



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

MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

INFLUÊNCIA DA MICROBIOTA NA GRAVIDEZ

Trabalho submetido por
Ana Isabel Moniz Teixeira
para obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

novembro de 2017



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

MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

INFLUÊNCIA DA MICROBIOTA NA GRAVIDEZ

Trabalho submetido por
Ana Isabel Moniz Teixeira
para obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Trabalho orientado por
Professora Doutora Véronique Harrington Sena

novembro de 2017

*À minha família, aos meus amigos e a todos os que se
cruzaram comigo nesta jornada.*

Agradecimentos

Em primeiro lugar, quero agradecer ao meu pai, por ter possibilitado que esta viagem se concretizasse, por toda a força e por todos os momentos em que me segurou e me motivou a avançar. Sem ele, nada disto seria possível. Quero agradecer também à minha mãe, por sempre acreditar sempre que eu sou capaz de atingir todos os objetivos a que me proponho. Aos meus irmãos, que mesmo partilhando sonhos diferentes, sei que posso sempre contar com as suas palavras, humor e carinho.

Quero também agradecer encarecidamente à Doutora Verónica pelo tempo dispendido na orientação da minha tese, pela ajuda na organização das ideias, pela ajuda nas correções e por me ter ajudado a concretizar um trabalho que me deu imenso gosto em fazer. Agradeço-lhe imenso o tempo que dispendeu comigo.

Um obrigada também ao Artur e a toda a família Vasconcelos, que me acompanharam nestes cinco anos sempre com palavras de força, por todos os momentos, por me terem recebido na vossa família de braços abertos, pela vossa companhia e tudo o que fizeram por mim. É também graças a vocês que cheguei até aqui.

Aos meus Julianos, as melhores pessoas que poderia ter comigo e sem os quais seria impossível concluir esta etapa da minha vida. Não seria o mesmo sem vocês. Joana, Vanessa, Miguel, Maria e Susana, vou levar-vos comigo para sempre e ficam na memória todos os momentos que passei convosco. Faria tudo de novo desde que vos tivesse ao meu lado.

À minha melhor amiga, Sofia, por ouvires todos os meus desabaços, por toda a companhia, por saber que posso contar contigo estejas onde estiveres e por uma amizade que se torna a cada dia mais forte. És a irmã que nasceu noutra família. Obrigada por tudo.

Ao Isaac, a pessoa que está sempre para mim quando é preciso, que me segura a cabeça nos piores momentos e que me faz rir como mais ninguém faz. Obrigada por esta amizade sem filtros, sem segredos e por seres tão honesto como só tu sabes ser.

A todos os docentes que participaram na minha formação, obrigada por todo o conhecimento que me transmitiram. E aos meus orientadores de estágio, da Farmácia Braz da Silva e do Hospital de D. Estefânia, obrigada por me fazerem apaixonar ainda mais por esta profissão, por me terem recebido como se fosse de parte da vossa equipa e por todos os ensinamentos. A todos, muito obrigada...

RESUMO

A gravidez é um período em que ocorrem mudanças notáveis em todos os sistemas orgânicos. Atualmente, há um interesse crescente no conhecimento do papel da microbiota na saúde da mulher grávida e do bebê, e até que ponto a existência da microbiota é necessária para que a gravidez ocorra.

Existem evidências de que a colonização microbiana começa *in utero* e que alterações nesta podem levar a eventos adversos como o parto espontâneo, distúrbios metabólicos, distúrbios gastrointestinais e distúrbios alérgicos. Contudo, ainda é necessária mais pesquisa no sentido de aprofundar ligações entre micro-organismos específicos a patologias específicas na mulher grávida e no bebê. Sabe-se ainda que a colonização por *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* confere efeitos protetores contra vários distúrbios, sendo estes os probióticos mais amplamente estudados.

Esta monografia pretende elucidar os mecanismos pelos quais a microbiota influencia a saúde da mulher grávida, o desenvolvimento fetal e as consequências resultantes das suas alterações.

Para realizar esta monografia, recorreu-se à pesquisa bibliográfica em bases de dados como o PubMed, Science Direct e o Google Scholar.

Palavras-chave: microbiota, gravidez, disbiose, sistema imunitário

ABSTRACT

Pregnancy is a period in which remarkable changes occur in all organic systems. There is a growing interest in understanding the role of the microbiota in the health of pregnant women and infants, and the extent to which the microbiota is necessary for pregnancy to occur.

There is evidence that microbial colonization begins *in utero* and that changes in it can lead to adverse events such as spontaneous labor, metabolic disturbances, gastrointestinal disorders and allergic disorders. However, further research is needed to deepen links between specific microorganisms to specific pathologies. It is also known that colonization by *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* confers protective effects against various disorders, it's for why these the probiotics are the most widely studied.

This monograph aims to elucidate the mechanisms by which the microbiota influences the health of pregnant woman, the fetal development and the consequences of microbial alterations.

To perform this monograph, we resorted to bibliographic research in databases such as PubMed, Science Direct and Google Scholar.

Keywords: microbiota, pregnancy, dysbiosis, immune system

ÍNDICE GERAL

ÍNDICE DE FIGURAS	7
ÍNDICE DE TABELAS	9
LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS	11
1. INTRODUÇÃO.....	13
2. A microbiota na gravidez	15
2.1. A microbiota vaginal	15
2.2. A microbiota placentária.....	16
2.3. A microbiota intestinal	17
2.3.1. Eixo Intestino-Cérebro.....	18
2.4. A microbiota oral.....	20
2.5. A microbiota do mecônio e fluido amniótico.....	20
2.6. Mecanismos de transferência microbiana.....	21
3. O SISTEMA IMUNITÁRIO E MECANISMOS DE TOLERÂNCIA FETAL	25
3.1. Imunidade Inata e Adquirida	25
2.2.1. Mecanismos de tolerância fetal	28
2.2.2. Células do trato reprodutivo feminino	29
2.2.3. Regulação das células T.....	30
2.2.4. Efeito das hormonas reprodutoras	30
2.2.5. Perfis de Libertação de Citocinas	31
4. INFLUÊNCIA DA MICROBIOTA NA SAÚDE DA GRÁVIDA E DA DESCENDÊNCIA	33
4.1. Parto Prematuro	33
4.2. Distúrbios do sistema nervoso central	34
4.3. Distúrbios do sistema gastrointestinal	35
4.4. Distúrbios metabólicos	36
4.5. Distúrbios alérgicos	37
5. ESTRATÉGIAS TERAPÊUTICAS NA MODULAÇÃO DA MICROBIOTA.....	39
5.1. Uso de probióticos	39
5.1.1. Estirpes probióticas em uso	41
5.2. Prébióticos	43
6. CONCLUSÃO.....	45
7. BIBLIOGRAFIA.....	47

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Possíveis mecanismos de transferência de bactérias entre a mãe e o feto in utero. Adaptado de Walker et al., 2017.	23
--	----

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 Células do sistema imunitário e funções principais. Adaptado de Abbas, Lichtman, & Pillai, 2012; Born et al., 2017; Seeley et al., 2008.	26
Tabela 2 Ação probiótica dos <i>Lactobacillus</i> e mecanismos envolvidos	40
Tabela 3 Estirpes probióticas em uso, momento da administração e objetivos terapêuticos. Adaptado de Reid et al., 2016.	42

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS¹

ASD - Desordens do espectro autista (*autism spectrum disorders*)

AVC - Acidente Vascular Cerebral

DAMP's - Padrões Moleculares Associados a Lesões (*danger associated molecularpatterns*)

FOS - Frutooligossacárido

GOS - Galactooligossacárido

hCG - Gonadotrofina Coriônica Humana (*Human chorionic gonadotropin*)

HLA-C - Antígeno Leucocitário Humano C (*Human Leukocyte Antigen C*)

HLA-E - Antígeno Leucocitário Humano E (*Human Leukocyte Antigen E*)

HLA-G - Antígeno Leucocitário Humano G (*Human Leukocyte Antigen G*)

HMO – Oligossacários do leite humano (*human milk oligosaccharides*)

HPA -Eixo hipotálamo-hipófise-suprarrenal(*hypothalamic-pituitary-adrenal*)

IL-1 - Interleucina 1

IL-10 - Interleucina 10

IL-12 - Interleucina 12

IL-2 - Interleucina 2

IL-4 - Interleucina 4

IL-6 – Interleucina 6

INF- γ - Interferão Gama

INF- δ - Interferão delta

LPS - Lipopolissacárido

MHC - Complexo de Histocompatibilidade Maior

¹ Pelo seu caráter universal e de modo a facilitar o seu reconhecimento, algumas abreviaturas mantiveram a nomenclatura anglo-saxónica.

MHC I - Complexo de Histocompatibilidade Maior classe I

MHC II - Complexo de Histocompatibilidade Maior classe II

NEC - Enterocolite necrosante (*necrotising enterocolitis*)

NKT - Células Natural Killer T

PAMP's - Padrões Moleculares Associados a Patógenos (*pathogen associated molecular patterns*)

PCR - *Polimerase Chain Reaction*

PIBF - Fator Bloqueador Induzido pela Progesterona (*Progesterone-Induced Blocking Factor*)

PPE - Parto prematuro espontâneo

SCFA - Ácidos gordos de cadeia curta (*short chain fatty acids*)

TCR - *T-cell receptor* (receptor de células T)

Th - Célula *T-helper*

Th0 - Célula *T-helper naive*

Th1 - Célula *T-helper 1*

TNF - Fator de necrose tumoral (*tumor necrosis factor*)

Treg - Linfócitos T reguladores

1. INTRODUÇÃO

A gravidez é um período que envolve uma orquestra notável de mudanças fisiológicas (Cheung & Lafayette, 2013). Neste período, a mulher está sujeita a alterações anatómicas e fisiológicas bastante significativas que irão sustentar o desenvolvimento saudável do feto e preparar a mãe para o momento do parto. Estas alterações podem ser observadas a múltiplos níveis, iniciam-se após a concepção e afetam cada sistema do organismo (Soma-Pillay, Nelson-Piercy, Tolppanen, & Mebazaa, 2016).

Assim, é possível observar alterações a nível hematológico, cardíaco, renal, respiratório, endócrino, metabólico e imunitário (Cheung & Lafayette, 2013; King, 2000; Pariente et al., 2016; Soma-Pillay et al., 2016).

A gravidez é uma condição específica em que existe uma tolerância imunitária transitória ao feto, que se trata, para todos os efeitos, de um corpo estranho. Fatores, maternos e fetais, influenciam a imunidade da mucosa local, para que não haja rejeição do feto (Chen, Liu, Tan, Shoenfeld, & Zeng, 2017).

