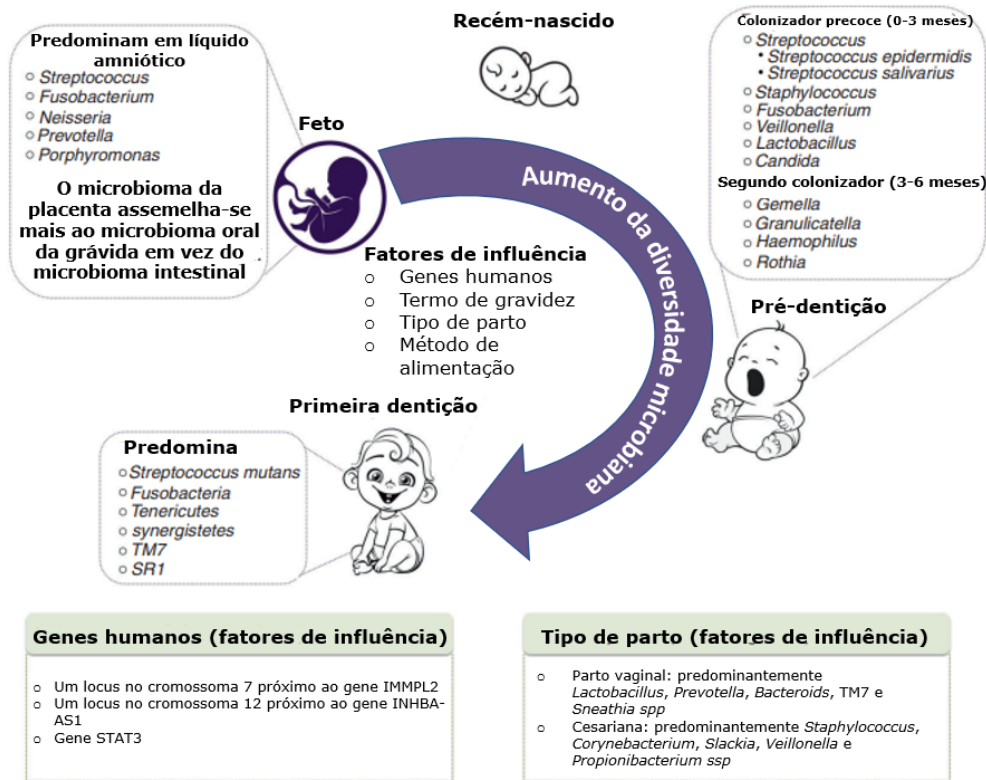


Figura 5: Desenvolvimento do microbioma oral na 1ª infância (Adaptado de Xiao et al., 2020).

Com o passar do tempo, *Fusobacteria*, *Synergistetes*, *Tenericutes*, *TM7* e *SR1* dominam até ao fim do primeiro ano de vida a comunidade microbiana da cavidade oral (Xiao et al., 2020).

Após o surgimento dos primeiros dentes, apesar de maior parte dos microrganismos colonizarem todos os locais da cavidade oral, como mucosa, língua, dentes, a sua proporção pode alterar dependendo do local de colonização (Kaan et al., 2021; Meisel & Grice, 2017). Nos dentes e na língua encontra-se uma maior carga microbiana quando comparada com a mucosa oral e saliva por exemplo (Xiao et al., 2020).

Para além da comunidade bacteriana, tem-se conhecimento que a cavidade oral dos recém-nascidos também possui fungos, nomeadamente *Candida*, a partir do primeiro

ano de vida. Apesar de *Candida* ser o fungo mais prevalente na cavidade oral, outros géneros também foram identificados, como *Cladosporium*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Cryptococcus*, *Saccharomyces* e *Aureobasidium* (Xiao et al., 2020). A presença de vírus é vista como uma componente patológica (Cong & Zhang, 2018).

Os principais vírus isolados da cavidade oral incluem Norovírus, HIV, Rotavírus, Vírus herpes simplex 1 e 2, vírus Epstein Barr e Vírus influenza (Xiao et al., 2020).

Cada vez mais estudos têm demonstrado que o microbioma oral apresenta um papel vital na patogénese e desenvolvimento de variadas doenças bucais e sistémicas (Zhang et al., 2018).

6.3. Microbioma da pele

Como se sabe, a pele é considerada o maior e mais exposto órgão do corpo humano, pelo que funciona como uma barreira biológica e única para o meio externo.

Vários microrganismos, incluindo vírus, fungos, bactérias e arqueias colonizam a pele, embora com distribuições diferentes, constituindo assim o microbioma da pele humana (Palareti et al., 2016). A proporção de microrganismos que colonizam a pele, em comparação com outros locais do corpo humano, como por exemplo o trato gastrointestinal, é relativamente baixa, no entanto, apresenta bastante diversidade (Meisel & Grice, 2017).

A colonização é principalmente afetada por fatores intrínsecos, como a idade do hospedeiro, género, dieta, estado imunológico, predisposição genética e condições da pele e fatores extrínsecos (ambientais e comportamentais) (Palareti et al., 2016).

Os locais de colonização da pele dependem principalmente das propriedades locais da pele, ou seja, se se trata de uma pele seca, sebácea ou húmida, e é maioritariamente colonizada por *Corynebacterium*, *Propionibacterium* e *Staphylococcus* (Lloyd-Price et al., 2016)

Como já foi referido, os microrganismos constituintes do microbioma humano, desempenham funções que podem ser consideradas benéficas ou prejudiciais no hospedeiro. Existem várias doenças que se encontram intimamente relacionadas com o microbioma da pele. Investigadores constataram que uma proporção aumentada de Firmicutes para espécies de Actinobacteria se encontra frequentemente acompanhada de psoríase (L. Chen et al., 2020).

Para além da psoríase, existem outras doenças da pele relacionadas com o microbioma, como é o caso da dermatite atópica, doença inflamatória da pele, causada por *Staphylococcus aureus* (L. Chen et al., 2020).

Certos microrganismos estão envolvidos na manutenção da homeostase da pele. Alguns estudos revelaram que bactérias não patogénicas, como *Staphylococcus epidermidis* e *Propionibacterium acnes* podem inibir *Staphylococcus aureus* de forma a aliviar a inflamação cutânea relacionada com a dermatite atópica (Cong & Zhang, 2018). Em algumas situações, como é o caso da acne, *Propionibacterium acnes* apresenta-se virulento, enquanto que a dermatite atópica se caracteriza por uma colonização aumentada de *Staphylococcus aureus* e diminuição da diversidade bacteriana (Meisel & Grice, 2017).

Apesar de grande parte dos vírus que constituem o microbioma da pele serem considerados microrganismos simbióticos, alguns estão associados a cancros da pele (Palareti et al., 2016).

Propionibacteria (*P. acnes*, *P. avidum*, *P. granulosum*), *Micrococci*, *Acinetobacter*, *Staphylococci* (*Staphylococcus epidermidis*) e *Corynebacteria* constituem a microflora normal que coloniza a pele humana, como espécies residentes, enquanto que *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* e espécies de *Bacillus* são algumas das espécies transitórias (Palareti et al., 2016).

A própria microflora residente, em certas situações, pode-se tornar patogénica, como situações de stress, trauma, lesão ou quando o hospedeiro fica imunocomprometido (Palareti et al., 2016).

6.4. Microbioma pulmonar

Antigamente, os pulmões eram considerados como um ambiente estéril (Lloyd-Price et al., 2016; Weinberg, Dickson, Nagraath, & Ramnath, 2021). Contudo, várias análises de sequenciamento de pulmões de indivíduos saudáveis revelaram microrganismos. O microbioma do pulmão é semelhante ao microbioma da boca (Meisel & Grice, 2017; Weinberg et al., 2021).

Contrariamente ao microbioma intestinal, o microbioma pulmonar apresenta uma densidade de 10-100 células bacterianas por 1000 células humanas (Lloyd-Price et al., 2016). Apesar dos pulmões terem uma baixa concentração microbiana, este é igualmente importante para a imunidade do seu hospedeiro. Um estudo revelou que quanto maior o

nível de exposição a partículas, maior a colonização por bactérias potencialmente patogénicas (Cong & Zhang, 2018).

Os filos mais abundantes deste microbioma são Bacteroidetes e Firmicutes, com géneros proeminentes de *Prevotella*, *Veillonella* e *Streptococcus* (Weinberg et al., 2021).

Um desequilíbrio no microbioma pulmonar pode levar ao surgimento de doenças respiratórias, nomeadamente asma, doença pulmonar obstrutiva crónica (DPOC), pneumonia e fibrose pulmonar idiopática (Cong & Zhang, 2018).

Pessoas asmáticas contêm maior diversidade e abundância do filo Proteobacteria. Alguns estudos mostraram que o microbioma pulmonar de doentes com DPOC avançada sofria alterações de Bacteroidetes para Proteobacteria, incluindo potencialmente *Pseudomonas*, e *Haemophilus*, e ocasionalmente para o filo Firmicutes (Cong & Zhang, 2018).

Desta forma, sugere-se que alterações quantitativas ou qualitativas a nível do microbioma pulmonar possam estar relacionadas com diversas doenças pulmonares.

6.5. Microbioma do trato urogenital

Diversas doenças urogenitais, incluindo vaginose bacteriana, doenças sexualmente transmissíveis, doenças causadas por fungos, infeções do trato urinário e HIV foram associadas ao microbioma do trato urinário (Meisel & Grice, 2017).

O microbioma vaginal apresenta um grau de estabilidade semelhante ao microbioma da pele (Gilbert et al., 2018), sendo constituído por uma grande variedade de bactérias (Das, Khanna, Singh, Nandi, & Verma, 2020).

O trato urinário encontra-se colonizado maioritariamente por microrganismos considerados fastidiosos e de crescimento lento. Grande parte pertence a cinco filos principais, Firmicutes, Bacteroidetes, Fusobacteria, Actinobacteria e Proteobacteria e incluem frequentemente os géneros *Lactobacillus*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Prevotella* e *Corynebacterium* (Neugent, Hulyalkar, Nguyen, Zimmern, & De Nisco, 2020).

Diversos estudos identificaram diferenças relativamente à composição do microbioma urogenital entre homens e mulheres. Por exemplo, o microbioma masculino apresenta maior abundância do género *Corynebacterium*, que se encontra tipicamente associado ao microbioma da pele, enquanto que o microbioma urinário feminino é dominado pelo género *Lactobacillus* (Abou Chacra & Fenollar, 2021; Neugent et al., 2020), que se pensa

que beneficiam o hospedeiro devido a uma diminuição do pH vaginal através de produtos finais da fermentação, resultando numa menor probabilidade de colonização microbiana alóctone ou invasão por microrganismos patogénicos (Gilbert et al., 2018).

Desta forma, este microbioma constitui um papel fundamental na manutenção do pH vaginal e consequentemente na prevenção de diversas doenças urogenitais (Neugent et al., 2020).

A vagina saudável possui um dos ecossistemas microbianos mais estruturado, com pelo menos 5 tipos de comunidades reprodutíveis, cada um dominado por uma única espécie de *Lactobacillus* (*L.crispatus*, *L.iners*, *L.gasseri* ou *L.jensenii*) (Lloyd-Price et al., 2016).

O microbioma vaginal pode ser classificado de acordo com a espécie mais dominante de bactérias presentes, que é mais comum ser uma espécie de *Lactobacillus* (Lloyd-Price et al., 2016).

Tal como acontece com o microbioma intestinal, uma alteração no microbioma vaginal pode acarretar o desenvolvimento de várias doenças (Abou Chacra & Fenollar, 2021). Possivelmente o papel mais importante de um microbioma saudável é prevenir infeções vaginais e condições inflamatórias (Das et al., 2020).

O trato urogenital é o local de infeção bacteriana mais comum nos adultos (Neugent et al., 2020). As infeções do trato urinário podem ser causadas por uma grande variedade de fungos e bactérias, no entanto os microrganismos mais comuns são *Escherichia coli* uropatogénica, seguida de *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus faecalis* e *Proteus mirabilis* (Neugent et al., 2020).

Alterações no microbioma urinário provenientes da idade e sexo do hospedeiro podem ocorrer devido a diferenças nos hábitos de higiene, micção, metabolitos urinários, variação hormonal. Para além disso, na fase pré-menstrual, pós-menopausa e idade reprodutiva, o microbioma vaginal exhibe igualmente variação (Das et al., 2020).

7. Fatores que afetam a composição do Microbioma Humano

Como já foi referido ao longo desta dissertação, são vários os fatores (intrínsecos e extrínsecos) que determinam a constituição, diversidade e estabilidade do microbioma humano. Dentro destes fatores, destacam-se a dieta, idade, genética e recetores do hospedeiro, stress oxidativo, resposta imunológica inata e específica contra microrganismos, competição entre estes e respetiva resistência aos produtos de secreção dos mesmos, fatores geográficos, estilo de vida e administração de antibióticos (Ibáñez et al., 2019).

7.1. Dieta

A relação da dieta com o microbioma intestinal tem sido amplamente estudada (Gilbert et al., 2018), uma vez que esta apresenta um papel essencial na modulação do microbioma intestinal (figura 6), seja de forma benéfica ou prejudicial, através do aumento ou diminuição de algumas espécies, assim como pelo ajuste de metabolitos produzidos no ambiente intestinal (Hills et al., 2019).

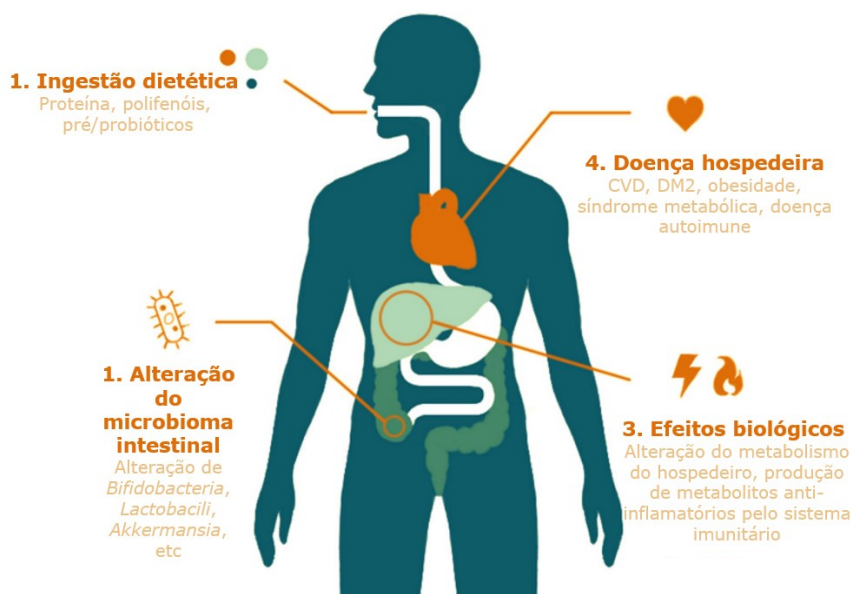


Figura 6: Impacto da dieta no microbioma intestinal e na saúde humana (Adaptado de Singh et al., 2017).

