



FACULDADE DE MEDICINA
UNIVERSIDADE DE
COIMBRA

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA – TRABALHO FINAL

JOANA FILIPA LANDEIRA AFONSO BARATA

***Diabetes gestacional: o papel da microbiota intestinal e o potencial
uso de probióticos***

ARTIGO DE REVISÃO

ÁREA CIENTÍFICA DE OBSTETRÍCIA

Trabalho realizado sob a orientação de:

PROFESSORA DOUTORA ANA LUÍSA FIALHO AMARAL DE AREIA

DRA. IOLANDA JOÃO MORA CRUZ DE FREITAS FERREIRA

NOVEMBRO/2021

DIABETES GESTACIONAL: O PAPEL DA MICROBIOTA INTESTINAL E O POTENCIAL USO DE PROBIÓTICOS

Joana Filipa Landeira Afonso Barata¹; Iolanda João Mora Cruz de Freitas Ferreira^{1,2};

Ana Luísa Fialho Amaral de Areia^{1,2}

1. Faculdade de Medicina, Universidade de Coimbra, Portugal

2. Departamento de Obstetrícia, Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra, Portugal

Professora Doutora Ana Luísa Fialho Amaral de Areia

Rua Larga 2, 3000-370 Coimbra, Portugal

ana.areia@uc.pt

ÍNDICE

RESUMO	5
ABSTRACT	6
INTRODUÇÃO	7
METODOLOGIA.....	9
DISCUSSÃO	11
1 MICROBIOTA INTESTINAL	11
1.1 EVOLUÇÃO DA MICROBIOTA INTESTINAL NA GRAVIDEZ DE BAIXO RISCO E NA GRAVIDEZ COMPLICADA COM DIABETES GESTACIONAL	11
1.2 ALTERAÇÕES DA MICROBIOTA INTESTINAL NA GRAVIDEZ COMPLICADA COM DIABETES GESTACIONAL.....	12
1.3 PAPEL DA MICROBIOTA INTESTINAL NA FISIOPATOLOGIA DA DIABETES GESTACIONAL.....	19
1.3.1 Papel dos ácidos gordos de cadeia curta na secreção de insulina	19
1.3.2 Papel dos ácidos gordos de cadeia curta e lipopolissacarídeos na inflamação de baixo grau	20
2 PROBIÓTICOS	23
2.1 MECANISMOS DE AÇÃO DOS PROBIÓTICOS NA DIABETES GESTACIONAL.....	23
2.1.1 Papel dos probióticos na secreção de peptídeo semelhante ao glucagon 1	23
2.1.2 Papel dos probióticos na inflamação	23
2.1.3 Papel dos probióticos no stress oxidativo.....	24
2.1.4 Papel dos probióticos na expressão génica	24
2.2 PAPEL DOS PROBIÓTICOS NA PREVENÇÃO DA DIABETES GESTACIONAL	26
2.3 PAPEL DOS PROBIÓTICOS NO TRATAMENTO DA DIABETES GESTACIONAL	30
2.4 SEGURANÇA DOS PROBIÓTICOS NA GRAVIDEZ.....	36
CONCLUSÃO	38
REFERÊNCIAS.....	40

RESUMO

Introdução: A diabetes gestacional é uma complicação obstétrica comum, com uma prevalência crescente e que está associada a inúmeras consequências a curto e longo prazo. Evidências recentes sugerem que a disbiose intestinal pode contribuir para a patogênese da doença, fundamentando o surgimento de novas abordagens de prevenção e tratamento baseadas na modulação da microbiota intestinal, nomeadamente através do uso de probióticos. Com esta revisão pretende-se elucidar as alterações da microbiota intestinal associadas à diabetes gestacional, a forma como estas contribuem para a fisiopatologia da doença, os mecanismos de ação dos probióticos e o seu papel na prevenção e tratamento da diabetes gestacional.

Metodologia: A pesquisa bibliográfica foi realizada nas bases de dados Pubmed, Scielo e Tripdatabase através dos termos: “gestational diabetes”, “pregnancy-induced diabetes”, “probiotics”, “microbiota”, “microbiome”, “microflora”, “flora”, “microbial”, “dysbiosis” e “dysbacteriosis”. Foram selecionados artigos publicados entre 2010 e 2020, que relacionassem a microbiota intestinal materna com a diabetes gestacional ou o uso de probióticos com a sua prevenção e tratamento.

Discussão: A disbiose intestinal associada à diabetes gestacional caracteriza-se por um aumento da razão Firmicutes/Bacteroidetes, com uma maior abundância de bactérias gram-negativas e uma menor quantidade de bactérias gram-positivas produtoras de ácidos gordos de cadeia curta. Esta desregulação da microbiota intestinal pode contribuir para a fisiopatologia da doença através de mecanismos que envolvem a diminuição da secreção de incretinas e o aumento do estado inflamatório. A suplementação com probióticos pode ajudar na regulação da disbiose intestinal e proporcionar alterações potencialmente benéficas na homeostase da glicose, como o aumento da secreção de peptídeo semelhante ao glucagon 1, a alteração da expressão de genes envolvidos no metabolismo da glicose e a diminuição da inflamação e do stress oxidativo. Em mulheres grávidas, o uso de probióticos parece reduzir a resistência à insulina, no entanto o seu efeito na redução dos níveis de glicose plasmática é limitado. A incidência de diabetes gestacional ou a ocorrência da maioria dos desfechos maternos e neonatais adversos associados à doença não são significativamente diminuídos com o uso de probióticos.

Conclusão: A disbiose intestinal presente em mulheres com diabetes gestacional pode contribuir para a patogênese da doença, contudo, os probióticos têm um papel limitado na sua prevenção e tratamento.

Palavras-chave: diabetes gestacional; microbiota intestinal; disbiose; probióticos.

ABSTRACT

Introduction: Gestational diabetes is a common obstetric complication, with an increasing prevalence and associated with numerous short and long-term consequences. Recent evidence suggests that gut dysbiosis may contribute to the pathogenesis of the disease, supporting the emergence of new preventive and treatment approaches based on the modulation of the gut microbiota, namely through the use of probiotics. This review aims to elucidate the changes in the gut microbiota associated with gestational diabetes, their contribution to the pathophysiology of the disease, the mechanisms of action of probiotics and their role in the prevention and treatment of gestational diabetes.

Methodology: The literature search was carried out in Pubmed, Scielo and Tripdatabase databases using the terms: “gestational diabetes”, “pregnancy-induced diabetes”, “probiotics”, “microbiota”, “microbiome”, “microflora”, “flora”, “microbial”, “dysbiosis” and “dysbacteriosis”. Articles published between 2010 and 2020 that related maternal gut microbiota with gestational diabetes or the use of probiotics with its prevention and treatment were selected.

Discussion: Gut dysbiosis associated with gestational diabetes is characterized by an increase in the Firmicutes/Bacteroidetes ratio, with a greater abundance of gram-negative bacteria and a smaller amount of gram-positive bacteria producing short-chain fatty acids. This dysregulation of the gut microbiota may contribute to the pathophysiology of the disease through mechanisms that involve a decrease in incretin secretion and an increase in the inflammatory state. Supplementation with probiotics can help regulate gut dysbiosis and provide beneficial changes in glucose homeostasis, such as increased secretion of glucagon-like peptide 1, altered expression of genes involved in glucose metabolism, decreased inflammation and less oxidative stress. In pregnant women, the use of probiotics appears to reduce insulin resistance, however their effect on lowering plasma glucose levels is limited. The incidence of gestational diabetes or the occurrence of most adverse maternal and neonatal outcomes associated with the disease are not significantly reduced with the use of probiotics.

Conclusion: Gut dysbiosis present in women with gestational diabetes may contribute to the pathogenesis of the disease, however, probiotics have a limited role in its prevention and treatment.

Keywords: gestational diabetes; gut microbiota; dysbiosis; probiotics.

INTRODUÇÃO

A diabetes gestacional (DG) é definida como um subtipo de intolerância aos hidratos de carbono diagnosticado ou detetado pela primeira vez no decurso da gravidez.(1) Trata-se de uma complicação comum e com uma prevalência crescente, consequência de um maior predomínio de fatores de risco como a obesidade e a idade materna avançada.(2) A prevalência global da DG é de 13,2%,(3) sendo em Portugal o valor estimado, em 2018, de 8,8%, o dobro do verificado em 2010.(4) Em mulheres com mais de 40 anos a prevalência atinge os 17.7%.(4)

Apesar do estado de hiperglicemia ser restaurado após o parto, a DG correlaciona-se com resultados maternos, fetais e neonatais indesejáveis, como pré-eclâmpsia, macrossomia, distócia de ombros, cesariana, parto pré-termo, hiperbilirrubinémia e hipoglicémia neonatal. A tudo isto associa-se um risco aumentado, para a mãe e para o filho, de diabetes mellitus tipo 2 e doenças cardiovasculares a longo prazo.(1,3)

A fisiopatologia da DG é complexa e são vários os órgãos envolvidos na regulação do metabolismo da glicose durante a gravidez. Ao longo da gestação há uma adaptação metabólica materna de modo a garantir um adequado aporte de energia ao crescimento fetal, desenvolvendo-se um estado de resistência à insulina que é compensado pelo aumento da sua secreção pelas células β pancreáticas. A hiperglicemia surge quando se perde este equilíbrio e a resposta das células β não é suficiente para colmatar o aumento da resistência à insulina. Evidências recentes mostram que também o intestino pode contribuir para a patogénese da DG, através da ação da microbiota intestinal.(2,5)

A microbiota intestinal, que corresponde aos microrganismos que colonizam o trato gastrointestinal,(6) muda ao longo da gestação,(7-9) especulando-se ser consequência de alterações imunológicas e hormonais.(7,10,11) Na gravidez complicada com DG esta adaptação fisiológica está alterada,(8,12,13) verificando-se uma disbiose intestinal semelhante à descrita em pacientes com diabetes mellitus tipo 2.(13) É sugerido que este padrão microbiano anormal possa provocar alterações em vias de secreção e sinalização de insulina, capazes de induzir um estado de hiperglicemia e contribuir para a patogénese da DG.(5,14) Nesse sentido, a manipulação da microbiota intestinal através do uso de probióticos pode ser uma abordagem promissora na prevenção e tratamento da doença.

Os probióticos são microrganismos vivos que, em doses adequadas, conferem benefícios à saúde.(15) Apesar de terem sido relatados efeitos benéficos no metabolismo da glicose durante a gravidez, nomeadamente na redução da glicose plasmática e melhoria da resistência à insulina,(16-19) a existência de resultados contraditórios(20-23) não permite, atualmente, esclarecer qual o papel dos probióticos na DG. Revisões sistemáticas e meta-análises corroboram a sua capacidade de melhorar a resistência à insulina, no entanto, o

efeito dos probióticos na redução da glicose plasmática tem-se revelado inconsistente, não sendo claro o seu impacto em desfechos obstétricos na DG.(24-34)

Dado o aumento da prevalência da DG e as suas consequências a curto e longo prazo, é importante elucidar mecanismos fisiopatológicos que possam fundamentar novas estratégias preventivas e terapêuticas. Assim sendo, o objetivo desta revisão é entender quais as alterações da microbiota intestinal associadas à DG e de que forma estas contribuem para a patogénese da doença, assim como compreender os mecanismos de ação dos probióticos e o seu papel na prevenção e tratamento deste distúrbio metabólico.

METODOLOGIA

A pesquisa bibliográfica foi realizada nas bases de dados Pubmed, Scielo e Tripdatabase em novembro de 2020, através da utilização de termos controlados (MeSH) e termos não controlados, de acordo com as seguintes equações de pesquisa: “(“Diabetes, Gestational”[Mesh]) AND (“Microbiota”[Mesh] OR “Probiotics”[Mesh] OR “Dysbiosis”[Mesh]); (“gestational diabetes” OR “pregnancy-induced diabetes”) AND (probiotics OR microbiota OR microbiome OR microflora OR flora OR microbial OR dysbiosis OR dysbacteriosis)”. Num total de 462 resultados, obtiveram-se 333 artigos após a remoção dos duplicados.

Definiram-se como critérios de inclusão artigos publicados entre 2010 e 2020, em inglês, português ou espanhol e que relacionassem a microbiota intestinal materna com a DG ou o uso de probióticos com a sua prevenção e tratamento. Foram incluídos ensaios clínicos randomizados, meta-análises, revisões sistemáticas, revisões narrativas, estudos coorte, estudos caso-controlo, estudos transversais e estudos com animais, sendo que nestes últimos apenas foram selecionados os que abordavam mecanismos fisiopatológicos da microbiota intestinal ou mecanismos de ação dos probióticos na DG. Foram excluídos protocolos de estudos, *guidelines*, comentários e artigos sem versão completa disponível.

O processo de seleção foi realizado por duas fases: inicialmente foram excluídos 220 artigos pela avaliação do título e resumo e posteriormente 50 através da análise do texto completo. A verificação das referências bibliográficas dos artigos selecionados permitiu adicionar 4 artigos de interesse, sendo que no total foram incluídos 67 artigos nesta revisão narrativa. (Fig.1)

Adicionalmente, foram ainda considerados 2 artigos relativos à epidemiologia da DG e 1 artigo referente ao último consenso nacional de DG.