Atualmente, tem sido demonstrado um interesse crescente na influência da microbiota na gravidez. Embora algumas das mudanças hormonais e metabólicas estejam descritas há várias décadas, só recentemente se começou a prestar atenção às mudanças na composição da microbiota durante a gestação (Nuriel-ohayon, Neuman, & Koren, 2016). Dados recentes podem vir quebrar o dogma de que o ambiente intrauterino, o feto e a placenta são estéreis até ao momento do parto, podendo alguns micro-organismos ter efeitos benéficos na evolução da gravidez e, posteriormente, no desenvolvimento da criança (Borre et al., 2014; Nuriel-ohayon et al., 2016).

Esta monografia tem por objetivo rever a composição da microbiota na grávida e o seu papel na saúde da mulher e da sua descendência durante este período, olhando para as modificações que ocorrem e as consequências para a mãe e para o filho, elucidando interações entre a microbiota e o organismo hospedeiro.

Para a realização desta monografia recorreu-se à pesquisa bibliográfica em bases de dados como o PubMed, Science Direct e o Google Scholar recorrendo às seguintes palavras chave: “microbiota”, “gravidez”, “disbiose”, “sistema imunitário”.

2. A MICROBIOTA NA GRAVIDEZ

O corpo humano possui uma vasta população de micro-organismos que variam em composição nas diferentes partes corporais, a que se dá o nome de microbiota. As comunidades microbianas têm um grande impacto na saúde do hospedeiro, afetando o seu metabolismo, imunidade e hormonas. Estas mudanças também são observáveis na gravidez e à medida que esta progride (Nuriel-ohayon et al., 2016; Pelzer, Gomez-arango, Barrett, & Dekker, 2017). Estima-se que a microbiota ultrapasse o número de células do organismo humano em uma ordem de magnitude e o genoma humano em duas ordens de magnitude. Assim, existe a possibilidade desta exercer respostas pró e anti-inflamatórias e, a composição das comunidades pode estar intimamente relacionada com o correto funcionamento do sistema imunitário. Recentemente, foi sugerido que a microbiota sofre profundas mudanças na gravidez que estão associadas a adaptações fisiológicas e imunológicas durante este período (Chen et al., 2017; Walker, Clemente, Peter, & Loos, 2017).

O desenvolvimento pré-natal é um período crucial em que a microbiota pode já exercer influência nos sistemas biológicos (Walker et al., 2017). Por este motivo, existe um interesse crescente na compreensão de como esta afeta a saúde materno-infantil, uma vez que alterações da sua composição têm sido associadas a complicações como o parto prematuro, complicações cardiometabólicas na gravidez, complicações neonatais como a enterocolite necrosante (NEC – *necrotising enterocolitis*), pré-eclampsia, eclampsia, morte fetal intrauterina, restrição do crescimento intra-uterino e outras complicações futuras na saúde do bebé (Jordan et al., 2017; Nuriel-ohayon et al., 2016).

2.1. A microbiota vaginal

A microbiota vaginal é um componente chave na defesa contra infeções microbianas e virais. É composto por várias espécies pertencentes às ordens Lactobacillales, Clostridiales, Bacteroidales e Actinomicetales (Nuriel-ohayon et al., 2016). Durante o período de vida da mulher, a microbiota vaginal sofre alterações na sua composição, desde o nascimento, puberdade, idade reprodutiva e menopausa (Vinturache et al., 2016).

Ainda que exista uma grande diversidade de micro-organismos pertencentes à flora vaginal, o género com mais expressão é o dos *Lactobacillus*, sendo possível encontrar várias espécies deste. A presença deste género em abundância é associado à saúde e normalidade vaginal. As espécies mais frequentemente isoladas são: *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus jensenii* e *Lactobacillus iners*. Estas espécies são produtoras de ácido láctico (que mantém o pH baixo, inferior a 4.5) e bacteriocinas que conferem proteção contra a invasão de organismos patogénicos, prevenindo, assim, infeções do trato urogenital. Existe também uma competição com micro-organismos patogénicos pelos locais de ligação às proteínas epiteliais (Witkins & Linhares, 2016). Durante a gravidez a microbiota pode sofrer mudanças significativas. Sabe-se que, ao longo da gravidez, há uma diminuição da diversidade no geral, mas um aumento da estabilidade das comunidades e ainda um enriquecimento das espécies de *Lactobacillus* que desempenham um papel de proteção contra bactérias patogénicas (Chen et al., 2017; Nuriel-ohayon et al., 2016; Ravel et al., 2010).

A falha das barreiras de proteção pode conduzir a infeções. Algumas complicações associadas à vaginose bacteriana são o parto prematuro, a infeção do fluido amniótico e corioamniotite. Pensa-se que a maioria destas infeções ocorrem quando micro-organismos da parte inferior do trato genital ascendem e acedem ao fluido amniótico (Romero et al., 2014; Vinturache et al., 2016).

2.2. A microbiota placentária

A placenta é um dos órgãos menos conhecidos do corpo humano no que diz respeito à sua microbiota. Só recentemente se quebrou o dogma de que esta se trata de um órgão estéril, e que sua esterilidade seria essencial para proteger o feto. Várias evidências sugerem uma flora comensal da placenta. Porém, esta flora possui uma baixa densidade e a pesquisa requer uma verificação minuciosa para que os resultados obtidos não se devam a contaminações. Estas últimas podem resultar do processo de obtenção das amostras, sobretudo quanto o parto é realizado por via vaginal (Nuriel-ohayon et al., 2016).

A microbiota placentária poderá ter efeitos, ainda por elucidar, no desenvolvimento da imunidade inata, uma vez que existe a possibilidade de fornecer determinantes antigénicos (Pelzer et al., 2017).

O paradigma atual sugere que a maior parte das infecções intra-uterinas associadas ao parto prematuro, como a corioamnionite, têm origem no trato genital inferior e ascendem ao ambiente intrauterino, até agora visto como um local estéril. Contudo, recorrendo a tecnologias de análise de material genético, a maior parte das espécies detetadas na placenta não se assemelham às do trato urogenital, mas sim às comensais da cavidade oral (Aagaard et al., 2016; Prince et al., 2016).

Aagaard et al. conduziram um estudo de coorte em que o DNA ribossomal da unidade 16S de amostras da placenta de 320 mulheres foi analisado para identificação das espécies presentes. As amostras foram colhidas recorrendo a técnica asséptica para garantir que não existia contaminação a partir do ambiente. As espécies encontradas foram comparadas com as de outros locais do corpo humano tais como a cavidade oral e nasal, intestinal e da pele de mulheres não grávidas. Na maior parte das mulheres, a espécie mais prevalente é *Escherichia coli*. Também encontram evidência da presença de *Prevotella tannerae* *Neisseria* sp. não patogénicas, à semelhança do que acontece na cavidade oral. Num grupo mais reduzido de mulheres que experienciaram parto prematuro, os autores observaram um enriquecimento de espécies de *Burkholderia*. Em oposição, mulheres com parto de termo apresentam um aumento de *Paenibacillus* (Aagaard et al., 2016).

O paralelismo existente entre a microbiota oral e placentário sugere uma ponte entre a cavidade oral e a placenta. Muitas mulheres que sofrem de infeções periodontais apresentam um aumento do risco de complicações durante a gravidez (Nuriel-ohayon et al., 2016). Apesar da semelhança com a microbiota oral, também é possível encontrar na placenta exemplares que evidenciam uma ascensão vaginal, como os *Lactobacillus* (Pelzer et al., 2017).

2.3. A microbiota intestinal

No início da gravidez, a composição da microbiota intestinal da mulher é semelhante ao da mulher não grávida. Com o avançar da gestação ocorre uma mudança na proporção de certas bactérias-chave, havendo um aumento do filo *Firmicutes* e uma redução de *Bacteroidetes* (Edwards, Cunningham, & Dunlop, 2017). Observa-se ainda um aumento de espécies de Actinobacteria e Proteobacteria (Nuriel-ohayon et al., 2016). A carga bacteriana total aumenta com o progresso da gravidez (Fox, D, Eichelberger, & D, 2015)

Existem cada vez mais evidências de que a microbiota intestinal desempenha um papel fundamental no binómio saúde-doença, sendo que a baixa diversidade de bactérias no intestino tem sido associada à obesidade, doenças inflamatórias intestinais e do sistema nervoso central. Por outro lado, a abundância de algumas espécies (tendo em conta as suas proporções relativas normais) tem sido associada à diabetes *mellitus* tipo 2 (Walker et al., 2017). A microbiota intestinal pode influenciar processos relacionados com o aproveitamento/gasto de fontes energéticas e acumulação de gordura, que contribuem para a obesidade e outras comorbilidades como a diabetes *mellitus* tipo 2 e doença cardiovascular. Por isso, deve ser considerado como um alvo de tratamento para doenças metabólicas, através de suplementação alimentar com ingredientes não digeríveis ou prebióticos que estimulem micro-organismos com efeitos benéficos no metabolismo, uma vez que se observam diferenças na microbiota intestinal de mulheres grávidas normais e obesas (Chen et al., 2017).

Uma flora comensal equilibrada produz substâncias antibacterianas e estimula as junções oclusivas (conhecidas por *tight junctions*) da barreira intestinal que impedem a invasão por micro-organismos patogénicos (Li, Wang, & Donovan, 2014).

2.3.1. Eixo Intestino-Cérebro

Em indivíduos saudáveis, o sistema nervoso, o sistema imunitário e o eixo hipotálamico-hipofisário-adrenal estabelecem uma comunicação bidirecional e estudos em animais e humanos mostram que existe uma sinalização neurológica e endócrina, entre o cérebro e o intestino. A este canal de comunicação, dá-se o nome de Eixo Intestino-Cérebro (*gut-brain axis*) (Edwards et al., 2017). O Eixo Intestino-Cérebro compreende a comunicação bidirecional que existe entre o cérebro e o sistema nervoso intrínseco e extrínseco do trato gastrointestinal (que compreende o sistema entérico, o sistema simpático e parassimpático). Estas entidades controlam funções como a imunidade, a digestão, o metabolismo, o comportamento alimentar e reações ao stress (Sarkar et al., 2016).

Mais recentemente, com o crescente conhecimento da importância da microbiota na saúde, o conceito de eixo nervoso intestino-cérebro foi alargado para microbiota-intestino-cérebro (Borre et al., 2014). A comunicação bidirecional neste eixo envolve a modulação do sistema imunitário através de outros canais como o eixo hipotálamo-

hipófise-suprarrenal (HPA - *hypothalamic-pituitary-adrenal*), o metabolismo do triptofano (precursor da serotonina), a produção de metabólitos bacterianos como os ácidos gordos de cadeia curta (SCFA – *short chain fatty acids*) e a comunicação via nervo vago (Kelly, Minuto, Cryan, Clarke, & Dinan, 2017).

A microbiota intestinal produz neurotransmissores semelhantes aos do sistema nervoso central através da digestão das fibras tais como a dopamina e noradrenalina pela família dos *Bacillus*, serotonina pelos *Enterococcus* e *Streptococcus*, GABA pelas *Bifidobacteria*, noradrenalina e serotonina pelas *Escherichia* e GABA e acetilcolina pelos *Lactobacillus* (Sarkar et al., 2016).