Logo após o nascimento, a dieta é um fator crítico na formação do microbioma intestinal do bebé (Hills et al., 2019). O tipo de alimentação, isto é, leite artificial ou materno também influencia a composição do microbioma (Gomaa, 2020; Hills et al.,

2019). Assim, bebês alimentados por leite materno apresentam crescimento excessivo de Actinobacteria e inibição de Firmicutes e Proteobacteria (Hills et al., 2019). O leite materno contém oligossacarídeos que são metabolizados eficazmente por estas espécies bacterianas, resultando num aumento de ácidos gordos de cadeia curta, direcionando o sistema imunitário a aumentar a expressão de imunoglobulina G (Hills et al., 2019).

Por outro lado, bebês alimentados por leite artificial expressam um aumento de *Clostridia*, *Streptococcus*, *Bacteroides* e *Enterobacteria* (Gomaa, 2020).

O equilíbrio entre a microbiota metabolicamente saudável e a disbiose são cruciais (Lynch & Pedersen, 2016). Este equilíbrio, denominado de homeostase é mantido por diversos fatores que incluem a dieta, atividade física, número diário de defecações, tabagismo e uso de medicamentos. Na coluna a) da figura 7 é ilustrada uma microbiota metabolicamente saudável. Esta é obtida principalmente por uma dieta rica em fibras e baixa proteína e gordura animal. (Lynch & Pedersen, 2016).

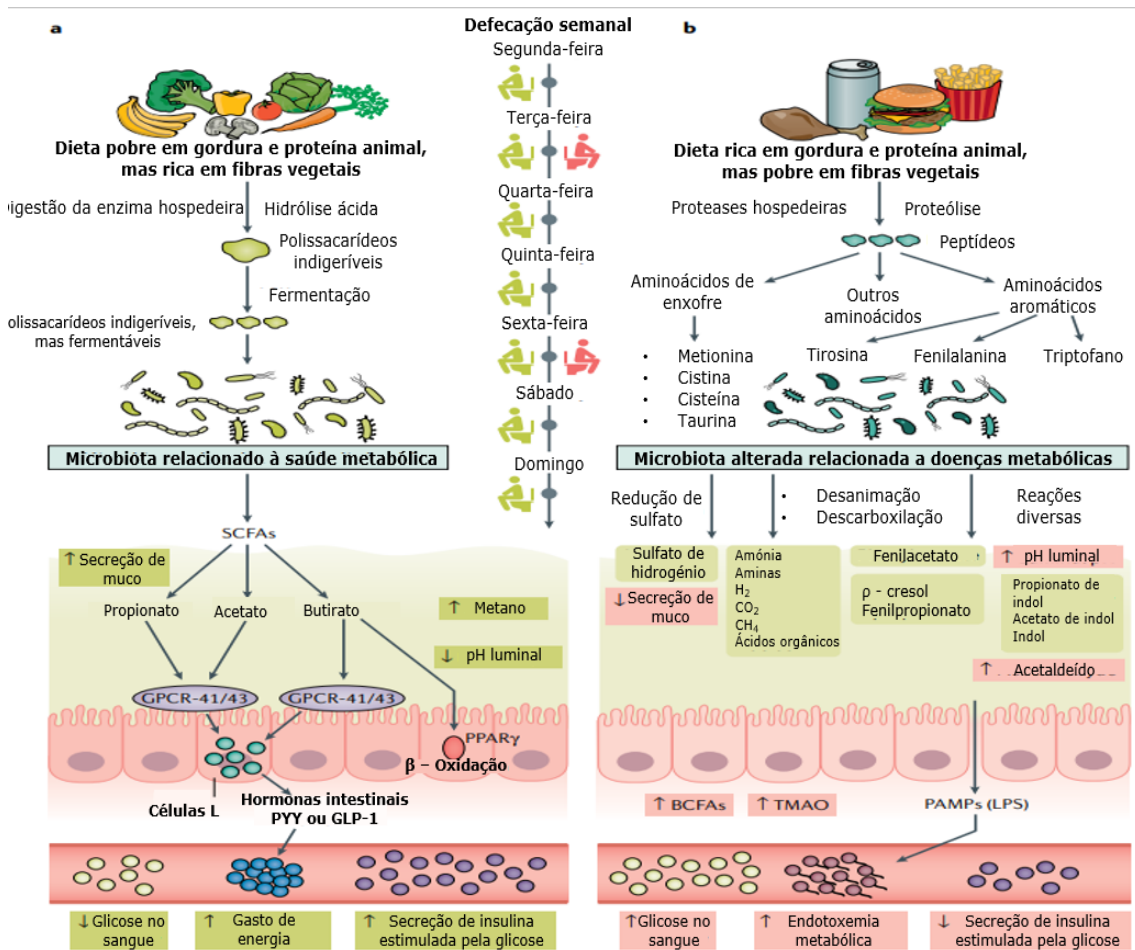


Figura 7: Impacto da dieta no microbioma intestinal e no metabolismo do hospedeiro (Adaptado de Lynch & Pedersen, 2016).

Os polissacáridos que não são digeríveis, mas são fermentáveis, são metabolizados pelos microrganismos presentes no intestino grosso e consequentemente fermentados para originar uma série de compostos e estimular a espessa camada de muco intestinal e fortalecer a função de barreira. A produção de ácidos gordos de cadeia curta, como acetato, butirato e propionato, provê uma fonte de energia adicional. Estes ao se ligarem ao recetor acoplado à proteína G (GPCR-41/43) induzem de modo consequente a secreção de péptido 1 semelhante ao Glucagon (GLP-1) e péptido YY (PYY) e desta forma cooperam no gasto de energia, diminuição da ingestão de alimentos e melhoria da secreção da insulina e metabolismo da glicose (Lynch & Pedersen, 2016).

Pelo contrário, na alínea b) da figura 7 observa-se a disbiose microbiana, influenciada pela prática de uma dieta rica em proteína e gordura animal, assim como a elevada ingestão de álcool, tabagismo, vida sedentária e defecação pouco frequente. Esta disbiose pode resultar numa diminuição da função de barreira, inflamação intestinal, e redução da produção de ácidos gordos de cadeia curta (Lynch & Pedersen, 2016).

7.1.1. Proteína na dieta

Em 1977 foi descrito pela primeira vez os efeitos da proteína dietética no microbioma intestinal (Singh et al., 2017) (figura 8). Um estudo relatou contagens mais baixas de *Bifidobacterium* e valores aumentados de *Bacteroides* e Clostridia em pessoas portadoras de uma dieta rica em carne comparadas com pessoas com uma dieta isenta de carne (tabela 1) (Singh et al., 2017).

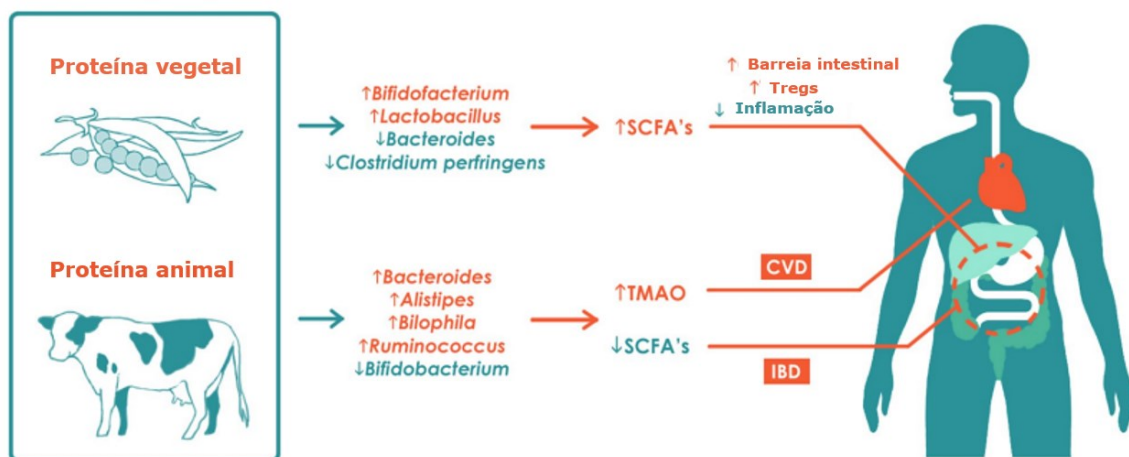


Figura 8: Impacto da proteína da dieta no microbioma intestinal e resultados na saúde (Adaptado de Singh et al., 2017).

Através dos avanços da sequenciação do 16S rRNA, diversos estudos têm sido capazes de investigar, de forma mais aprimorada, o impacto da proteína da dieta alimentar na composição do microbioma intestinal (Singh et al., 2017).

Tabela 1: Efeitos da proteína da dieta no microbioma intestinal (Adaptado de Singh et al., 2017).

	Diversidade microbiana	<i>Bifidobacteria</i>	<i>Lactobacilli</i>	<i>Bacteroides</i>	<i>Alistipes</i>	<i>Bilophila</i>	<i>Clostridia</i>	<i>Roseburia</i>	<i>Eubacterium Rectale</i>
Proteína animal	↑	↑↓		↑↓	↑	↑	↑	↓	↑↓
Extrato de proteína de soro do leite	↑	↑	↑	↓			↓		
Extrato de proteína da ervilha	↑	↑	↑						

Nesses estudos efetuados, os participantes receberam diversas formas de proteína alimentar. A maioria dos estudos verificou que o consumo de proteína se correlaciona de forma positiva com a diversidade microbiana (Singh et al., 2017). Por exemplo, constatou-se que o consumo de soro de leite e extrato de proteína de ervilha aumentam a quantidade de *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*. Para além disso, o soro de leite diminui os microrganismos patogénicos *Bacteroides fragilis* e *Clostridium perfringens* (Singh et al., 2017).

Verificou-se ainda que o extrato de proteína de ervilha aumenta os níveis intestinais de SCFAs, que como já foi referido anteriormente, são anti-inflamatórios importantes na manutenção da barreira da mucosa intestinal (Singh et al., 2017). Contrariamente verificou-se um aumento de *Bacteroides*, *Alistipes* e *Bilophila* com o consumo de proteína animal (figura 8) (Singh et al., 2017).

A ingestão aumentada de proteína total, principalmente proteína animal está associada a um risco aumentado de doença inflamatória intestinal. Para além disso, vários microrganismos promovidos pela ingestão de carne vermelha foram associados a níveis elevados do composto N-óxido de Trimetilamina (TMAO) que aumenta o risco de desenvolver doença cardiovascular (Singh et al., 2017).

7.1.2. Gordura na dieta

Pensa-se que a adoção de uma dieta rica em gordura saturada e trans aumente o risco de doença cardiovascular, pela regulação positiva do colesterol total e LDL.

Contrariamente, as gorduras mono e polinsaturadas promovem a saúde, sendo cruciais para diminuir o risco de doenças crônicas (Singh et al., 2017). Como pode ser observado na Figura 9, uma alimentação rica em gordura aumenta o número de *Bacteroides* e a microflora anaeróbica total (Singh et al., 2017).

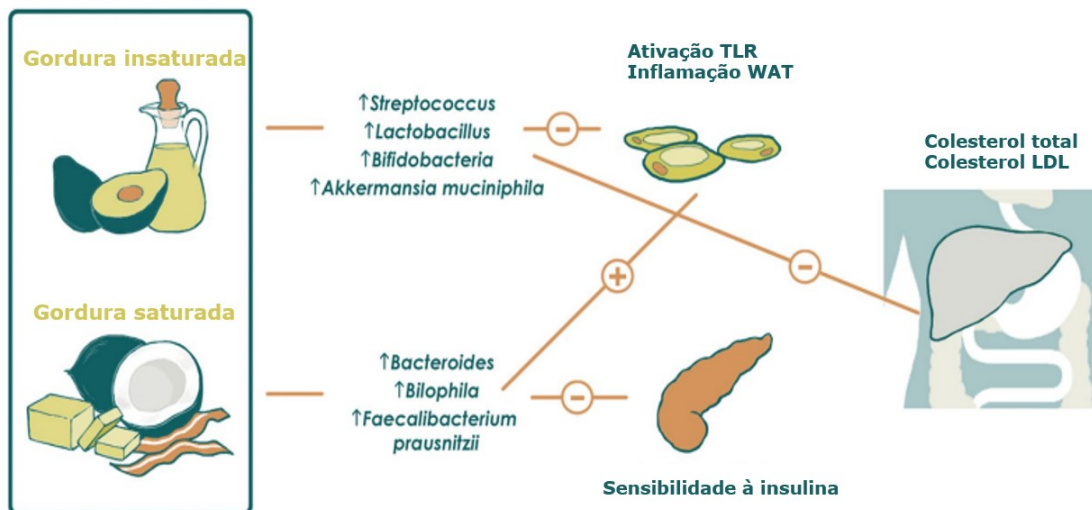


Figura 9: Impacto de gorduras da dieta no microbioma intestinal e no metabolismo do hospedeiro (Adaptado de Singh et al., 2017).

7.1.3. Açúcares na dieta

Devido à sua capacidade de modificar o microbioma intestinal, os carboidratos são, provavelmente, o componente dietético mais bem estudado (Singh et al., 2017).

Os carboidratos, podem ser digeríveis e não digeríveis. Os digeríveis são degradados enzimaticamente no intestino delgado, dos quais fazem parte a frutose, glicose, sacarose e lactose. Após a sua degradação, é libertada glicose na corrente sanguínea, estimulando uma resposta à insulina. Verificou-se que uma alimentação rica em carboidratos digeríveis se traduz numa abundância relativa aumentada de Bifidobactérias, com redução de *Bacteroides* (Tabela 2) (Singh et al., 2017).

Tabela 2: Efeitos dos açúcares naturais e artificiais da dieta no microbioma intestinal (Adaptado de Singh et al., 2017).

	<i>Bifidobacteria</i>	<i>Bacteroides</i>	<i>Clostridia</i>	<i>Lactobacilli</i>
Glicose	↑	↓		
Frutose	↑	↓		
Sacarose	↑	↓		
Lactose	↑	↓	↓	↑
Adoçantes artificiais	↓	↑	↓	↓

Contrariamente ao que sucede com os digeríveis, os carboidratos não digeríveis, como é o caso do amido resistente e da fibra, não são degradados enzimaticamente no intestino delgado, mas sim fermentados pelos microrganismos residentes no intestino grosso. A fibra alimentar, é consequentemente uma ótima fonte de carboidratos acessíveis à microbiota, podendo ser utilizados pelos microrganismos de forma a fornecer ao seu hospedeiro energia e fonte de carbono. É esta propriedade das fibras que permite que as mesmas sejam adicionalmente designadas de prebióticos, constituindo componentes não digeríveis da dieta que beneficiam a saúde do hospedeiro através da estimulação/crescimento ou atividade de determinados microrganismos (Singh et al., 2017).