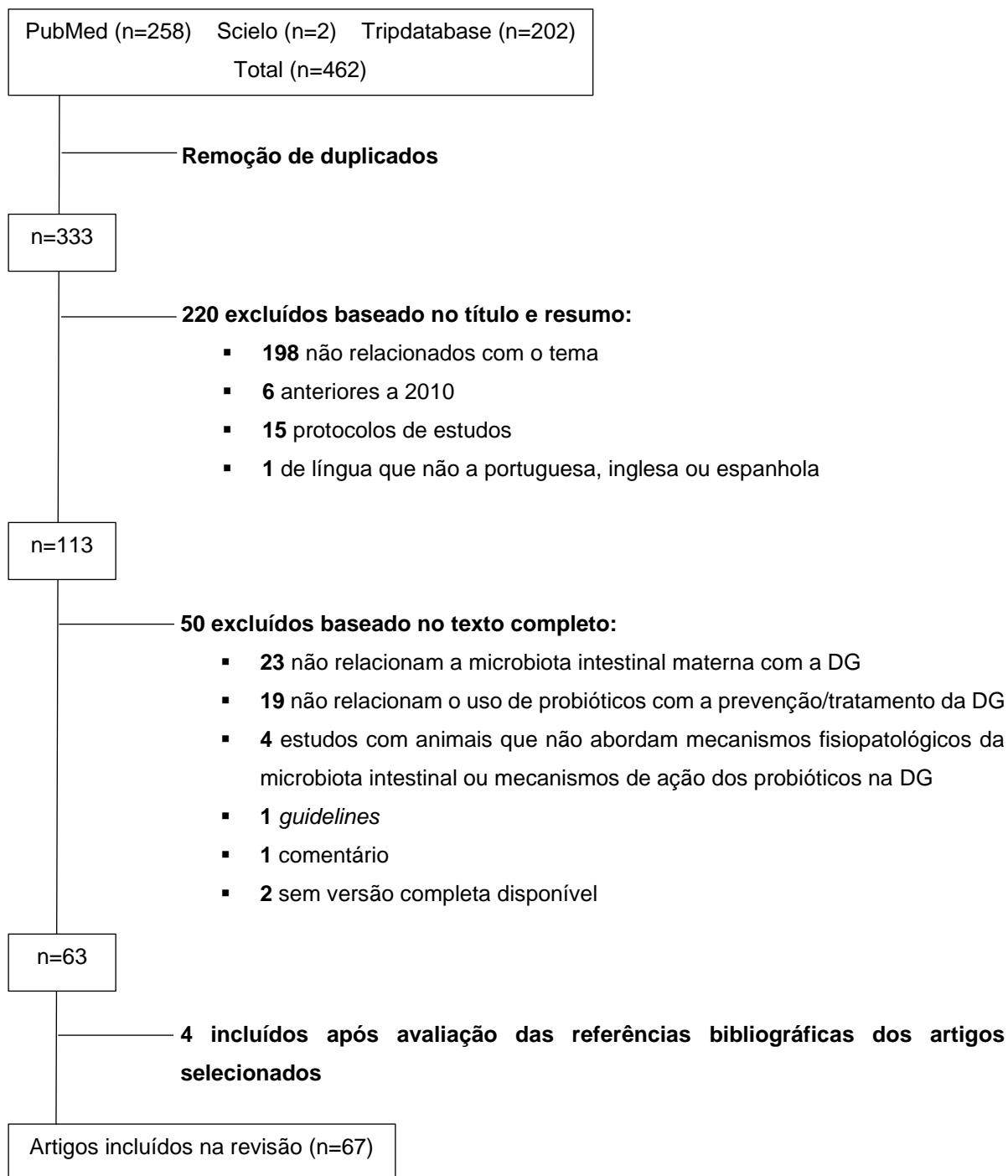


Figura 1 – Fluxograma do processo de seleção bibliográfica

DISCUSSÃO

1 Microbiota intestinal

1.1 Evolução da microbiota intestinal na gravidez de baixo risco e na gravidez complicada com diabetes gestacional

A gravidez está associada a inúmeras alterações metabólicas, imunológicas e hormonais.(7) Estas alterações fisiológicas, essenciais à adaptação do organismo materno, parecem abranger também a microbiota intestinal, que sofre uma profunda modificação da sua estrutura e composição ao longo da gestação.(7-9)

A microbiota intestinal no primeiro trimestre é semelhante à de mulheres não grávidas,(7) mas distinta no segundo(8) e terceiro trimestres de gravidez(7). Do primeiro para o terceiro trimestre, ocorre uma diminuição da riqueza da microbiota intestinal (diversidade α : número de espécies diferentes dentro da amostra) e um aumento da diversidade bacteriana entre indivíduos (diversidade β : número de espécies diferentes entre amostras).(7) A nível taxonómico, os principais filos que compõem a microbiota intestinal, Bacteroidetes e Firmicutes, mantêm uma abundância semelhante durante a gravidez. No entanto, verificou-se um aumento da abundância de Actinobacteria e Proteobacteria, nomeadamente da família Enterobacteriaceae e do género *Streptococcus*, e uma diminuição da abundância de bactérias produtoras de butirato, como *Faecalibacterium* e *Eubacterium*.(7)

Estas mudanças da microbiota intestinal ao longo da gestação são uma característica amplamente compartilhada entre grávidas e não foram associadas a outros fatores capazes de influenciar a composição da flora intestinal, tratando-se, provavelmente, de um processo fisiológico, consequência das mudanças imunológicas e hormonais maternas.(7,10,11) Para além disso, é sugerido que a alteração da microbiota intestinal pode mesmo contribuir para a adaptação do metabolismo materno.(7,8) Num estudo com animais, foi demonstrado que o padrão microbiano presente no terceiro trimestre, quando transferido para ratos não colonizados, era capaz de induzir um estado metabólico semelhante ao que ocorre no final da gestação saudável, com aumento da inflamação, da adiposidade e da resistência à insulina, contrariamente à microbiota do primeiro trimestre de gravidez.(7)

Tal como sucede na gravidez saudável, a composição da microbiota intestinal de mulheres com DG muda ao longo da gestação.(8,9,35) Ainda que algumas mudanças taxonómicas importantes sejam partilhadas entre mulheres com e sem DG,(8) a adaptação fisiológica da microbiota acontece de forma distinta.(8,9,12) A DG associa-se a uma microbiota intestinal mais inflexível e estática, sujeita a um menor número de mudanças

taxonômicas e funcionais, podendo influenciar o metabolismo materno e favorecer o desenvolvimento da doença.(8,9)

A avaliação da evolução da microbiota intestinal na primeira metade da gravidez complicada com DG mostrou que há uma diminuição da riqueza bacteriana (diversidade α), sem diferenças na diversidade β entre o primeiro e segundo trimestre. A análise taxonômica a nível de filo revelou um aumento da abundância de Firmicutes e uma diminuição de Bacteroidetes, com o aumento da razão Firmicutes/Bacteroidetes ao longo da gestação. A nível de família e género, foi descrito um aumento significativo da família Desulfovibrionaceae, Clostridiales e género *Bilophila* e uma diminuição dos géneros *Clostridium*, *Lactococcus*.(8)

De forma inversa, a avaliação da evolução da microbiota intestinal em mulheres com DG na segunda metade da gravidez, mostrou um aumento da diversidade α e uma diversidade β distinta entre o segundo e terceiro trimestre. A nível de filo, foi igualmente detetado um aumento da razão Firmicutes/Bacteroidetes, no entanto, a nível de família e género, houve um aumento significativo da abundância da família Lachnospiraceae e géneros *Blautia*, *Butyricoccus*, *Clostridium*, *Coprococcus*, *Dorea*, *Faecalibacterium*, *L-Ruminococcus* e uma redução da família Rikenellaceae e géneros *Bacteroides*, *Collinsella*.(35)

1.2 Alterações da microbiota intestinal na gravidez complicada com diabetes gestacional

A estrutura e a composição da microbiota intestinal variam de acordo com o estado metabólico durante a gravidez, verificando-se que mulheres que desenvolvem DG apresentam uma microbiota intestinal distinta de grávidas normoglicémicas no primeiro,(8,36,37) segundo(8,14,38-40) e terceiro(12,13,41-45) trimestres de gravidez.

A comparação da microbiota intestinal entre mulheres com DG e grávidas saudáveis estabelece diversos resultados, por vezes contraditórios entre estudos. (Tabela 1) Os diferentes métodos de sequenciamento utilizados e as variações na população em estudo, como o tamanho da amostra, idade gestacional no momento da colheita, índice de massa corporal (IMC) pré-gravidez, fatores genéticos, hábitos alimentares e a utilização de fármacos ou suplementos (antibióticos, metformina, probióticos, prebióticos) são alguns dos fatores de confusão que variaram entre estudos, e podem ser responsáveis pela discrepância de resultados.(5-7,9-14,35-37,41,44-46)

Na avaliação da diversidade da microbiota intestinal, apesar de alguns autores sugerirem uma estrutura microbiana idêntica, sem diferenças significativas na diversidade α e β ,(8,12,13,41) a maioria dos resultados associam o desenvolvimento de DG a uma menor diversidade α .(7,14,37-39,45,47) Os estudos que discriminam a diversidade β em superior

ou inferior, referem que mulheres com DG têm uma diversidade β aumentada, demonstrando que a disbiose intestinal associada à doença pode proporcionar uma maior individualidade da flora do intestino.(37,38,43)

A menor riqueza da microbiota intestinal (diversidade α) tem sido relacionada a alterações metabólicas, como a adiposidade, a inflamação e resistência à insulina.(9,38,45,48) De forma concordante, durante a gravidez, a menor diversidade α foi correlacionada com valores mais elevados de glicemia em jejum(45) e na prova de tolerância à glicose oral (PTGO).(38) Assim como a maior diversidade β foi também associada a níveis mais elevados de glicose plasmática na PTGO.(38)

A nível taxonómico, na mulher grávida, a microbiota intestinal é dominada pelos filos Firmicutes e Bacteroidetes.(8,9,12,13,37,38,40,42,43,45,48) Em níveis taxonómicos mais baixos predomina o género *Bacteroides*.(8,12,13,37,43) Os principais filos e géneros que compõem a microbiota intestinal são comuns entre grávidas, independente do diagnóstico de DG.(8,12,13,37,38,42,43) No entanto, apesar da predominância se manter, a sua abundância relativa é diferente consoante o estado metabólico.

A nível de filo, como já referido, mulheres com DG apresentam um aumento da proporção Firmicutes/Bacteroidetes no segundo e terceiro trimestre de gravidez.(12,14,41,45)

Em níveis taxonómicos mais baixos, as alterações na composição da microbiota intestinal associadas à DG são múltiplas e variáveis (Tabela 1), no entanto, a maioria dos géneros bacterianos que apresentam abundâncias distintas entre mulheres com DG e grávidas normoglicémicas pertencem ao filo Firmicutes, demonstrando que a alteração da abundância deste filo é uma característica da disbiose intestinal inerente à DG. Assim, de forma mais consistente, a disbiose intestinal associada à DG caracteriza-se por uma maior abundância de patobiontes gram-negativos, como *Parabacteroides*, *Prevotella*, *Haemophilus*, *Desulfovibrio*, *Escherichia coli*, *Sutterella*, *Tyzzarella* e gram-positivos, como *Blautia*, *Collinsella*. Por outro lado, evidencia-se uma menor quantidade de bactérias benéficas gram-positivas produtoras de ácidos gordos de cadeia curta (AGCC), como *Faecalibacterium*, *Roseburia*, *Eubacterium*, *Alistipes*, *Coprococcus*, *Akkermansia* e produtoras de lactato, como *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Streptococcus* (bactérias com propriedades probióticas).(8,12-14,36-45,47) (Fig. 2)

Em mulheres com DG, a maior abundância de *Parabacteroides*, *Prevotella*, *Sutterella*, *Tyzzarella*, *Blautia*, *Collinsella* e a redução de *Faecalibacterium*, *Eubacterium*, *Alistipes*, *Akkermansia*, *Bifidobacterium* foi correlacionado, individualmente, com níveis mais elevados de glicose plasmática em jejum e na PTGO, confirmando a associação entre a disbiose intestinal e a desregulação do metabolismo da glicose.(9,13,14,35,37-40,42,43,47)

Adicionalmente às alterações individuais na composição da microbiota intestinal em mulheres com DG, a correlação entre os géneros bacterianos também parece ser distinta consoante o estado metabólico, verificando-se que mulheres que desenvolvem DG apresentam um padrão de interação bacteriano mais limitado e menos complexo, comparativamente a grávidas saudáveis.(8,37,44) Esta diferença pode ter consequências metabólicas, uma vez que a microbiota intestinal influencia o metabolismo através do efeito coordenado e sinérgico dos seus diversos membros.(38,47)

Para além das diferenças na composição da microbiota intestinal entre mulheres com e sem DG, foi descrita uma variação da microbiota dependendo do controlo glicémico entre grávidas com a doença. Grávidas com DG que mantêm o controlo glicémico apenas com medidas dietéticas e atividade física apresentam uma disbiose intestinal diferente de mulheres com DG que necessitam de medidas farmacológicas, como antidiabéticos orais e insulina. A microbiota intestinal de mulheres com DG que conseguem atingir o controlo glicémico com a modificação do estilo de vida é mais semelhante à de grávidas sem DG do que à de mulheres com DG que necessitam de farmacoterapia, verificando-se um aumento gradual dos géneros *Blautia* e *Eubacterium_hallii_group* e uma diminuição gradual do género *Faecalibacterium* à medida que o estado metabólico se degrada.(40)