A interação entre micro-organismos e os neurónios do sistema nervoso entérico (SNE) é comprovada por experiências que mostram redução do potencial de ação quando expostos a estirpes selecionadas de *Bifidobacterium longum* e *Lactobacillus rhamnosus* (Sarkar et al., 2016).

Além das doenças metabólicas e inflamatórias anteriormente referidas, também se começa a explorar a possibilidade que as perturbações da microbiota intestinal no início do desenvolvimento fetal podem afetar o desenvolvimento neurológico e, possivelmente, (Chen et al., 2017) conduzirem a problemas do foro mental no futuro (Borre et al., 2014). O desenvolvimento cerebral requer uma orquestração delicada do balanço genético com os fatores ambientais. A dieta materna, infeções prenatais, *stress* e exposição a antibióticos têm sido associados a doenças como o autismo, défice de atenção, hiperatividade e esquizofrenia (Borre et al., 2014; Walker et al., 2017). Roedores expostos a agentes patogénicos durante o período crítico do desenvolvimento cerebral resultaram em anormalidades comportamentais tais como ansiedade e função cognitiva diminuída (Borre et al., 2014).

A microbiota do trato gastrointestinal metaboliza fibras dietéticas em SCFA como o acetato, o propionato e o butirato. Para além da função energética, estes metabólitos exercem atividade biológica, atuando nos recetores proteína-G e inibindo as histona-desacetilases. Além disso os SCFA interagem com neurónios do sistema nervoso central e entérico, regulando a frequência cardíaca, o consumo de oxigénio e a motilidade gastrointestinal (Bauer, Huus, & Finlay, 2016).

O propionato prejudica a interação social e aumenta os comportamentos repetitivos. Por sua vez, o butirato diminui os comportamentos depressivos. Porém, não é claro que os SCFAs do intestino são capazes de atravessar a barreira hematoencefálica, por isso a sua influência direta sobre o cérebro ainda não é totalmente elucidada (Bauer et al., 2016).

A caracterização da composição da microbiota materno durante a gravidez, e o conhecimento sobre a sua influência no desenvolvimento do cérebro, poderá ser um avanço no delineamento de estratégias de modulação da microbiota de modo a atingir resultados benéficos na saúde materno-fetal (Borre et al., 2014).

2.4. A microbiota oral

Durante a gravidez há um aumento da carga da microbiota oral. Estudo comparativos de mulheres grávidas e não grávidas mostraram um aumento da carga microbiana em mulheres grávidas. Neste incremento incluem-se bactérias patogénicas. (Neuman & Koren, 2017). O aumento é observável nos três trimestres da gravidez, especialmente no primeiro (Nuriel-ohayon et al., 2016).

Através de PCR (*Polimerase Chain Reaction*) e técnicas de pirosequenciação, foi possível identificar cerca de 700 espécies microbianas, sendo que este número pode ascender às 1500 . Existe uma associação entre a doença periodontal e várias doenças sistémicas como aterosclerose, doença cardiovascular, AVC (Acidente Vascular Cerebral), complicações da diabetes *mellitus*, doença de Alzheimer e eventos adversos na gravidez (Cobb, Kelly, & Williams, 2017). Como já foi referido anteriormente, constata-se semelhanças entre a microbiota oral e placentária. Esta observação pode explicar, em parte, a razão pela qual mulheres com doença periodontal têm um maior risco de complicações na gravidez (Nuriel-ohayon et al., 2016). A periodontite crónica, uma doença com elevada prevalência com etiologia bacteriana, têm uma componente pró-inflamatória mediada por células do sistema imunitário, onde vários mediadores inflamatórios são libertados. Nestes incluem-se a IL-1 β , TNF- α , IL-6, prostaglandina E2 e metaloproteinase-8 e 9, que contribuem para um estado inflamatório generalizado (Cobb et al., 2017).

2.5. A microbiota do mecónio e fluído amniótico

À semelhança da placenta, também o mecónio e o fluído amniótico foram vistos, até recentemente, como produtos estéreis. Várias evidências apontam no sentido contrário. Através de métodos de cultura e PCR têm sido detetada a presença de micro-organismos no fluído amniótico, frequentemente associados a partos prematuros e

infecções intra-amnióticas, mesmo na ausência de ruptura do saco amniótico (Koleva, Kim, Scott, & Kozyrskyj, 2015).

Por outro lado, também se sabe que a presença de micro-organismos neste local nem sempre tem efeitos deletérios, podendo a gravidez chegar a termo sem complicações relacionadas com infecção (Vinturache et al., 2016).

Durante o segundo e terceiro trimestres da gravidez, o feto ingere uma grande quantidade de fluido amniótico e, conseqüentemente, os micro-organismos nele presentes. Deste modo, há a colonização do intestino fetal. Pensa-se que esta colonização poderá desencadear uma resposta inflamatória, podendo resultar num parto prematuro (Ardissonne et al., 2014). Vários estudos demonstraram a presença de micro-organismos no fluido amniótico de mulheres saudáveis, através de técnicas de cultura e de PCR. A composição da microbiota meconial espelha a exposição bacteriana pré-natal, que se comprova através das diferentes composições do mecônio de bebês cujas mães receberam próbióticos ao longo da gravidez quando comparadas com a composição meconial de controlos (Neuman & Koren, 2017).

De acordo com uma revisão sistemática publicada por Wilczyńska, Skarzyńska, & Lisowska-Myjak (2017) o mecônio de neonatos de termo saudáveis possui uma maior proporção relativa de *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*; por outro lado, o mecônio de neonatos prematuros possui uma menor proporção relativa de *Bifidobacterium*. Nos prematuros, estudos detetaram a presença de *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis*, *Bacteroides spp.*, *Gardnerella vaginalis*, *Fusobacterium nucleatum*, *Capnocytophaga* e *Lactobacillus* (Wilczyńska et al., 2017). Um estudo conduzido por Nagpal, Tsuji, Takahashi, Kawashima, & Collado, (2016) que envolveu 151 bebês de termo (134 nascidos de parto vaginal e 17 de parto por cesariana planeado), detetou várias espécies de bactérias no mecônio, apesar das diferenças nas taxas de deteção e proporções relativas. Apesar de algum material microbiano poder ter sido transferido durante o parto vaginal, estes resultados demonstram que é possível que exista uma transmissão microbiana mãe-feto durante a gravidez, uma vez que também é possível encontrar micro-organismos no mecônio de neonatos por cesariana (Nagpal et al., 2016).

2.6. Mecanismos de transferência microbiana

No momento do parto o bebé é exposto aos micro-organismos maternos e do ambiente envolvente, sendo que o próprio parto é o maior fator de exposição. Deste modo,

bébé nascidos através de parto vaginal são colonizados por bactérias do trato vaginal e intestinal (predominantemente *Lactobacillus* e *Prevotella*), enquanto que os nascidos através de cesariana adquirem gêneros bacterianos encontrados na pele (predominantemente *Staphylococcus*, *Corynebacterium* e *Propionibacterium*) (Koleva et al., 2015; Walker et al., 2017).

Como já foi evidenciado, a colonização microbiana pode começar no início da gravidez, porém os mecanismos de transferência dos micro-organismos entre a mãe e o feto ainda não são totalmente claros.

Os mecanismos através dos quais bactérias da cavidade oral atingem a placenta ainda não são totalmente conhecidos. Uma possibilidade é que células dendríticas da cavidade oral transportem bactérias por via linfática até à placenta. A mucosa oral contém uma vasta população destas células que migram pelo sangue e tecidos linfóides. Ao atingirem os tecidos linfóides, através de diapedese, podem transpor as células endoteliais transportando com elas bactérias, inclusive as patogénicas. Recentemente, foi demonstrado que as células dendríticas permitem a passagem transplacentária de *Toxoplasma* em ratos, o que levou à infeção e morte neonatais (Gilbert & Mcfall-ngai, 2014). Lesões ou cirurgias na cavidade oral causadoras de inflamação podem permitir que bactérias presentes na saliva e no espaço subgengival entrem na corrente sanguínea e, por esta via, se disseminem para outros locais, atingindo assim a placenta (Walker et al., 2017).

Existe também evidência de colonização com origem intestinal. Através das células dendríticas, das células M e células caliciformes pode haver um transporte de bactérias ou de material genético, desde o lúmen intestinal até ao fluido amniótico. Esta hipótese é reforçada por estudos em ratos inoculados oralmente com *Enterococcus faecium*, com posterior isolamento desta bactéria no cordão umbilical, no fluido amniótico, na placenta, nas membranas fetais e no mecónio (Wilczyńska et al., 2017). O lúmen do intestino materno é revestido por enterócitos que em condições normais formam uma barreira para os micro-organismos intestinais. A dieta, *stress*, exposição a antibióticos, doenças e a própria gravidez podem alterar a espessura e integridade destas células epiteliais, aumentando a permeabilidade intestinal e deste modo permitindo a passagem de bactérias até à corrente sanguínea ou vasos linfáticos que as transportam até outros locais do corpo (Walker et al., 2017).

Bactérias presentes no revestimento endometrial ou nas regiões urogenitais podem ser incorporados na decídua placentária (Walker et al., 2017). Outra hipótese é a ascensão

e translocação da microbiota vaginal através das membranas coriodescíduais até ao fluido amniótico (Wilczyńska et al., 2017).

Estes mecanismos de transmissão encontram-se ilustrados na imagem que se segue.