Verificou-se que uma dieta rica em fibra aumenta a abundância bacteriana total enquanto que uma dieta rica em amido proporciona ainda níveis aumentados de *Roseburia*, *Eubacteria* e *Ruminococcus* (Tabela 3) (Singh et al., 2017).

Tabela 3: Efeitos dos carboidratos não digeríveis no microbioma intestinal (Adaptado de Singh et al., 2017).

	Abundância bacteriana	Abundância de genes	<i>Lactobacilli</i>	<i>Bifidobacteria</i>	<i>Clostridia</i>	<i>Enterococcus</i>	<i>Roseburia</i>	<i>Eubacteria</i>	<i>Ruminococcus</i>
Fibra/prébióticos	↑	↑	↑	↑	↓	↑↓			
Amido resistente	↑	↑	↑	↑			↑	↑	↑

O consumo de fibras é crucial para manter a integridade da função de barreira da mucosa do intestino (Zhao et al., 2018). Para além de que uma dieta rica em fibras promove o controlo da glicémia e consequentemente um perfil metabólico mais saudável em pacientes com Diabetes *Melitus* tipo 2 (DMT2) (Zhao et al., 2018).

De forma contrária, uma dieta rica em proteínas e gorduras, acarreta diminuição da imunidade, aumento da suscetibilidade a infecções e desenvolvimento de doenças metabólicas (Gomaa, 2020).

7.2 Idade

O primeiro ano de vida é considerado o período mais importante do estabelecimento e desenvolvimento do microbioma humano (Ferrie et al., 2021; Fouhy et al., 2019). No nascimento, a diversidade é relativamente baixa mas tende a aumentar com o decorrer do tempo (Gomaa, 2020).

Durante a infância (2-5 anos), o microbioma intestinal torna-se mais estável com vários membros de Firmicutes e Bacteroidetes (Fouhy et al., 2019). Na adolescência, os gêneros *Clostridium* e *Bifidobacterium* são mais prevalentes em relação aos adultos (Fouhy et al., 2019). Por sua vez, o microbioma de um adulto saudável é dominado por Firmicutes e Bacteroidetes, e por proporções menores de Verrucomicrobia, Actinobacteria e Proteobacteria (Fouhy et al., 2019).

Como seria expectável, devido às alterações fisiológicas inevitáveis, o envelhecimento afeta significativamente a composição e estabilidade do microbioma (Robertson et al., 2019). Assim, o microbioma de um organismo idoso tem sido caracterizado por uma diminuição na diversidade microbiana, aumento da quantidade de microrganismos patogénicos e um declínio de espécies produtoras de SCFAs (Gomaa, 2020). De forma geral, os idosos expressam maior quantidade de Enterobactérias e menor quantidade de Bacteroidetes que em comparação com os adultos (Gomaa, 2020).

7.3. Genética do Hospedeiro

(Kurilshikov, Wijmenga, Fu, & Zhernakova, 2017) constataram que os filos Firmicutes, Actinobacteria, Tenericutes e Euryarchaeota mostraram-se mais hereditários, ao contrário do filo Bacteroidetes que apesar de muito abundante se mostrou pouco hereditário. Um outro estudo proporcionou ainda mais evidências de que a genética do hospedeiro contribui significativamente para o microbioma intestinal (C. Chen et al., 2018).

7.4. Fatores Geográficos

A localização geográfica e a etnia têm se demonstrado pertinentes na composição e diversidade do microbioma (Ferrie et al., 2021). Um estudo realizado em indivíduos caucasianos e chineses nos EUA e Hong Kong sugeriu que a composição do microbioma diferia entre países e entre etnias dentro do mesmo país (Cresci & Bawden, 2015).

Alguns estudos constataram que Firmicutes constituem em maior número o microbioma intestinal de adultos em países não industrializados, ao contrário dos países industrializados, onde existe maior proporção de Bacteroidetes (Gomaa, 2020).

7.5. Estilo de vida

Pensa-se que o estilo de vida também possui uma forte influência na composição do microbioma.

Por exemplo, a coabitação com animais de estimação, como cães está associada à composição do microbioma (Gilbert et al., 2018). Um estudo constatou que casais com um animal de estimação possuem mais semelhanças referentes à composição do seu microbioma da pele do que um casal que vive em conjunto, mas sem animal de estimação (Gilbert et al., 2018).

O exercício físico, o *stress*, a privação do sono também podem afetar a composição do microbioma (Gilbert et al., 2018). Em pessoas que têm privação do sono, existe uma maior proporção de Firmicutes para Bacteroidetes e grande abundância de *Coriobacteriaceae* e *Erysipelotrichaceae*. Por outro lado, sabe-se que o *stress* aumenta a permeabilidade intestinal (Gilbert et al., 2018).

7.6. Antibióticos

Os efeitos ao nível do microbioma intestinal da utilização de antibióticos dependem do tipo de antibiótico, bem como da dosagem e duração da administração do mesmo (Lange, Buerger, Stallmach, & Bruns, 2016). Por exemplo, a administração de clindamicina durante dois anos pode levar a alterações no microbioma intestinal sem recuperação na variedade de *Bacteroides*, enquanto que o tratamento com vancomicina poderá causar redução de Bacteroidetes, *Ruminococcus* e *Faecalibacterium* e por outro lado aumentar as espécies de Proteobacteria (Isaac et al., 2017).

É importante realçar que o uso continuado de antibióticos pode promover alterações no microbioma, abrindo caminho para a entrada de microrganismos patogênicos (Ogunrinola et al., 2020), resultando no desenvolvimento e agravamento de doenças (Schwartz et al., 2020).

A administração de antibióticos durante a infância consiste tipicamente em administrações curtas de agentes de espectro relativamente estreito para infecções respiratórias e orofaríngeas (Schwartz et al., 2020).

As características da disbiose pós-antibiótica podem incluir perda de diversidade funcional e taxonômica combinada com a diminuição da resistência à colonização por microrganismos patogênicos, o que se resume num maior risco do aparecimento de resistência aos antimicrobianos (figura 10) (Lange et al., 2016).

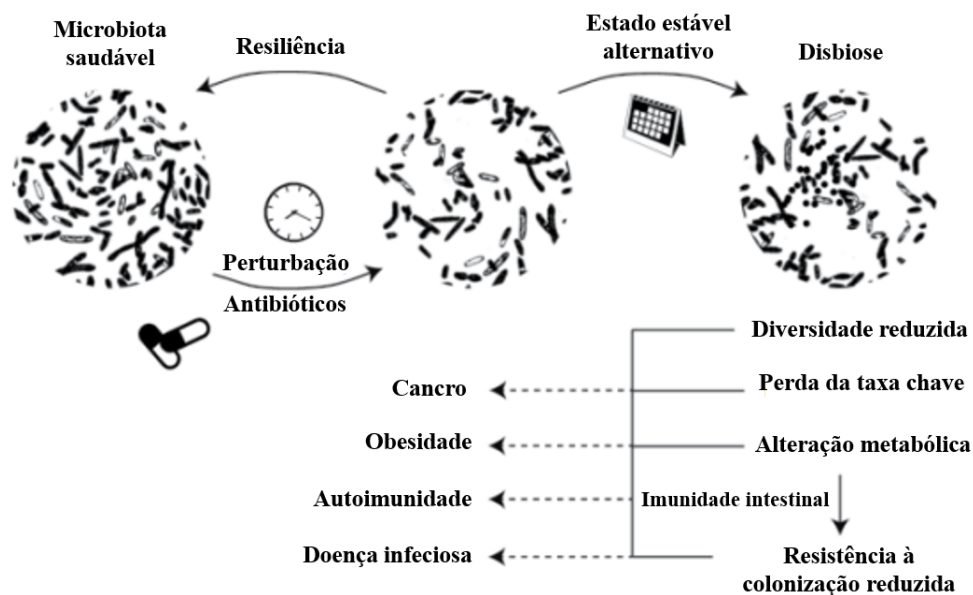


Figura 10: Efeito da disbiose intestinal causada pela administração de antibióticos (Adaptado de Lange et al., 2016).

Até mesmo a administração antibiótica a curto prazo, principalmente nos primeiros dois anos de vida, pode resultar em alterações a longo prazo no microbioma intestinal do hospedeiro (Ogunrinola et al., 2020). A disbiose é detetada principalmente pela reduzida diversidade dos filos Firmicutes e Bacteroidetes e acompanhada, frequentemente, por um excessivo crescimento da família de *Enterobacteriaceae* (Lange et al., 2016).

Um microbioma intestinal estável fornece uma resistência natural contra microrganismos patogênicos invasores, competindo com estes por nutrientes e espaço, que pode ser gravemente afetado após a administração de antibióticos (Lange et al., 2016).

A perturbação da composição da comunidade bacteriana afeta a estrutura da camada de muco e, conseqüentemente a função barreira gastrointestinal do hospedeiro, podendo estar na origem de doenças inflamatórias intestinais (Lange et al., 2016; Schwartz et al., 2020). Para além disso, os metabolitos bacterianos, produzidos por Bifidobactérias, como os ácidos gordos de cadeia curta também se encontram envolvidos na defesa do epitélio do cólon, o que realça a importância do papel protetor desempenhado por um microbioma intestinal saudável e as potenciais conseqüências dos tratamentos com antibióticos que promovem a perda de Bifidobactérias (Lange et al., 2016).

No entanto, deve-se realçar que nem sempre os efeitos pós-antibióticos são negativos para o hospedeiro, uma vez que estes também podem melhorar o metabolismo, reduzir a inflamação e melhorar a função sensorial e desta forma serem benéficos em estados de doença (Tabela 4) (Lange et al., 2016).

Tabela 4: Impacto de diferentes classes de antibióticos no microbioma intestinal e na imunidade do hospedeiro (Adaptado de Lange et al., 2016).

	Alterações na composição microbiana			Emergência de bactérias resistentes a medicamentos		Efeitos na imunidade intestinal
	Gram-positivo	Enterobactéria	Anaeróbios	Gram-positivo	Enterobactéria	
Ceftriaxona	↑	↓↓	–	–/↑	↑	sIgA ↓
Amoxicilina ± BLI	↑	↑	–	–	–	APC ↓ AMP ↓
Ciprofloxacina	–	↓↓	–	–	↑	AMP ↓
Clindamicina	↑	↑	↓↓	↑	↑	?
Metronidazol	–	–	–	–	–	AMP ↑
Metronidazol + Claritromicina	↓	↑	↓	↑	↑	AMP ↓* IIC ↓
Vancomicina	↓/↑	–	↓	↑	↑	AMP ↓* ILF ↓

↓: redução; ↓↓: forte redução; ↑: aumento; ↑↑: forte aumento; –: não altera de forma relevante; ↓/↑: relatórios discrepantes; ?: não reportado; *: em combinação com outras substâncias antimicrobianas.

APC = capacidade de apresentação de antígeno; AMP = peptídeos antimicrobianos (e.g. LL-37, REG3-γ); BLI = β-inibidor de lactamase; sIgA = imunoglobulina A secretora; IIC = células imunes inatas intestinais; ILF = folículos linfoides intestinais.

8. Relação do Microbioma com doença

Alterações decorrentes da composição microbiana, denominadas de disbioses, podem ser desfavoráveis e estar associadas ao desenvolvimento de uma série de doenças (Lloyd-Price et al., 2016; Sidhu & Van Der Poorten, 2017). Desta forma, perceber quais as características que distinguem um microbioma saudável de um não saudável ajudará no diagnóstico destas doenças e conseqüentemente poderá fornecer métodos para prevenir o início da doença ou até mesmo melhorar o seu prognóstico (Lloyd-Price et al., 2016).

No entanto, como já foi referido anteriormente, o microbioma apresenta diferenças interpessoais, mesmo na ausência de doença, pelo que complica a identificação do que poderá ser causador de doença (Lloyd-Price et al., 2016).

Apesar da natureza da disbiose variar de indivíduo para indivíduo e com a condição patológica, reduções na proporção relativa de anaeróbios obrigatórios e aumento de anaeróbios facultativos, incluindo microrganismos patogénicos como *E.coli*, *Proteus*, *Klebsiella*, *Salmonella* e *Shigella* são características comuns de disbiose em humanos e animais de laboratório (Barko et al., 2018).

O desequilíbrio do microbioma intestinal encontra-se particularmente associado a diversas doenças inflamatórias, imunológicas, interligadas com o sistema nervoso, como alergias, doença inflamatória intestinal, autismo, diabetes tipo 1 e 2, cancro, entre outras (figura 11) (Salvucci, 2019; Sidhu & Van Der Poorten, 2017).