Tabela 1 - Alterações da microbiota intestinal associadas à DG

Estudo	Participantes Com DG/Sem DG	Período de colheita	Método de sequenciação	Microbiota intestinal		
				Diversidade	Análise taxonômica	Análise funcional
Kuang <i>et al.</i> , 2017 China (39)	N: 43/81 Idade: 30,5±3,3/28,8±3,1 IMC pré-gravidez: 21,9±3,1/20,2±2,0	2º trimestre (21-29 semanas)	Metagenômico <i>Shotgun</i>	↓ α ≠ β	↑ Enterobacteriaceae, <i>Klebsiella variicola</i> , <i>Citrobacter spp.</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Enterobacter cloacae</i> , <i>Parabacteroides distasonis</i> , <i>Megamonas</i> , <i>Phascolarctobacterium</i> , <i>Catenibacterium mitsuokai</i> , <i>Coprococcus comes</i> ↓ <i>Bifidobacterium spp.</i> , <i>Eubacterium spp.</i> , <i>Alistipes spp.</i> , <i>Roseburia spp.</i> , <i>Methanobrevibacter smithii</i>	↑ Vias transporte membranar, metabolismo energético, fosfotransferase, biossíntese e exportação de LPS ↓ Vias do metabolismo dos aminoácidos
Mokkala <i>et al.</i> , 2017 Finlândia (36)	N: 15/60 Idade: 29,3±3,2/30,3±4,6 IMC pré-gravidez: 29,8±3,5/30,0±4,5	1º trimestre (± 12,9 semanas)	Gene 16S rRNA	-	↑ Ruminococcaceae	-
Cortez <i>et al.</i> , 2018 Brasil (12)	N: 26/42 Idade: 35,07±3,75/28,23±5,68 IMC pré-gravidez >25: 82,61%/54,76%	3º trimestre (28-36 semanas)	Gene 16S rRNA, região V4	↑ α ↔ β	↑ Firmicutes, Lachnospiraceae, Christensenellaceae, <i>Collinsella</i> , <i>Dorea</i> , <i>Subdoligranulum</i> , <i>Ruminococcus</i> ↓ <i>Eubacterium</i> , <i>Bacteroides</i> , <i>Parabacteroides</i> , <i>Roseburia</i> , <i>Dialister</i> , <i>Akkermansia</i>	-
Crusell <i>et al.</i> , 2018 Dinamarca (13)	N: 50/157 Idade: 34,4±4,4/33,3±4,6 IMC pré-gravidez: 29,3±5,6/27,1±4,8	3º trimestre (27-33 semanas)	Gene 16S rRNA, região V1-V2	↔ α ↔ β	↑ Actinobacteria, <i>Collinsella</i> , <i>Rothia</i> , <i>Desulfovibrio</i> , <i>Blautia</i> , <i>Faecalibacterium</i> , <i>Anaerotruncus</i> ↓ <i>Veillonella</i> , <i>Clostridium</i>	-

Estudo	Participantes Com DG/Sem DG	Período de colheita	Método de sequenciação	Microbiota intestinal		
				Diversidade	Análise taxonómica	Análise funcional
Wang <i>et al.</i> , 2018 China (42)	N: 74/73	3º trimestre (±39semanas)	Gene 16S rRNA, região V3-V4	-	↑ <i>Fusobacterium</i> ↓ <i>Faecalibacterium</i>	-
Liu <i>et al.</i> , 2019 China (45)	N: 11/11 Idade: 29,3±0,9/28,2±0,8 IMC pré-gravidez: 26,6±1,1/26,7±0,6	3º trimestre (27-33 semanas)	Gene 16S rRNA, região V3-V4	↓ α ≠ β	↑ Verrucomicrobia, <i>Prevotella</i> , <i>Haemophilus</i> , <i>Actinomyces</i> , <i>Akkermansia</i> ↓ Actinobacteria, <i>Streptococcus</i> , <i>Faecalibacterium</i> , <i>Viellonella</i>	-
Ye <i>et al.</i> , 2019 China (40)	N: 36/16 Idade: 33,95±4,7/30,8±4,8 IMC pré-gravidez: 26,05±3,8/24,3±2,9	2º trimestre (24-28 semanas)	Gene 16S rRNA, região V3-V4	↔ α ≠ β	↑ <i>Blautia</i> , <i>Eubacterium_hallii_group</i> ↓ <i>Faecalibacterium</i> , <i>Subdoligranulum</i> , <i>Phascolarctobacterium</i> , <i>Roseburia</i>	↓ Vias de sinalização de insulina, de adipocitocina e de PPAR
Chen <i>et al.</i> , 2020 China (38)	N: 110/220 Idade: homólogo, 82,7% com menos de 35 anos IMC pré-gravidez: 21,4/21,4	2º trimestre (22-24 semanas)	Gene 16S rRNA, região V3-V4	↓ α ↑ β	↑ Bacteroidetes, <i>Dialister</i> , <i>Bacteroides</i> , <i>Butyricimonas</i> , <i>Odoribacter</i> , <i>Campylobacter</i> , <i>Sutterella</i> , <i>Atopobium</i> ↓ Firmicutes, Actinobacteria <i>Gemmiger</i> , <i>Oscillospira</i> , <i>Bifidobacterium</i>	↑ Vias de biossíntese e metabolismo de polissacarídeos, processos celulares e sinalização, metabolismo de cofatores e vitaminas
Festa <i>et al.</i> , 2020 Itália (41)	N: 10/10 Idade: 36,2±4,4/33,4±3,5 IMC pré-gravidez: 24,6/22,3	3º trimestre (34-36 semanas)	<i>Ion Torrent</i> <i>Personal</i> <i>Genome</i> <i>Machine</i>	↔ α ↔ β	↑ <i>Bacteroides caccae</i> , <i>Bacteroides</i> <i>massiliensis</i> , <i>Bacteroides</i> <i>thetaiotaomicron</i> ↓ <i>Bacteroides vulgatus</i> , <i>Eubacterium</i> <i>eligens</i> , <i>Lactobacillus rogosae</i> , <i>Prevotella copri</i>	-

Estudo	Participantes Com DG/Sem DG	Período de colheita	Método de sequenciação	Microbiota intestinal		
				Diversidade	Análise taxonómica	Análise funcional
Liu <i>et al.</i> , 2020 China (14)	N: 45/45 Idade: 32,8±3,3/32,8±3,9 IMC 1º trimestre: 23,3±2,6/22,8±2,7	2º trimestre (23-28 semanas)	Gene 16S rRNA, região V3-V4	↓ α ≠ β	↑ <i>Blautia</i> , <i>Faecalibacterium</i> ↓ <i>Bacteroidetes</i> , <i>Akkermansia</i> , <i>Odoribacter</i> , <i>Butyricimonas</i> , <i>Christensenellaceae R-7 group</i>	-
Ma <i>et al.</i> , 2020 China (37)	N: 98/98 Idade: 31,0/31,5 IMC 1º trimestre: 22,79±3,01/20,83±2,65	1º trimestre (10-15 semanas)	Gene 16S rRNA, região V4	↓ α ↑ β	↑ <i>Eisenbergiella</i> , <i>Tyzzereella 4 e</i> <i>Lachnospiraceae NK4A136 group</i> ↓ <i>Parasutterella</i> , <i>Parabacteroides</i> , <i>Megasphaera</i> , <i>Dialister</i> , <i>Ruminococcaceae UCG 002/003/005</i> , <i>Eubacterium xylanophilum group</i> , <i>Eubacterium eligens group</i>	↑ Vias de biossíntese de policetídeo, metabolismo de esfingolípídeos, interconversões de pentose e glucuronato, metabolismo do amido e sacarose ↓ Vias de biossíntese de lisina e metabolismo do nitrogénio
Wang <i>et al.</i> , 2020 China (47)	N: 59/48 Idade: 30,45±4,24/29,19±3,04 IMC pré-gravidez: 21,45±2,92/20,46±2,61	-	Gene 16S rRNA, região V3-V4	↓ α ≠ β	↑ <i>Lachnospiraceae_UCG-010</i> , <i>Roseburia</i> , <i>Tyzzereella_3</i> , <i>Akkermansia</i> , <i>Prevotella_2</i> , <i>Clostridium_innocuum_group</i> , <i>Allisonella</i> , <i>Terrisporobacter</i> ↓ <i>Faecalibacterium</i> , <i>norank_f_Ruminococcaceae</i> , <i>Ruminococcus_2</i> , <i>Klebsiella</i> , <i>Intestinibacter</i> , <i>Enterococcus</i> , <i>Lachnospiraceae_NC2004_group</i>	-

Estudo	Participantes Com DG/Sem DG	Período de colheita	Método de sequenciação	Microbiota intestinal		
				Diversidade	Análise taxonómica	Análise funcional
Wu <i>et al.</i> , 2020 China (43)	N: 23/26 Idade: 36,0/32,5 IMC pré-gravidez: 22,58/20,96	3 ^a trimestre	Metagenómico <i>Shotgun</i>	↔ α ↑ β	↑ <i>Bacteroides dorei</i> , <i>Bacteroides sp.</i> <i>3_1_33FAA</i> ↓ <i>Alistipes putredinis</i> e <i>Lactobacillus casei</i>	↑ Via das pentoses fosfato ↓ Vias que envolvem acetato, butirato e propionato
Xu <i>et al.</i> , 2020 China (44)	N: 30/31 Idade: 33,7±4,7/32,3±4,3 IMC pré-gravidez: 24±3,6/22±3,1	3 ^o trimestre	Gene 16S rRNA, região V3-V4	↔ α ≠ β	↑ Pasteurellaceae, <i>Haemophilus</i> ↓ Rikenellaceae, <i>Alistipes</i> , <i>Phascolarctobacterium</i>	-
Zheng <i>et al.</i> , 2020 China (8)	N: 31/103 Idade: 32,58±4,2/31,79±3,70 IMC pré-gravidez: 22,57±2,85/21,32±3,00	1 ^o e 2 ^o trimestre	Gene 16S rRNA, região V3-V4	↔ α ↔ β	1 ^o trimestre: ↓ Streptococcaceae, <i>Prevotella</i> , <i>Coprococcus</i> , <i>Streptococcus</i> , <i>Peptococcus</i> , <i>Desulfovibrio</i> , <i>Intestinimonas</i> , <i>Veillonella</i> 2 ^o trimestre: ↑ <i>Holdemania</i> , <i>Megasphaera</i> , <i>Eggerthella</i> ↓ Streptococcaceae, <i>Flavonifractor</i> , <i>Streptococcus</i> , <i>Coprococcus</i>	-

DG diabetes gestacional; ↑ significativamente aumentado em mulheres com DG; ↓ significativamente diminuído em mulheres com DG; ↔ sem diferenças estatisticamente significativas entre mulheres com e sem DG; ≠ com diferenças estatisticamente significativas entre mulheres com e sem DG; - não avaliado; **N** número de participantes; **IMC** índice de massa corporal; **rRNA** ácido ribonucleico ribossômico; **LPS** lipopolissacarídeos; **PPAR** recetores ativado por proliferadores de peroxissoma.

1.3 Papel da microbiota intestinal na fisiopatologia da diabetes gestacional

Na gravidez saudável, a microbiota intestinal sofre mudanças drásticas na sua composição e estrutura que parecem contribuir para as adaptações do metabolismo materno, demonstrando o potencial papel da microbiota intestinal na indução de inflamação, adiposidade, resistência à insulina e hiperglicemia.(7) O aumento da resistência à insulina e da inflamação são características inerentes à gravidez saudável, no entanto, a sua presença de forma acentuada associa-se ao desenvolvimento de DG.(2,12) Este aumento da inflamação, da resistência à insulina e, conseqüentemente, da intolerância aos hidratos de carbono, além dos níveis fisiológicos da gestação normal, podem ser potenciados pela disbiose da microbiota intestinal presente, desde o primeiro trimestre de gravidez, em mulheres que posteriormente desenvolvem DG.(8,36,37)

A disbiose intestinal descrita na DG caracteriza-se pelo aumento da abundância de bactérias patogênicas gram-negativas que contém lipopolissacarídeos (LPS) na sua parede, associada à diminuição da abundância de bactérias benéficas gram-positivas produtoras de AGCC.(8,37,39) Este desequilíbrio da microbiota intestinal proporciona alterações funcionais, mediado pela diminuição dos níveis de AGCC e aumento de LPS, que pode contribuir para o desenvolvimento de DG através de mecanismos que promovem a desregulação da permeabilidade intestinal, a secreção de hormonas intestinais e insulina e a indução de um estado inflamatório de baixo grau.(5,46,49) (Fig. 2)

Apesar da alteração dos níveis de AGCC e LPS serem os mecanismos mais consensuais que ligam a alteração da microbiota intestinal à patogênese da DG, a disbiose intestinal que se instala na gravidez complicada com DG vai determinar alterações de outras vias funcionais microbianas que também podem comprometer o metabolismo durante a gestação, e contribuir para o desenvolvimento da DG.(37-40,43,47) Por exemplo, o enriquecimento do metabolismo de esfingolípídeos em mulheres com DG pode favorecer a resistência à insulina, através do seu papel na inflamação induzida pelo tecido adiposo e na apoptose de células β pancreáticas induzida pela glucolipotoxicidade.(37,45)

1.3.1 Papel dos ácidos gordos de cadeia curta na secreção de insulina

Os AGCC desempenham um papel importante na saúde metabólica.(6,8,50) Têm sido implicados no desenvolvimento da DG, mediante a desregulação de mecanismos que envolvem a sua intervenção na secreção de insulina, no metabolismo energético e na permeabilidade intestinal.(5,46) Os principais AGCC são o acetato, propionato e butirato,(5,6,10) que resultam da fermentação, pela microbiota intestinal, de hidratos de carbono não digeríveis, como a fibra alimentar.(5,6,8,10,46) O lactato e o succinato são compostos intermédios da síntese de AGCC.(10)