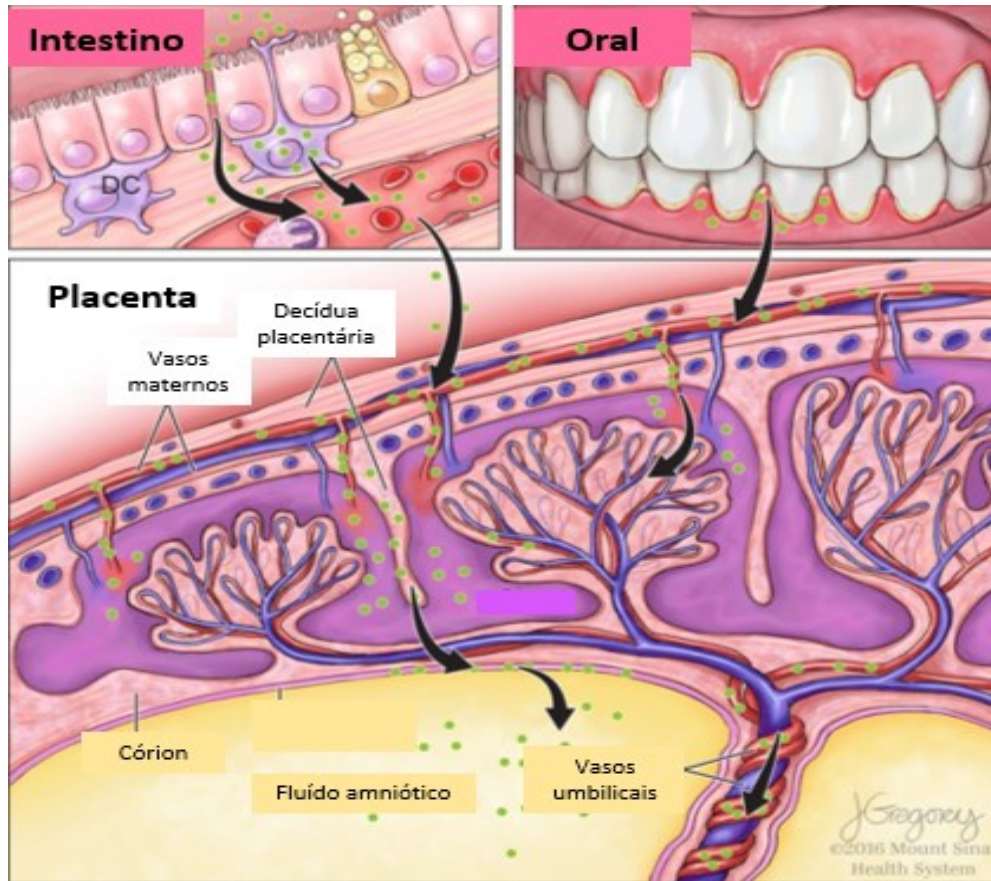


Figura 1 Possíveis mecanismos de transferência de bactérias entre a mãe e o feto in utero. Adaptado de Walker et al., 2017.

3. O SISTEMA IMUNITÁRIO E MECANISMOS DE TOLERÂNCIA FETAL

3.1. Imunidade Inata e Adquirida

A imunidade inata é o mecanismo de defesa mediado pelos componentes mais primitivos do sistema imunitário, resultantes do processo de evolução e codificados no código genético. Dentro das células da imunidade inata, podemos encontrar células como os macrófagos, células dendríticas, neutrófilos e proteínas como as do sistema do complemento e sistemas de coagulação (Yatim & Lakkis, 2015).

O sistema inato responde de forma inespecífica quer a lesões quer a infeções através de um conjunto de recetores que se podem encontrar na superfície das células, em endossomas ou no citoplasma. A este grupo recetores dá-se o nome de Recetores de Reconhecimento Padrão (PPR's - *pattern recognition receptors*) e nesta categoria englobam-se os recetores do tipo RIG (RLR - *RIG like receptors*), recetores do tipo NOD (NLR's - *NOD like receptors*) e recetores do tipo Toll (TLR - *toll-like receptors*). A sua função é o reconhecimento de Padrões Moleculares Associados a Patogénios (PAMP's - *pathogen associated molecular patterns*), expressados pelos microorganismos invasores e Padrões Moleculares Associados a Lesões (DAMP's - *danger associated molecular patterns*), que são componentes resultantes de células danificadas ou apoptóticas (Vidya, Kumar, Sejian, Krishnan, & Bhatta, 2017).

A imunidade adquirida diz respeito aos mecanismos mediados pelas células imunes como os linfócitos T, B e NK e outras moléculas como as citocinas e os anticorpos. Esta imunidade resulta numa resposta especializada à infeção e uma memória imunológica a longo prazo (Yatim & Lakkis, 2015). No entanto, esta memória desenvolve-se lentamente e sua resposta não é imediata.

Os linfócitos T possuem recetores de antigénios ou TCR's (*T-cell receptors*) na sua superfície e os linfócitos B secretam imunoglobulinas que reconhecem antigénios com elevada especificidade. A ligação de um linfócito B a um determinado antigénio conduz à sua diferenciação em plasmócito e a uma elevada produção de anticorpos por este. Por outro lado, quando há ligação a um linfócito T, este diferencia-se em *helper* ou citotóxico. Os linfócitos T *helper* (Th) coordenam a resposta imune enquanto que os linfócitos T citotóxicos induzem a morte de células que possuem o antigénio reconhecido (Yatim & Lakkis, 2015). Os linfócitos Th participam na ativação dos linfócitos B .

Ainda dentro do tema da imunidade adquirida, o Complexo de Histocompatibilidade Maior (MHC) possui um papel importante. O MHC encontra-se em células nucleadas e expressa os antígenos que são produzidos no interior da célula à sua superfície. Isto acontece pois o sistema imunitário não consegue responder a antígenos que se encontrem dentro das células. Assim o MHC forma complexos, que são enviados para a superfície celular com o objetivo de ativar as células T, funcionando como um sinal para a destruição da célula infetada. Os antígenos estranhos em combinação com o MHC I, processados no citoplasma, estimulam a destruição celular. No caso do MHC II, os antígenos estranhos são processados em vesículas endoplasmáticas, sendo posteriormente expressados na superfície celular onde vão ativar as células imunitárias (Seeley, Stephens, & Tate, 2008).

Na tabela abaixo, resumem-se as principais células imunitárias e as suas funções.

Tabela 1 Células do sistema imunitário e funções principais. Adaptado de Abbas, Lichtman, & Pillai, 2012; Born et al., 2017; Seeley et al., 2008.

Imunidade Inata		Imunidade Adquirida	
Células	Funções principais	Células	Funções principais
Neutrófilo	Fagocitose e inflamação. Primeira célula a abandonar a circulação e a entrar em tecidos infetados	Célula B	Após ativação, diferencia-se em célula B de memória
Monócito	Precursor dos macrófagos	Plasmócito	Produz anticorpos responsáveis pelo reconhecimento de antígenos
Macrófago	Fagócito mais importante nos estados infecciosos avançados e reparação tecidual. Ativador das células B e T	Célula B de memória	Responsável pela imunidade adquirida. Responde a antígenos já reconhecidos previamente

Células	Funções principais	Células	Funções principais
Basófilo	Liberta mediadores químicos indutores de inflamação	Célula T citotóxica	Responsável pela destruição de células antigénicas por lise ou através da produção de citocinas
Mastócito	Célula presente nos tecidos conjuntivos indutora de inflamação	Célula T de hipersensibilidade retardada	Produtoras de citocinas inflamatórias
Eosinófilo	Liberta substâncias inibidoras da inflamação	Célula T helper	Activação das células B e T efectoras
Célula Natural Killer	Lisa células tumorais e células infetadas por vírus	Célula T supressora	Inibe as células B e T efectoras
		Célula T de memória	Responsável pela imunidade adquirida. Responde rapidamente a antigénios já reconhecidos previamente
		Célula dendrítica	Produz antigénios e interfere na ativação das células B e T. Inibe as células B e T efectoras
		Células T gama-delta	Células citotóxicas com especificidade limitada

2.2.1. Mecanismos de tolerância fetal

Há mais de 50 anos, Sir Peter Medawar propôs que o trofoblasto e a placenta obedecem ao modelo de um transplante alogénico que expressa proteínas paternas e, por este motivo, sob condições imunológicas normais, o trofoblasto deveria ser reconhecido como um corpo estranho e rejeitado. De acordo com este modelo, o sucesso da gravidez estaria dependente de uma imunossupressão localizada que permitiria a implantação do trofoblasto (Mor & Cardenas, 2010). Com a evolução do conhecimento, esta ideia tem sido refutada, uma vez que tem sido demonstrado que na ausência de resposta imunitária, existem efeitos deletérios sobre a gravidez. Atualmente, é reconhecido que embora possa existir um mecanismo preventivo de uma resposta imune materna contra antígenos paternos, o trofoblasto e o sistema imunitário materno evoluíram de forma a estabelecer um estado cooperativo e de ajuda mútua (Mor, Aldo, & Alvero, 2017; Mor & Cardenas, 2010).

Este estado cooperativo tem diversos mecanismos de suporte baseados no estado imunológico do trato reprodutivo feminino, que resulta da interação das células imunitárias que ocupam este local, os perfis de libertação de citocinas, a influência das hormonas reprodutivas e a regulação das células T (Hyde & Schust, 2016).

Várias linhas de evidência apontam que o ambiente do local de implantação no útero é pró-inflamatório. O sistema imunitário materno começa a sofrer mudanças desde o momento da concepção, uma vez que neste momento contacta com os antígenos presentes no sêmen. Na decídua materna, os antígenos paternos estão presentes na camada sinciotrofoblástica durante a implantação inicial do embrião. Por sua vez, a superfície desta camada que contacta com as vilosidades da placenta, é perfundida pelo sangue materno. Nesta face, também as células invasoras do trofoblasto interagem com as células imunes da decídua, à medida que estas atingem o interior do miométrio, remodelam e repõem as células de suporte das artérias espirais maternas. Esta atividade de interação, destruição e renovação tecidual provoca efeitos sistémicos na mãe uma vez que há a libertação de microvesículas, nanopartículas, exossomas e outras moléculas na circulação materna. Células fetais podem chegar à circulação sistémica e permanecer nos tecidos maternos durante décadas, fenómeno que é conhecido como microquimerismo fetal (Hyde & Schust, 2016).

A implantação, placentação e o primeiro e segundo trimestre da gravidez equiparam-se a uma ferida aberta que requer uma forte resposta inflamatória. Durante

este primeiro estadio, o blastocisto tem de romper o revestimento epitelial do útero para se implantar, alterando, assim, a fisiologia do tecido endometrial. Este processo é seguido pela reposição do endotélio e do crescimento dos vasos sanguíneos uterinos maternos para assegurar um fluxo sanguíneo adequado entre a placenta e o feto (Mor & Cardenas, 2010).

Após a implantação e placentação, segue-se um período de crescimento e desenvolvimento fetal, em que existe uma relação de simbiose entre a mãe, o feto e a placenta. Neste período, assume-se que o estado imunológico é predominantemente anti-inflamatório (Mor et al., 2017).

Quando o feto completa o seu desenvolvimento, chega o momento do parto, que é caracterizado por um influxo de células imunitárias para o miométrio com objetivo de agravar e aumentar o estado inflamatório. Nesta fase, o estado pro-inflamatório tem por objetivo promover a contração uterina, expulsão do feto e rejeição da placenta (Mor & Cardenas, 2010).

Apesar de todos os fenómenos descritos anteriormente, nomeadamente a fertilização, a implantação, gravidez propriamente dita e parto, a imunidade da mucosa do trato genital feminino continua a conferir proteção contra infeções e a tolerar os micro-organismos comensais. Deste modo, a melhor descrição do estado imunitário numa gravidez de sucesso, não é nem inflamatório nem imunodeprimido, mas sim de controlo restrito e imunomodulação complexa (Hyde & Schust, 2016).

2.2.2. Células do trato reprodutivo feminino

O trato reprodutivo feminino possui uma vasta população de células imunitárias, das quais se destacam os linfócitos granulares e macrófagos decíduais, células Natural Killer (NK), linfócitos $\gamma\delta^+$, linfócitos T-reguladores (T-reg) e células dendríticas. Na decídua materna também é possível encontrar linfócitos B, embora em quantidades menores.