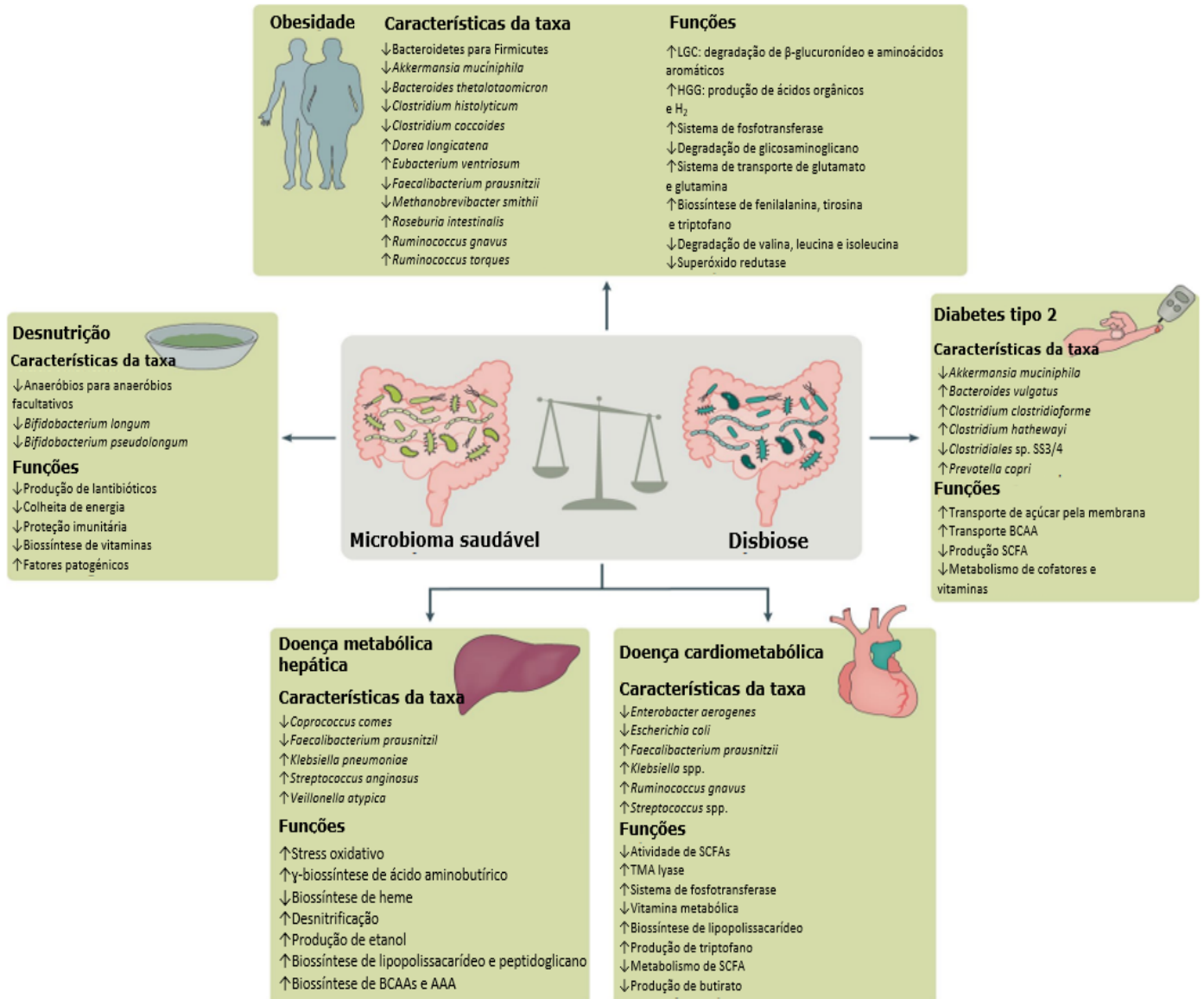


Figura 11: Algumas características taxonômicas e funcionais microbianas intestinais relacionadas com distúrbios metabólicos comuns (Adaptado de Lynch & Pedersen, 2016)

AAA: Aminoácido aromático; BCAA: Aminoácido de cadeia ramificada; HGC: Alta contagem de genes; LGC: Baixa contagem de genes; SCFA: Ácidos gordos de cadeia curta; TMA: Trimetilamina; ↓: Menor abundância em doenças metabólicas quando comparadas com o grupo controle; ↑: Maior abundância em doenças metabólicas quando comparadas com o grupo controle

8.1. Cárie Dentária e Periodontite

O microbioma oral tem sido associado à cárie dentária e periodontite. Nesta última, o agente suspeito é *Porphyromonas gingivalis* (Meisel & Grice, 2017).

A cárie dentária, uma das doenças bucais mais comuns, apresenta-se como a principal causa de dor oral e perda dentária (Verma, Garg, & Dubey, 2018). Esta resulta da complexa interação entre bactérias produtoras de ácido e carboidratos fermentáveis (Zhang et al., 2018). A frequente ingestão de elevados níveis destes carboidratos leva ao aumento da produção de ácido, diminuição da capacidade de tampão salivar e ainda um ambiente de pH ácido (Zhang et al., 2018).

Considera-se que a cárie dentária é causada por uma comunidade complexa de bactérias e não por um único microrganismo (Verma et al., 2018). Algumas espécies dos géneros *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Veillonella*, *Propionibacterium*, *Actinomyces* e a espécie *Streptococcus mutans* encontram-se envolvidos na patogénese da cárie (Zhang et al., 2018), pelo que estes podem ser considerados potenciais biomarcadores no diagnóstico de cáries dentárias (Cong & Zhang, 2018).

Enquanto isso, verificou-se que algumas espécies bacterianas, como *Streptococcus mitis*, *S. pneumoniae*, *Corynebacterium matruchotii*, *Streptococcus gordonii*, *Streptococcus cristatus*, *Capnocytophaga gingivalis* e *Lachnospiraceae* diminuem significativamente à medida que a cárie progride (Zhang et al., 2018).

Zhang e colaboradores (2018) referem que para além das bactérias produtoras de ácido, algumas bactérias também podem produzir amónia a partir da arginina e da ureia e desta forma, aumentar o pH e assim, iniciar a cárie dentária.

A gengivite apresenta-se como uma doença inflamatória reversível causada por uma placa bacteriana residente formada na margem gengival, a qual se não for controlada poderá evoluir para periodontite (irreversível). *Streptococcus*, *Veillonella*, *Prevotella*, *TM7*, *Leptotrichia*, *Selenomonas*, *Leutropia*, *Haemophilus* encontram-se associados à gengivite, podendo ser utilizados como biomarcadores (Zhang et al., 2018).

Porphyromonas gingivalis, *Tannerella forsythia* e *Treponema denticola*, definidos como “complexo vermelho” estão intimamente relacionados com o desenvolvimento da periodontite (Zhang et al., 2018). Após tratamento eficaz, este “complexo vermelho” desaparece ou cai para níveis indetetáveis.

Além das bactérias, leveduras como *Candida albicans* e vírus como vírus do herpes simplex (HSV), citomegalovírus humano (HCMV) e vírus Epstein-Barr (EBV) também foram descritos em biofilmes subgengivais de indivíduos com periodontite (Verma et al., 2018).

Existe uma relação bidirecional entre a diabetes e a periodontite, uma vez que as bactérias associadas à periodontite dificultam o controlo glicémico. Isto advém do facto do lipopolissacarídeo (LPS) produzido por *P. gingivalis*, que se caracteriza por ser um importante microrganismo na patogénese da periodontite, mediar a resistência à insulina, prejudicando desta forma a sua atividade e estimulando a produção de algumas citocinas inflamatórias (Zhang et al., 2018). Por outro lado, as infeções bacterianas também contribuem para a dificuldade em controlar a glicémia, uma vez que reduzem a captação da glicose mediada pela insulina do músculo esquelético (Xiao et al., 2020).

Investigadores relataram que as placas supragengival de diabéticos apresentavam níveis aumentados de *T. denticola*, *Streptococcus sanguinis*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus intermedius* e *Prevotella nigrescens* em comparação com pacientes não diabéticos (Zhang et al., 2018).

Num outro estudo verificou-se que pacientes diabéticos apresentavam maior prevalência de *TM7*, *Aggregatibacter*, *Neisseria*, *Gemella*, *Eikenella*, *Selenomonas*, *Capnocytophaga*, *Actinomyces*, *Fusobacterium*, *Streptococcus* e *Veillonella* e menor de *Eubacterium*, *Synergistetes*, *Tannerella* e *Porphyromonas* em comparação com não diabéticos (Zhang et al., 2018).

A infeção microbiana, associada a microrganismos patogénicos periodontais é um fator de risco importante no desenvolvimento de doenças cardiovasculares (Ostrovská & Gerasimchuk, 2018). Um estudo mostrou que a abundância de *Streptococcus* e *Veillonella* nas placas ateroscleróticas estava associada à sua abundância na cavidade oral (Zhang et al., 2018). *Streptococcus* foi relacionado positivamente com o colesterol HDL e ApoA1 enquanto que *Neisseria* foi relacionada negativamente com esses marcadores. A prevalência de *Fusobacterium* foi relacionada positivamente com o colesterol LDL e o colesterol total (Zhang et al., 2018).

Uma das explicações possíveis para a relação entre a periodontite e o desenvolvimento de doenças cardiovasculares pode ser o acesso dos microrganismos ao sistema circulatório, através das artérias, onde secreta LPS e mediadores inflamatórios, traduzindo-se em complicações cardiovasculares, como agregação plaquetária, lesão vascular endotelial, proliferação do músculo liso e deposição de lípidos (Xiao et al., 2020).

8.2. Síndrome do intestino irritável e Doença inflamatória intestinal

A síndrome do intestino irritável (SII), descrita por dor abdominal, flatulência e hábitos intestinais alterados poderá ser causada pelo aumento da fermentação e produção de gás (Sidhu & Van Der Poorten, 2017).

Estudos confirmaram um aumento de Firmicutes, especialmente *Clostridium* e uma diminuição de *Ruminococcus albus*, *R. callidus*, *R. bromii*, *Bacteroides fragilis* e *B. vulgatus* em pacientes com SII e doença inflamatória intestinal em comparação com pessoas saudáveis (Gomaa, 2020).

A doença inflamatória intestinal (DII) ocorre devido a fatores genéticos, microbianos e fatores ambientais (higiene, dieta, padrões de sono, tabagismo, *stress*, uso de antibióticos) (Schirmer et al., 2018), levando à inflamação intestinal por desencadear uma resposta anormal (Shi, Li, Duan, & Niu, 2017). Podem ser considerados dois tipos: Colite ulcerosa (CU) e Doença de Crohn (DC) (Schirmer et al., 2018).

A doença de Crohn pode influenciar todo o trato gastrointestinal e caracteriza-se pelo envolvimento descontínuo de porções diferentes do intestino, enquanto que a colite ulcerosa é limitada ao reto e ao cólon (Gomaa, 2020). Várias pesquisas confirmam a existência de uma relação direta entre a dieta e os microrganismos em indivíduos suscetíveis a DII (Gomaa, 2020). Por sua vez, uma alimentação rica em frutas e vegetais pode levar ao aumento de SCFAs e reduzir o risco de desenvolver DC (Lane, Zisman, & Suskind, 2017).

Assim, a DII surge com uma diminuição de algumas espécies, como Bacteroidetes e Firmicutes e um aumento de Proteobactérias, Neisseriaceae, Pasteurellaceae, *Veillonella parvula* e *E. coli* em doentes com DC (Lane et al., 2017).

Ao comparar amostras de língua de crianças com DC e crianças saudáveis, verificou-se a redução de vários filos principais, como Fusobacteria e Firmicutes (Xiao et al., 2020). Enquanto que, ao comparar amostras de língua de crianças com CU e crianças saudáveis, verificou-se uma diminuição de Fusobacteria em crianças com CU e maior quantidade de Spirochaetes, Synergistetes e Bacteroidetes (Xiao et al., 2020). Nenhum filo individual das amostras da cavidade oral foram significativamente diferentes entre pacientes com DC/CU e os seus grupos controlo (Xiao et al., 2020).

Em suma, verifica-se que na doença inflamatória intestinal surge um declínio nas bactérias comensais, como Bacteroidetes e Firmicutes e um aumento nas bactérias prejudiciais, como Actinobacteria e Proteobacteria (Shi et al., 2017).

A Síndrome do intestino irritável é uma doença gastrointestinal associada a alterações do eixo microbioma intestino-cérebro, manifestada geralmente em casos de *stress* ou infeção entérica (Osadchiy et al., 2019). Por outro lado, a doença inflamatória intestinal é geralmente associada ao aumento da permeabilidade intestinal, inflamação e destruição do microbioma intestinal (Osadchiy et al., 2019).

Assim, normalmente pacientes com SII ou DII apresentam um declínio na capacidade cognitiva, o que sugere uma potencial relação entre o intestino e as funções cognitivas (Hu, Wang, & Jin, 2016).

8.3. Doença hepática

A doença do fígado gordo não alcoólico é definida como a acumulação de gordura, maioritariamente na forma de triglicéridos nos hepatócitos (Gomaa, 2020). Esta pode evoluir para cirrose hepática ou até mesmo para carcinoma hepatocelular (Gomaa, 2020). A sua patogénese não se encontra totalmente esclarecida, no entanto, pensa-se que alterações a nível do microbioma intestinal do hospedeiro, juntamente com outros fatores, possam estar na sua origem (Betrapally, Gillevet, & Bajaj, 2016).

O aumento da ingestão de álcool resulta num crescimento excessivo de bactérias Gram-negativo, levando a um aumento da permeabilidade intestinal, que por sua vez resulta no aumento da disponibilidade dos metabolitos bacterianos para o fígado e de moléculas pró-inflamatórias, como toxinas bacterianas e Lipopolissacarídeo (LPS) (Betrapally et al., 2016).

Investigadores sugerem baixos níveis de Firmicutes e Bacteroides e níveis significativos de *E. coli* com o surgimento desta doença (Betrapally et al., 2016).

8.4. Obesidade e Aterosclerose

A obesidade define-se por uma doença pandémica, relacionada com vários distúrbios metabólicos (Muñoz-Garach, Diaz-Perdigones, & Tinahones, 2016). Como se sabe, existem vários fatores (genéticos, comportamentais e ambientais) que podem estar

por trás do desenvolvimento da obesidade, no entanto, com o conhecimento atual do microbioma intestinal, é possível constatar que este também apresenta um papel vital no estabelecimento e desenvolvimento desta patologia (Khanna & Tosh, 2014).

O microbioma de pessoas com obesidade possui uma maior capacidade no processo de fermentação e colheita de energia da dieta. Foi ainda relatado que indivíduos com obesidade apresentam maior abundância de *Porphyromonas*, *Campylobacter*, *Bacteroides*, *Staphylococcus* e *Parabacteroides* em relação a pessoas magras (Gomaa, 2020).

A obesidade caracteriza-se por uma relação Bacteroidetes: Firmicutes intestinal alterada, com maior proporção deste último (Singh et al., 2017).

Esta elevada proporção de Firmicutes para *Bacteroides/Prevotella* aumenta os genes microbianos envolvidos com a degradação do polissacárido e aumenta os níveis de SCFAs, o que resulta num aumento da expressão de genes codificadores de enzimas responsáveis pelo metabolismo de carboidratos e produção de SCFAs (Andoh et al., 2016).

De forma muito semelhante, o risco de aterosclerose tem sido associado ao microbioma intestinal, mais concretamente ao aumento do metabolismo da colina e fosfatidilcolina que produzem TMAO (Singh et al., 2017).

Alguns estudos demonstraram que o metabolismo da fosfatidilcolina e da L-carnitina produz Trimetilamina, que sofre consequentemente oxidação dependente da flavina monooxigenase-3 em TMAO, e que elevados níveis circulantes de TMAO consiste num fator de risco para a aterosclerose em humanos (Lynch & Pedersen, 2016).

8.5. Diabetes

Em pessoas com diabetes *mellitus* tipo 1 (DMT1), o microbioma intestinal é constituído por um elevado número de Bacteroidetes, um conjunto de bactérias produtoras de lactato e butirato e diminuição da variedade bacteriana (Gomaa, 2020). A diabetes *mellitus* tipo 2 (DMT2), definida como um distúrbio metabólico crónico, em que o organismo é incapaz de produzir insulina em quantidade suficiente ou de metabolizar a glicose de forma eficaz ainda que consiga produzir insulina, pode resultar de alterações

que ocorrem no microbioma intestinal devido a fatores do estilo de vida ou até mesmo do próprio genótipo do hospedeiro (X. Chen & Devaraj, 2018).