Os AGCC influem no metabolismo da glicose através da sua atuação em recetores FFA2 (recetor acoplados à proteína G, Gpr43) expressos nas células β pancreáticas e nas células L intestinais. Nas células β pancreáticas, a ligação dos AGCC aos recetores FFA2 aí presentes proporciona a proliferação das células β pancreáticas e aumento da secreção de insulina durante a gestação.(10) Por outro lado, a sinalização de FFA2 nas células L intestinais pelos AGCC, leva à estimulação da secreção de hormonas intestinais, nomeadamente o polipeptídeo tirosina-tirosina (PYY) e o peptídeo semelhante ao glucagon 1 (GLP-1), que promove a secreção de insulina e suprime a libertação de glucagon do pâncreas.(5,6,8,10,11,41,46)

A menor abundância de bactérias produtoras de AGCC em mulheres com DG vai condicionar estes mecanismos e comprometer a adaptação das células β pancreáticas e a secreção de insulina durante a gravidez, contribuindo, desta forma, para o desenvolvimento da doença.(5,10,46) Concordantemente, a análise funcional da microbiota intestinal de mulheres com DG mostrou uma depleção de vias que envolvem o acetato, butirato e propionato, contrariamente ao que ocorre na gravidez saudável.(43) Por outro lado, a via de sinalização de recetores ativados por proliferadores de peroxissoma (PPAR) é também um dos mecanismo através do qual os AGCC aumentam a sensibilidade à insulina. A sua diminuição em mulheres com DG pode também contribuir para a desregulação dos níveis de glicose.(40)

1.3.2 Papel dos ácidos gordos de cadeia curta e lipopolissacarídeos na inflamação de baixo grau

Bactérias produtoras de AGCC parecem desempenhar um papel na regulação da permeabilidade intestinal, enquanto bactérias gram-negativas que contêm LPS na sua parede celular são capazes de induzir um estado de inflamação de baixo grau. O desequilíbrio entre estes dois grupos na microbiota intestinal de mulheres com DG pode contribuir para a intolerância à glicose através do aumento da permeabilidade intestinal e estimulação da inflamação.(5,36)

O epitélio intestinal é constituído por células epiteliais adjacentes unidas por *tight junctions*, que formam a barreira intestinal. A zonulina é uma proteína que modula as *tight junctions*, sendo um marcador serológico de permeabilidade intestinal.(5,46,48,51) Mulheres com DG apresentam níveis mais elevados de zonulina, denotando uma maior permeabilidade intestinal, em comparação com grávidas sem a doença.(51)

A microbiota intestinal regula a permeabilidade intestinal através da produção AGCC, nomeadamente do butirato, que estimula a produção de mucina, aumentando a integridade das junções intercelulares.(39,41,50) Este efeito protetor dos AGCC na barreira intestinal

também ocorre pela sua capacidade de regular positivamente genes de proteínas de *tight junctions*, como a ocludina e zonula occludens-1.(5) Em mulheres com DG, a menor abundância de bactérias produtoras de butirato compromete este mecanismo, favorecendo o aumento da permeabilidade intestinal.(48)

Para além disso, nas células epiteliais do cólon, o butirato é a principal fonte de energia, participando no ciclo de Krebs. Quando há uma redução dos níveis de butirato, o ciclo de Krebs é inibido, provocando défices na respiração mitocondrial e, conseqüentemente, a autofagia das células epiteliais do cólon. Deste modo, há perda de *tight junctions* entre estas e um aumento da permeabilidade do intestino.(40)

Outras bactérias não produtoras de AGCC também podem condicionar a barreira intestinal. A *Prevotella* e a *Collinsella*, ambas em quantidade aumentada na microbiota intestinal de mulheres com DG,(12,13,45,47) contribuem para o aumento da permeabilidade do intestino através da sua capacidade de degradar mucina(2,5,45) e reduzir a expressão de proteínas de *tight junctions* entre as células epiteliais,(50) respetivamente.

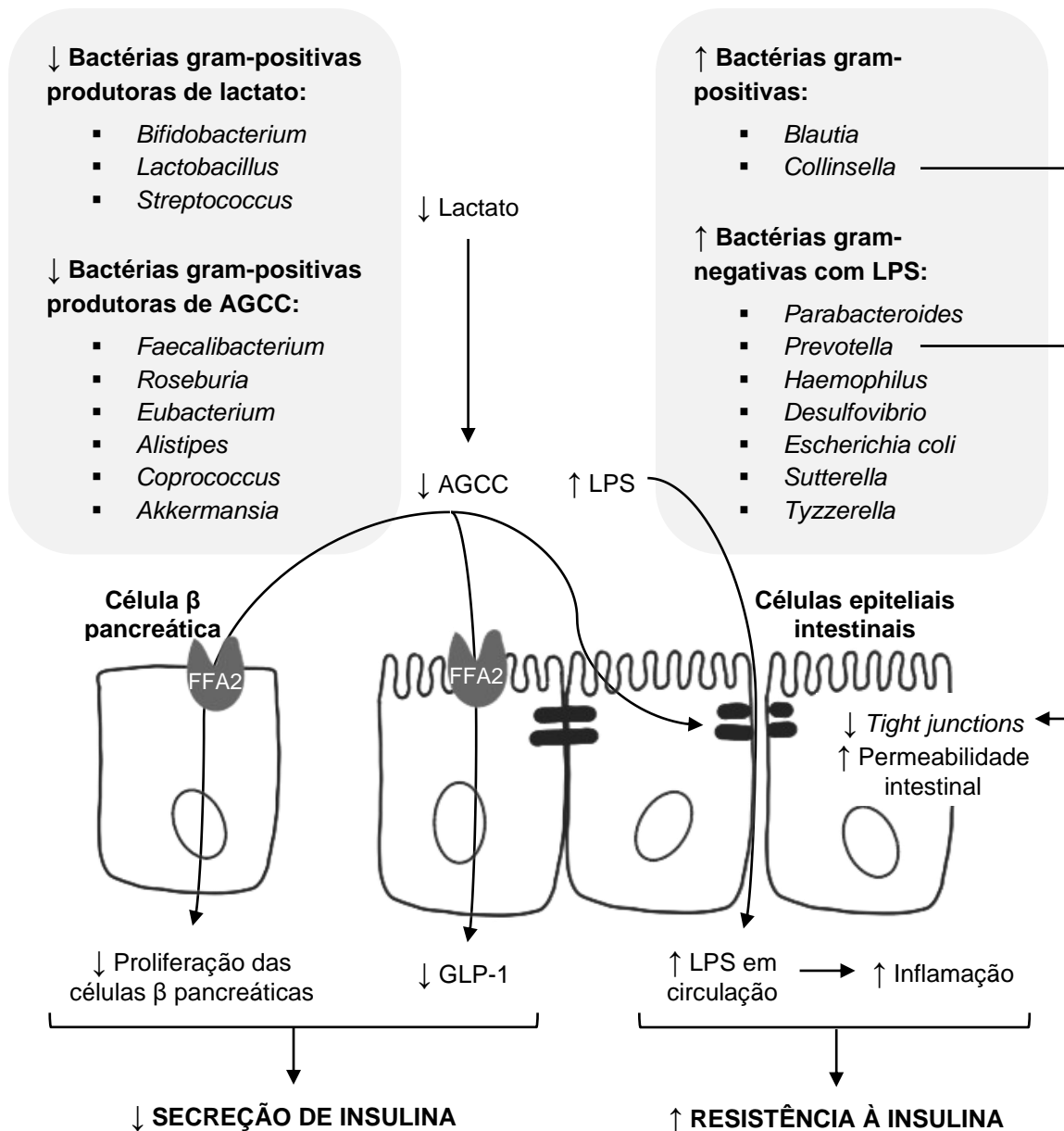
Este aumento da permeabilidade intestinal associado à maior abundância de bactérias gram-negativas na flora intestinal de mulheres com DG vai facilitar a translocação para a circulação de LPS, proporcionando um aumento da sua concentração a nível sistémico.(5,39,40,44,48,50-52) Os LPS são endotoxinas capazes de provocar uma endotoxemia metabólica e induzir inflamação de baixo grau, através de mecanismos mediados pelos recetores *Toll-like 4* (TLR4).(5,44,52,53) A inflamação crónica de baixo grau desempenha um papel importante na fisiopatologia da DG, uma vez que citocinas pró-inflamatórias, como o fator de necrose tumoral α , interleucina 6 e interleucina 1 β , prejudicam a sinalização de insulina e inibem a sua libertação pelas células β pancreáticas, contribuindo para o aumento da resistência à insulina.(2,5,52)

A análise funcional da microbiota intestinal de mulheres com DG apoia estes mecanismos, revelando um enriquecimento de vias relacionadas com a biossíntese e exportação de LPS.(35,39) Adicionalmente, a associação destas vias com os níveis mais elevados de glicose na PTGO sugere o seu papel na fisiopatologia da DG.(39)

Para além do estado inflamatório induzido pelos LPS bacterianos ser um dos mecanismos que interliga a microbiota intestinal à resistência à insulina, a inflamação da mucosa intestinal pode contribuir para a perpetuação da disbiose intestinal, criando-se assim um ciclo de *feedback* positivo entre a alteração da microbiota intestinal e o dismetabolismo.(7,51)

De notar que o aumento da permeabilidade intestinal é uma das adaptações metabólicas que ocorre na gravidez.(46,48,52,54) Tendo em conta que o aumento da

permeabilidade intestinal está associado ao aumento da inflamação e da resistência à insulina,(48) este pode ser um dos mecanismos pelo qual a microbiota intestinal contribui para a adaptação do metabolismo materno e favorece o aumento da resistência à insulina na gravidez saudável. No entanto, em mulheres com DG, a disbiose intestinal condiciona um aumento exagerado da permeabilidade intestinal,(51) justificando a maior resistência à insulina e o desenvolvimento de doença.



↑ aumenta; ↓ diminui; **LPS** lipopolissacarídeos; **AGCC** ácidos gordos de cadeia curta; **GLP-1** peptídeo semelhante ao glucagon 1.

Figura 2 – Papel da disbiose intestinal na fisiopatologia da DG (5,8,10,12-14,36-45,47,50)

2 Probióticos

2.1 Mecanismos de ação dos probióticos na diabetes gestacional

Os probióticos são microrganismos vivos que, em doses adequadas, conferem benefícios à saúde. Os géneros bacterianos *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* são os mais comumente utilizados nas intervenções probióticas.(5,15,55)

Na DG, a suplementação com probióticos pode ajudar na regulação da disbiose intestinal associada à doença, aumentando a diversidade α (56) e proporcionando uma diminuição da quantidade de Firmicutes e um aumento da abundância de Bacteroidetes.(15,57) Esta modificação da composição da microbiota intestinal induzida pelos probióticos favorece a produção de AGCC e a redução dos níveis de LPS, podendo contribuir para a prevenção e tratamento da DG através de mecanismos que envolvem o aumento da secreção de GLP-1, a diminuição da inflamação e do stress oxidativo e a alteração da expressão de genes envolvidos no metabolismo da glicose.(5,15,49,54,58) (Fig. 3)

2.1.1 Papel dos probióticos na secreção de peptídeo semelhante ao glucagon 1

A alteração da microbiota intestinal induzida pelos probióticos leva a uma maior produção de AGCC, nomeadamente de butirato, que promove o aumento de secreção de GLP-1 a nível das células L intestinais.(57) Como já referido, o GLP-1 é uma incretina que estimula a secreção de insulina pelas células β pancreáticas, contribuindo para a homeostase do metabolismo da glicose.(15,19) Este mecanismo pode ser importante na gestão da DG, uma vez que agonistas do recetor de GLP-1 são fármacos amplamente utilizados no tratamento da diabetes.(19)

2.1.2 Papel dos probióticos na inflamação

A inflamação desempenha um papel importante na fisiopatologia da DG.(2) A suplementação com probióticos pode melhorar o estado inflamatório e, deste modo, reduzir a resistência à insulina durante a gestação.(55)

Os probióticos, através da modificação da microbiota intestinal e aumento da produção de AGCC, regulam a permeabilidade da barreira intestinal, aumentando a expressão de proteínas importantes para a integridade do epitélio do intestino, como a ocludina e zonula occludens-1, que constituem as *tight junctions*.(5,15,32,59) Adicionalmente, a maior disponibilidade de AGCC promove a secreção de muco, contribuindo, também, para a melhoria da integridade da camada mucosa do intestino.(5,26,60) Assim, os probióticos vão provocar uma diminuição da permeabilidade intestinal capaz de reduzir a translocação de LPS

e patobiontes para a circulação sistêmica, prevenindo a endotoxemia metabólica que está na origem da inflamação de baixo grau e da resistência à insulina induzida pela microbiota intestinal.(5,15,52,59) Além disso, a suplementação com probióticos parece também diminuir o número de bactérias gram-negativas, reduzindo a concentração de LPS e a inflamação a nível intestinal.(5,15,52,61)

Ensaio clínico e meta-análises com probióticos apoiam estes mecanismos, comprovando o efeito anti-inflamatório destes. Gestantes com DG suplementadas com probióticos apresentam níveis significativamente mais baixos de marcadores inflamatórios, como proteína C reativa,(26,27,53,60,62,63) fator de necrose tumoral α ,(27,53,63) e interleucina 6.(27,53)

2.1.3 Papel dos probióticos no stress oxidativo

O stress oxidativo tem sido implicado na patogênese da DG e nas complicações maternas e fetais associadas à doença.(2,63) Mulheres com DG apresentam uma produção aumentada de radicais livres associadas a mecanismos de eliminação deficitários.(2) O excesso de radicais livres, como espécies reativas de oxigênio, contribuem para a resistência à insulina por inibição da captação de glicose estimulada pela insulina nos tecidos periféricos,(2,62) ao interferirem com o substrato do recetor de insulina 1 (IRS-1) e com o transportador de glicose 4 (GLUT-4).(2)