Estas células NK decíduais não exibem um papel primário citotóxico semelhante às células NK periféricas. Em vez disso, permitem a invasão do trofoblasto, remodelação das artérias espirais e crescimento vascular através do contato direto com células placentárias fetais. Permitem também a regulação através de moléculas do MHC I (Hyde & Schust, 2016). Os macrófagos decíduais também diferem dos macrófagos periféricos e são necessários para a ativação e proliferação das células T pois têm um papel na

fagocitose da matriz extracelular bem como dos resíduos de células apoptóticas, sendo importantes para a invasão do trofoblasto e para o crescimento da placenta. No primeiro trimestre, as células NK, dendríticas e macrófagos infiltram-se na decídua e acumulam-se em torno das células invasoras do trofoblasto. Na ausência destas células, as células trofoblásticas são incapazes de atingir a vascularidade endometrial e a resposta angiogénica é negativamente afetada, o que conduz à interrupção da gravidez (Mor et al., 2017; Mor & Cardenas, 2010).

2.2.3. Regulação das células T

Os TCR's nas células TCD4 positivas (helper e reguladoras) identificam antígenos apresentados pelo MHC classe II em células apresentadoras de antígenos. As moléculas do MHC II são particularmente importantes na defesa contra patógenos exógenos. O TCR nas células TCD8 positivas reconhece antígenos endógenos apresentados no MHC II. Estes antígenos endógenos provêm de vírus, bactérias intracelulares ou transformação maligna. Por isso, os gâmetas e a maioria das células placentárias não apresentam nenhum dos MHC. Porém as extravilosidades do trofoblasto podem expressar moléculas do MHC I como a HLA-G, HLA-E e HLA-C, que promovem a modulação das citocinas mediada por células e a remodelação vascular materna (Hyde & Schust, 2016).

Juntamente com os macrófagos e as células NK, as células T-reg contribuem para o estado anti-inflamatório necessário no início da gravidez. A sua função principal é a proteção das células fetais (que expressam antígenos paternos) da rejeição pelo sistema imunitário da mãe. O seu papel é crucial, uma vez que têm sido correlacionados casos de aborto espontâneo com números baixos de células Treg (T reguladoras) (Mor et al., 2017).

2.2.4. Efeito das hormonas reprodutoras

As hormonas mais revelantes na imunomodulação da gravidez são os estrogénios, a progesterona e a Gonadotrofina Coriónica Humana (hCG). O estrogénio aumenta a ativação e proliferação das células Treg na fase inicial da gravidez, que é mantida posteriormente pela influência da progesterona. A hCG tem um papel quimiotáxico, atraindo células Treg para a interface materno-fetal (Hyde & Schust, 2016).

A progesterona desempenha um papel primordial na manutenção da gravidez, mantendo a fase luteínica, atuando na imunomodulação, na supressão da resposta inflamatória, na diminuição da contratilidade uterina e beneficiando a circulação útero-placentária. Uma molécula de destaque na imunomodulação é o Fator Bloqueador Induzido pela Progesterona (PIBF), que é secretado por linfócitos durante a gravidez e tem um efeito deletério na resposta imune mediada por células. A progesterona também exerce um efeito positivo na invasão das extravilosidades do trofoblasto na decídua e inibe a apoptose destas, evidenciando a sua importância na manutenção da fase lútea. Relativamente à inibição da contratilidade uterina, a progesterona provoca uma diminuição na concentração de oxitocina no miométrio, e juntamente com os seus metabolitos induz um estado de quiescência uterina através de interações nucleares e recetores de membrana (Carlo et al., 2016).

2.2.5. Perfis de Libertação de Citocinas

As funções das células T-helper (Th) estão dependentes do perfil de libertação de citocinas. As células Th naive (Th0) diferenciam-se em células Th1 na presença de INF- γ (Interferão Gama) e em células Th2 na presença de IL-4 (Interleucina 4). As primeiras possuem uma resposta maioritariamente inflamatória mediada pela libertação de INF- δ , IL-12, IL-2 e fator de necrose tumoral e as segundas caracterizam-se pela produção de anticorpos e secreção de IL-10, possuindo uma ação anti-inflamatória. A função das células Th também está intrinsecamente relacionada com a função das Treg. Experiências em que se misturaram células mononucleares sanguíneas paternas com células Treg de mulheres grávidas, mostrou uma supressão da secreção da citocina inflamatória INF- δ e uma diminuição da resposta inflamatória imune, evidenciando um mecanismo de regulação indispensável de regulação anti-inflamatória das células Treg sobre as Th1.

A regulação ineficaz das células Th poderá ter efeitos prejudiciais e levar a complicações na gravidez, conduzindo abortos recorrentes, partos prematuros e pré-eclâmpsia. O mesmo acontece quando as células NK exibem um efeito citotóxico mais marcado, impedindo a implantação (Hyde & Schust, 2016).

4. INFLUÊNCIA DA MICROBIOTA NA SAÚDE DA GRÁVIDA E DA DESCENDÊNCIA

4.1. Parto Prematuro

Estudos recentes têm analisado o papel que a microbiota exerce no parto prematuro espontâneo (PPE). Espécies frequentemente associadas a PPE incluem *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis*, *Bacteroides spp.*, *Gardnerella vaginalis*, and *Fusobacterium nucleatum*, organismos tipicamente pouco virulentos, a não ser que atinjam o ambiente intrauterino. Existe a possibilidade de que o *Fusobacterium nucleatum*, atinja a placenta através da corrente sanguínea e altere a permeabilidade do endotélio, permitindo a colonização por outros organismos potencialmente patogênicos como a *Escherichia coli*. Também foi isolada *Capnocytophaga*, uma bactéria gram-negativa oral, no fluido amniótico em casos de parto prematuro (Fox et al., 2015).

As espécies mais frequentemente encontradas no mecônio de bebês prematuros pertencem ao gênero *Enterobacter*, *Lactobacillus*, *Photorhabdus* e *Tanerella* e, em casos de sépsis, nestes bebês, é frequente encontrar espécies de Proteobacteria e Firmicutes (Koleva et al., 2015).

A infecção intraamniótica desencadeia uma cascata inflamatória onde são libertadas prostaglandinas, metaloproteases, e citocinas proinflamatórias, que promovem as contrações uterinas e a remodelação do colagénio cervical resultando no seu enfraquecimento. Também existe evidência que de a desregulação do sistema imunitário materno poderá ser um motivo de parto prematuro relacionado com inflamação. Dado que um dos preditores clínicos mais fortes de parto prematuro é o historial de parto prematuro, muita pesquisa tem sido realizada na associação de polimorfismos genéticos maternos e PPE. Mães com polimorfismos do TNF- α -308 e vaginose bacteriana concomitante têm um risco aumentado de parto prematuro em comparação com mães apenas com o polimorfismo ou apenas com vaginose (Fox et al., 2015).

Pensa-se que existe uma ligação entre a infecção e inflamação com PPE, incluindo associações com infeções intrauterinas subclínicas, infeções intraamnióticas e infeções maternas extrauterinas como infeções renais e periodontais (Vinturache et al., 2016).

A disseminação hematogénica de micro-organismos poderá contribuir para efeitos negativos na gravidez tais como pré-eclâmpsia, parto prematuro, baixo peso à nascença, restrição do crescimento fetal e morte fetal (Cobb et al., 2017).

4.2. Distúrbios do sistema nervoso central

A composição da microbiota, apesar de poder sofrer algumas mudanças, estabiliza durante a idade adulta, sofrendo mudanças mais marcadas durante períodos designados por “janelas críticas”. Uma destas janelas críticas é a fase perinatal. A influência da microbiota materna sobre o desenvolvimento cerebral do feto é precoce e infecções durante a gravidez estão correlacionadas com doenças psiquiátricas, com desordens neurológicas e com o aumento de doenças inflamatórias e autoimunes. Porém, experiências com ratos *germ-free* comprovam que uma microbiota desregulada não é um quadro desejável uma vez que prejudica a homeostase neural, resultando em alterações neuroquímicas e comportamentais. Recentemente, foi demonstrado que a microbiota intestinal intervém na homeostase da microglia, as células imunes do sistema nervoso central. Ratos estéreis possuem uma microglia imatura, o que também acontece quando há erradicação da microbiota através de antibioterapia (Bauer et al., 2016).

Os transtornos do espectro do autismo (*autism spectrum disorders*) (ASD) possuem uma componente hereditária bastante elevada. Nesta componente incluem-se genes que codificam proteínas reguladoras da microglia e da formação sináptica, entre outras. Alguns tipos de ASD estão associados com níveis elevados de quimiocinas e citocinas durante a gravidez. Além disso, alguns estudos da microbiota em crianças autistas mostraram um aumento significativo de espécies de *Desofulvibrio*, *Bacteroides vulgatus* e *Clostridium bolteae*, bem como de SCFA em amostras fecais, quando comparadas com controlos (Kelly et al., 2017). Estudos com ratos estéreis mostraram fortes evidências de que a microbiota é um fator crucial no desenvolvimento do comportamento social e na etiologia de ASD (Borre et al., 2014).

A infecção pré-natal também tem sido apontada como um fator de risco para o desenvolvimento de esquizofrenia. Estudos em ratos mostraram que infecções pré-natais resultaram numa diminuição do controlo de impulsos e um aumento na sensibilidade aos antagonistas dos recetores NMDA (N-Metil-D-Aspartato) e compostos alucinogénicos como a quetamina e a fenciclidina (Anderson & Maes, 2013).

Estudos a longo prazo com roedores, após inflamação pré-natal induzida por inflamação, sugerem que as alterações por esta provocada são progressivas e podem manifestar-se apenas na adolescência, estabelecendo um paralelo com a emergência dos sintomas da esquizofrenia (Anderson & Maes, 2013).

Estudos epidemiológicos e em roedores têm demonstrado que a desregulação da microbiota intestinal também pode conduzir a distúrbios de ansiedade e depressão (Labouesse, Langhans, & Meyer, 2015).

4.3. Distúrbios do sistema gastrointestinal

No momento do nascimento, o sistema imunitário apresenta uma maturidade muito reduzida. A maturação deste sistema ocorre durante a infância e caracteriza-se pela indução da resposta imune específica ao mesmo tempo que se desenvolve tolerância aos micro-organismos comensais e aos seus metabolitos. Pensa-se que a desregulação nestes mecanismos pode contribuir para o desenvolvimento de doenças inflamatórias do intestino (IBD – *inflammatory bowel diseases*) mediadas pelas células Th1 (Li et al., 2014).