Assim, verificou-se que o microbioma intestinal de pessoas com diabetes apresenta na sua constituição maior proporção de alguns filos, nomeadamente Proteobacteria, Bacteroidetes e Firmicutes, quando comparado com pessoas saudáveis (Gomaa, 2020).

O consumo de fibra apresenta efeitos metabólicos positivos para a saúde, uma vez que aumenta a saciedade, diminui o ganho de peso e os níveis de glicose e colesterol no sangue, diminuindo assim o risco de desenvolver doenças cardiovascular e diabetes *mellitus* tipo 2 (Garud & Pollard, 2020).

Um estudo realizado em indivíduos com diabetes *mellitus* tipo 2, mostrou que estes apresentavam uma diminuição de bactérias produtoras de butirato, como *Roseburia intestinalis* e *Faecalibacterium prausnitzii* e um aumento de *Lactobacillus gasseri*, *Streptococcus mutans* e certas espécies de *Clostridium* (tabela 5), em comparação com indivíduos saudáveis (Muñoz-Garach et al., 2016).

Tabela 5: Espécies bacterianas relacionadas com o aparecimento de resistência à insulina e Diabetes *mellitus* tipo 2 (DMT2) (Adaptado de Muñoz-Garach et al., 2016).

	Aumentou em DM2	Diminuiu em DM2
Filo bacteriano		
Firmicutes	X	
Bacteroidetes		X
Espécies bacterianas		
<i>Roseburia</i>		X
<i>Eubacterium halii</i>		X
<i>Faecalibacterium prausnitzii</i>		X
<i>Lactobacillus gasseri</i>	X	
<i>Streptococcus mutans</i>	X	
<i>Escherichia coli</i>	X	

8.6. Doenças na infância

A etiologia microbiana da cárie na primeira infância deve-se à infecção polibacteriana dos dentes. *Streptococcus mutans* apresenta-se como o principal causador desta patologia devido à sua capacidade de produzir ácido a partir da fermentação de carboidratos assim como pela sua capacidade de tolerar e proliferar em meios com pH ácido. (Xiao et al., 2020). Para além desta espécie, existem ainda outras espécies de *Streptococcus* que se encontram em proporções relativamente aumentadas, nomeadamente *S. salivarius*, *S. sobrinus*, *S. parasanguinis*, *S. wiggsiae* e *S. exigua*. Pelo contrário, *Actinomyces* sofre um decréscimo com o surgimento de cáries dentárias.

Para além de estar envolvido na patogénese da cárie dentária na primeira infância, alterações presentes no microbioma oral parecem estar implicadas no desenvolvimento de outras doenças na infância, como se pode observar na tabela 6.

Tabela 6: Implicações do microbioma oral em doenças infantis (Adaptado de Xiao et al., 2020).

Condição de saúde em criança	Microrganismos orais com aumento da abundância relativa	Microrganismos orais com diminuição da abundância relativa
Cáries na infância	<i>Streptococcus mutans</i> <i>Streptococcus salivarius</i> <i>Streptococcus sobrinus</i> <i>Streptococcus parasanguinis</i> <i>Streptococcus wiggsiae</i> <i>Streptococcus exigua</i> <i>Lactobacillus salivarius</i> <i>Parascardovai denticolens</i> <i>Porphyromonas</i> <i>Veillonella</i> <i>Candida albicans</i>	<i>Actinomyces</i>
Doenças celíacas	<i>Rothia</i> <i>Porphyromonas endodontalis</i> <i>Gemellaceae</i> <i>Prevotella nanceiensis</i> <i>Streptococcus sanguinis</i> <i>Lachnospiraceae</i>	<i>Actinobacteria</i> <i>Actinomyces</i> spp. <i>Atopobium</i> spp. <i>Corynebacterium durum</i>
Autismo	<i>Limnohabitans</i> spp. <i>Planctomycetales</i>	<i>Ramlibacter tataouinensis</i> <i>Mucilaginibacter</i> spp. <i>Bacteroides vulgatus</i> <i>Gemmata</i> spp.
Doença púrpura Henoch- schönlein	<i>Neisseriales</i> <i>Neisseriaceae</i> <i>Neisseria</i> <i>Veillonella</i> <i>Nagativicutes</i> <i>Veillonellales</i> <i>Veillonellaceae</i> <i>Prevotella</i> <i>Prevotellaceae</i> <i>Bacteroidetes</i> <i>Bacteroidia</i> <i>Bacteroidales</i>	<i>Proteobacteria</i> <i>Gamma</i> proteobacteria <i>Pseudomonadales</i> <i>Moraxellaceae</i> <i>Acinetobacter</i> <i>Alphaproteobacteria</i> <i>Pasteurellaceae</i> <i>Pasteurellales</i> <i>Haemophilus</i>
Apendicite pediátrica	<i>Pasteurella stomatis</i>	<i>Eikenella corrodens</i> <i>Fusobacterium nucleatum</i>
Doença inflamatória intestinal pediátrica	<i>Spirochaetes</i> <i>Synergistetes</i> <i>Bacteroidetes</i>	<i>Fusobacteria</i> <i>Firmicutes</i>
Síndrome da apneia obstrutiva do sono pediátrica	<i>Veillonella</i> <i>Prevotella</i> <i>Mogibacterium</i> <i>Campylobacter</i> <i>Butyrivibrio</i>	<i>Thermus</i> <i>Pseudomonas</i> <i>Lautropia</i> <i>Achromobacter</i>

Em relação à doença celíaca, verifica-se que crianças com esta patologia, que cumprem uma dieta isenta de glúten apresentam um microbioma oral com menor diversidade e maior abundância de *Rothia*, *Porphyromonas endodontalis*, *Gemellaceae*, *Prevotella nanceiensis*, *S. sanguinis* e *Lachnospiraceae*, em comparação com crianças saudáveis (Xiao et al., 2020).

Através da análise da tabela 6, é possível verificar que crianças com autismo, apresentam maiores concentrações de *Limnohabitans* spp e *Planctomycetales*. Na apendicite pediátrica, *Pasteurella stomatis* é o principal agente bacteriano, encontrando-se em maior quantidade no microbioma oral das crianças.

De forma semelhante ao que acontece nos adultos, em crianças com doença inflamatória intestinal (DII) verifica-se também uma diminuição de Firmicutes no microbioma oral. Como já tinha sido referido anteriormente, surge ainda um aumento de Spirochaetes, Synergistetes e Bacteroidetes em crianças com esta patologia, comparando com crianças saudáveis.

8.7. Cancro

Sabe-se que a ingestão de alimentos com elevado teor de proteína e gordura animal e baixo teor de fibras está ligada a um risco aumentado de desenvolver cancro do colón e que pelo contrário, uma dieta rica em frutas, vegetais, peixe e cereais integrais está associada a um menor risco (Singh et al., 2017).

Indivíduos suscetíveis ao desenvolvimento de cancro colorretal (CRC) apresentam maior número de espécies produtoras de ácidos biliares secundários e menos produtoras de butirato (Morrison & Preston, 2016).

O envolvimento do microbioma intestinal na patogénese do cancro colorretal foi estudado por vários investigadores, os quais relataram que apesar de não haver um único tipo de microrganismo identificado como causa principal, foram identificados vários microrganismos envolvidos no CRC como *Fusobacterium* (*F. mortiferum*, *F. nucleatum* e *F. necrophorum*) através da sequenciação do rRNA 16s (Gomaa, 2020). Estes dados sugerem que *Fusobacterium* contribui para a patogénese do cancro colorretal por meio de um mecanismo inflamatório (Gomaa, 2020). No entanto, um estudo relatou que pessoas com cancro colorretal apresentaram maiores níveis de *Klebsiela*, *E. coli*, *Streptococcus* e *Enterococcus* e menores níveis de *Rothia* (Gomaa, 2020).

O microbioma intestinal protege o intestino grosso contra o cancro através da produção de butirato a partir da fermentação de constituintes dietéticos mais complexos (Ogunrinola et al., 2020).

De forma semelhante, várias espécies de *Lactobacillus* desempenham igualmente um papel preventivo contra o cancro colorretal (Lau, Sung, & Yu, 2021).

Sugeriu-se que a resposta imune contra células cancerígenas e a ativação de T-regs anti-inflamatórias estão envolvidas nestas proteções. Assim sendo, a disbiose pode induzir mecanismos que se encontram envolvidos na carcinogénese (Lau et al., 2021)

A disbiose também pode estar na origem de cancro do pulmão. Um estudo realizado a 216 aspirados pulmonares de indivíduos com cancro do pulmão, demonstrou colonização por bactérias Gram-negativo, nomeadamente *Enterobacter*, *Escherichia coli* e *Hamemophilus influenza* (Weinberg et al., 2021). Outro estudo comparou amostras orais e expetoração de mulheres não fumadoras com cancro com mulheres não fumadoras sem cancro. Verificou-se que as amostras retiradas das mulheres com cancro apresentavam aumento dos géneros *Granulicatella*, *Abiotrophia* e *Streptococcus* (Weinberg et al., 2021).

8.8. Doenças neurológicas e psiquiátricas

O eixo intestino-cérebro define-se por um sistema de comunicação bidirecional entre o intestino e o sistema nervoso central, que faz com que os microrganismos intestinais comuniquem com o cérebro e vice-versa (Z. Chen, Maqbool, Sajid, Hussain, & Sun, 2021; Salvucci, 2019).

Este desempenha um papel importante no metabolismo da serotonina e do GABA, que se encontram associados à ansiedade, depressão e estados de humor (Salvucci, 2019).

As funções deste eixo são coordenar as funções intestinais e conectar os centros emocionais do cérebro com as funções e mecanismos intestinais periféricos, como a permeabilidade intestinal, o reflexo entérico, ativação imunológica e a sinalização enteroendócrina (Soty, Gautier-Stein, Rajas, & Mithieux, 2017). O eixo microbioma intestino-cérebro tem-se mostrado fundamental para o bem-estar humano e animal, pelo que disfunções neste têm sido implicadas em várias doenças neurológicas e psiquiátricas, que incluem transtornos relacionados com o *stress*, como a ansiedade e depressão, doenças do neurodesenvolvimento como autismo e doenças

neurodegenerativas como doença de Alzheimer, Parkinson e até mesmo Esclerose múltipla (Z. Chen et al., 2021; Sherwin, Rea, Dinan, & Cryan, 2016).

De forma geral, o microbioma intestinal não exerce efeitos sobre o cérebro apenas através do sistema nervoso mas também através do sistema imunológico, endócrino e metabólico (Wang & Wang, 2016).

A principal via de comunicação entre o intestino e o cérebro é o nervo vago (Hasan Mohajeri et al., 2018). No entanto pode haver 5 rotas principais de comunicação entre o eixo intestino-cérebro (figura 13), incluindo a rede neural do cérebro intestinal, eixo neuro endócrino-HPA (Hipotálamo-pituitária-adrenal), sistema imunológico intestinal, neurotransmissores e reguladores neurais produzidos por bactérias intestinais e barreiras, como barreira da mucosa intestinal e barreira hematoencefálica (Wang & Wang, 2016).

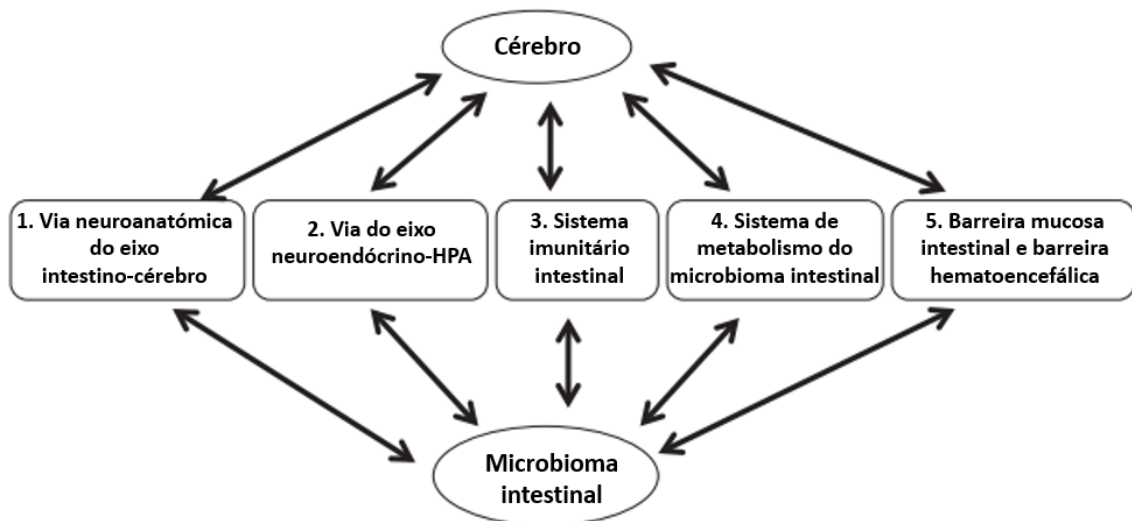


Figura 12: As 5 vias de comunicação possíveis do sistema de comunicação intestino-cérebro (Adaptado de Wang & Wang, 2016).

A comunicação do microbioma intestinal com o sistema nervoso central ocorre principalmente através de intermediários sintetizados a partir dos microrganismos presentes no intestino, como ácidos gordos de cadeia curta, ácidos biliares secundários e metabolitos de triptofano (Osadchiy et al., 2019).

8.8.1. Doença de Alzheimer

A doença de Alzheimer caracteriza-se por uma degenerativa e incapacitante, com perda progressiva de memória e comprometimento cognitivo que afeta o sistema nervoso central (SNC) (Pistollato et al., 2016; Wu, Cao, Chang, & Juang, 2017). Os sintomas desta doença resultam da perda progressiva da função colinérgica causada pela morte de células neuronais essencialmente no córtex cerebral do hipocampo e de outras partes do cérebro que regulam a memória e o processo de pensamento (Pistollato et al., 2016).

Com base em pesquisas existentes, como investigação epidemiológica da Doença de Alzheimer (DA), efeito do microbioma intestinal no comportamento e função do cérebro, bem como o seu efeito na patogénese da depressão, autismo e doença de Parkinson, existem motivos suficientes para pensar que a Doença de Alzheimer tem início no intestino e está relacionada com perturbações no equilíbrio do microbioma intestinal (Osadchiy et al., 2019).