O potencial papel hipoglicemiante dos probióticos pode ser conseguido pela diminuição do stress oxidativo, mediante o aumento dos níveis de enzimas antioxidantes capazes de eliminar espécies reativas de oxigênio, a prevenção da produção de radicais livres e a inibição da peroxidação.(15,26,31,32,62,63) Este efeito benéfico resulta, possivelmente, da maior produção de AGCC, nomeadamente de butirato, pela microbiota intestinal.(26,60,64)

Ensaio clínico e meta-análises corroboram os efeitos antioxidantes dos probióticos. Mulheres com DG submetidas a intervenções probióticas apresentam uma redução significativa de marcadores de stress oxidativo, como o malondialdeído(26,27,33,60,62,63,65) e um aumento da capacidade antioxidante total(33,62,65) e de enzimas antioxidantes, como glutatona.(27,33)

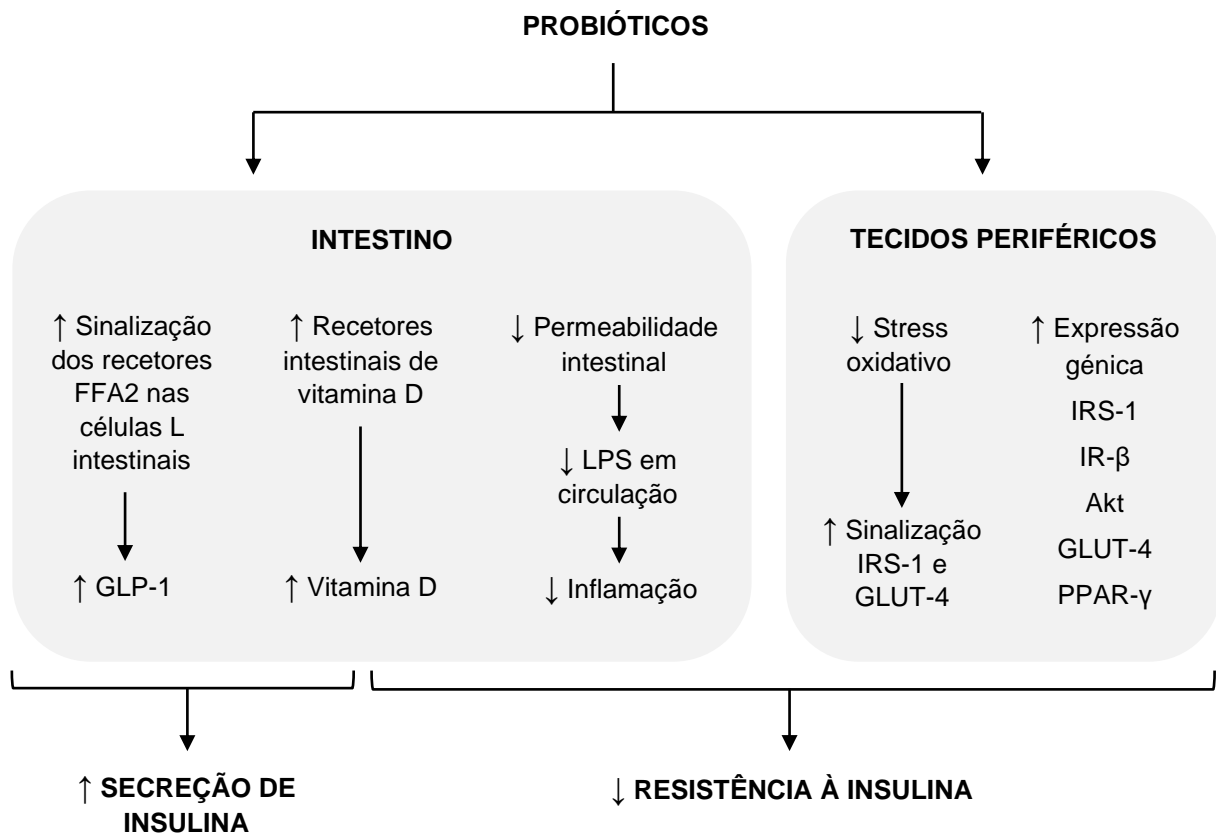
2.1.4 Papel dos probióticos na expressão génica

Os probióticos podem influenciar a expressão génica de proteínas importantes no metabolismo da glicose, melhorando a sinalização de insulina e a captação de glicose.(15) Isto ocorre, por um lado, pelo aumento de proteínas envolvidas em vias de sinalização de insulina, como o IRS-1, o recetor de insulina β (IR- β) e a proteína quinase B (Akt),(15) e, por

outro, pelo aumento da expressão de GLUT-4, responsável pela captação intracelular de glicose.(15,18,55,65)

Para além disso, é sugerido que o efeito dos probióticos na melhoria da sensibilidade à insulina também é alcançado pela regulação da expressão do gene PPAR- γ .(15,32,59,60,65) A DG está associada a uma expressão reduzida de reguladores da sinalização de insulina, como PPAR- γ ,⁽²⁾ tendo se verificado um aumento da sua expressão génica em grávidas com DG suplementadas com probióticos.(65)

Outro mecanismo, menos consensual, envolve o papel dos probióticos na absorção de vitamina D. O défice de vitamina D é considerado um fator de risco para o desenvolvimento de DG e é sugerido que níveis adequados desta vitamina ajudem no controlo glicémico de mulheres com DG.(60,66) Os probióticos podem aumentar a expressão génica de recetores de vitamina D nas células intestinais, contribuindo para o aumento da sua absorção.(60) Assim, a suplementação com probióticos vai proporcionar níveis significativamente mais elevados de 25-hidroxivitamina D, tal como demonstrado num ensaio clínico em grávidas com DG.(60) A maior disponibilidade de vitamina D pode contribuir para a homeostasia da glicose durante a gestação, uma vez que estimula a secreção de insulina ao ligar-se a recetores presentes nas células β pancreáticas e melhora a sensibilidade à insulina promovendo a expressão de recetores de insulina.(60,66) Para além disso, a vitamina D tem também efeitos antioxidantes, que podem reduzir o dano e apoptose das células β pancreáticas,(66) e efeitos anti-inflamatórios, que aliviam a inflamação crónica envolvida no desenvolvimento de resistência à insulina.(60)



↑ aumenta; ↓ diminui; **LPS** lipopolissacarídeos; **AGCC** ácidos gordos de cadeia curta; **GLP-1** peptídeo semelhante ao glucagon 1; **IRS-1** substrato do recetor de insulina 1; **IR-β** recetor de insulina β; **Akt** proteína quinase B; **GLUT-4** transportador de glicose 4; **PPAR-γ** recetores ativados por proliferadores de peroxissoma.

Figura 3 – Efeitos dos probióticos no metabolismo da glicose (2,5,15,57,60)

2.2 Papel dos probióticos na prevenção da diabetes gestacional

Atualmente, a prevenção da DG é preconizada pela alteração do estilo de vida, através de medidas dietéticas e atividade física. No entanto, a adesão a estas intervenções é baixa limitando assim a sua eficácia.(24,29)

A evidência de que mulheres que desenvolvem DG apresentam uma disbiose intestinal desde o primeiro trimestre de gravidez, ainda antes do diagnóstico da doença, fundamenta a hipótese de que a modulação da microbiota intestinal pode ser um potencial mecanismo de prevenção da DG.(8,36,37) Nesse sentido, foram realizados vários ensaios clínicos em grávidas sem a doença, de modo a avaliar os efeitos dos probióticos no metabolismo da glicose, nomeadamente o seu impacto na resistência à insulina, nos níveis de glicose plasmática e na redução da incidência da DG. (Tabela 2)

Tabela 2 – RCT com probióticos em grávidas sem DG

Estudo	Participantes	Início e duração da intervenção	Espécie e dose de probióticos	Resultados
	Probióticos/Controlo			
Luoto <i>et al.</i> , 2010 Finlândia (16)	N: 85/86 Idade: 29,7±4,1/30,1±5,2 IMC: 22,9±3,2/24,3±4,4	1 ^o e 2 ^o trimestre	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG, <i>Bifidobacterium lactis</i> BB12 Cápsula: 1x10 ¹⁰ UFC	↓ Incidência de DG
Asemi <i>et al.</i> , 2013 Irão (67)	N: 37/33 Idade: 24,2±3,3/25,7±3,1 IMC: homólogo	Início: 3 ^o trimestre Duração: 9 semanas	<i>Lactobacillus acidophilus</i> LA5, <i>Bifidobacterium animalis</i> BB12 logurte: 1x10 ⁷ UFC	↓ Insulina ↓ HOMA-IR ↔ GPJ
Lindsay <i>et al.</i> , 2014 Irlanda (21)	N: 63/75 Idade: 31,4±5,0/31,0±5,2 IMC: 32,9±2,4/34,1±2,7	Início: 24 semanas Duração: 4 semanas	<i>Lactobacillus salivarius</i> UCC118 Cápsula: 1x10 ⁹ UFC	↔ Insulina ↔ HOMA-IR ↔ GPJ ↔ Incidência de DG
Jamilian <i>et al.</i> , 2016 Irão (64)	N: 30/30 Idade: 27,1±5,1/28,4±5,3 IMC: 25,6±4,2/25,5±4,1	Início: 9 semanas Duração: 12 semanas	<i>Lactobacillus acidophilus</i> LA5, <i>Lactobacillus casei</i> , <i>Bifidobacterium bifidum</i> Cápsula: 2x10 ⁹ UFC	↓ Insulina ↓ HOMA-IR ↓ HOMA-B ↑ QUICKI ↔ GPJ
Wickens <i>et al.</i> , 2017 Nova Zelândia (17)	N: 195/202 Idade: 34/34 IMC: 25/26	Início: 14-16 semanas Duração: 12-14 semanas	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> HN001 Cápsula: 6x10 ⁹ UFC	↓ GPJ ↔ 1h/2h-PTGO ↓ Incidência de DG
Callaway <i>et al.</i> , 2019 Austrália (20)	N: 207/204 Idade: 31,3±4,7/31,7±4,8 IMC: 31,9±7,5/31,6±7,2	Início: 16 semanas Duração: 12 semanas	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG, <i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. <i>lactis</i> BB12 Cápsula: >1x10 ⁹ UFC	↑ GPJ ↔ 1h/2h-PTGO ↔ Incidência de DG
Pellonperä <i>et al.</i> , 2019 Finlândia (23)	N: 110/110 Idade: 30,8±4,8/30,4±4,1 IMC: 29,9±4,7/29,7±4,2	Início: 13,9±2,1 semanas Duração: 12,6±2,9 semanas	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> HN001, <i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. <i>lactis</i> 420 Cápsula: 1x10 ¹⁰ UFC	↔ Insulina ↔ HOMA-IR ↔ GPJ ↔ 1h/2h-PTGO ↔ Incidência de DG

Estudo	Participantes Probióticos/Controlo	Início e duração da intervenção	Espécie e dose de probióticos	Resultados
Asgharian <i>et al.</i> , 2020 Irão (68)	N: 64/64 Idade: 29,5±6,2/29,4±5,5 IMC: 29,2±3,3/30,3±4,1	Início: 24 semanas Duração: 4 semanas	<i>Lactobacillus acidophilus</i> LA5, <i>Bifidobacterium lactis</i> BB12 logurte: 5x10 ¹⁰ UFC	↓ GPJ ↔ 1h-PTGO ↓ 2h-PTGO ↔ Incidência de DG
Halkjaer <i>et al.</i> , 2020 Dinamarca (56)	N:25/24 Idade: 30,7±4,5/30,7±4,7 IMC: 31,7±1,8/32,1±1,3	Início: 15 semanas Duração: 12-15 semanas	<i>Streptococcus thermophilus</i> , <i>Bifidobacterium breve</i> , <i>Bifidobacterium longum</i> , <i>Bifidobacterium infantis</i> , <i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>Lactobacillus paracasei</i> , <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> Cápsula: 4,5x10 ¹¹ UFC	↔ GPJ ↔ 1h/2h- PTGO ↔ HbA1c ↔ Incidência de DG

DG diabetes gestacional; ↑ significativamente maior no grupo com intervenção probiótica; ↓ significativamente menor no grupo com intervenção probiótica; ↔ sem diferenças estatisticamente significativas entre grupos; **N** número de participantes; **IMC** índice de massa corporal; **RCT** ensaio clínico randomizado; **UFC** unidades formadoras de colónias; **HOMA-IR** *homeostasis model assessment for insulin resistance*: “glicémia em jejum × insulina em jejum/405”; **HOMA-B** *homeostasis model assessment for β-cell function*: “360 × insulina em jejum/glicémia em jejum - 63”; **QUICKI** *quantitative insulin sensitivity check index*: “1/log insulina em jejum + log glicémia em jejum”; **GPJ** glicose plasmática em jejum; **PTGO** prova da tolerância à glicose oral; **HbA1c** hemoglobina glicada.

O início da intervenção ocorreu, na maioria dos ensaios clínicos, no segundo trimestre de gravidez, com uma duração variável entre 4 e 15 semanas. Múltiplas espécies probióticas, pertencentes aos géneros bacterianos *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* e *Streptococcus*, foram utilizadas com uma dose que divergiu entre 10⁷ e 10¹¹ unidades formadoras de colónias (UFC) por dia. Esta grande variabilidade associada a diferentes características da população em estudo proporcionou uma grande heterogeneidade entre os ensaios clínicos, responsável pela inconsistência de resultados obtidos.