As cólicas são uma das enfermidades mais comuns nos primeiros meses de vida. Embora a sua etiologia não seja completamente conhecida, pressupõe-se que tenham um componente psicológica e gastrointestinal. O Síndrome do Cólon Irritável (SCI) afeta cerca de 20% das crianças em idade escolar. Os mecanismos propostos para este síndrome incluem o aumento da permeabilidade intestinal, hipersensibilidade visceral, inflamações subclínicas, síndromes de malabsorção e stress. Estes fatores podem estar associados com uma alteração na microbiota, uma vez que se observa um aumento de gama-Proteobacteria em crianças com SCI em comparação com controlos saudáveis. Além disso, uma dieta pobre em hidratos de carbono fermentáveis também tem efeitos benéficos nestas crianças (Mahony, Stilling, Dinan, & Cryan, 2015).

A enterocolite necrosante (NEC – *necrotising enterocolitis*) é uma doença inflamatória intestinal que atinge essencialmente bebés prematuros, afetando cerca de 10 % destes, com uma elevada taxa de mortalidade. Embora afete principalmente prematuros, esta condição também pode ocorrer em bebés de termo (Springer, 2016).

A etiologia da doença é controversa, porém é consensual que se pode dever a múltiplos fatores tais como (Samuels, Graaf, Jonge, Reiss, & Vermeulen, 2017; Zani & Pierro, 2016):

- Muito baixo peso à nascença;
- Predisposição genética;
- Imaturidade do intestino;
- Alimentação entérica;

- Desequilíbrios no tónus microvascular, que podem conduzir a quadros de isquémia/hipóxia;
- Colonização microbiana anormal;
- Mucosa intestinal hiperreactiva.

Existem vários micro-organismos que poderão estar implicados na patogénese da NEC. Porém, existe alguma controvérsia relativamente ao papel primário da infeção no despoletar da doença, ou se esta se deve a uma colonização secundária após existirem danos na mucosa intestinal. Os micro-organismos associados a esta patologia, mais frequentemente identificados, são *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Staphylococcus aureus*, *Saphylococcus epidermidis*, *Enterococcus* sp., *Clostridium perfringens* e *Pseudomonas aeruginosa* (Zani & Pierro, 2016). Mais recentemente, iniciou-se a investigação ao nível molecular da patologia e surgiram novas evidências de que podem existir determinantes moleculares com um papel importante na distinção do intestino prematuro do intestino de termo. Uma molécula que parece ter um papel de destaque na patogénese na NEC, é o TLR4 (recetor do tipo Toll 4). Este recetor parece ter uma maior expressão em intestinos prematuros de ratos, humanos e outras espécies, sendo menos no intestino de termo. A ativação do TLR4 no intestino prematuro, pela colonização de bactérias Gram negativas leva a uma variedade de efeitos deletérios que incluem o aumento da apoptose dos enterócitos, e a libertação de citocinas pró-inflamatórias diminuindo a regeneração dos enterócitos, que se traduz num aumento da permeabilidade intestinal aos micro-organismos (Niño, Sodhi, & Hackam, 2016).

4.4. Distúrbios metabólicos

A exposição a determinados fatores ambientais durante o período pré-natal ou perinatal poderá induzir alterações nas funções metabólicas predispondo o organismo a condições fisiopatológicas como a acumulação excessiva de gordura, alteração no metabolismo da glucose e insulinoresistência, diabetes *mellitus* tipo 2 e doenças cardiovasculares (Labouesse et al., 2015).

A inflamação crónica subclínica é um fator frequentemente associado à obesidade e evidências indicam que inflamações sistémicas e placentárias em mães obesas podem

mediar eventos metabólicos adversos na descendência. Um estudo que reuniu 17.000 indivíduos do sexo masculino mostrou que existe um aumento de 34% do risco de obesidade (avaliado através do índice de massa corporal), se durante a gravidez a mãe tiver sofrido uma infecção (Labouesse et al., 2015).

Durante a gravidez existe um aumento dos triglicéridos e colesterol que prossegue ao longo dos três trimestres e existe uma correlação entre o aumento destes parâmetros e o aparecimento de pré-eclampsia (Griffin, 2015).

Estudos em ratos em que se administrou lipopolissacárido (LPS), uma endotoxina bacteriana, durante a gravidez resultaram em vários distúrbios metabólicos na descendência, em que se incluem aumento do peso e do tecido adiposo, resistência à insulina e hiperfagia (Labouesse et al., 2015).

4.5. Distúrbios alérgicos

Atualmente, o eczema atópico, as alergias alimentares, a rinoconjuntivite alérgica e a asma são as condições crônicas mais comuns nas crianças dos países ocidentais (Abrahamsson, Wu, & Jenmalm, 2014).

O aumento das condições de higiene, a diminuição do tamanho das famílias, as mudanças alimentares e o uso de antibióticos alteraram profundamente os padrões de colonização microbiana do trato gastrointestinal no ocidente. Este facto coincidiu com o aumento de distúrbios alérgicos na população, evidenciando uma ligação entre a microbiota e a modulação da resposta imune alérgica (West, Jenmalm, & Prescott, 2014). A diminuição da exposição a micro-organismos é um mecanismo associado à alergia nos países desenvolvidos (Chen et al., 2017).

Estudos demonstram que crianças nascidas por cesariana têm um risco acrescido de desenvolverem asma e condições atópicas. Tem sido proposto que a colonização microbiana é um fator para a maturação normal da resposta das células Th1 e Treg durante a infância que irão suprimir a propensão à alergia mediada pelas células Th2 (West et al., 2014). Mais se acrescenta que a microbiota reduz a sinalização inflamatória na mucosa intestinal através maturação do sistema imune da mucosa e estimulação da produção de imunoglobulina A (Ig-A). O atraso no desenvolvimento de células produtoras de Ig-A parece contribuir significativamente para o desenvolvimento de alergias alimentares. Estabelece-se, assim, um paralelo entre a disbiose intestinal, anteriormente explorada, a ocidentalização e o aumento epidémico das alergias (West et al., 2014).

Existe uma forte evidência causal entre a microbiota das vias aéreas e a ocorrência de asma. Estudos prospectivos demonstraram que a existência de *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* e *Moraxella catarrhalis* na faringe de neonatos se correlaciona com o aumento do risco de asma durante a vida (Legatzki, Rösler, & Mutius, 2014)

Existe, também, um paralelo relativamente a condições de atopia, nomeadamente a dermatite atópica. Estudos demonstram que crianças com esta condição têm um aumento da carga de *Clostridiaee Staphylococcus aureus* no início da vida e uma menor quantidade de *Bacteroides e Bifidobacterium* (Abrahamsson et al., 2014; Legatzki et al., 2014).

5. ESTRATÉGIAS TERAPÊUTICAS NA MODULAÇÃO DA MICROBIOTA

A exposição pré-natal a variados fatores ambientais pode alterar a expressão dos genes por mecanismos epigenéticos o que permite uma melhor adaptação ao ambiente pós-natal. Estudos epidemiológicos mostram que a exposição materna a ambientes rurais durante a gestação conferem proteção contra alergias e outras doenças. Porém, a exposição durante a infância isoladamente não possui resultados tão consistentes (West et al., 2014).

5.1. Uso de probióticos

Os próbióticos são micro-organismos vivos, que em doses adequadas produzem efeitos benéficos à saúde do hospedeiro (West et al., 2014).

Em ratos, o tratamento com o micro-organismo comensal humano *Bacteroides fragilis* normaliza a permeabilidade da mucosa intestinal e possui um efeito benéfico em ASD, nos descendentes de progenitoras com infecções. Isto sugere que uma intervenção pré-natal poderá ter um efeito normalizador e benéfico no futuro, corrigindo ou melhorando os défices associados às ASD (Labouesse et al., 2015).

Uma meta-análise evidenciou uma redução de 81% nas infecções genitais em mulheres que tomam probióticos orais, porém não se sabe se o risco de parto prematuro também sofre uma diminuição (Sohn & Underwood, 2017).

Experiências com ratos murinos demonstraram que o tratamento materno com LPS ou microrganismos comensais como *Acinetobacter lwoffii* e *Lactobacillus rhamnosus* durante a gravidez diminuem a sensibilidade alérgica (West et al., 2014). Estudos de suplementação pré-natal com probióticos mostram que existem benefícios quando esta estratégia é aplicada no último trimestre da gravidez. Neste momento, a investigação aponta no sentido de avaliar se o início da suplementação no segundo trimestre (altura em que há o desenvolvimento dos linfócitos T) terá um efeito mais marcado na prevenção de condições alérgicas (Abrahamsson et al., 2014).

Há evidência de que os probióticos têm um papel protetor contra a NEC, reduzindo a severidade e a mortalidade da doença em prematuros. O facto de existir uma disrupção da flora intestinal normal, é por si só uma sugestão para o uso de

microrganismos benéficos. Porém, existe alguma controvérsia acerca do agente, da dose e dos intervalos de administração a usar, dada a vulnerabilidade dos prematuros. Uma revisão sistemática analisou 24 ensaios relativamente à efetividade e segurança do uso de probióticos na prevenção da NEC e sugeriu que a administração oral destes reduz a mortalidade e incidência de NEC severa (Niño et al., 2016). Os géneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* têm sido apontados como probióticos com potencial protetor contra a doença (Gregory, DeForge, Phillips, & Van Marter, 2013).

Tabela 2 Ação probiótica dos *Lactobacillus* e mecanismos envolvidos

Ação	Mecanismos
Atividade bactericida direta	<ul style="list-style-type: none"> - Produção de ácido láctico; - Produção de bacteriocinas; - Produção de peróxido de hidrogénio.
Redução do substrato energético no intestino	<ul style="list-style-type: none"> - Metabolismo dos hidratos de carbono; - Síntese de SCFA.
Proteção da barreira epitelial	<ul style="list-style-type: none"> - Inibição da apoptose das células epiteliais e atenuação dos danos; - Manutenção das <i>tight junctions</i> das células epiteliais; - Redução das toxinas de micro-organismos patogénicos; - Produção de oligossacáridos que previnem a adesão de Gram-negativos ao epitélio; - Aumento da produção de muco pelas células caliciformes.
Alteração da resposta inflamatória do hospedeiro	<ul style="list-style-type: none"> - Redução da carga patogénica; - Contato direto com células subepiteliais via TLR; - Aumento da secreção de IgA; - Diminuição da expressão dos TRL exercendo regulação dos processos inflamatórios.

Estudos analisaram os efeitos da administração de probióticos na manipulação do metabolismo da glucose em mulheres com IMC normal e compararam os resultados com mulheres controle, às quais não foi administrado qualquer probiótico. Os resultados demonstraram uma redução de 64% na incidência de diabetes *mellitus* gestacional, uma redução dos níveis de insulina e um aumento na sensibilidade à insulina nas mulheres que receberam probióticos em comparação com o grupo de controle (Griffin, 2015).

Um estudo observacional que envolveu cerca de 34000 pares mãe-filho, na Noruega, entre 2002 e 2008 questionou os hábitos alimentares relativamente a produtos derivados de leite fermentado ingeridos durante a gravidez e a análise dos resultados demonstrou uma redução de 40% na pré-eclampsia severa em mulheres que ingeriam grandes quantidades de produtos fermentados, sendo este efeito dose-dependente (Griffin, 2015).