A disbiose resulta num aumento da permeabilidade do intestino e da barreira hematoencefálica (Jiang, Li, Huang, Liu, & Zhao, 2017). Para além disso, o microbioma intestinal também produz uma elevada quantidade de LPS, amiloides e citocinas inflamatórias associadas à doença. Um estudo constatou que o microbioma intestinal de camundongos com DA exibiu maior número de Bacteroidetes e Firmicutes e menor número de géneros de *Akkermansia* e *Allobaculum* em comparação com os saudáveis (Pistollato et al., 2016).

Uma dieta rica em gordura pode levar ao comprometimento cognitivo e distúrbio da memória e aumentar a probabilidade de incidência de Alzheimer (Osadchiy et al., 2019).

O LPS ao entrar na corrente sanguínea induz uma resposta inflamatória grave. Em condições saudáveis, esta endotoxina é bloqueada na corrente sanguínea pelas junções que existem entre as células epiteliais intestinais. Quando estas junções se encontram comprometidas, levam ao aumento da permeabilidade intestinal e consequentemente o LPS entra na corrente sanguínea provocando inflamação (Hu et al., 2016).

O GABA é o principal neurotransmissor inibitório no SNC e uma disfunção deste sistema GABAérgico poderá resultar em comprometimento cognitivo. O aumento de GABA no trato gastrointestinal está correlacionado com o aumento de GABA no SNC. Uma alteração na composição do microbioma intestinal, principalmente uma redução de

Lactobacillus e *Bifidobacterium*, influenciará a produção de GABA no intestino e consequentemente levará à redução de GABA no SNC (Hu et al., 2016).

A serotonina (5-HT) é outro neurotransmissor importante na regulação da função cognitiva (Z. Chen et al., 2021). Cerca de 95% de 5-HT é sintetizado no intestino, pelo que o microbioma intestinal desempenha um papel muito importante na sua síntese (Hu et al., 2016).

O glutamato é o principal neurotransmissor excitatório no SNC, enquanto que o NMDA (glutamato N-metil-D-aspartato) é um dos recetores de glutamato do SNC. Este recetor desempenha papéis muito importantes no neurodesenvolvimento, sendo vital para a memória e aprendizagem (Hu et al., 2016).

A perturbação do microbioma intestinal através da administração de antibióticos reduz significativamente o nível do recetor NMDA no hipocampo (Hu et al., 2016).

As cianobactérias presentes no microbioma intestinal podem produzir β -N-metilamino-L-alanina (BMAA), que se encontra relacionada com o desenvolvimento de Alzheimer. Também a ansiedade, stress, doença inflamatória intestinal ou desnutrição podem induzir ainda mais a produção desta neurotoxina e levar eventualmente à disfunção do SNC (Hu et al., 2016). Outras neurotoxinas produzidas por cianobactérias, como anatoxina- α e saxitoxina podem também levar ao desenvolvimento de doenças neurológicas, principalmente no processo de envelhecimento (Hu et al., 2016). Assim sendo, um aumento do número de cianobactérias constituintes no microbioma intestinal pode resultar num aumento do risco de DA (Hu et al., 2016).

Uma das funções do microbioma intestinal é a produção de todos os tipos de vitaminas necessárias para a saúde do cérebro (Heintz-Buschart & Wilmes, 2018). Alguns estudos realizados confirmaram que a falta de vitamina B12 é um importante fator de risco de demência (Heintz-Buschart & Wilmes, 2018).

Acredita-se que grande parte dos microrganismos estejam associados à DA, principalmente no processo de envelhecimento, uma vez que estes entram mais facilmente no SNC (Osadchiy et al., 2019).

Hu e colaboradores (2016) sugeriram que infeções por *Helicobacter pylori*, *Toxoplasma gondii*, vírus Herpes simplex (HSV), vírus da imunodeficiência humana (HIV), citomegalovírus humano (HCMV) estão associados à patogénese da DA. Em suma, constataram ainda que perturbações no microbioma intestinal podem aumentar as probabilidades de infeções do hospedeiro por microrganismos patogénicos e promover

o aparecimento de DA, enquanto que um microbioma intestinal saudável pode prevenir infecções e reduzir o risco de surgir DA.

Sendo assim, é crucial manter o microbioma intestinal saudável de forma a manter o desenvolvimento e função normal do cérebro (Osadchiy et al., 2019).

8.8.2. Autismo

O transtorno do espectro do autismo (TEA) tem sido relacionado com a disbiose intestinal na forma de uma razão Firmicutes/ Bacteroidetes aumentada e elevados níveis de anaeróbios facultativos (*E. coli*, *Shigella* e o género de fungo *Candida*) (Hills et al., 2019).

Quando comparados com indivíduos saudáveis, a análise do microbioma de indivíduos com autismo mostrou que estes apresentam maior abundância de Proteobacteria e Bacteroidetes e menor de Firmicutes e Bifidobacteria (Gomaa, 2020). Um estudo verificou a existência de melhorias nos sintomas gastrointestinais e neurológicos em 18 crianças com TEA após transplante fecal (Kang et al., 2017).

8.9. COVID-19

A Covid-19, doença causada pelo vírus SARS-CoV-2, foi declarada pandemia pela Organização Mundial de Saúde a 11 de março de 2020 (Chams et al., 2020). Trata-se de uma doença respiratória, com uma ampla gama de variações clínicas, que pode ir desde doença assintomática, em que a pessoa não apresenta sintomatologia, ou leve com tosse, até pneumonia grave com falência de diversos órgãos e síndrome respiratória aguda grave (Yamamoto et al., 2021).

Esta síndrome é causada por uma cascata de citocinas, que inclui interleucinas (IL), fator de necrose tumoral (TNF) e fator estimulador de colónias de granulócitos (G-CSF) (Yamamoto et al., 2021). Um estudo sobre doentes com Covid-19, evidenciou que doentes na unidade de cuidados intensivos (UCI) apresentavam abundância destas citocinas inflamatórias em comparação com doentes fora da UCI. A revisão de Yamamoto e colaboradores (2021), através da análise de vários estudos, relacionou a COVID-19 com o microbioma humano, por meio de amostras retiradas de fezes, nasofaringe/garganta e expetoração, e tecido pulmonar.

Verificou-se que doentes com COVID-19 apresentavam disbiose a nível do microbioma intestinal quando comparados com o grupo controlo, com aumento de microrganismos patogénicos oportunistas (microrganismos que fazem parte da microbiota comensal que se podem tornar patogénicos em situações de disbiose ou comprometimento do sistema imunitário do hospedeiro). Estes patogénicos oportunistas incluíam *Clostridium hathewayi*, *Actinomyces viscosus* e *Bacteroides nordii* no momento do internamento, tendo esta disbiose persistindo até os testes se tornarem negativos.

Outro estudo, constatou ainda a presença de outros patogénicos oportunistas em amostras de fezes, como *Streptococcus*, *Rothia*, *Veillonella*, *Collinsella aerofaciens* e *Morganella morganii*. Pelo contrário, em doentes com baixa inefetividade por SARS-CoV-2 verificou-se aumento de *Parabacteroides*, *Bacteroides*, *Roseburia*, *Faecalibacterium* e *Lachnospiraceae*, produtores de SCFAs, conhecidos por aumentar a imunidade do hospedeiro.

O microbioma do trato respiratório superior em doentes com COVID-19 foi também analisado e descreveu-se que o microbioma da garganta de doentes com COVID-19 incluía principalmente *Haemophilus parainfluenza*, *Neisseria cinerea*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus bovis*, *Leptotrichia buccalis* e *Rothia mucilaginosa*. Os autores do estudo também verificaram uma diminuição da diversidade de todos os filos bacterianos perscrutados, como Proteobacteria e Bacteroidetes por exemplo, em adultos mais velhos do que nos mais jovens, ambos com a doença, o que poderia explicar as diferenças de gravidade.

Um estudo que analisou o microbioma do trato respiratório inferior descobriu que o microbioma de doentes com COVID-19 era semelhante ao de doentes com pneumonia adquirida na comunidade. No entanto, o microbioma de ambos os grupos apresentava diferenças do microbioma de indivíduos saudáveis.

Um outro estudo, baseado em sequências 16s de rRNA, evidenciou *Acinetobacter* como o género bacteriano mais comum, seguindo-se por *Chryseobacterium*, *Burkholderia*, *Brevundimonas*, *Enterobacterias* e *Sphingobium* no tecido pulmonar de indivíduos falecidos com COVID-19.

Em suma, vários estudos têm demonstrado a relação do microbioma humano com a doença. No entanto, o conhecimento de qual microbioma contribui para COVID-19 permanece ainda obscuro, e dado o impacto que esta doença tem tido na população em todo o mundo, são necessárias mais pesquisas do microbioma, incluindo estudos de vários

países e etnias, dados longitudinais (por exemplo pós hospitalização) e evidências de gravidade.

9. O Microbioma como um Alvo Terapêutico

Devido à flexibilidade característica do microbioma, a possibilidade de explorá-lo poderá estar na origem do desenvolvimento de novas terapêuticas medicamentosas ou não medicamentosas.

Várias doenças inflamatórias e autoimunes, como asma, diabetes tipo 1 e 2, DII, entre outras, podem ser tratadas através da restauração ou modulação do microbioma, isto é, restabelecimento de um microbioma mais diverso e saudável (Salvucci, 2019).

A modulação do microbioma tem como objetivo intervir na sintomatologia ou nas causas das doenças, com o intuito de melhorar o estado de saúde. Isto pode ser atingido através de bactérias que causam efeito benéfico (probióticos), por componentes da dieta (prebióticos) ou ainda pela junção de ambos (simbióticos) (Salvucci, 2019).

Assim sendo, a manipulação terapêutica do microbioma intestinal é normalmente efetuada através da modificação da dieta, administração de prebióticos, probióticos e antibióticos, e mais recentemente transplante bacteriano fecal (Barko et al., 2018).

Desta forma, o equilíbrio do microbioma intestinal apresenta-se provavelmente como um tratamento eficaz de doenças inflamatórias crônicas (Shi et al., 2017).

9.1. Probióticos

A Organização Mundial de Saúde define probióticos como bactérias ou leveduras vivas que, quando administradas em quantidades adequadas, conferem benefício à saúde do consumidor (Sidhu & Van Der Poorten, 2017).

Em estudos realizados em humanos e animais, constatou-se que a utilização de probióticos está associada a níveis mais elevados de ácidos gordos de cadeia curta, e que estes têm demonstrado efeito anti-inflamatório, ansiolítico e antidepressivo bem sucedido (Salvucci, 2019).

Estes são microrganismos semelhantes às bactérias comensais encontradas no intestino, como é o caso de *Bifidobacterium* e *Lactobacillus* (Garud & Pollard, 2020), microrganismos muito utilizados atualmente como probióticos no tratamento de doenças alérgicas (Ogunrinola et al., 2020) e nos quais se observa uma elevada atividade da enzima hidrólase de sais biliares (BSH) (Dixit, Chaudhari, Dhotre, Shouche, & Saroj, 2021). Para além de ter efeito na composição do microbioma, esta enzima atua também a nível do metabolismo biliar, na desintoxicação e redução dos níveis de colesterol.

Sabe-se que o nível elevado de colesterol no sangue é um dos principais fatores de risco para o aparecimento de doenças cardiovasculares e que, apesar de existir terapêutica farmacológica disponível para esta patologia, esta pode resultar em efeitos secundários e tornar-se dispendiosa quando utilizada em doentes crónicos (Dixit et al., 2021). Por essa razão, a administração oral destes probióticos supramencionados pode ser considerada uma terapêutica benéfica, uma vez que reduz significativamente os níveis de colesterol no sangue, graças à ação da atividade da BSH.

Hoje em dia, os probióticos bacterianos mais bem estudados são *Lactobacillus*, *Lactococcus* e *Bifidobacterium*, e a levedura *Saccharomyces boulardii* (Sidhu & Van Der Poorten, 2017).

Os probióticos colonizam temporariamente o intestino do hospedeiro, podendo exercer efeitos benéficos através do aumento da barreira intestinal, regulação negativa da produção de citocinas inflamatórias, antagonismo de patogénicos e ainda estimulação da secreção de IgA (Sidhu & Van Der Poorten, 2017).

Os mecanismos propostos pelos quais os probióticos melhoram a saúde do hospedeiro incluem aumento da secreção de mucinas pelas células caliciformes, aumento da secreção de defensinas que previnem a colonização de agentes patogénicos, redução da permeabilidade intestinal, produção de SCFAs, estimulação da secreção de IgAs e diminuição do pH luminal (Barko et al., 2018).

Pensa-se que os probióticos atuem através da competição com potenciais microrganismos patogénicos por nutrientes ou locais de adesão, melhoria da integridade da barreira intestinal, modulação da proliferação celular e apoptose, estimulação e modulação do sistema imunológico da mucosa ou pela eliminação ou inibição do crescimento de microrganismos patogénicos por meio da produção de bacteriocinas ou outros produtos (Zhang et al., 2018).

Está comprovado que os probióticos orais são benéficos no tratamento da gastroenterite, diarreia, síndrome do intestino irritável e doença inflamatória intestinal (Salvucci, 2019). Os probióticos orais fornecidos a bebés foram considerados igualmente benéficos no tratamento da dermatite atópica (Salvucci, 2019).

Os probióticos podem fornecer vários benefícios à saúde através da normalização da flora e motilidade intestinal, excluindo microrganismos patogénicos e aumentando a produção de ácidos gordos de cadeia curta (Hills et al., 2019).

Existem evidências clínicas que apoiam a utilização de probióticos no tratamento de diarreia infecciosa aguda, diarreia associada a antibióticos, diarreia associada a *C.*

difficile, síndrome do intestino irritável e colite ulcerosa, mas não existe evidência da sua utilização em casos de doença de crohn ou pancreatite aguda (Hills et al., 2019).

De forma a melhorar os sintomas gastrointestinais, foram estudadas diferentes espécies probióticas, apesar de não ser totalmente claro quais é que são as mais benéficas. Várias espécies de *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* e *Akkermansia* têm sido consideradas benéficas para o hospedeiro, de tal forma que estão incluídas em diversas preparações probióticas. No entanto, géneros como *Ruminococcus* e *Bacteroides* estão associados a resultados negativos para a saúde humana (Hills et al., 2019).

9.2. Prebióticos

De todos os fatores que afetam a composição do microbioma, a dieta é provavelmente um dos mais importantes (Dixit et al., 2021). Os prebióticos são ingredientes alimentares, não digeríveis, provenientes da dieta, que ao estimularem seletivamente o crescimento e/ou atividade de certas bactérias providenciam um efeito benéfico no hospedeiro (Dixit et al., 2021).

Apesar de existirem menos estudos, os potenciais benefícios da suplementação com prebióticos, principalmente pela adição de polissacáridos derivados de plantas, é a base do tratamento envolvido na alteração do microbioma intestinal (Barko et al., 2018).