Ainda assim, a suplementação com probióticos, em mulheres sem DG, parece melhorar a resistência à insulina no segundo e terceiro trimestres de gravidez.(64,67) No entanto, em grávidas com excesso de peso ou obesidade este impacto positivo dos probióticos nos níveis séricos de insulina e marcadores de resistência à insulina não foi significativo.(21,23) Por outro lado, o efeito da suplementação com probióticos na redução dos níveis de glicose plasmática parece ser ainda mais limitado. Dos oito ensaios clínicos que avaliaram a glicémia

em jejum e na PTGO, em grávidas sem DG, apenas dois relataram uma redução dos níveis de glicose plasmática no grupo de mulheres sujeitas à intervenção com probióticos.(17,68)

A evidência que suporta a utilização de probióticos para a prevenção da DG é ainda muito escassa. Apenas dois dos sete ensaios clínicos que avaliaram a incidência da DG demonstraram uma redução significativa do risco de desenvolver DG em grávidas que utilizaram probióticos.(16,17) De notar que estes resultados podem ter sido influenciados pelo IMC da população em estudo e pela utilização de diferentes critérios de diagnóstico de DG baseados na PTGO.

De facto, o excesso de peso e a obesidade são fatores de risco para o desenvolvimento de DG(2) e associam-se também à disbiose da microbiota intestinal.(11,13,46) Os dois ensaios clínicos que detetaram uma menor incidência de DG em mulheres suplementadas com probióticos, Wichens *et al.* e Luoto *et al.*, foram realizados em populações de grávidas com IMC mais baixo, comparativamente aos estudos que evidenciaram uma falta de eficácia dos probióticos na prevenção da DG realizados em grávidas com excesso de peso ou obesidade.(16,17,20,21,23,56,68) Assim, é possível que a suplementação com probióticos seja apenas potencialmente útil na redução do risco de DG em mulheres magras, com uma desregulação metabólica mais ligeira, sendo clara a sua ausência de eficácia em gestantes com excesso de peso ou obesidade.

Por outro lado, estes dois ensaios clínicos aplicaram critérios diagnósticos distintos dos utilizados por outros estudos e dos recomendados em Portugal (glicémia plasmática após 0h, 1h e 2h da ingestão de 75g de glicose: > 92 mg/dl, > 180 mg/dl e > 153 mg/dl, respetivamente), o que pode ter influenciado o estabelecimento de diferenças estatisticamente significativas na incidência de DG entre o grupo submetido à intervenção probiótica e o grupo controlo.(1,16,17) Luoto *et al.*, utilizou critérios com um limiar diagnóstico mais baixo, proporcionando uma prevalência de DG na população em estudo de 34%, muito superior à prevalência de 13,2% descrita, atualmente, a nível global. Assim, a diferença da taxa de DG de 34% no grupo controlo para 13% no grupo sujeito a suplementação probiótica não é representativa e generalizável.(3,16)

Efetivamente, Wichens *et al.* demonstrou que a mudança dos critérios diagnósticos preconizados na Nova Zelândia para os propostos pela Associação Internacional dos Grupos de Estudos de Diabetes e Gravidez (IADPSG), utilizados em Portugal, resultava numa perda de significância estatística relativamente à diminuição da incidência de DG no grupo de grávidas sujeito à intervenção probiótica, ainda que, mesmo assim, tenha sido descrito uma diferença de prevalência de DG de 13,8% e 8,2 % entre grupos.(17) Curiosamente, os critérios utilizados na Nova Zelândia apresentam um limiar diagnóstico mais alto, levando os autores a sugerir que o efeito dos probióticos pode ser maior na prevenção de DG mais grave.(17)

Revisões sistemáticas e meta-análises confirmam o papel dos probióticos na diminuição dos níveis de insulina e, possivelmente, na melhoria dos marcadores de resistência à insulina.(24,25,28-30) No entanto, este efeito benéfico dos probióticos não será clinicamente significativo, uma vez que a maioria destes estudos não detetaram uma diminuição significativa dos níveis de glicose plasmática em mulheres suplementadas com probióticos.(24,25,29,34) Para além disso, há falta de evidência do impacto dos probióticos na redução da incidência da DG, com apenas uma das quatro meta-análises a demonstrar uma diminuição significativa do número de casos da doença no grupo de mulheres submetidas à intervenção probiótica.(24,25,30,69) (Tabela 3)

Tabela 3 - Meta-análises de RCT com probióticos em mulheres sem DG

Estudo	RCT incluídos	Resultados			
		Insulina	HOMA-IR	GPJ	Incidência de DG
Peng <i>et al.</i> , 2018 (28)	6		↓	↓	
Zheng <i>et al.</i> , 2018 (29)	4	↓	↓	↔	
Chatzakis <i>et al.</i> , 2019 (69)	5				↔
Han <i>et al.</i> , 2019 (30)	5	↓	↓	↓	↓
Masulli <i>et al.</i> , 2020 (25)	9	↓	↔	↔	↔
Łagowska <i>et al.</i> , 2020 (34)	4	↔	↔	↔	
Davidson <i>et al.</i> , 2021 (24)	7	↓		↔	↔

DG diabetes gestacional; ↓ significativamente menor no grupo com intervenção probiótica; ↔ sem diferenças estatisticamente significativas entre grupos; **RCT** ensaio clínico randomizado; **HOMA-IR** *homeostasis model assessment for insulin resistance*: “glicémia em jejum × insulina em jejum/405”; **GPJ** glicose plasmática em jejum.

Assim, com base na evidência disponível, é claro o papel limitado dos probióticos na redução dos níveis de glicose plasmática durante a gravidez e, conseqüentemente, na prevenção da DG.

2.3 Papel dos probióticos no tratamento da diabetes gestacional

O tratamento da DG tem como objetivo melhorar o controlo glicémico, minimizando, deste modo, a ocorrência de desfechos adversos, maternos e neonatais, associados à doença.(25,66) A terapêutica inicial consiste na alteração do estilo de vida, através de medidas dietéticas e atividade física. No entanto, em cerca 1/3 das mulheres esta abordagem

não é suficiente, sendo necessário recorrer a terapêuticas com antidiabéticos orais e insulina.(1,40)

Os probióticos surgem como uma potencial abordagem complementar à alteração do estilo de vida, com o intuito de auxiliar no controlo glicémico e reduzir a necessidade de medidas farmacológicas.(19,27) Vários ensaios clínicos com probióticos foram realizados em grávidas com DG apenas sujeitas a terapêutica nutricional e atividade física com o propósito de avaliar o seu impacto no controlo da doença. (Tabela 4)

Tabela 4 - RCT com probióticos em mulheres com DG

Estudo	Participantes Probióticos/Placebo	Início e duração da intervenção	Espécie e dose de probióticos	Resultados
Dolatkah et al., 2015 Irão (70)	N: 27/29 Idade: 28,14±6,24/26,48±5,23 IMC: 31,41±3,92/29,86±3,39	Início: 24-28 semanas Duração: 8 semanas	<i>Lactobacillus acidophilus</i> LA5, <i>Bifidobacterium</i> BB12, <i>Streptococcus thermophilus</i> STY31, <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> LBY27 Cápsula: > 4x10 ⁹ UFC	↔ Insulina ↓ HOMA-IR ↔ QUICKI ↓ GPJ ↓ Ganho de peso gestacional
Lindsay et al., 2015 Irlanda (22)	N: 74/75 Idade: 33,5±5,0/32,6±4,5 IMC: 29,06±6,70/28,94±5,79	Início: ±31,6 semanas Duração: ±8 semanas	<i>Lactobacillus salivarius</i> UCC118 Cápsula: 1x10 ⁹ UFC	↔ Insulina ↔ HOMA-IR ↔ GPJ ↔ Desfechos maternos ↔ Desfechos neonatais
Jafarnejad et al., 2016 Irão (53)	N:37/35 Idade: 32,4±3,1/31,9±4,0 IMC: 26,8±2,7/27,4±3,1	Início: ±26,4 semanas Duração: 8 semanas	<i>Streptococcus thermophilus</i> , <i>Bifidobacterium breve</i> , <i>Bifidobacterium longum</i> , <i>Bifidobacterium infantis</i> , <i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>Lactobacillus paracasei</i> , <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> Cápsula: 112,5x10 ⁹ UFC	↓ Insulina ↓ HOMA-IR ↔ GPJ ↔ HbA1c

Estudo	Participantes Probióticos/Placebo	Início e duração da intervenção	Espécie e dose de probióticos	Resultados
Karamali <i>et al.</i> , 2016 Irão (18)	N: 30/30 Idade: 31,8±6,0/29,7±4,0 IMC: 28,6±4,2/28,5±3,4	Início: 24-28 semanas Duração: 6 semanas	<i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Lactobacillus casei</i> , <i>Bifidobacterium bifidum</i> Cápsula: 2x10 ⁹ UFC	↓ Insulina ↓ HOMA-IR ↓ HOMA-B ↑ QUICKI ↓ GPJ ↔ Desfechos maternos ↔ Desfechos neonatais
Badehnoosh <i>et al.</i> , 2018 Irão (62)	N:30/30 Idade: 28,8±5,4/27,8±3,7 IMC: 28,3±3,9/28,4±3,6	Início: ±25,7 semanas Duração: 6 semanas	<i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Lactobacillus casei</i> , <i>Bifidobacterium bifidum</i> Cápsula: 2x10 ⁹ UFC	↓ GPJ ↔ Desfechos materno ↔ Desfechos neonatais
Babadi <i>et al.</i> , 2019 Irão (65)	N: 24/24 Idade: 28,8±4,3/29,0±4,2 IMC: 26,1±2,2/26,5±2,7	Início: 24-28 semanas Duração: 6 semanas	<i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Lactobacillus casei</i> , <i>Bifidobacterium bifidum</i> , <i>Lactobacillus fermentum</i> Cápsula: 2x10 ⁹ UFC	↓ Insulina ↓ HOMA-IR ↑ QUICKI ↓ GPJ
Jamilian <i>et al.</i> , 2019 Irão (60)	N: 29/28 Idade: 31,2±5,9/29,9±3,7 IMC: 26,4±4,2/27,5±3,3	Início: 24-28 semanas Duração: 6 semanas	<i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Bifidobacterium bifidum</i> , <i>Lactobacillus reuteri</i> , <i>Lactobacillus fermentum</i> Cápsula: 8x10 ⁹ UFC	↓ Insulina ↓ HOMA-IR ↔ QUICKI ↓ GPJ ↔ Desfechos maternos ↓ Hiperbilirrubinemia neonatal ↓ Hospitalização neonatal
Kijmanawat <i>et al.</i> , 2019 Tailândia (19)	N: 28/29 Idade: 32,50±5,02/30,72±5,05 IMC: 22,74±3,73/22,04±3,12	Início: ±27,29 semanas Duração: 4 semanas	<i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Bifidobacterium bifidum</i> Cápsula: 1x10 ⁹ UFC	↓ Insulina ↓ HOMA-IR ↓ GPJ ↔ Desfechos neonatais

Estudo	Participantes Probióticos/Placebo	Início e duração da intervenção	Espécie e dose de probióticos	Resultados
Sahhaf <i>et al.</i> , 2019 Irão (59)	N: 42/42 Idade: 31,64±5,97/31,61±5,49 IMC: 31,67±5,44/29,67±3,03	Início: 24-28 semanas Duração: 8 semanas	<i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Bifidobacterium lactis</i> logurte: 1x10 ⁶ UFC	↓ GPJ ↓ Glicose pós-prandial ↓ HbA1c ↓ Peso do RN ↓ Macrossomia

DG diabetes gestacional; ↑ significativamente maior no grupo com intervenção probiótica; ↓ significativamente menor no grupo com intervenção probiótica; ↔ sem diferenças estatisticamente significativas entre grupos; **N** número de participantes; **IMC** índice de massa corporal; **RCT** ensaio clínico randomizado; **UFC** unidades formadoras de colônias; **HOMA-IR** *homeostasis model assessment for insulin resistance*: “glicemia em jejum × insulina em jejum/405”; **HOMA-B** *homeostasis model assessment for β-cell function*: “360 × insulina em jejum/glicemia em jejum - 63”; **QUICKI** *quantitative insulin sensitivity check index*: “1/log insulina em jejum + log glicemia em jejum”; **GPJ** glicose plasmática em jejum; **HbA1c** hemoglobina glicada; **RN** recém-nascido.

A duração dos ensaios clínicos, em mulheres com DG, diferiu entre 4, 6 e 8 semanas, com o início da intervenção no segundo trimestre, após o diagnóstico da doença, às 24-28 semanas de gestação. As espécies probióticas, pertencentes aos gêneros bacterianos *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* e *Streptococcus*, foram variáveis entre estudos, contrariamente à dose utilizada, que consistentemente foi na ordem das 10⁹ UFC por dia.