Do estudo acima referido, um grupo de cerca 19000 mulheres foi estudado para estabelecer a ligação da ingestão de produtos derivados do leite fermentado e o parto prematuro, de onde se concluiu que a ingestão deste tipo de produtos resultou numa redução da incidência do parto prematuro em 15% (Griffin, 2015).

Um outro estudo demonstrou que a intervenção alimentar, juntamente com a administração de *Lactobacillus rhamnosus* GG e *Bifidobacterium lactis* diminuiu significativamente a circunferência abdominal pós-parto e a incidência de diabetes gestacional de 36% (dieta/placebo) para 13% (dieta/probiótico) (Sohn & Underwood, 2017).

5.1.1. Estirpes probióticas em uso

Na última década observou-se um aumento do mercado de probióticos disponíveis destinados à mulher grávida e aos recém-nascidos. Esta disponibilidade têm vindo crescer devido aos estudos extensivos em humanos, suportados por evidências publicadas em vários jornais (Reid et al., 2016).

Atualmente existem vários probióticos em uso com finalidades distintas, cuja administração pode iniciar-se mesmo antes da concepção. Na tabela abaixo encontra-se um resumo das estirpes atualmente utilizadas, o momento e o objetivo da administração.

Tabela 3 Estirpes probióticas em uso, momento da administração e objetivos terapêuticos Adaptado de Reid et al., 2016.

Estirpe	Momento da administração	Objetivo
<i>Lactobacillus brevis</i> cd2, <i>Lactobacillus salivarius</i> fv2, <i>Lactobacillus plantarum</i> fv9	Pré-conceptivo	-Diminuição do risco de peroxidação do esperma; - Aumento da viabilidade e motilidade dos espermatozoides.
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> GR-1, <i>Lactobacillus reuteri</i> RC-14	Pré-conceptivo, durante toda a gravidez	Redução da recorrência de vaginose bacteriana.
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG, <i>Bifidobacterium lactis</i> Bb-12	1º trimestre da gravidez	Redução o risco de diabetes gestacional.
<i>L. rhamnosus</i> LPR, <i>Bifidobacterium longum</i> BL999, <i>Lactobacillus paracasei</i> ST11	2 últimos meses da gravidez e 2 primeiros meses de amamentação	Redução do risco de eczema atópico.
<i>Lactobacillus fermentum</i> CECT5716, <i>Lactobacillus salivarius</i> CECT5713, <i>Bifidobacterium infantis</i>	3 semanas antes do parto	Redução do risco de mastite e transferência do probiótico através do leite materno.
<i>Bifidobacterium lactis</i> Bb-12, <i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG	A partir da 20ª semana de gestação até ao termo e no bebé nos primeiros 6 meses	Reduzir o risco de doença alérgica.
<i>Bifidobacterium breve</i> , <i>Bifidobacterium bifidum</i> , <i>Bifidobacterium longum</i> , <i>Bifidobacterium infantis</i> , <i>Lactobacillus rhamnosus</i>	1º dia de vida até alta hospitalar	Prevenção da NEC.

Estirpe	Momento da administração	Objetivo
<i>L. reuteri</i> ATCC 55730	Entre os 2 e os 5 anos de idade	-Manutenção da saúde oral -Redução da placa e cáries dentárias.
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	Entre os 2 e os 5 anos de idade	Promover o crescimento.

5.2. Prébióticos

Os prébióticos são componentes que suportam o crescimento e colonização por bactérias que conferem benefícios à saúde e bem-estar do hospedeiro. Potenciam o crescimento das populações de *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*, limitando o crescimento de bactérias patogênicas nos locais onde se dá a sua multiplicação (VandeVusse, Hanson, & Safdar, 2013).

Para que um composto seja considerado prébiótico deverá obedecer a alguns requisitos. Nestes incluem-se:

- Não ser hidrolisado nem absorvido no trato gastrointestinal superior;
- Ser fermentado seletivamente por bactérias probióticas;
- Induzir efeitos fisiológicos benéficos (Corzo et al., 2015).

Existe um grande número de prebióticos comercializados a nível mundial, porém a evidência dos benefícios em humanos está comprovada apenas em alguns, tais como a inulina, os frutooligosacáridos (FOS), os galactooligosacáridos (GOS), os oligossacáridos do leite humano (HMO - *Human milk oligosaccharides*) e a lactulose (Corzo et al., 2015).

Estudos com animais mostraram que a administração de prébióticos na gravidez acarreta vantagens para a descendência como o aumento do tamanho do cólon, aumento da massa muscular e da massa óssea e uma diminuição dos sintomas de asma e alérgicos. Os estudos em humanos, embora limitados, mostram que a suplementação com FOS e GOS na gravidez possuem um efeito bifidogênico. Mais se acrescenta que se observa uma diminuição significativa nas concentrações séricas de insulina de mulheres grávidas e uma redução do risco de pré-eclâmpsia e dislipidemia (Sohn & Underwood, 2017).

No leite materno de mães de bebês prematuros existe uma variabilidade aumentada de HMO, quando comparada de mães que chegam a termo. Estes HMO afetam a microbiota fecal dos prematuros (Sohn & Underwood, 2017). Nas ocorrências de NEC, há evidência de que o leite materno poderá ser a melhor opção alimentar uma vez que pode potencializar o crescimento de uma flora entérica não patogénica que irá suprimir a colonização por populações patogénicas, produtoras de substâncias capazes de danificar a barreira epitelial e ativar a cascata inflamatória. Dado que apenas 30% das mães de bebês prematuros produzem leite suficiente para suprir as necessidades dos filhos, pode considerar-se o uso de leite pasteurizado de doadoras (Mcnelis, Fu, & Poindexter, 2017)

6. CONCLUSÃO

O presente trabalho serviu para ilustrar que a composição da microbiota na mulher sofre alterações ao longo da vida, incluindo no período da gravidez. Embora o conceito de colonização microbiana tenha uma conotação negativa no contexto da gravidez, as evidências atuais reivindicam que esta é necessária para que a gravidez seja bem sucedida.

Existe um equilíbrio dinâmico entre o sistema imunitário materno e o sistema imunitário do feto em desenvolvimento. A regulação destes é necessária para que não haja rejeição fetal.

A microbiota varia de mulher para mulher e é necessária mais pesquisa no sentido de compreender qual é a combinação ou combinações de micro-organismos que possam trazer mais benefícios durante a gravidez. Por agora, e como foi referido, sabe-se que a colonização por *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* se apresenta como uma vantagem no neste período.

O paradigma da esterilidade placentária, uterina e do fluído amniótico começa agora a ser quebrado, com várias evidências a sugerir um papel importante da microbiota no local de implantação do embrião, sem que a presença de micro-organismos neste local resulte necessariamente em efeitos prejudiciais ao desenvolvimento do feto. Os mecanismos pelos quais os micro-organismos atingem estes locais são ainda pouco claros e requerem mais investigação.

A influência da microbiota na gravidez estende-se no período pós-parto, podendo ter um papel no desenvolvimento de doenças alérgicas, doenças do sistema nervoso central, doenças gastrointestinais e metabólicas, tanto na mãe como no bebé. Por este motivo, é necessário esclarecer a ligação entre a presença de um micro-organismo e o risco de desenvolver uma determinada doença, para que possa haver uma intervenção desde o início da gestação. Esta intervenção deverá ser adaptada de acordo com a sensibilidade da população em estudo. De momento, as estratégias mais usadas recorrem aos probióticos e aos prebióticos para obtenção de uma microbiota saudável e benéfica, sendo que o efeito de alguns destes compostos já é amplamente reconhecido.

A investigação sobre a influência da microbiota na mulher grávida, embora se apresente em expansão, apresenta limitações devido à dificuldade técnica e ética na obtenção de dados, obtenção de amostras e na experimentação. Grande parte do

conhecimento atual sobre a influência da microbiota advém de estudos com animais, pelo que a extrapolação de conclusões para humanos está sujeita a uma probabilidade de erro.

7. BIBLIOGRAFIA

- Aagaard, K., Ma, J., Antony, K. M., Ganu, R., Petrosino, J., & Versalovic, J. (2016). The Placenta Harbors a Unique Microbiome. *Science Translational Medicine*, 6, 1–22. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3008599>.The
- Abrahamsson, T. R., Wu, R. Y., & Jenmalm, M. C. (2014). Gut microbiota and allergy : the importance of the pregnancy period. *Pediatric Research*, 1–6. <https://doi.org/10.1038/pr.2014.165>
- Anderson, G., & Maes, M. (2013). Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry Schizophrenia : Linking prenatal infection to cytokines , the tryptophan catabolite (TRYCAT) pathway , NMDA receptor hypofunction , neurodevelopment and neuroprogression. *Progress in Neuropsychopharmacology & Biological Psychiatry*, 42, 5–19. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2012.06.014>
- Ardissone, A. N., Cruz, D. M. De, Davis-richardson, A. G., Rechcigl, K. T., Li, N., Drew, J. C., ... Triplett, E. W. (2014). Meconium Microbiome Analysis Identifies Bacteria Correlated with Premature Birth. *PLOS ONE*, (3), 1–8. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0090784>
- Bauer, K. C., Huus, K. E., & Finlay, B. B. (2016). Microreview Microbes and the mind : emerging hallmarks of the gut microbiota – brain axis. *Cellular Microbiology*, 18(March), 632–644. <https://doi.org/10.1111/cmi.12585>
- Borre, Y. E., Keeffe, G. W. O., Clarke, G., Stanton, C., Dinan, T. G., & Cryan, J. F. (2014). Microbiota and neurodevelopmental windows: implications for brain disorders. *Trends in Molecular Medicine*, (Borre, Y. E., Keeffe, G. W. O., Clarke, G., Stanton, C., Dinan, T. G., Cryan, J. F. (2014). Microbiota and neurodevelopmental windows: implications for brain disorders. *Trends in Molecular Medicine*, 20(9), 509–518. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2014>), 509–518. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2014.05.002>
- Carlo, G., Renzo, D., Giardina, I., Clerici, G., Brillo, E., & Gerli, S. (2016). Progesterone in normal and pathological pregnancy. *Hormone Molecular Biology and Clinical Investigation*, 27, 35–48. <https://doi.org/10.1515/hmbci-2016-0038>
- Chen, X., Liu, S., Tan, Q., Shoenfeld, Y., & Zeng, Y. (2017). Microbiome , autoimmunity , allergy , and helminth infection : The importance of the pregnancy period. *American Journal of Reproductive Immunology*, (January), 1–7.