Estes prebióticos, incluem inulina, polissacáridos sem amido, dissacarídeos (lactulose) e polissacáridos, incluindo galactooligossacaridos (GOS) e frutooligossacaridos (FOS) (Barko et al., 2018; Garud & Pollard, 2020).

Os prebióticos, como GOS e FOS apresentam melhores perfis microbianos, aumentando Bifidobacterias e diminuindo *E. coli* (Garud & Pollard, 2020).

Pretende-se que um prebiótico apresente os seguintes requisitos: não seja digerido por enzimas intestinais no trato gastrointestinal; seja fermentado pela microbiota intestinal; estimule seletivamente a diversidade e o crescimento de bactérias benéficas e que apresente um efeito positivo na saúde do hospedeiro (Hills et al., 2019).

Os prebióticos são fermentados por bactérias presentes no cólon, dando origem a produtos finais como os SCFAs, que fornecem nutrientes essenciais ao epitélio entérico (Barko et al., 2018).

Podem estimular o crescimento e a atividade de microrganismos benéficos e inibir simultaneamente o crescimento e a atividade de bactérias potencialmente prejudiciais (Zhang et al., 2018).

Por exemplo, a administração oral de butirato demonstrou, através do nervo vago, atuar no sistema intestino-cérebro, reduzindo a ingestão de alimentos e prevenindo a obesidade induzida pela dieta, hipertrigliceridemia, hiperinsulinemia e doença hepática. Assim, esta descoberta de que o butirato possa melhorar o metabolismo energético sem provocar qualquer efeito nocivo no hospedeiro, sugere que a suplementação oral deste evidencie uma estratégia promissora no combate à doença cardiometabólica (Garud & Pollard, 2020).

9.3. Transplante Bacteriano Fecal

Em humanos, o transplante bacteriano fecal (FMT), igualmente denominado por bacterioterapia fecal, tem sido utilizado com sucesso no tratamento de doenças intestinais, como é o caso da CU, devido a bactérias resistentes a antibióticos (Ibáñez et al., 2019).

O transplante do microbioma fecal apresentou-se eficaz em aproximadamente 90% dos pacientes afetados com diarreia causada por infecção de *C.difficile* (Lynch & Pedersen, 2016).

A primeira vez que esta terapêutica foi realizada foi em 1958, no tratamento de humanos com colite pseudomembranosa, no qual todos os 4 doentes sobreviveram (Barko et al., 2018; Sidhu & Van Der Poorten, 2017).

O processo por trás do transplante do microbioma fecal é relativamente simples e envolve a substituição ou reposição de microrganismos constituintes da flora bacteriana de um indivíduo saudável para um indivíduo que apresente alguma patologia a nível intestinal, e por isso sofra de disbiose intestinal (Barko et al., 2018). Assim, o principal objetivo desta terapêutica é de restabelecer o equilíbrio microbiano a nível intestinal (Dixit et al., 2021).

Os doadores são examinados para todos os microrganismos patogênicos transmitidos pelo sangue e fezes, estes devem ser saudáveis, magros e isentos de qualquer doença potencialmente transmissíveis por bactérias intestinais (Sidhu & Van Der Poorten, 2017). As fezes doadas são misturadas com solução salina/glicerol estéril, podendo ser fornecidas frescas ou congeladas. Estas últimas, quando congeladas a -80°C são viáveis e eficazes por pelo menos um período de 6 a 9 meses (Sidhu & Van Der Poorten, 2017).

De forma geral, este procedimento é seguro e os efeitos adversos como diarreia, inchaço e febre baixa tendem a se resolver em 48h. Efeitos adversos mais graves, associados ao procedimento endoscópico, como perfuração e aspiração intestinal são raros (Sidhu & Van Der Poorten, 2017).

Os efeitos adversos a longo prazo, por sua vez ainda não se encontram totalmente conhecidos, mas pensa-se que possam incluir a indução de doenças crônicas relacionadas com as alterações nas bactérias intestinais ou a transmissão de microrganismos infecciosos que ainda não sejam reconhecidos atualmente (Sidhu & Van Der Poorten, 2017).

9.4. Antibióticos

A manipulação terapêutica do microbioma também pode ser efetuada através da administração de antibióticos (Barko et al., 2018; Schwartz et al., 2020). Quando administrados oralmente e em doses elevadas podem proporcionar rápidas alterações na microbiota intestinal (Hills et al., 2019).

A manipulação de bactérias intestinais com antibióticos como metronidazol e ciprofloxacina tem sido utilizado há muito tempo no tratamento de distúrbios intestinais como é exemplo a doença de Crohn (Schwartz et al., 2020).

Um estudo efetuado recentemente em cães saudáveis, revelou que o antibiótico metronidazol diminui a diversidade bacteriana fecal, mas aumenta a proporção de bactérias consideradas, supostamente como benéficas, como é o caso de *Bifidobacterium* (Barko et al., 2018).

Recentemente, a rifaximina, antibiótico de amplo espectro, ganhou preferência devido à sua eficácia na encefalopatia hepática e no baixo potencial de desenvolver resistência bacteriana (Sidhu & Van Der Poorten, 2017).

9.5. Outras terapêuticas em estudo

Um outro estudo, verificou que a aplicação oral de um análogo estrutural da colina, 3,3-dimetil-1-butanol, inibiu a produção de trimetilamina, reduzindo consequentemente os níveis plasmáticos de TMAO e dessa forma prevenir aterosclerose (Lynch & Pedersen, 2016) (figura 13).

Verificou-se também que a administração de *Bacteroides fragilis* a ratos com comportamentos de ansiedade demonstrou melhorias neste quadro clínico (Lynch & Pedersen, 2016).

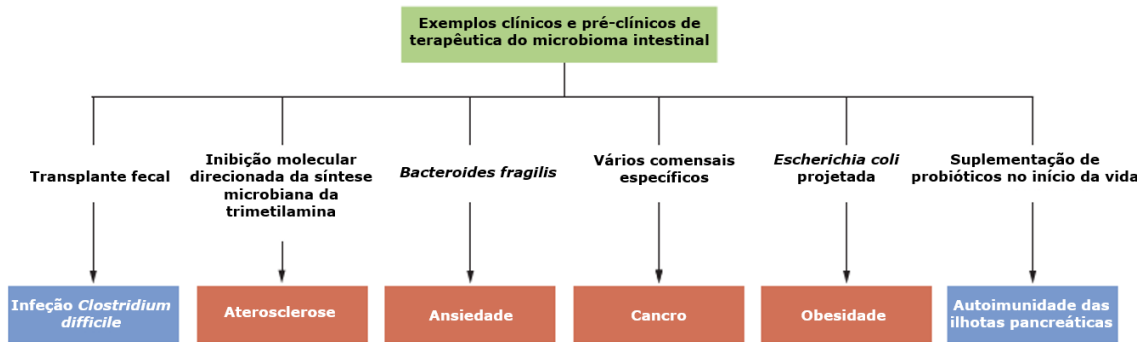


Figura 13: Microbiota intestinal e comensais específicos como potenciais agentes preventivos ou terapêuticos. Os estudos clínicos identificam-se a azul e a vermelho os estudos pré-clínicos (Adaptado de Lynch & Pedersen, 2016).

10. Conclusão e Perspetivas futuras

Através da deteção, identificação e sequenciação de bacteriófagos no trato gastrointestinal foi possível revelar populações virais, de grande complexidade e previamente esquecidas, com potenciais papéis na regulação da composição geral do microbioma, assim como na progressão e tratamento de distúrbios intestinais e sistémicos (Shkoporov & Hill, 2019). Um grande obstáculo para a aplicação de diagnósticos e terapêuticas baseadas em fagos é a falta de informação relativamente à estrutura, dinâmica e função do fagoma intestinal normal. Desta forma são necessários estudos transversais em maior escala, de maneira a resolver a falta de conhecimento sobre o impacto da idade, sexo, variações genéticas e geográficas (Shkoporov & Hill, 2019).

Como já referido anteriormente, o microbioma intestinal constitui uma parte complexa e essencial do nosso organismo, fornece suporte vital para as funções metabólicas e proteção contra microrganismos patogénicos e doenças. A disbiose encontra-se associada a vários estados de doença, e por isso deve ser considerada como um alvo terapêutico e futuras pesquisas (Sidhu & Van Der Poorten, 2017).

O microbioma pode ser considerado um novo biomarcador para certas doenças (Gilbert et al., 2018), pelo que é necessário ter conhecimento das alterações a nível do microbioma que ocorrem em cada doença e quais os microrganismos responsáveis (Dominguez-Bello et al., 2019).

O rápido desenvolvimento de tecnologia de sequenciação, de última geração, permitiu fornecer mais informações relativas ao genoma humano, assim como sobre a composição do microbioma, ajudando na determinação de quais microrganismos estão relacionados com o desenvolvimento de doenças (Shi et al., 2017), contudo, a diversidade interpessoal, mesmo na ausência de doença, no microbioma humano dificulta a definição de uma comunidade idealizada de microrganismos específicos (Ruan et al., 2020).

Na verdade, a maior parte do microbioma saudável ainda permanece indefinido (Ferrie et al., 2021; Giles & Couper, 2020), no entanto, o seu estudo é fulcral, pois fornece uma compreensão aprimorada da interação entre o humano e o seu microbioma, pelo que o conhecimento mais profundo do microbioma humano contribuirá para um melhor entendimento da forma como as doenças influenciam as funções microbianas, e desta

forma, permitir prever melhor o impacto deste e facilitar estratégias aprimoradas de saúde humana (Ogunrinola et al., 2020).

Neste sentido, conclui-se que ainda existe um longo caminho a atravessar, ainda assim tem-se esperança de que num futuro próximo surjam mais avanços nesta área, nomeadamente novas formas de tratamento de diversas patologias associadas ao microbioma humano.

11. Referências Bibliográficas

- About Chacra, L., & Fenollar, F. (2021). Exploring the global vaginal microbiome and its impact on human health. *Microbial Pathogenesis*, 160(February), 19–21. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2021.105172>
- Andoh, A., Nishida, A., Takahashi, K., Inatomi, O., Imaeda, H., Bamba, S., ... Kobayashi, T. (2016). Comparison of the gut microbial community the Society for Free Radical Research Japan 10.3164/j5c2 .15-152 1880 50860912-0009 JJCBN Kyj bn15-1 b Original Article c oto, Japan urnal of Clinical Biochemistry and Nutrition between obese and lean peoples usi. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*, 58(1), 7–15. <https://doi.org/10.3164/jcbn.15>
- Barko, P. C., McMichael, M. A., Swanson, K. S., & Williams, D. A. (2018). The Gastrointestinal Microbiome: A Review. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 32(1), 9–25. <https://doi.org/10.1111/jvim.14875>
- Betrapally, N. S., Gillevet, P. M., & Bajaj, J. S. (2016). Changes in the Intestinal Microbiome and Alcoholic and Nonalcoholic Liver Diseases: Causes or Effects? *Gastroenterology*, 150(8), 1745-1755.e3. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2016.02.073>
- Chams, N., Chams, S., Badran, R., Shams, A., Araji, A., Raad, M., ... Hajj Hussein, I. (2020). COVID-19: A Multidisciplinary Review. *Frontiers in Public Health*, 8(July), 1–20. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2020.00383>
- Chen, C., Huang, X., Fang, S., Yang, H., He, M., Zhao, Y., & Huang, L. (2018). Contribution of Host Genetics to the Variation of Microbial Composition of Cecum Lumen and Feces in Pigs. *Frontiers in Microbiology*, 9(October), 1–13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02626>
- Chen, L., Li, J., Zhu, W., Kuang, Y., Liu, T., Zhang, W., ... Peng, C. (2020). Skin and Gut Microbiome in Psoriasis: Gaining Insight Into the Pathophysiology of It and Finding Novel Therapeutic Strategies. *Frontiers in Microbiology*, 11(December), 1–15. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.589726>
- Chen, X., & Devaraj, S. (2018). Gut Microbiome in Obesity, Metabolic Syndrome, and Diabetes. *Current Diabetes Reports*, 18(12), 1–6. <https://doi.org/10.1007/s11892-018-1104-3>
- Chen, Z., Maqbool, J., Sajid, F., Hussain, G., & Sun, T. (2021). Human gut microbiota and its association with pathogenesis and treatments of neurodegenerative diseases.

- Microbial Pathogenesis*, 150(October 2020).
<https://doi.org/10.1016/j.micpath.2020.104675>
- Clemente, J. C., Manasson, J., & Scher, J. U. (2018). The role of the gut microbiome in systemic inflammatory disease. *BMJ (Online)*, 360, 1–16.
<https://doi.org/10.1136/bmj.j5145>
- Cong, J., & Zhang, X. (2018). How human microbiome talks to health and disease. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 37(9), 1595–1601. <https://doi.org/10.1007/s10096-018-3263-1>
- Cresci, G. A., & Bawden, E. (2015). Gut microbiome: What we do and don't know. *Nutrition in Clinical Practice*, 30(6), 734–746.
<https://doi.org/10.1177/0884533615609899>
- Das, S., Khanna, C., Singh, S., Nandi, S., & Verma, R. (2020). Impact of human microbiome on health. *Microbial Diversity, Interventions and Scope*, 349–373.
https://doi.org/10.1007/978-981-15-4099-8_20
- 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. <https://doi.org/10.1016/j.trsl.2012.05.003>
- Dinan, T. G., & Cryan, J. F. (2017). Gut instincts: microbiota as a key regulator of brain development, ageing and neurodegeneration. *Journal of Physiology*, Vol. 595, pp. 489–503. <https://doi.org/10.1113/JP273106>
- Dixit, K., Chaudhari, D., Dhotre, D., Shouche, Y., & Saroj, S. (2021). Restoration of dysbiotic human gut microbiome for homeostasis. *Life Sciences*, 278(May).
<https://doi.org/10.1016/j.lfs.2021.119622>
- Dominguez-Bello, M. G., Godoy-Vitorino, F., Knight, R., & Blaser, M. J. (2019). Role of the microbiome in human development. *Gut*, 68(6), 1108–1114.
<https://doi.org/10.1136/gutjnl-2018-317503>
- Ferrie, S., Webster, A., Wu, B., Tan, C., & Carey, S. (2021). Gastrointestinal surgery and the gut microbiome: a systematic literature review. *European Journal of Clinical Nutrition*, 75(1), 12–25. <https://doi.org/10.1038/s41430-020-0681-9>
- Fouhy, F., Watkins, C., Hill, C. J., O'Shea, C. A., Nagle, B., Dempsey, E. M., ... Stanton, C. (2019). Perinatal factors affect the gut microbiota up to four years after birth. *Nature Communications*, 10(1), 1–10. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-09252-4>
- Garud, N. R., & Pollard, K. S. (2020). Population Genetics in the Human Microbiome. *Trends in Genetics*, 36(1), 53–67. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2019.10.010>