Em gestantes com DG, a maioria dos ensaios clínicos com probióticos mostrou uma diminuição significativa dos níveis séricos de insulina, marcadores de resistência à insulina(18,19,53,60,65,70) e da glicose plasmática em jejum,(18,19,59,60,62,65,70) tanto em mulheres com peso normal, como com excesso de peso ou obesidade. No entanto, apesar do aparente efeito benéfico dos probióticos no metabolismo da glicose, o seu uso durante 6 a 8 semanas, após o diagnóstico de DG no segundo trimestre de gravidez, não teve impacto na redução da necessidade de antidiabéticos orais ou insulina,(22,62) nem na idade gestacional média de início da terapêutica farmacológica em mulheres que necessitaram da sua introdução.(22)

Para além disso, na generalidade dos estudos, a suplementação com probióticos não afetou os resultados da gravidez, verificando-se uma ausência de efeito na diminuição de alguns desfechos maternos e neonatais associados à DG, como na taxa de cesariana,(18,22,60,62) parto pré-termo,(60,62) pré-eclampsia,(22,60,62) polidrâmnios(60,62) e hipoglicemia neonatal.(19,60,62) Apesar disso, e de forma não

consensual,(18,22,62) em dois ensaios clínicos, o uso de probióticos foi associado à diminuição significativa do risco de macrossomia(59) e de hiperbilirrubinemia neonatal.(60)

A literatura é unânime relativamente aos efeitos benéficos dos probióticos no metabolismo da insulina.(25,27-34,66) No entanto, o seu papel na redução dos níveis de glicose plasmática em jejum é inconsistente, verificando-se na maioria das meta-análises, uma diminuição não significativa do valor da glicose.(25,27-32) Este efeito limitado dos probióticos na redução dos níveis de glicose plasmática em jejum em mulheres com DG é transponível à sua ausência de efeito na redução de desfechos maternos e neonatais adversos associados à doença. Tal como demonstrado nos ensaios clínicos, as meta-análises reforçam a inexistência de um efeito significativo dos probióticos na redução da taxa de cesariana,(25,27,30) parto pré-termo,(25,27,30,33) pré-eclâmpsia,(25,27) macrossomia(25,27,30,33) e hipoglicemia neonatal(25,27,33) em mulheres com DG. No entanto, duas das três meta-análises que avaliaram o risco de hiperbilirrubinemia neonatal evidenciaram um efeito protetor dos probióticos na ocorrência desta complicação.(25,27,33) (Tabela 5)

Tabela 5 - Meta-análises de RCT com probióticos em mulheres com DG

Estudo	RCT incluídos	Resultados								
		Insulina	HOMA -IR	GPJ	Pré- eclâmpsia	Parto pré-termo	Cesariana	Macrossomia	Hipoglicémia neonatal	Hiperbilirrubinémia neonatal
Taylor <i>et al.</i> , 2017 (32)	4		↓	↔						
Peng <i>et al.</i> , 2018 (28)	6		↓	↔						
Zheng <i>et al.</i> , 2018 (29)	4	↓	↓	↔						
Han <i>et al.</i> , 2019 (30)	5	↓	↓	↔		↔	↔	↔		
Pan <i>et al.</i> , 2019 (31)	6	↓	↓	↔						
Zhang <i>et al.</i> , 2019 (33)	11	↓	↓	↓		↔		↔	↔	↓
Chen <i>et al.</i> , 2020 (26)	7			↓						
Jin <i>et al.</i> , 2020 (66)	4	↓	↓	↓						
Masulli <i>et al.</i> , 2020 (25)	6	↓	↔	↔	↔	↔	↔	↔	↔	↔
Okesene-Gafa <i>et al.</i> , 2020 (27)	9	↓	↓	↔	↔	↔	↔	↔	↔	↓
Łagowska <i>et al.</i> , 2020 (34)	11	↓	↓	↓						

DG diabetes gestacional; ↓ significativamente menor no grupo com intervenção probiótica; ↔ sem diferenças estatisticamente significativas entre grupos; **RCT** ensaio clínico randomizado; **HOMA-IR** *homeostasis model assessment for insulin resistance*: “glicémia em jejum × insulina em jejum/405”; **GPJ** glicose plasmática em jejum.

Assim, apesar dos efeitos demonstrados dos probióticos na melhoria da resistência à insulina em mulheres com DG, este efeito parece não ser clinicamente significativo para determinar uma redução da glicose plasmática e, deste modo, prevenir a maioria das complicações maternas, fetais e neonatais associadas à doença.

De notar que a eficácia dos probióticos na prevenção e tratamento da DG pode ser condicionada pelas características da intervenção, não havendo, atualmente, um consenso sobre as espécies probióticas, dose e duração ideal para maximizar os potenciais efeitos benéficos dos probióticos na gestão da doença.

A maioria dos estudos recorreu a diferentes espécies bacterianas, pertencentes aos géneros *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* e *Streptococcus*, que tem efeitos locais e sistémicos específicos.(53,54) Por exemplo, a intervenção probiótica com *Lactobacillus salivarius* não mostrou qualquer efeito benéfico no controlo glicémico e nos marcadores de resistência à insulina durante a gravidez, tanto em mulheres com DG como naquelas sem a doença, indicando que, provavelmente, esta espécie bacteriana não é a ideal para a prevenção e tratamento da DG.(21,22)

Além disso, alguns estudos sugerem que a suplementação com combinação de múltiplas espécies probióticas é mais eficaz na redução da glicose plasmática em jejum e melhoria da resistência à insulina do que intervenções com apenas uma espécie.(30) Assim como, doses mais elevadas de probióticos ($>6 \times 10^9$ UFC) e por períodos mais longos de suplementação (>8 semanas) parecem proporcionar uma maior redução dos níveis de glicose,(30) apesar de não ser algo unânime entre estudos.(26) Adicionalmente, o facto da suplementação probiótica não ocorrer até ao momento do parto pode limitar o seu efeito nos resultados da gravidez em mulheres com DG.(62)

Como os ensaios clínicos foram realizados apenas em mulheres com DG controlada com a alteração do estilo de vida, estes resultados não podem ser transponíveis para grávidas com mau controlo metabólico que necessitem de farmacoterapia, não sendo, por isso, conhecido o efeito dos probióticos em casos de hiperglicemia mais grave.

2.4 Segurança dos probióticos na gravidez

Em ensaios clínicos com mulheres grávidas não foram relatados efeitos adversos associados ao uso de probióticos ao longo da gestação, sugerindo que a suplementação com probióticos é uma abordagem segura e bem tolerada durante a gravidez.(16-23,53,56,59,60,62,64,65,67,68,70) No entanto, uma revisão sistemática e meta-análise, que inclui 7 ensaios clínicos, detetou um risco aumentado de pré-eclâmpsia com administração de probióticos em grávidas sem DG.(24)

Apesar deste potencial risco ter sido apontado apenas por um estudo e unicamente em mulheres sem a doença, a falta de evidência clínica que apoie o uso de probióticos durante a gravidez, tornam o seu papel na prevenção e tratamento da DG limitado.

CONCLUSÃO

A microbiota intestinal sofre uma modificação fisiológica ao longo da gestação, o que pode contribuir para as adaptações do metabolismo materno. Na gravidez complicada com DG, esta evolução ocorre de forma distinta, verificando-se uma microbiota intestinal sujeita a um menor número de alterações.

Mulheres que desenvolvem DG apresentam diferenças taxonómicas, funcionais e na diversidade da microbiota intestinal desde o primeiro trimestre de gravidez, ainda antes do diagnóstico da doença. A disbiose intestinal associada à DG caracteriza-se por uma menor riqueza microbiana (diversidade α) e, provavelmente, por uma maior diversidade β . A nível taxonómico, evidencia-se um aumento da razão Firmicutes/Bacteroidetes, com uma maior abundância de bactérias gram-negativas e uma diminuição de bactérias gram-positivas produtoras de AGCC e de bactérias com propriedades probióticas.

Este desequilíbrio da microbiota intestinal pode desempenhar um papel importante na fisiopatologia da DG, através de mecanismos que envolvem os AGCC e os LPS bacterianos. Níveis mais baixos de AGCC podem comprometer vias de sinalização que promovem a secreção de insulina, nomeadamente através da estimulação da libertação de hormonas intestinais, como o GLP-1. Adicionalmente, a menor disponibilidade de butirato associado ao aumento dos níveis de LPS proporciona um aumento da permeabilidade intestinal e a indução de estado inflamatório de baixo grau que contribui para a progressão da resistência à insulina.

Os probióticos parecem melhorar a disbiose intestinal associada à DG, aumentando a diversidade α , diminuindo a razão Firmicutes/Bacteroidetes e proporcionando uma maior abundância de bactérias produtoras de AGCC e uma menor abundância de bactérias gram-negativas. Isto pode influenciar benéficamente o metabolismo da glicose através de mecanismos que envolvem a maior secreção de GLP-1, a regularização da permeabilidade intestinal e supressão da resposta inflamatória associada à translocação de LPS, a diminuição do stress oxidativo e o aumento da expressão de genes importantes no metabolismo da glicose.

Na generalidade dos ensaios clínicos em mulheres grávidas, os probióticos diminuíram os níveis de insulina e melhoraram os marcadores de resistência à insulina, indicando que o seu potencial efeito benéfico no metabolismo da glicose é conseguido pelo aumento da sensibilidade à insulina e não pelo aumento da sua secreção. No entanto, esta melhoria do metabolismo da insulina não parece ser clinicamente significativa, uma vez que a utilização de probióticos durante a gestação tem um impacto limitado na redução dos níveis de glicose plasmática.

Desta forma, é compreensível a ausência de efeito dos probióticos nos resultados da gravidez. Em grávidas saudáveis, os probióticos não reduzem de forma significativa a

incidência de DG. Em grávidas com DG, a suplementação com probióticos não tem impacto na redução da necessidade de medidas farmacológicas, não afeta a idade gestacional média de início desta terapêutica e não reduz a ocorrência da maioria dos desfechos maternos, fetais e neonatais adversos associados à doença, estando apenas descrita uma diminuição do risco de hiperbilirrubinemia neonatal.

Dada esta falta de evidência de efeitos benéficos clinicamente significativos e o potencial risco de pré-eclâmpsia associado à sua utilização, o uso de probióticos na prevenção e tratamento da DG não é apoiado pela evidência científica atual.

REFERÊNCIAS

1. Almeida MC, Dores J, Vicente L, Paiva S, Ruas L. Consenso "Diabetes Gestacional": Atualização 2017. *Rev Port Diabetes*. 2017;12(1):24-38.
2. Plows JF, Stanley JL, Baker PN, Reynolds CM, Vickers MH. The Pathophysiology of Gestational Diabetes Mellitus. *Int J Mol Sci*. 2018;19(11).
3. International Diabetes Federation. IDF Diabetes Atlas, 9th editions. International Diabetes Federation. 2019. 176 p.
4. Sociedade Portuguesa de Diabetologia. Diabetes: Fatos e Números - O Ano de 2016, 2017 e 2018. Relatório Anual do Observatório Nacional da Diabetes. 2019. 64 p.
5. Hasain Z, Mokhtar NM, Kamaruddin NA, Mohamed Ismail NA, Razalli NH, Gnanou JV, et al. Gut Microbiota and Gestational Diabetes Mellitus: A Review of Host-Gut Microbiota Interactions and Their Therapeutic Potential. *Front Cell Infect Microbiol*. 2020;10:188.
6. Ponzo V, Fedele D, Goitre I, Leone F, Lezo A, Monzeglio C, et al. Diet-Gut Microbiota Interactions and Gestational Diabetes Mellitus (GDM). *Nutrients*. 2019;11(2).
7. Koren O, Goodrich JK, Cullender TC, Spor A, Laitinen K, Bäckhed HK, et al. Host remodeling of the gut microbiome and metabolic changes during pregnancy. *Cell*. 2012;150(3):470-80.
8. Zheng W, Xu Q, Huang W, Yan Q, Chen Y, Zhang L, et al. Gestational Diabetes Mellitus Is Associated with Reduced Dynamics of Gut Microbiota during the First Half of Pregnancy. *mSystems*. 2020;5(2).
9. Morkkala K, Paulin N, Houttu N, Koivuniemi E, Pellonperä O, Khan S, et al. Metagenomics analysis of gut microbiota in response to diet intervention and gestational diabetes in overweight and obese women: a randomised, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Gut*. 2020.
10. Fuller M, Priyadarshini M, Gibbons SM, Angueira AR, Brodsky M, Hayes MG, et al. The short-chain fatty acid receptor, FFA2, contributes to gestational glucose homeostasis. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2015;309(10):E840-51.
11. Gomez-Arango LF, Barrett HL, McIntyre HD, Callaway LK, Morrison M, Dekker Nitert M. Connections Between the Gut Microbiome and Metabolic Hormones in Early Pregnancy in Overweight and Obese Women. *Diabetes*. 2016;65(8):2214-23.
12. Cortez RV, Taddei CR, Sparvoli LG, Ângelo AGS, Padilha M, Mattar R, et al. Microbiome and its relation to gestational diabetes. *Endocrine*. 2019;64(2):254-64.
13. Crusell MKW, Hansen TH, Nielsen T, Allin KH, Rühlemann MC, Damm P, et al. Gestational diabetes is associated with change in the gut microbiota composition in third trimester of pregnancy and postpartum. *Microbiome*. 2018;6(1):89.