- <https://doi.org/10.1111/aji.12654>
- Cheung, K. L., & Lafayette, R. A. (2013). Renal Physiology of Pregnancy. *Advances in Chronic Kidney Disease*, 20(3), 209–214. <https://doi.org/10.1053/j.ackd.2013.01.012>
- Cobb, C. M., Kelly, P. J., & Williams, K. B. (2017). The oral microbiome and adverse pregnancy outcomes. *International Journal of Women's Health*, 9, 551–559.
- Corzo, N., Alonso, J. L., Azpiroz, F., Calvo, M. A., Cirici, M., Leis, R., ... Clemente, A. (2015). Prebióticos; concepto, propiedades y efectos beneficiosos. *Nutrición Hospitalaria*, 31, 99–118. <https://doi.org/10.3305/nh.2015.31.sup1.8715>
- Edwards, S. M., Cunningham, S. A., & Dunlop, A. L. (2017). The Maternal Gut Microbiome During Pregnancy. *MCN. The American Journal of Maternal Child Nursing*, 42, 1–7.
- Fox, C., D, M., Eichelberger, K., & D, M. (2015). Maternal microbiome and pregnancy outcomes. *Fertility and Sterility*, 104, 1358–1363. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2015.09.037>
- Gilbert, S. F., & Mcfall-ngai, M. J. (2014). A holobiont birth narrative : the epigenetic transmission of the human microbiome. *Frontiers in Genetics*, 5, 1–7. <https://doi.org/10.3389/fgene.2014.00282>
- Gregory, K. E., DeForge, C. E., Phillips, M., & Van Marter, L. J. (2013). Necrotizing Enterocolitis in the Premature Infant: Neonatal Nursing Assessment, Disease Pathogenesis, and Clinical Presentation. *Advanced Neonatal Care*, 11, 155–166. <https://doi.org/10.1097/ANC.0b013e31821baaf4.Necrotizing>
- Griffin, C. (2015). Probiotics in obstetrics and gynaecology. *Australian and New Zealand Journal of Obstetrics and Gynaecology*, 55, 201–209. <https://doi.org/10.1111/ajo.12303>
- Hyde, K. J., & Schust, D. J. (2016). The immunologic challenges of human reproduction : an evolving story. *Fertility and Sterility*, 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2016.07.1073>
- Jordan, S., Baker, B., Dunn, A., Edwards, S., Ferranti, E., Mutic, A. D., ... Rodriguez, J. (2017). Maternal – Child Microbiome: Specimen Collection, Storage, and Implications for Research and Practice. *Nursing Research*, 66, 175–183. <https://doi.org/10.1097/NNR.0000000000000201>
- Kelly, J. R., Minuto, C., Cryan, J. F., Clarke, G., & Dinan, T. G. (2017). Cross Talk : The Microbiota and Neurodevelopmental Disorders. *Frontiers on Neuroscience*, 11, 1–

31. <https://doi.org/10.3389/fnins.2017.00490>
- King, J. C. (2000). Physiology of pregnancy and nutrient metabolism. *American Journal of Clinical Nutrition*, 71(5 SUPPL.), 1218–1225.
- Koleva, P. T., Kim, J., Scott, J. A., & Kozyrskyj, A. L. (2015). Microbial Programming of Health and Disease Starts during Fetal Life. *Wiley Online Library*, 105, 265–277. <https://doi.org/10.1002/bdrc.21117>
- Labouesse, M. A., Langhans, W., & Meyer, U. (2015). Long-term pathological consequences of prenatal infection : Beyond brain disorders. *He American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 1–38. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00087.2015>
- Legatzki, A., Rösler, B., & Mutius, E. Von. (2014). Microbiome Diversity and Asthma and Allergy Risk. *Current Allergy and Asthma Reports*, 14, 1–9. <https://doi.org/10.1007/s11882-014-0466-0>
- Li, M., Wang, M., & Donovan, S. M. (2014). Early Development of the Gut Microbiome and Immune-Mediated Childhood Disorders, 74–87.
- Mahony, S. M. O., Stilling, R. M., Dinan, T. G., & Cryan, J. F. (2015). The Microbiome and Childhood Diseases : Focus on Brain-Gut Axis. *Birth Defects Research*, 105, 297–314. <https://doi.org/10.1002/bdrc.21118>
- Mcnelis, K., Fu, T. T., & Poindexter, B. (2017). Nutrition for the Extremely Preterm Infant. *Clinics in Perinatology*, 17, 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.clp.2017.01.012>
- Mor, G., Aldo, P., & Alvero, A. B. (2017). The unique immunological and microbial aspects of pregnancy. *Nature Publishing Group*, 1–14. <https://doi.org/10.1038/nri.2017.64>
- Mor, G., & Cardenas, I. (2010). The Immune System in Pregnancy: A Unique Complexity. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 425–433. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0897.2010.00836.x>
- Nagpal, R., Tsuji, H., Takahashi, T., Kawashima, K., & Collado, M. C. (2016). Sensitive Quantitative Analysis of the Meconium Bacterial Microbiota in Healthy Term Infants Born Vaginally or by Cesarean Section. *Frontiers in Microbiology*, 7, 1–9. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01997>
- Neuman, H., & Koren, O. (2017). The Pregnancy Microbiome. *Evolution of Human Microbiota*, 88, 1–9. <https://doi.org/10.1159/000455207>
- Niño, D. F., Sodhi, C. P., & Hackam, D. J. (2016). Necrotizing enterocolitis: new insights into pathogenesis and mechanisms. *Nature Reviews Gastroenterology &*

- Hepatology*, 13, 590–600. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2016.119>. Necrotizing
- Nuriel-ohayon, M., Neuman, H., & Koren, O. (2016). Microbial Changes during Pregnancy , Birth , and Infancy. *Pregnancy and the Microbiome*, 7, 1–13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01031>
- Pariente, G., Leibson, T., Carls, A., Adams-Webber, T., Ito, S., & Koren, G. (2016). Pregnancy-Associated Changes in Pharmacokinetics: A Systematic Review. *PLoS Medicine*, 13(11), 1–36. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1002160>
- Pelzer, E., Gomez-arango, L. F., Barrett, H. L., & Dekker, M. (2017). Review : Maternal health and the placental microbiome. *Placenta*, 54, 30–37. <https://doi.org/10.1016/j.placenta.2016.12.003>
- Prince, A. L., Ma, J., Kannan, P. S., Alvarez, M., Gisslen, T., Harris, R. A., ... Suhas, G. (2016). The placental microbiome is altered among subjects with spontaneous preterm birth with and without chorioamnionitis. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 214, 1–25. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2016.01.193>.The
- Ravel, J., Gajer, P., Abdo, Z., Schneider, G. M., Koenig, S. S. K., Mcculle, S. L., ... Forney, L. J. (2010). Vaginal microbiome of reproductive-age women. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108, 4680–4687. <https://doi.org/10.1073/pnas.1002611107/>-/DCSupplemental.www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1002611107
- Reid, G., Kumar, H., Khan, A. I., Rautava, S., Tobin, J., & Salminen, S. (2016). The case in favour of probiotics before , during and after pregnancy : insights from the. *Beneficial Microbes*, 7, 353–362. <https://doi.org/10.3920/BM2015.0140>
- Romero, R., Hassan, S. S., Gajer, P., Tarca, A. L., Fadrosh, D. W., Bieda, J., ... Ravel, J. (2014). The vaginal microbiota of pregnant women who subsequently have spontaneous preterm labor and delivery and those with a normal delivery at term. *Microbiome Journal*, 2, 1–15.
- Samuels, N., Graaf, R. A. Van De, Jonge, R. C. J. De, Reiss, I. K. M., & Vermeulen, M. J. (2017). Risk factors for necrotizing enterocolitis in neonates : a systematic review of prognostic studies. *BMC Pediatrics*, 17, 1–9. <https://doi.org/10.1186/s12887-017-0847-3>
- Sarkar, A., Lehto, S. M., Harty, S., Dinan, T. G., Cryan, J. F., & Burnet, P. W. J. (2016). Psychobiotics and the Manipulation of Bacteria – Gut – Brain Signals. *Trends in Neurosciences*, 39, 763–781. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2016.09.002>
- Seeley, R. R., Stephens, T. D., & Tate, P. (2008). *Anatomia & Fisiologia: 8ª Edição*.

- (Lusociência, Ed.). McGraw-Hill Companies, Inc.
- Sohn, K., & Underwood, M. A. (2017). Seminars in Fetal & Neonatal Medicine Prenatal and postnatal administration of prebiotics and probiotics. *Seminars in Fetal and Neonatal Medicine*, 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.siny.2017.07.002>
- Soma-Pillay, P., Nelson-Piercy, C., Tolppanen, H., & Mebazaa, A. (2016). Physiological changes in pregnancy. *Cardiovascular Journal of Africa*, 27(2), 89–94. <https://doi.org/10.5830/CVJA-2016-021>
- VandeVusse, L., Hanson, L., & Safdar, N. (2013). Perinatal Outcomes of Prenatal Probiotic and Prebiotic Administration. *Journal of Perinatal and Neonatal Nursing*, 27, 288–301. <https://doi.org/10.1097/JPN.0b013e3182a1e15d>
- Vidya, M. K., Kumar, V. G., Sejian, V., Krishnan, G., & Bhatta, R. (2017). International Reviews of Immunology Toll-like receptors: Significance, ligands, signaling pathways, and functions in mammals. *International Reviews of Immunology*, 1–17. <https://doi.org/10.1080/08830185.2017.1380200>
- Vinturache, A. E., Gyam, C., Hwang, J., Mysorekar, I. U., Jacobsson, B., Preterm, T., & International, B. (2016). Maternal microbiome e A pathway to preterm birth. *Seminars in Fetal & Neonatal Medicine*, 21, 94–99. <https://doi.org/10.1016/j.siny.2016.02.004>
- Walker, R. W., Clemente, J. C., Peter, I., & Loos, R. J. F. (2017). The prenatal gut microbiome: are we colonized with bacteria in utero? *Pediatric Obesity*, 1, 1–15. <https://doi.org/10.1111/ijpo.12217>
- West, C. E., Jenmalm, M. C., & Prescott, S. L. (2014). The gut microbiota and its role in the development of allergic disease: a wider perspective. *Clinical and Experimental Allergy: Journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology*, 45, 43–53. <https://doi.org/10.1111/cea.12332>
- Wilczyńska, P., Skarzyńska, E., & Lisowska-Myjak, B. (2017). Meconium microbiome as a new source of information about long-term health and disease: questions and answers. *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*, 7058(October). <https://doi.org/10.1080/14767058.2017.1387888>
- Witkins, S., & Linhares, I. (2016). Why do lactobacilli dominate the human vaginal microbiota? *British Journal of Obstetrics and Gynaecology*, 606–611. <https://doi.org/10.1111/1471-0528.14390>
- Yatim, K. M., & Lakkis, F. G. (2015). A Brief Journey through the Immune System. *Renal Immunology*, 1–8. <https://doi.org/10.2215/CJN.10031014>

Zani, A., & Pierro, A. (2016). Necrotizing enterocolitis : controversies and challenges. *F1000 Faculty Reviews*, 4, 1–10. <https://doi.org/10.12688/f1000research.6888.1>