- Gilbert, J. A., Blaser, M. J., Caporaso, J. G., Jansson, J. K., Lynch, S. V., & Knight, R. (2018). Current understanding of the human microbiome. *Nature Medicine*, 24(4), 392–400. <https://doi.org/10.1038/nm.4517>
- Giles, E. M., & Couper, J. (2020). Microbiome in health and disease. *Journal of Paediatrics and Child Health*, 56(11), 1735–1738. <https://doi.org/10.1111/jpc.14939>
- Gomaa, E. Z. (2020). Human gut microbiota/microbiome in health and diseases: a review. *Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology*, 113(12), 2019–2040. <https://doi.org/10.1007/s10482-020-01474-7>
- Hasan Mohajeri, M., La Fata, G., Steinert, R. E., & Weber, P. (2018). Relationship between the gut microbiome and brain function. *Nutrition Reviews*, 76(7), 481–496. <https://doi.org/10.1093/nutrit/nuy009>
- Heintz-Buschart, A., & Wilmes, P. (2018). Human Gut Microbiome: Function Matters. *Trends in Microbiology*, 26(7), 563–574. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2017.11.002>
- Hills, R. D., Pontefract, B. A., Mishcon, H. R., Black, C. A., Sutton, S. C., & Theberge, C. R. (2019). Gut microbiome: Profound implications for diet and disease. *Nutrients*, 11(7), 1–40. <https://doi.org/10.3390/nu11071613>
- Honda, K., & Littman, D. R. (2016). The microbiota in adaptive immune homeostasis and disease. *Nature*, 535(7610), 75–84. <https://doi.org/10.1038/nature18848>
- Hu, X., Wang, T., & Jin, F. (2016). Alzheimer’s disease and gut microbiota. *Science China Life Sciences*, 59(10), 1006–1023. <https://doi.org/10.1007/s11427-016-5083-9>
- Huseyin, C. E., O’Toole, P. W., Cotter, P. D., & Scanlan, P. D. (2017). Forgotten fungi—the gut mycobiome in human health and disease. *FEMS Microbiology Reviews*, 41(4), 479–511. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuw047>
- Ibáñez, L., Rouleau, M., Wakkach, A., & Blin-Wakkach, C. (2019). Gut microbiome and bone. *Joint Bone Spine*, 86(1), 43–47. <https://doi.org/10.1016/j.jbspin.2018.02.008>
- Isaac, S., Scher, J. U., Djukovic, A., Jiménez, N., Littman, D. R., Abramson, S. B., ... Ubeda, C. (2017). Short- and long-term effects of oral vancomycin on the human intestinal microbiota. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 72(1), 128–136. <https://doi.org/10.1093/jac/dkw383>
- Jiang, C., Li, G., Huang, P., Liu, Z., & Zhao, B. (2017). The Gut Microbiota and Alzheimer’s Disease. *Journal of Alzheimer’s Disease*, 58(1), 1–15. <https://doi.org/10.3233/JAD-161141>

- Kaan, A. M., Kahharova, D., & Zaura, E. (2021). Acquisition and establishment of the oral microbiota. *Periodontology* 2000, 86(1), 123–141. <https://doi.org/10.1111/prd.12366>
- Kang, D. W., Adams, J. B., Gregory, A. C., Borody, T., Chittick, L., Fasano, A., ... Krajmalnik-Brown, R. (2017). Microbiota Transfer Therapy alters gut ecosystem and improves gastrointestinal and autism symptoms: An open-label study. *Microbiome*, 5(1), 1–16. <https://doi.org/10.1186/s40168-016-0225-7>
- 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. <https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2013.10.011>
- Kurilshikov, A., Wijmenga, C., Fu, J., & Zhernakova, A. (2017). Host Genetics and Gut Microbiome: Challenges and Perspectives. *Trends in Immunology*, 38(9), 633–647. <https://doi.org/10.1016/j.it.2017.06.003>
- Laforest-Lapointe, I., & Arrieta, M.-C. (2018). Microbial Eukaryotes: a Missing Link in Gut Microbiome Studies. *MSystems*, 3(2), 1128. <https://doi.org/10.1128/msystems.00201-17>
- Lane, E. R., Zisman, T. L., & Suskind, D. L. (2017). The microbiota in inflammatory bowel disease: Current and therapeutic insights. *Journal of Inflammation Research*, 10, 63–73. <https://doi.org/10.2147/JIR.S116088>
- Lange, K., Buerger, M., Stallmach, A., & Bruns, T. (2016). Effects of Antibiotics on Gut Microbiota. *Digestive Diseases*, 34(3), 260–268. <https://doi.org/10.1159/000443360>
- Lau, H. C. H., Sung, J. J. Y., & Yu, J. (2021). Gut microbiota: impacts on gastrointestinal cancer immunotherapy. *Gut Microbes*, 13(1), 1–21. <https://doi.org/10.1080/19490976.2020.1869504>
- Lloyd-Price, J., Abu-Ali, G., & Huttenhower, C. (2016). The healthy human microbiome. *Genome Medicine*, 8(1), 1–11. <https://doi.org/10.1186/s13073-016-0307-y>
- Lynch, S. V., & Pedersen, O. (2016). The Human Intestinal Microbiome in Health and Disease. *New England Journal of Medicine*, 375(24), 2369–2379. <https://doi.org/10.1056/nejmra1600266>
- Marco, M. L. (2021). Defining how microorganisms benefit human health. *Microbial Biotechnology*, 14(1), 35–40. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.13685>
- Meisel, J. S., & Grice, E. A. (2017). The Human Microbiome. *Genomic and Precision Medicine: Foundations, Translation, and Implementation: Third Edition*, 63–77. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800681-8.00004-9>

- Morgan, X. C., Segata, N., & Huttenhower, C. (2013). Biodiversity and functional genomics in the human microbiome. *Trends in Genetics*, 29(1), 51–58. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2012.09.005>
- Morrison, D. J., & Preston, T. (2016). Formation of short chain fatty acids by the gut microbiota and their impact on human metabolism. *Gut Microbes*, 7(3), 189–200. <https://doi.org/10.1080/19490976.2015.1134082>
- Muñoz-Garach, A., Diaz-Perdigones, C., & Tinahones, F. J. (2016). Gut microbiota and type 2 diabetes mellitus. *Endocrinología y Nutrición*, 63(10), 560–568. <https://doi.org/10.1016/j.endonu.2016.07.008>
- Neugent, M. L., Hulyalkar, N. V., Nguyen, V. H., Zimmern, P. E., & De Nisco, N. J. (2020). Advances in understanding the human urinary microbiome and its potential role in urinary tract infection. *MBio*, 11(2), 1–15. <https://doi.org/10.1128/mBio.00218-20>
- Ogunrinola, G. A., Oyewale, J. O., Oshamika, O. O., & Olasehinde, G. I. (2020). The Human Microbiome and Its Impacts on Health. *International Journal of Microbiology*, 2020. <https://doi.org/10.1155/2020/8045646>
- Osadchiy, V., Martin, C. R., & Mayer, E. A. (2019). The Gut–Brain Axis and the Microbiome: Mechanisms and Clinical Implications. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 17(2), 322–332. <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2018.10.002>
- Ostrowska, S. S., & Gerasimchuk, P. G. (2018). Oral Microbiome and Age. *Bulletin of Problems Biology and Medicine*, 1(2), 40. <https://doi.org/10.29254/2077-4214-2018-2-144-40-43>
- Palareti, G., Legnani, C., Cosmi, B., Antonucci, E., Erba, N., Poli, D., ... Tosetto, A. (2016). Comparison between different D-Dimer cutoff values to assess the individual risk of recurrent venous thromboembolism: Analysis of results obtained in the DULCIS study. *International Journal of Laboratory Hematology*, 38(1), 42–49. <https://doi.org/10.1111/ijlh.12426>
- Peñalver Bernabé, B., Cralle, L., & Gilbert, J. A. (2018). Systems biology of the human microbiome. *Current Opinion in Biotechnology*, 51, 146–153. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2018.01.018>
- Perry, R. J., Peng, L., Barry, N. A., Cline, G. W., Zhang, D., Cardone, R. L., ... Shulman, G. I. (2016). Acetate mediates a microbiome-brain- β -cell axis to promote metabolic syndrome. *Nature*, 534(7606), 213–217. <https://doi.org/10.1038/nature18309>
- Peterson, J., Garges, S., Giovanni, M., McInnes, P., Wang, L., Schloss, J. A., ... Guyer,

- M. (2009). The NIH Human Microbiome Project. *Genome Research*, 19(12), 2317–2323. <https://doi.org/10.1101/gr.096651.109>
- Pistollato, F., Cano, S. S., Elio, I., Vergara, M. M., Giampieri, F., & Battino, M. (2016). Role of gut microbiota and nutrients in amyloid formation and pathogenesis of Alzheimer disease. *Nutrition Reviews*, 74(10), 624–634. <https://doi.org/10.1093/nutrit/nuw023>
- Robertson, R. C., Manges, A. R., Finlay, B. B., & Prendergast, A. J. (2019). The Human Microbiome and Child Growth – First 1000 Days and Beyond. *Trends in Microbiology*, 27(2), 131–147. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2018.09.008>
- Ruan, W., Engevik, M. A., Spinler, J. K., & Versalovic, J. (2020). Healthy Human Gastrointestinal Microbiome: Composition and Function After a Decade of Exploration. *Digestive Diseases and Sciences*, 65(3), 695–705. <https://doi.org/10.1007/s10620-020-06118-4>
- Salvucci, E. (2019). The human-microbiome superorganism and its modulation to restore health. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 70(7), 781–795. <https://doi.org/10.1080/09637486.2019.1580682>
- Schirmer, M., Franzosa, E. A., Lloyd-Price, J., McIver, L. J., Schwager, R., Poon, T. W., ... Huttenhower, C. (2018). Dynamics of metatranscription in the inflammatory bowel disease gut microbiome. *Nature Microbiology*, 3(3), 337–346. <https://doi.org/10.1038/s41564-017-0089-z>
- Schwartz, D. J., Langdon, A. E., & Dantas, G. (2020). Understanding the impact of antibiotic perturbation on the human microbiome. *Genome Medicine*, 12(1), 1–12. <https://doi.org/10.1186/s13073-020-00782-x>
- Sherwin, E., Rea, K., Dinan, T. G., & Cryan, J. F. (2016). A gut (microbiome) feeling about the brain. *Current Opinion in Gastroenterology*, 32(2), 96–102. <https://doi.org/10.1097/MOG.0000000000000244>
- Shi, N., Li, N., Duan, X., & Niu, H. (2017). Interaction between the gut microbiome and mucosal immune system. *Military Medical Research*, 4(1). <https://doi.org/10.1186/s40779-017-0122-9>
- Shin, A., Preidis, G. A., Shulman, R., & Kashyap, P. C. (2019). The Gut Microbiome in Adult and Pediatric Functional Gastrointestinal Disorders. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 17(2), 256–274. <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2018.08.054>
- Shkoporov, A. N., & Hill, C. (2019). Bacteriophages of the Human Gut: The “Known

- Unknown” of the Microbiome. *Cell Host and Microbe*, 25(2), 195–209. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2019.01.017>
- Sidhu, M., & Van Der Poorten, D. (2017). The gut microbiome. *Microbiome in health. Afp*, 46(4), 206–211. Retrieved from <http://www.racgp.org.au/download/Documents/AFP/2017/April/AFP-Focus-van-de-Poorten.pdf>
- Singh, R. K., Chang, H. W., Yan, D., Lee, K. M., Ucmak, D., Wong, K., ... Liao, W. (2017). Influence of diet on the gut microbiome and implications for human health. *Journal of Translational Medicine*, 15(1), 1–17. <https://doi.org/10.1186/s12967-017-1175-y>
- Soty, M., Gautier-Stein, A., Rajas, F., & Mithieux, G. (2017). Gut-Brain Glucose Signaling in Energy Homeostasis. *Cell Metabolism*, 25(6), 1231–1242. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2017.04.032>
- Turnbaugh, P. J., Ley, R. E., Hamady, M., Fraser-Liggett, C. M., Knight, R., & Gordon, J. I. (2007). The Human Microbiome Project. *Nature*, 449(7164), 804–810. <https://doi.org/10.1038/nature06244>
- Verma, D., Garg, P. K., & Dubey, A. K. (2018). Insights into the human oral microbiome. *Archives of Microbiology*, 200(4), 525–540. <https://doi.org/10.1007/s00203-018-1505-3>
- Wang, H. X., & Wang, Y. P. (2016). Gut microbiota-brain axis. *Chinese Medical Journal*, 129(19), 2373–2380. <https://doi.org/10.4103/0366-6999.190667>
- Weinberg, F., Dickson, R. P., Nagrath, D., & Ramnath, N. (2021). The lung microbiome: A central mediator of host inflammation and metabolism in lung cancer patients? *Cancers*, 13(1), 1–19. <https://doi.org/10.3390/cancers13010013>
- Wu, S. C., Cao, Z. S., Chang, K. M., & Juang, J. L. (2017). Intestinal microbial dysbiosis aggravates the progression of Alzheimer’s disease in *Drosophila*. *Nature Communications*, 8(1), 1–8. <https://doi.org/10.1038/s41467-017-00040-6>
- Xiao, J., Fiscella, K. A., & Gill, S. R. (2020). Oral microbiome: possible harbinger for children’s health. *International Journal of Oral Science*, 12(1), 1–13. <https://doi.org/10.1038/s41368-020-0082-x>
- Yamamoto, S., Saito, M., Tamura, A., Prawisuda, D., Mizutani, T., & Yotsuyanagi, H. (2021). The human microbiome and COVID-19: A systematic review. *PLoS ONE*, 16(6 June), 1–13. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0253293>
- Yan, J., Herzog, J. W., Tsang, K., Brennan, C. A., Bower, M. A., Garrett, W. S., ...

- Charles, J. F. (2016). Gut microbiota induce IGF-1 and promote bone formation and growth. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 113(47), E7554–E7563. <https://doi.org/10.1073/pnas.1607235113>
- Zhang, Y., Wang, X., Li, H., Ni, C., Du, Z., & Yan, F. (2018). Human oral microbiota and its modulation for oral health. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 99(January), 883–893. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.01.146>
- Zhao, L., Zhang, F., Ding, X., Wu, G., Lam, Y. Y., Wang, X., ... Zhang, C. (2018). Gut bacteria selectively promoted by dietary fibers alleviate type 2 diabetes. *Science*, 359(6380), 1151–1156. <https://doi.org/10.1126/science.aao5774>