14. Liu Y, Qin S, Feng Y, Song Y, Lv N, Liu F, et al. Perturbations of gut microbiota in gestational diabetes mellitus patients induce hyperglycemia in germ-free mice. *J Dev Orig Health Dis.* 2020;11(6):580-8.
15. Miraghajani M, Dehsoukhteh SS, Rafie N, Hamedani SG, Sabihi S, Ghiasvand R. Potential mechanisms linking probiotics to diabetes: a narrative review of the literature. *Sao Paulo Med J.* 2017;135(2):169-78.
16. Luoto R, Laitinen K, Nermes M, Isolauri E. Impact of maternal probiotic-supplemented dietary counselling on pregnancy outcome and prenatal and postnatal growth: a double-blind, placebo-controlled study. *Br J Nutr.* 2010;103(12):1792-9.
17. Wickens KL, Barthow CA, Murphy R, Abels PR, Maude RM, Stone PR, et al. Early pregnancy probiotic supplementation with *Lactobacillus rhamnosus* HN001 may reduce the prevalence of gestational diabetes mellitus: a randomised controlled trial. *Br J Nutr.* 2017;117(6):804-13.
18. Karamali M, Dadkhah F, Sadrkhanlou M, Jamilian M, Ahmadi S, Tajabadi-Ebrahimi M, et al. Effects of probiotic supplementation on glycaemic control and lipid profiles in gestational diabetes: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Diabetes Metab.* 2016;42(4):234-41.
19. Kijmanawat A, Panburana P, Reutrakul S, Tangshewinsirikul C. Effects of probiotic supplements on insulin resistance in gestational diabetes mellitus: A double-blind randomized controlled trial. *J Diabetes Investig.* 2019;10(1):163-70.
20. Callaway LK, McIntyre HD, Barrett HL, Foxcroft K, Tremellen A, Lingwood BE, et al. Probiotics for the Prevention of Gestational Diabetes Mellitus in Overweight and Obese Women: Findings From the SPRING Double-Blind Randomized Controlled Trial. *Diabetes Care.* 2019;42(3):364-71.
21. Lindsay KL, Kennelly M, Culliton M, Smith T, Maguire OC, Shanahan F, et al. Probiotics in obese pregnancy do not reduce maternal fasting glucose: a double-blind, placebo-controlled, randomized trial (Probiotics in Pregnancy Study). *Am J Clin Nutr.* 2014;99(6):1432-9.
22. Lindsay KL, Brennan L, Kennelly MA, Maguire OC, Smith T, Curran S, et al. Impact of probiotics in women with gestational diabetes mellitus on metabolic health: a randomized controlled trial. *Am J Obstet Gynecol.* 2015;212(4):496.e1-11.
23. Pellonperä O, Mokkala K, Houttu N, Vahlberg T, Koivuniemi E, Terti K, et al. Efficacy of Fish Oil and/or Probiotic Intervention on the Incidence of Gestational Diabetes Mellitus in an At-Risk Group of Overweight and Obese Women: A Randomized, Placebo-Controlled, Double-Blind Clinical Trial. *Diabetes Care.* 2019;42(6):1009-17.
24. Davidson SJ, Barrett HL, Price SA, Callaway LK, Dekker Nitert M. Probiotics for preventing gestational diabetes. *Cochrane Database Syst Rev.* 2021;4(4):Cd009951.
25. Masulli M, Vitacolonna E, Fraticelli F, Della Pepa G, Mannucci E, Monami M. Effects of probiotic supplementation during pregnancy on metabolic outcomes: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Diabetes Res Clin Pract.* 2020;162:108111.

26. Chen Y, Yue R, Zhang B, Li Z, Shui J, Huang X. Effects of probiotics on blood glucose, biomarkers of inflammation and oxidative stress in pregnant women with gestational diabetes mellitus: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Med Clin (Barc)*. 2020;154(6):199-206.
27. Okesene-Gafa KA, Moore AE, Jordan V, McCowan L, Crowther CA. Probiotic treatment for women with gestational diabetes to improve maternal and infant health and well-being. *Cochrane Database Syst Rev*. 2020;6(6):Cd012970.
28. Peng TR, Wu TW, Chao YC. Effect of Probiotics on the Glucose Levels of Pregnant Women: A Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Medicina (Kaunas)*. 2018;54(5).
29. Zheng J, Feng Q, Zheng S, Xiao X. The effects of probiotics supplementation on metabolic health in pregnant women: An evidence based meta-analysis. *PLoS One*. 2018;13(5):e0197771.
30. Han MM, Sun JF, Su XH, Peng YF, Goyal H, Wu CH, et al. Probiotics improve glucose and lipid metabolism in pregnant women: a meta-analysis. *Ann Transl Med*. 2019;7(5):99.
31. Pan J, Pan Q, Chen Y, Zhang H, Zheng X. Efficacy of probiotic supplement for gestational diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2019;32(2):317-23.
32. Taylor BL, Woodfall GE, Sheedy KE, O'Riley ML, Rainbow KA, Bramwell EL, et al. Effect of Probiotics on Metabolic Outcomes in Pregnant Women with Gestational Diabetes: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Nutrients*. 2017;9(5).
33. Zhang J, Ma S, Wu S, Guo C, Long S, Tan H. Effects of Probiotic Supplement in Pregnant Women with Gestational Diabetes Mellitus: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *J Diabetes Res*. 2019;2019:5364730.
34. Łagowska K, Malinowska AM, Zawieja B, Zawieja E. Improvement of glucose metabolism in pregnant women through probiotic supplementation depends on gestational diabetes status: meta-analysis. *Sci Rep*. 2020;10(1):17796.
35. Ferrocino I, Ponzo V, Gambino R, Zarovska A, Leone F, Monzeglio C, et al. Changes in the gut microbiota composition during pregnancy in patients with gestational diabetes mellitus (GDM). *Sci Rep*. 2018;8(1):12216.
36. Mokkalá K, Houttu N, Vahlberg T, Munukka E, Rönnemaa T, Laitinen K. Gut microbiota aberrations precede diagnosis of gestational diabetes mellitus. *Acta Diabetol*. 2017;54(12):1147-9.
37. Ma S, You Y, Huang L, Long S, Zhang J, Guo C, et al. Alterations in Gut Microbiota of Gestational Diabetes Patients During the First Trimester of Pregnancy. *Front Cell Infect Microbiol*. 2020;10:58.
38. Chen T, Zhang Y, Shan C, Fang K, Xia Y, Shi Z. Relationships between gut microbiota, plasma glucose and gestational diabetes mellitus. *J Diabetes Investig*. 2020.

39. Kuang YS, Lu JH, Li SH, Li JH, Yuan MY, He JR, et al. Connections between the human gut microbiome and gestational diabetes mellitus. *Gigascience*. 2017;6(8):1-12.
40. Ye G, Zhang L, Wang M, Chen Y, Gu S, Wang K, et al. The Gut Microbiota in Women Suffering from Gestational Diabetes Mellitus with the Failure of Glycemic Control by Lifestyle Modification. *J Diabetes Res*. 2019;2019:6081248.
41. Festa C, Drago L, Martorelli M, Di Marino VP, Bitterman O, Corleto CC, et al. Flash on gut microbiome in gestational diabetes: a pilot study. *New Microbiol*. 2020;43(4).
42. Wang J, Zheng J, Shi W, Du N, Xu X, Zhang Y, et al. Dysbiosis of maternal and neonatal microbiota associated with gestational diabetes mellitus. *Gut*. 2018;67(9):1614-25.
43. Wu Y, Bible PW, Long S, Ming WK, Ding W, Long Y, et al. Metagenomic analysis reveals gestational diabetes mellitus-related microbial regulators of glucose tolerance. *Acta Diabetol*. 2020;57(5):569-81.
44. Xu Y, Zhang M, Zhang J, Sun Z, Ran L, Ban Y, et al. Differential intestinal and oral microbiota features associated with gestational diabetes and maternal inflammation. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2020;319(2):E247-e53.
45. Liu H, Pan LL, Lv S, Yang Q, Zhang H, Chen W, et al. Alterations of Gut Microbiota and Blood Lipidome in Gestational Diabetes Mellitus With Hyperlipidemia. *Front Physiol*. 2019;10:1015.
46. Singh S, Karagas MR, Mueller NT. Charting the Maternal and Infant Microbiome: What Is the Role of Diabetes and Obesity in Pregnancy? *Curr Diab Rep*. 2017;17(2):11.
47. Wang X, Liu H, Li Y, Huang S, Zhang L, Cao C, et al. Altered gut bacterial and metabolic signatures and their interaction in gestational diabetes mellitus. *Gut Microbes*. 2020;12(1):1-13.
48. Morkkala K, R yti  H, Munukka E, Pietil  S, Ekblad U, R nnemaa T, et al. Gut Microbiota Richness and Composition and Dietary Intake of Overweight Pregnant Women Are Related to Serum Zonulin Concentration, a Marker for Intestinal Permeability. *J Nutr*. 2016;146(9):1694-700.
49. Morais J, Cardoso M, Branco J, Marques C, Teixeira D, Faria A, et al. Gestational Diabetes and Microbiota: role of probiotic intervention. *Acta Portuguesa de Nutri o*. 2018(13):22-6.
50. Gomez-Arango LF, Barrett HL, Wilkinson SA, Callaway LK, McIntyre HD, Morrison M, et al. Low dietary fiber intake increases *Collinsella* abundance in the gut microbiota of overweight and obese pregnant women. *Gut Microbes*. 2018;9(3):189-201.
51. Cui M, Qi C, Yang L, Zhang M, Wang H, She G, et al. A pregnancy complication-dependent change in SIgA-targeted microbiota during third trimester. *Food Funct*. 2020;11(2):1513-24.

52. Mokkala K, R yti  H, Ekblad U, Laitinen K. Opportunities for probiotics and polyunsaturated fatty acids to improve metabolic health of overweight pregnant women. *Benef Microbes*. 2017;8(1):3-15.
53. Jafarnejad S, Saremi S, Jafarnejad F, Arab A. Effects of a Multispecies Probiotic Mixture on Glycemic Control and Inflammatory Status in Women with Gestational Diabetes: A Randomized Controlled Clinical Trial. *J Nutr Metab*. 2016;2016:5190846.
54. Isolauri E, Rautava S, Collado MC, Salminen S. Role of probiotics in reducing the risk of gestational diabetes. *Diabetes Obes Metab*. 2015;17(8):713-9.
55. Dallanora S, Medeiros de Souza Y, Deon RG, Tracey CA, Freitas-Vilela AA, Wurdig Roesch LF, et al. Do probiotics effectively ameliorate glycemic control during gestational diabetes? A systematic review. *Arch Gynecol Obstet*. 2018;298(3):477-85.
56. Halkj er SI, de Knecht VE, Lo B, Nilas L, Cortes D, Pedersen AE, et al. Multistrain Probiotic Increases the Gut Microbiota Diversity in Obese Pregnant Women: Results from a Randomized, Double-Blind Placebo-Controlled Study. *Curr Dev Nutr*. 2020;4(7):nzaa095.
57. Yadav H, Lee JH, Lloyd J, Walter P, Rane SG. Beneficial metabolic effects of a probiotic via butyrate-induced GLP-1 hormone secretion. *J Biol Chem*. 2013;288(35):25088-97.
58. Chen X, Jiang X, Huang X, He H, Zheng J. Association between Probiotic Yogurt Intake and Gestational Diabetes Mellitus: A Case-Control Study. *Iran J Public Health*. 2019;48(7):1248-56.
59. Sahhaf Ebrahimi F, Homayouni Rad A, Mosen M, Abbasalizadeh F, Tabrizi A, Khalili L. Effect of *L. acidophilus* and *B. lactis* on blood glucose in women with gestational diabetes mellitus: a randomized placebo-controlled trial. *Diabetol Metab Syndr*. 2019;11:75.
60. Jamilian M, Amirani E, Asemi Z. The effects of vitamin D and probiotic co-supplementation on glucose homeostasis, inflammation, oxidative stress and pregnancy outcomes in gestational diabetes: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Clin Nutr*. 2019;38(5):2098-105.
61. Lindsay KL, Walsh CA, Brennan L, McAuliffe FM. Probiotics in pregnancy and maternal outcomes: a systematic review. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2013;26(8):772-8.
62. Badehnoosh B, Karamali M, Zarrati M, Jamilian M, Bahmani F, Tajabadi-Ebrahimi M, et al. The effects of probiotic supplementation on biomarkers of inflammation, oxidative stress and pregnancy outcomes in gestational diabetes. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2018;31(9):1128-36.
63. Hajifaraji M, Jahanjou F, Abbasalizadeh F, Aghamohammadzadeh N, Abbasi MM, Dolatkhah N. Effect of probiotic supplements in women with gestational diabetes mellitus on inflammation and oxidative stress biomarkers: a randomized clinical trial. *Asia Pac J Clin Nutr*. 2018;27(3):581-91.

64. Jamilian M, Bahmani F, Vahedpoor Z, Salmani A, Tajabadi-Ebrahimi M, Jafari P, et al. Effects of Probiotic Supplementation on Metabolic Status in Pregnant Women: a Randomized, Double-blind, Placebo-Controlled Trial. *Arch Iran Med*. 2016;19(10):687-2.
65. Babadi M, Khorshidi A, Aghadavood E, Samimi M, Kavossian E, Bahmani F, et al. The Effects of Probiotic Supplementation on Genetic and Metabolic Profiles in Patients with Gestational Diabetes Mellitus: a Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial. *Probiotics Antimicrob Proteins*. 2019;11(4):1227-35.
66. Jin S, Sha L, Dong J, Yi J, Liu Y, Guo Z, et al. Effects of Nutritional Strategies on Glucose Homeostasis in Gestational Diabetes Mellitus: A Systematic Review and Network Meta-Analysis. *J Diabetes Res*. 2020;2020:6062478.
67. Asemi Z, Samimi M, Tabassi Z, Naghibi Rad M, Rahimi Foroushani A, Khorammian H, et al. Effect of daily consumption of probiotic yoghurt on insulin resistance in pregnant women: a randomized controlled trial. *Eur J Clin Nutr*. 2013;67(1):71-4.
68. Asgharian H, Homayouni-Rad A, Mirghafourvand M, Mohammad-Alizadeh-Charandabi S. Effect of probiotic yoghurt on plasma glucose in overweight and obese pregnant women: a randomized controlled clinical trial. *Eur J Nutr*. 2020;59(1):205-15.
69. Chatzakis C, Goulis DG, Mareti E, Eleftheriades M, Zavlanos A, Dinas K, et al. Prevention of gestational diabetes mellitus in overweight or obese pregnant women: A network meta-analysis. *Diabetes Res Clin Pract*. 2019;158:107924.
70. Dolatkhah N, Hajifaraji M, Abbasalizadeh F, Aghamohammadzadeh N, Mehrabi Y, Abbasi MM. Is there a value for probiotic supplements in gestational diabetes mellitus? A randomized clinical trial. *J Health Popul Nutr*. 2015;33:25.